

Master Sciences et Technologies
Mention "Sciences de l'Univers,
Environnement, Ecologie"

Master Sciences et Techniques du Vivant
Mention "Sciences Agronomiques, de
l'Environnement et du Paysage"

Spécialité Master 2 "Environnements Continentaux et Hydrosociences"
Parcours "**Sols : organisation, fonctionnement et gestion**"

**Accumulation du cadmium dans des plantes à hautes valeurs
économiques : étude sur un sol peu fertile amendé par des
boues d'épuration et sciure de pin comme matériau limitant
l'absorption du cadmium.**

Cadmium accumulation by economically-important of plants grown in
a low-fertility soil amended with biosolids and sawdust.

Par : Baptiste PRETET

Inscrit à AgroParisTech

Stage effectué à
Lincoln University
Ellesmere Junction Road/Springs Road
Lincoln, Canterbury
New Zealand



Soutenu le 10 septembre 2014, à Thiverval-Grignon, devant le jury composé de :

Rapporteur : LAMY Isabelle (INRA)

Maîtres de Stage : ROBINSON Brett (absent)
LEHTO Niklas (absent)

Examineurs : BENOIT Pierre (INRA)
CHENU Claire (AgroParisTech)
MICHELIN Joël (AgroParisTech)
RUMPEL Cornelia (CNRS)

Sommaire

Liste des figures.....	i
Liste des tableaux	i
I - Introduction	1
<i>I - A - Contexte général</i>	1
<i>I - B - Le cadmium dans le système sol/plante</i>	1
II - Matériel et méthodes.....	10
<i>II - A - Expérience en pots sous serre</i>	10
<i>II - B - Démontage de l'expérimentation et traitements des échantillons</i>	14
<i>II - C - Analyses</i>	15
III - Résultats	17
<i>III - A - Evolution du poids de la biomasse</i>	17
<i>III - B - Quantification du cadmium extractible</i>	18
<i>III - C - Le cadmium dans la biomasse aérienne des plantes</i>	20
<i>III - D - Confrontation des résultats au cadre réglementaire et législatif</i>	25
<i>III - E - Bilan</i>	28
IV - Discussion	29
<i>Effets de l'ajout de sciure aux boues d'épuration</i>	29
<i>Effets des variations de pH</i>	31
<i>Conditions pédoclimatiques</i>	31
<i>Utilisation de modèles</i>	32
V - Conclusion et perspective.....	34
Références bibliographiques	35
Annexes	42
Remerciements.....	55

Liste des figures

Figure 1 : Les deux modes d'adsorption du cadmium sur la phase solide (en haut : complexe externe à la sphère d'hydratation ; en bas : complexe interne à la sphère d'hydratation) (Calvet 2003).....	4
Figure 2 : Schéma des deux voies principales d'absorption du cadmium par les racines depuis la solution du sol rhizosphérique vers le xylème (http://www.bio.miami.edu).	6
Figure 3 : Schéma des voies de transfert du cadmium vers la pédosphère et des échanges sol-solution (McLaughlin and Singh, 2007).	7
Figure 4 : Schéma explicatif de l'expérimentation en pots sous serre.	10
Figure 5 : Schéma type d'un pot.	11
Figure 6 : Parties végétales aériennes 'récoltées' et qui ont fait l'objet d'analyses.	14
Figure 7 : Concentration en Cd extractible dans le sol rhizosphérique du ray-grass (mg Cd extractible/kg de sol).	19
Figure 8 : Concentration en Cd dans la biomasse.	23
Figure 9 : Parts relatives des concentrations en Cd dans la biomasse et les graines des plantes oléagineuses.	25

Liste des tableaux

Tableau 1 : Variabilité des compositions des boues d'épurations de trois villes de trois pays différents.....	2
Tableau 2 : Concentrations maximales dans les sols et dans les boues d'épuration pour la France (Tableau (A)) et la Nouvelle-Zélande (Tableau (B)).	3
Tableau 3 : Les plantes et leurs usages : enjeux sanitaires et voies d'absorption par l'homme du cadmium contenu dans ces plantes.	7
Tableau 4 : Apport total en eau aux plantes pendant les 6 mois de l'expérimentation.	11
Tableau 5 : Propriétés du sol et des matériaux de surface (les concentrations sont en mg/kg sauf lorsque l'unité est indiquée et 'n.m' signifie que la mesure n'a pas été effectuée).	13
Tableau 6 : Quantités de matériaux de surface appliquées (t/ha sauf quand une autre unité est indiquée)	13
Tableau 7 : Poids de la biomasse aérienne des plantes à la fin de l'expérimentation (g).	17
Tableau 8 : Effet théorique de l'ajout des boues d'épuration sur la concentration totale en cadmium du sol rhizosphérique.	20
Tableau 9 : Masse totale de cadmium extraite par la biomasse aérienne (en mg).....	21
Tableau 10 : Concentration en cadmium dans les différentes parties aériennes des trois espèces ligneuses en fonction de l'amendement (A) (exprimées en mg Cd/kg MS) et facteur d'augmentation de l'absorption du cadmium dans les tiges des trois espèces ligneuses (B).	21
Tableau 11 : Concentration en Cd dans les parties aériennes des espèces à usages agronomiques exprimées en poids secs. (^{n.s} signifie que les variations entre traitements ne sont pas significativement différentes).	22

Tableau 12 : Cadre législatif et réglementaire des absorption du cadmium chez l'homme et des concentrations en cadmium dans les végétaux par la FAO, l'EFSA et l'ANSES.	26
Tableau 13 : Concentration en Cd dans les différentes parties aériennes des plantes exprimées en mg de Cd par kg de masse fraîche.	27
Tableau 14 : Comparaison des valeurs optimales des principaux paramètres influençant l'adsorption du Cd sur la sciure de bois entre deux études utilisant des sciures de différentes natures.	29

Abréviations

\$NZ : dollars néo-zélandais

ADEME : Agence De l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie

ANSES : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation

BE : boues d'épuration

CEC : Capacité d'Echange Cationique

EFSA : European Food Safety Authority

ETM : élément trace métallique

FAO : Food and Agriculture Organisation

MF : matière fraîche

MO : matière organique

MS : matière sèche

n.s : non significatif

NZ : Nouvelle-Zélande

PF : poids frais

UE : Union Européenne

Abréviations utilisées pour le nom des six plantes de l'expérimentation :

Nom commun	Nom scientifique	Abréviation	Référence botanique
Ray-grass	<i>Lolium perenne</i>	<i>L. perenne</i>	L.
Colza	<i>Brassica napus</i>	<i>B. napus</i>	L.
Sorgho	<i>Sorghum bicolor</i>	<i>S. bicolor</i>	(L.) Moench
Mānuka	<i>Leptospermum scoparium</i>	<i>L. scop.</i>	J.R.Forst. & G.Forst.
Kānuka	<i>Kunzea ericoides</i>	<i>K. eric.</i>	(A.Rich.) Joy Thomps.
Pin de Monterey	<i>Pinus radiata</i>	<i>P. rad.</i>	D.Don

I - Introduction

I - A - Contexte général

1 - Boues d'épuration : intérêts et risques de leur application

La gestion des eaux usées municipales est un problème environnemental mondial. En moyenne, chaque personne est à l'origine de 27 kg/an de boues issues de traitements des eaux usées en Nouvelle-Zélande (NZ) (Robinson 2012), ce qui en fait l'un des pays qui génèrent le plus de ces boues (en France, la moyenne s'élève à 15-20 kg/an (Ministère de l'écologie 2009)). Pour limiter les problèmes environnementaux liés au stockage ou à l'incinération de ces boues (lixiviation des nitrates, émanations de gaz ...) et leurs coûts de gestion, de nombreux pays ont de plus en plus recours à leur épandage sur des parcelles agricoles (Sánchez-Monedero, Mondini et al. 2004).

Les boues sont composées en moyenne d'environ 68% de matière organique (MO), 5% d'azote (N) et 3% de phosphore (P) ainsi que 550 mg/kg de zinc (Zn) et 350 mg/kg de cuivre (Cu) dans la matière sèche en Nouvelle-Zélande (Robinson 2012). En France, la composition moyenne des boues est de l'ordre de 50 à 70% de MO, 3 à 9% d'azote et 4 à 6% de phosphore (P_2O_5) et le ratio CN varie de 5 à 12 (ADEME ; Agence de l'eau RMC et Recyval 1995 ; 1998 ; 2000). L'optimisation du traitement des eaux usées par des techniques de plus en plus performantes augmente la quantité de boues mais diminue les concentrations en contaminants ce qui motive leur valorisation (Chaney 1990). L'épandage de boues d'épuration (BE) augmente donc la fertilité des sols et modifie ses propriétés physico-chimiques et biologiques (Singh and Agrawal 2008) en raison de leurs compositions. Outre leur forte teneur en MO et minéraux précités, elles contiennent des nutriments et oligo-éléments indispensables au métabolisme des plantes comme le soufre (S), le manganèse (Mn) mais aussi le bore (B) et le molybdène (Mo) permettant d'augmenter les rendements des cultures (Singh and Agrawal 2008).

Cependant, en fonction de la provenance des boues, elles peuvent contenir de nombreux polluants organiques et minéraux : métaux lourds comme le chrome (Cr), le mercure (Hg), le plomb (Pb) mais surtout le cadmium (Cd). Le cadmium est de loin le métal le plus étudié dans ce contexte car il est un élément trace métallique non essentiel au métabolisme des organismes et très toxique même à une faible concentration. Les boues contiennent également des composés traces organiques comme les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et les polychlorobiphényles (PCB), des pesticides et des micro-organismes pathogènes qui peuvent s'avérer dangereux pour la santé humaine ou animale, ainsi que pour l'environnement si les concentrations dépassent les seuils réglementaires (Kulling 2001).

D'un côté, l'épandage de boues d'épuration constitue une source de nutriments et de matières organiques pour les plantes, augmente les rendements de cultures, améliore les propriétés physico-chimiques du sol et permet de limiter les apports en fertilisants mais de l'autre, l'accumulation de polluants dans les sols et les plantes et en particulier le cadmium peut rendre les produits de cultures impropres à la

consommation humaine ou à l'alimentation du bétail et engendrer des problèmes environnementaux.

Par ailleurs, au delà des aspects environnementaux et sanitaires, une contamination alimentaire pourrait avoir d'importantes conséquences économiques et sociales dans un pays dont l'économie dépend largement du secteur primaire : en 2013, l'industrie laitière qui emploie plus de 37000 personnes en Nouvelle-Zélande a exporté pour plus de 13 milliards de dollars néo-zélandais (\$NZ), ce qui représente 30% des exportations totales. Près de 95% du lait produit en NZ est exporté vers la Chine, l'Australie, les pays d'Asie du Sud-est, les Etats-Unis, le Japon et l'Union Européenne (UE) entre autre (DCANZ 2014). L'industrie de la viande a exporté en 2012 85% de la production pour un total de plus de 8 milliards NZ\$ (mia 2014). Les enjeux liés à la sécurité sanitaire des produits issus de l'élevage sont donc de premiers ordres pour la NZ.

2 - Une utilisation plus pertinente sur des sols dégradés

L'épandage de boues d'épuration est particulièrement adapté sur des sols peu fertiles et dégradés notamment suite aux activités sylvicoles (l'exploitation de pin de Monterey (*Pinus radiata*) en Nouvelle-Zélande couvre environ 5% du territoire et ce bois est utilisé dans la construction et d'ameublement) qui détruisent les sols, en particulier l'horizon de surface organo-minéral, laissant les sols à nus suite aux passages des engins. L'application des boues sur ce type de sols permet d'améliorer la structure physique du sol et lui donner de meilleures propriétés chimiques. Des études ont montré l'impact de l'application des boues sur les propriétés des sols : il a été montré que l'apport de matières organiques induit une augmentation de la porosité et de la capacité de rétention de l'eau tout en diminuant la densité et la susceptibilité à l'érosion en augmentant la stabilité structurale (Ramulu 2002). Cependant, les effets sur le pH du sol sont contradictoires puisque d'autres auteurs ont observé à la fois une augmentation et une diminution du pH du sol après épandages de boues lors de deux expérimentations différentes (Neilsen, Hogue et al. 1998). Ces sols sont donc de bons supports pour l'épandage de boues pour augmenter la biomasse de bois valorisable dans l'industrie. Les plantations d'arbres comme le Mānuka et le Kānuka sur ces sols permettraient de valoriser ces surfaces pour fournir des produits à hautes valeurs économiques (industries agroalimentaire, médecine, cosmétiques) ou valorisable dans le domaine des 'bioénergies' en ce qui concerne les plantes oléagineuses *Brassica napus* (*B. napus*) et *Sorghum bicolor* (*S. bicolor*). Dans ce contexte, une application unique de boues d'épuration est étudiée pour la réhabilitation de ces sols dégradés. Cependant, en raison des fortes concentrations en azote des boues, l'ajout de sciure de bois est à l'étude pour fixer l'azote et les limiter la lixiviation des nitrates.

3 - Le cadmium dans les boues d'épuration

Le cadmium est présent dans des concentrations non négligeables dans les boues d'épuration : des enquêtes et campagnes de mesures de l'Agence De l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie (ADEME) effectuées dans les années 2000 révèlent que la concentration moyenne en Cd des boues d'épuration est de 2.5 mg Cd/kg de matière sèche. Cette moyenne ne reflète cependant pas la très grande variabilité dans le temps et l'espace de ces concentrations : par exemple, les boues de la station

d'Achères (Yvelines, France) contenaient plus de 100 mg Cd/kg MS dans les années 80 mais moins de 10 mg Cd/kg MS à la fin des années 90 (ADEME ; Agence de l'eau RMC et Recyval 1995 ; 1998 ; 2000). De nos jours, la concentration en Cd varie de 1 à plusieurs dizaines de mg Cd/kg MS.

Le Cd est l'élément trace métallique le plus à risque car il est facilement absorbé par les plantes et s'accumule ainsi tout au long de la chaîne alimentaire. L'épandage de boues d'épuration peut mener à une diminution du pH du sol et favoriser ainsi la solubilisation d'éléments traces métalliques : en effet, de nombreuses boues ont des pH acides, parfois même inférieur à pH 4, la forte concentration en MO peut également limiter l'absorption du Cd par les plantes par formation de complexe organométalliques et augmentation de la capacité d'échange cationique (CEC). En revanche, les fortes teneurs en éléments comme le Zn peuvent faciliter sa solubilisation par compétition sur les sites d'adsorption (Alloway 2012) mais pourraient également limiter l'absorption du Cd par les plantes toujours par compétition de l'absorption entre ces deux éléments ce qui permettrait d'une part d'éviter des risques sanitaires et d'autre part d'augmenter les teneurs en Zn dans les produits comestibles ou les pâturages notamment en NZ (Robinson 2012). Le Cu et le Zn sont des oligo-éléments indispensables au métabolisme de l'homme et des animaux : le Zn intervient dans la structure des protéines et joue le rôle de catalyseur pour de très nombreuses protéines et enzymes et l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime qu'environ 30% de la population mondiale est déficiente en Zn (OMS, 2003). Les concentrations en éléments comme le soufre et le Cl sont également très importantes car ils interagissent avec le Cd sous forme de complexes et influence la disponibilité de ce dernier pour les plantes.

4 - Contexte scientifique et objectifs

De nombreuses études ont montré que certains amendements permettent de limiter la mobilité d'éléments traces métalliques dans les sols comme par exemple le charbon dont une étude a montré qu'il pouvait réduire jusqu'à 300 fois la mobilité du Cd dans un sol sablo-limoneux de pH 6.2 (Beesley and Marmiroli 2011). D'autres auteurs ont testé l'efficacité de la lignite sur la solubilisation du Cd à différents pH et à différentes concentrations en Cd total dans des expérimentations en batchs et sous serre pour le ray-grass anglais *Lolium perenne* (*L. perenne*). L'étude montre que l'ajout de lignite réduit la solubilisation du Cd dans le sol et l'absorption du Cd par les plantes sans pour autant affecter la biomasse ni l'absorption d'éléments nutritifs indispensables aux plantes (Simmler, Ciadamidaro et al. 2013). Un amendement phosphaté sur des sols à hautes teneurs en plomb, Zn et Cd échantillonnés sur une ancienne fonderie a également permis de diminuer l'absorption du cadmium par les plantes (Brown, Chaney et al. 2004).

L'ajout de sciure de pin aux boues d'épurations pourrait en plus de pouvoir limiter la lixiviation des nitrates, limiter l'absorption du Cd par les plantes par sa fixation sur la phase solide. La sciure présente l'avantage d'être un matériau peu cher et sur site. C'est un matériau très riche en carbone organique mais en termes qualitatifs, cette matière organique est très difficile à dégrader. La CEC de la sciure peut varier de quelques meq/100 g à plusieurs dizaines de meq/100 g (Hodgson 1981, Oleszczuk 2006). Elle présente donc un important potentiel d'adsorption du Cd en raison de son fort taux de matière organique mais sa faible CEC peut également limiter cette

adsorption. Par ailleurs, en fonction de l'origine végétale de la sciure et de son traitement, la CEC varie beaucoup (Pari, Ishibashi et al. 2003).

Cette étude s'inscrit dans le cadre d'une expérimentation en pots mise en place dans une serre du département d'horticulture de l'université de Lincoln par Juergen Esperschuetz (post-doctorant dont les travaux sont financés par Lincoln University et la German National Science Foundation). Bien qu'un des enjeux majeurs de cette étude soit l'étude du potentiel inhibiteur de nitrification des plantes, en particulier le Mānuka et le Kānuka, il a été montré dans une étude que le Kānuka est très efficace pour absorber des minéraux essentiels mais qu'il accumule moins le Cd dans un sol très fertile contenant 0.65 ppm de Cd (Hahner, Robinson et al. 2013). On s'attend à ce que le Mānuka, espèce très proche du Kānuka, se comporte de façon similaire vis-à-vis du Cd. Il a aussi été montré que le colza est particulièrement efficace pour absorber le Cd (Rossi, Figliolia et al. 2002, Dell'Amico, Cavalca et al. 2008) tout comme le ray-grass (Lassoued 2012, Simmler, Ciadamidaro et al. 2013), ce qui pourrait freiner l'épandage de boues pour ces cultures. Cette dernière espèce est particulièrement sensible au Cd en raison de son type de croissance et de sa morphologie. Le sorgho est également sujet à l'accumulation du Cd dans sa biomasse ; une expérience en conditions contrôlées avec ajout de matière organique en solution à différents taux montre que plus le taux de MO est important moins le Cd est disponible pour les plantes en raison des ligands organiques mais plus le Cd est transmis des racines aux parties aériennes (Pinto, Mota et al. 2004). Or l'ajout de boues constitue un important apport de MO.

Cette étude vise à déterminer :

- a. les effets de l'ajout de boues d'épuration et l'ajout de sciure de bois aux boues en surface d'un sol peu fertile sur les concentrations en Cd soluble.
- b. les effets de l'ajout de boues d'épuration et l'ajout de sciure de bois aux boues sur l'absorption du Cd et sa répartition dans les différents organes des six plantes à hautes valeurs économiques.
- c. si l'accumulation du Cd dans les parties aériennes des plantes rend les plantes impropres à la consommation humaine ou à une utilisation comme alimentation animale ou production d'énergie sur un tel sol.

Les hypothèses suivantes seront testées :

1. l'ajout de boues d'épuration augmente la biomasse des plantes mais augmente également la concentration en Cd des plantes testées.
2. l'ajout de sciure aux boues d'épuration permet de limiter l'absorption du Cd par les plantes en limitant la solubilité du Cd dans le sol.

I - B - Le cadmium dans le système sol/plante

1 - Usages, répartition et toxicité

Le Cd (Annexe 1) est un métal malléable gris utilisé dans les batteries et les plaquages métalliques pour lutter contre la corrosion et comme stabilisant dans les pigments et les matières plastiques (interdit depuis 2011 dans l'UE dans les matières plastiques).

Il se trouve naturellement dans l'environnement (toujours associé au Zn dans la croûte terrestre à des concentrations moyennes comprises entre 0.1 et 1 mg/kg (Das, Samantaray et al. 1997)). Sa dispersion naturelle dans l'environnement résulte principalement de l'activité volcanique et de l'altération des matériaux de la croûte terrestre (Lenntech 2014) où il est également souvent associé au soufre, au chlore (Cl) et au phosphore.

Les sources anthropiques de Cd concernent :

- l'industrie : fonderies de zinc, de plomb ou de cuivre (retombées atmosphériques)
- la production d'énergie *via* la combustion d'énergies fossiles (charbon, produits pétroliers)
- la gestion des déchets *via* l'incinération de déchets municipaux
- l'agriculture : épandage d'engrais phosphatés ou de boues d'épuration issues du traitement des eaux usées.
- fumées de cigarettes

Le Cd est particulièrement mobile et persistant dans les sols et se lie très facilement aux fractions solides du sol comme la matière organique et les argiles. Il est facilement absorbé par les plantes, s'accumule dans les organismes vivants et les écosystèmes et est très toxique même à faibles concentrations et sous toutes ses formes. Son accumulation dépend fortement de la physiologie des plantes : certaines sont très tolérantes et peuvent même être considérées comme hyperaccumulatrices (lorsque les concentrations en Cd dans les plantes sont d'au moins 0.01% des concentrations en Zn chez une hyperaccumulatrice de Zn (1 mg Zn/g de MS)) (ADEME 2014).

Il est l'un des rares métaux n'ayant pas de fonctions métaboliques connues dans les organismes vivants. Chez l'homme, les effets toxiques du Cd concernent :

- les poumons : irritation pulmonaire et altération durable des fonctions pulmonaires (pour des effets aigus à court-terme)
- le rein et le foie dans lesquels le Cd s'accumule préférentiellement (effets d'une exposition à long-terme) augmentant les risques d'altération des fonctions rénales et d'apparitions de calculs
- des expositions chroniques par voies orales et respiratoires sont également responsables de malformations osseuses, très probablement de tumeurs (en particulier cancer des poumons), d'hypertension, d'altérations des systèmes immunitaire et nerveux (EPA 2000).

La toxicité du Cd est relative à la perturbation du rôle d'oligo-éléments tels que le Zn mais aussi du calcium (Ca), du cuivre et du fer (Fe) qui ne peuvent assurer

pleinement leurs fonctions vitales lorsque la concentration en Cd devient trop importante.

2 - Concentration dans les sols et les boues d'épuration.

Les caractéristiques des boues dépendent de la qualité des eaux usées et des traitements utilisés ; l'hétérogénéité de ces boues due aux différents modes de vie en fonction des pays et aux différents types de traitements mis en œuvre nécessitent de déterminer la composition chimique des boues avant leur épandage sur des surfaces agricoles pour pouvoir optimiser les quantités à appliquer en fonction des objectifs (Singh and Agrawal 2008). Le tableau 2 résume les compositions des boues d'une ville de trois pays : la Thaïlande, l'Espagne et l'Inde.

Tableau 1 : Variabilité des compositions des boues d'épurations de trois villes de trois pays différents.

La composition dépend de la qualité des eaux usées et des traitements appliqués. (^a (Parkpain, Sirisukhodom et al. 1998); ^b (Martinez F. 2002) ; ^c (Nandakumar K. 1998).

propriétés des boues	Thaïlande ^a	Espagne ^b	Inde ^c
pH	6,82	8,6	7,1
matière organique (%)	19,82	43,4	23,2
azote total (%)	3,43	2,5	2,6
cuivre Cu (mg/kg)	801	174	700
manganèse Mn (mg/kg)	2621		400
zinc Zn (mg/kg)	1326	445	1900
cadmium Cd (mg/kg)	1,22	1	1

Il ressort de cette étude de très grandes variations de compositions des boues de villes différentes : la proportion de matière organique (MO) est deux fois supérieure en Espagne qu'elle ne l'est en Thaïlande et en Inde. Le pH est également relativement élevé en Espagne comparé à ceux des deux autres pays ou il reste cependant peu acide. Les concentrations en oligoéléments sont également très disparates : la concentration en Cu dans les boues de la ville d'Espagne est 5 fois inférieure à celle des deux autres pays ; les concentrations en Zn sont également 3 à 4 fois inférieures en Espagne qu'en Thaïlande et en Inde respectivement. En revanche, les concentrations en Cd sont relativement similaires et sont peu élevées.

En fonction des pays, il n'existe pas toujours de cadre réglementaire concernant l'épandage des boues d'épuration sur des surfaces agricoles mais il y a alors des valeurs recommandées ou valeurs 'guides' qui sont proposées.

Le Tableaux 2 indiquent les teneurs en ETM autorisées dans les sols et les boues d'épuration en France (tableau **(A)**) pour leur utilisation sur des sols agricoles (Ministère de l'écologie 2009) et en Nouvelle-Zélande (NZ) (tableau **(B)**) (MfE 2003).

Tableau 2 : Concentrations maximales dans les sols et dans les boues d'épuration pour la France (Tableau (A)) et la Nouvelle-Zélande (Tableau (B)).

Pour la France, ces valeurs rentrent dans un cadre juridique alors que pour la Nouvelle-Zélande, elles représentent des valeurs 'guides' (les indices ^a et ^b du second tableau correspondent à deux grades de boues d'épuration de qualités différentes).

(A)

métal	teneurs maximales autorisées dans le sol en France (mg/kg MS)	teneurs maximales autorisées dans les boues en France (mg/kg MS)
Cadmium	2	10
Chrome	150	1000
Nickel	50	200
Plomb	100	800
Cuivre	100	1000
Zinc	300	3000

(B)

métal	teneurs maximales autorisées dans le sol en NZ (mg/kg MS)	teneurs maximales autorisées dans les boues en NZ (mg/kg MS)
Arsenic	20	20 ^a -30 ^b
Cadmium	1	1-10
Chrome	600	600-1500
Nickel	60	60-135
Plomb	300	300-300
Cuivre	100	100-1250
Zinc	300	300-1500

Dans le cadre de cette étude, la concentration en Cd des boues est de 4.88 mg/kg MS, soit deux fois inférieure à la valeur limite et le sol à une concentration de 0.197 mg/kg sol sec, soit dix fois inférieure à la valeur limite. On se situe donc ici dans un cas réaliste d'épandage de boues.

L'UE fixe quant à elle une valeur impérative à respecter de 40 mg/kg MS et une valeur guide de 20 mg/kg MS dans les boues d'épuration. Dans les sols, les valeurs sont de 1 et 3 mg/kg sol sec respectivement comme valeurs impérative à respecter et valeur 'guide' (Commission-Européenne 2002).

3 - Comportement du cadmium dans les sols

Complexation

L'ion libre Cd²⁺ est considéré comme la forme de Cd la plus réactive en ce qui concerne l'adsorption sur la phase solide. Les phases solides sur lesquelles l'ion est le plus adsorbé sont la MO (en particulier les acides organiques dans les horizons de surface), les oxy-hydroxydes de Fe et d'aluminium (Al) et les argiles (par ordre d'affinité croissante, le Cd s'adsorbe sur la smectite > illite > kaolinite) (Simmler, Ciadamidaro et al. 2013).

Il existe deux modes de sorption du Cd sur la phase solide : le complexe externe et le complexe interne à la sphère d'hydratation. Le complexe externe à la sphère d'hydratation (ou adsorption non-spécifique) est généralement réversible : l'ion

libre Cd^{2+} est adsorbé sur la phase solide par l'intermédiaire de molécules d'eau par des interactions dipolaires et des forces électrostatiques (Figure 1). Dans le cas d'un complexe interne à la sphère d'hydratation (ou adsorption spécifique), l'ion libre n'est plus lié à sa sphère d'hydratation et crée directement des liaisons chimiques avec la phase solide (Calvet 2003).

Le Cd s'adsorbe selon ces deux modes en fonction du type de phase solide : il forme davantage un complexe externe sur les surfaces d'argiles chargées négativement (substitution) alors qu'il forme davantage un complexe interne sur les bords des argiles où il se lie chimiquement aux groupes OH^- (Simmler, Ciadamidaro et al. 2013).

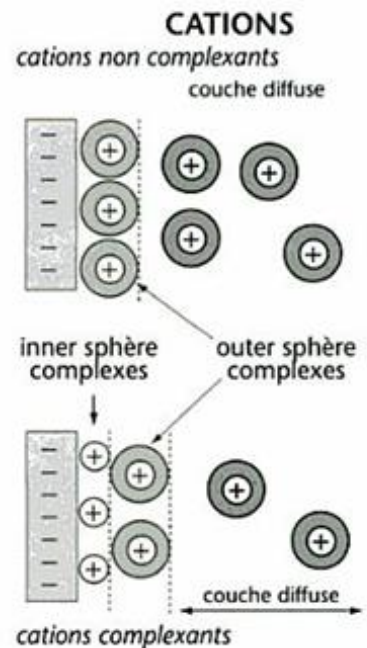


Figure 1 : Les deux modes d'adsorption du cadmium sur la phase solide (en haut : complexe externe à la sphère d'hydratation ; en bas : complexe interne à la sphère d'hydratation) (Calvet 2003).

Spéciation en solution

La principale forme de Cd en solution est l'ion libre Cd^{2+} ; viennent ensuite les formes chlorées CdCl^+ et sulfatées CdSO_4^0 ainsi que l'ion CdHCO_3^+ en l'absence de ligands organiques (Sposito, 1989). Cependant, en fonction de la minéralogie du sol, du pH et du taux de MO, les complexes organo-métalliques solubles OM-Cd peuvent être les formes dominantes de Cd en solution (Sauvé, Manna et al. 2003). Dans les boues d'épurations, le chlore et le soufre sont présents en quantités significatives et sont donc susceptibles de favoriser la solubilisation du Cd : par exemple, la concentration en soufre S est presque 20 fois supérieure dans les boues que dans le sol utilisé pour l'expérience.

4 - Facteurs influençant l'absorption du cadmium par les plantes

Le pH, le taux de MO et les oxyhydroxides de Fe et d'Al sont les principaux facteurs qui influencent la partition du Cd entre la phase solide et la phase liquide (Alloway 2012). La concentration en Cd total dans le sol est aussi un paramètre important influençant sa solubilité (McBride, Sauve et al. 1997).

En ce qui concerne la MO, il est nécessaire de la considérer en terme quantitatif mais aussi en terme qualitatif car en fonction du type d'acides organiques solubilisés ou de la façon dont la MO se dégrade, la solubilisation du Cd ne prendra pas les mêmes modalités (Sauvé, Manna et al. 2003).

De façon générale, plus le pH du sol est faible et plus le Cd est solubilisé et donc absorbé par les plantes (Kukier, Peters et al. 2004, Kirkham 2006). Cependant la concentration totale en Cd, la capacité d'échange cationique (CEC) du sol et la composition cationique de la solution (en particulier les ions Ca^{2+} , Mg^{2+} , Al^{2+} and Fe^{2+}) influencent conjointement la solubilité du Cd et son transfert sol/racines (Martin-Garin 2004, Gray and McLaren 2006).

Par ailleurs, le Cd et le Zn sont deux éléments chimiques très similaires en termes de propriétés physico-chimiques : le Cd est absorbé par les plantes par les mêmes processus par lequel le Zn l'est. Les ions Zn^{2+} et Cd^{2+} sont donc en compétition pour les sites d'absorption sur la phase solide ou pour l'absorption par les plantes lorsqu'ils sont présents en quantités suffisantes *via* des transmetteurs de la solution du sol vers le xylème à travers la membrane des cellules externes. L'apport d'amendement riche en Zn comme c'est le cas des boues d'épuration limite l'absorption du Cd par les plantes au bénéfice du Zn par rapport à un amendement pauvre en Zn. Une étude sur l'effet des concentrations en Cd et Zn dans le sol sur l'absorption sur Cd par une espèce de blé (*Triticum aestivum*) a montré qu'une augmentation de l'activité de Zn^{2+} diminue le ratio Cd parties aériennes/Cd racines de plus de 5 fois, indiquant que le transfert du Cd vers les parties aériennes de la plante est limité par l'augmentation de l'activité de Zn^{2+} (Green, Chaney et al. 2003).

Il existe cependant une importante variabilité du facteur de transfert racinaire en fonction de l'espèce : les légumes feuilles (salade, épinard, chou), les légumes racines (carottes, radis) et les tubercules ont un facteur de transfert racinaire 3 à 5 fois plus important que celui des céréales (Jackson and Alloway 1992). Les parties foliaires des plantes sont généralement les organes privilégiés d'accumulation du Cd. Toutes les plantes ne réagissent pas de la même façon à des environnements enrichis en Cd : certaines plantes ont des mécanismes de détoxification plus aboutis que d'autres et limitent ainsi son absorption ou isolent le Cd dans des organes végétaux susceptibles de voir leur fonctionnement altéré.

5 - Voies d'absorption du cadmium par les plantes

Une fois en solution, les formes solubles du Cd sont absorbées par les racines selon deux processus ; la diffusion des espèces solubles (dont le moteur est le gradient de concentration dans le sol rhizosphérique) ou le flux de masse (dont le moteur est l'évapotranspiration) (Salisbury F.B. 1992).

Le Cd pénètre ensuite dans les parties végétatives supérieures des plantes par deux voies différentes ; la voie symplastique et la voie apoplastique. Lorsque le Cd est transporté de la solution du sol au xylème par voie symplastique, il pénètre à travers la

paroi cellulaire des poils absorbants par la même voie qui permet aux nutriments et aux oligo-éléments comme le Ca ou le Zn de pénétrer dans les plantes, c'est-à-dire soit par des canaux soit par des 'accepteurs' qui sont des généralement des protéines. Le Cd circule alors entre les cellules du cortex qui sont reliées entre elles par les plasmodesmes (Figure 2).

Le Cd peut également être transporté jusqu'au xylème par voie apoplastique ; il circule alors à l'extérieur des membranes cellulaires, dans les parois cellulaires. La circulation du Cd est entravée au niveau de l'endoderme par les bandes de Caspary (Figure 2) qui forment un revêtement de subérine (cire) (Lux, Martinka et al. 2011). Le Cd doit alors passer par la voie symplastique pour être transféré au xylème, ce qui rend plus difficile son accès au xylème et par la suite aux parties aériennes de la plante.

Pendant au niveau de la zone d'élongation de la racine, ces bandes de Caspary sont absentes et le Cd peut alors pénétrer du cortex directement dans le xylème et être ensuite acheminé vers les parties supérieures de la plantes de façon plus directe (Robinson 2014).

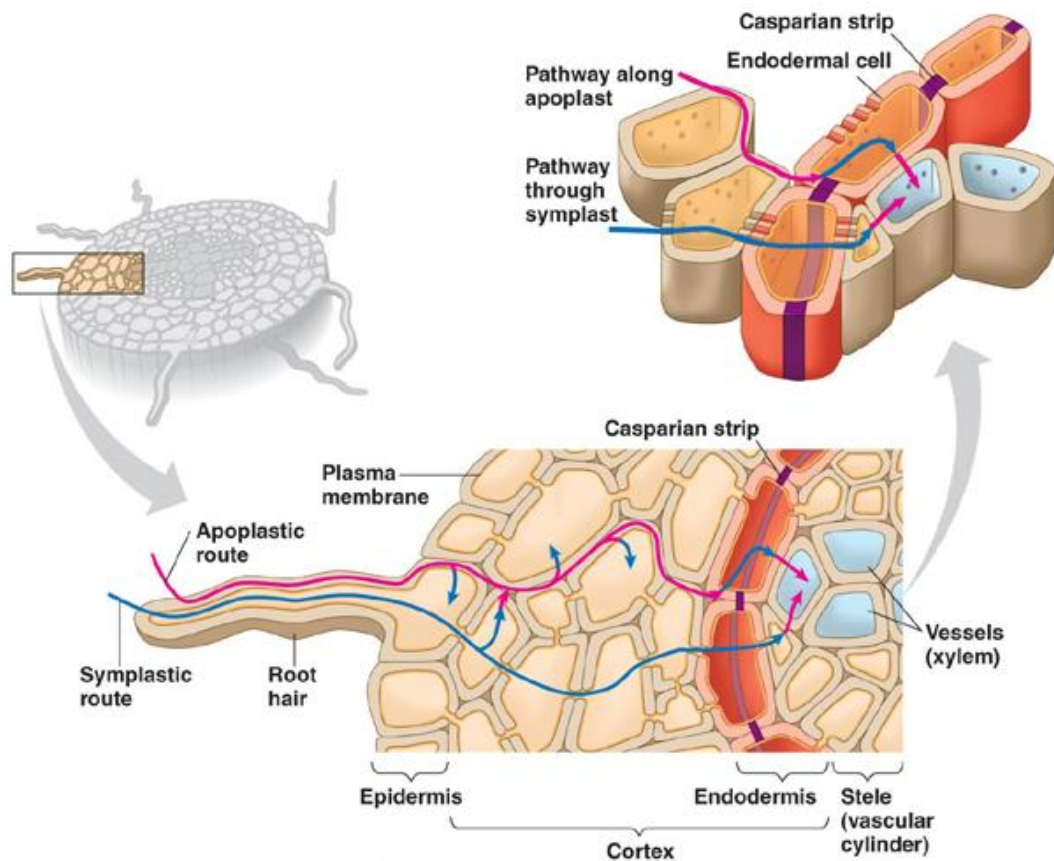


Figure 2 : Schéma des deux voies principales d'absorption du cadmium par les racines depuis la solution du sol rhizosphérique vers le xylème (<http://www.bio.miami.edu>).

La zone d'élongation des racines est un endroit privilégié de transfert du cadmium de la solution du sol vers le xylème puis les parties aériennes des plantes.

Cela représente une vision simplifiée des processus d'absorption du Cd par les racines ; des phénomènes biophysicochimiques plus complexes interviennent dans le sol rhizosphérique, notamment sous l'influence du pH, et les exsudats racinaires participent largement à la complexité de l'interaction sol rhizosphérique/racines.

La Figure 3 résume les voies de transferts du cadmium dans la pédosphère ainsi que le comportement du cadmium dans le système sol/plante.

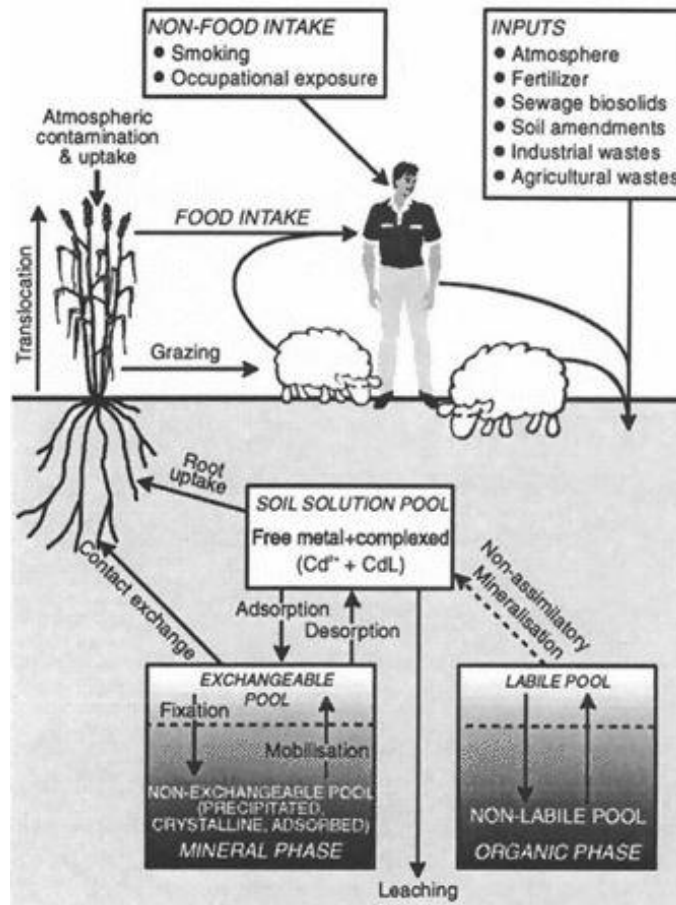


Figure 3 : Schéma des voies de transfert du cadmium vers la pédosphère et des échanges sol-solution (McLaughlin and Singh, 2007).

6 - Les plantes et leurs usages

Les six plantes étudiées ont été choisies pour leurs intérêts environnemental, nutritionnel ou économique. Le Tableau 3 rassemble les principaux usages de ces six plantes.

Tableau 3 : Les plantes et leurs usages : enjeux sanitaires et voies d'absorption par l'homme du cadmium contenu dans ces plantes.

	usages	enjeux	voies d'absorption
Mānuka <i>Leptospermum scoparium</i> (Myrtacées)	➤ miel de Mānuka	<ul style="list-style-type: none"> • sécurité alimentaire 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ ingestion
Kānuka <i>Kunzea ericoides</i> (Myrtacées)	➤ huile essentielle ➤ bois de chauffage ➤ restauration écologique	<ul style="list-style-type: none"> • qualité des produits cosmétiques • qualité de l'air 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ inhalation

<p>Pin de Monterey <i>Pinus radiata</i> (Pinacées)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ bois de construction ➤ bois d'ameublement ➤ compost (sciure issue des résidus d'exploitation) 	<ul style="list-style-type: none"> • sécurité au travail • sécurité de l'habitat 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ inhalation (particules fines, fumées)
<p>Sorgho <i>Sorghum bicolor</i> (Poacées)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ sorgho grain : graines ou farine pour la consommation humaine (boissons traditionnelles, sirop, sucre) ➤ sorgho fourrager : alimentation du bétail ; agrocarburants (bioéthanol) 	<ul style="list-style-type: none"> • sécurité alimentaire directe et indirecte • qualité de l'air 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ ingestion ▪ inhalation (gaz d'échappements quand le sorgho est utilisé comme agrocarburant)
<p>Colza <i>Brassica napus</i> (Brassicacées)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ alimentation humaine : huile alimentaire (industrie agro-alimentaire) ➤ alimentation animale (tourteau, fourrage) ; agrocarburants ➤ usages industriels (adjuvant dans les herbicides, biolubrifiants ...) 	<ul style="list-style-type: none"> • sécurité alimentaire directe et indirecte • qualité de l'air 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ ingestion ▪ inhalation (gaz d'échappement quand le colza est utilisé comme agrocarburant)
<p>Ryegrass <i>Lolium perenne</i> (Poacées)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ pâturage (parfois associé au trèfle blanc (<i>Trifolium repens</i>)) 	<ul style="list-style-type: none"> • sécurité alimentaire indirecte 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ ingestion

Le miel dont est issu le Mānuka est connu pour ses vertus antiseptiques : tous les miels contiennent du peroxyde d'hydrogène et méthylglyoxal (MGO), une molécule aux propriétés anti-inflammatoires et antibactériennes très puissantes. Cependant dans le miel de Mānuka, la concentration en MGO peut atteindre 800 mg/kg quand elle est de l'ordre de quelques mg/kg dans la plupart des autres miels. Le miel de Mānuka contribue véritablement à l'économie de la Nouvelle-Zélande : en 2013, 1700 tonnes ont été produits ce qui représente la quasi-totalité de la production mondiale. Cependant, 10000 tonnes de 'miel de Mānuka' ont été vendues la même année à travers le monde, ce qui révèle un contexte de fraudes de grandes ampleurs préjudiciable à la Nouvelle-Zélande. L'industrie du miel de Mānuka a représenté en 2010 plus 75 millions \$NZ (environ 46 millions d'euros). Entre les deux-tiers et la moitié de la production est exportée et le prix au kilo peut attendre 600\$NZ (MPI 2014). Par ailleurs le Mānuka et le Kānuka sont deux plantes endémiques de Nouvelle-Zélande qui sont utilisées en restauration écologique de terrains dégradés par les activités anthropiques et sur lesquels la Nouvelle-Zélande souhaite rétablir une végétation endémique. Les associations de Mānuka et Kānuka forment la première phase de régénération d'une végétation endémique qui accueillera par la suite une faune elle-même endémique. Ces deux arbres ne sont pas voués à vivre éternellement et finissent par se dégrader et disparaître du paysage qui retrouve des espèces endémiques comme les arbres *Mahoe*, *Rata* ou le 'native bush' (Hahner, Robinson et al. 2013).

Il a été montré que certaines Brassicacées ont un effet inhibiteur de nitrification (Brown, Chaney et al. 2004). Des travaux précurseurs ont également montré que ces deux plantes semblent avoir des propriétés de Biological Nitrification Inhibitor (Prosser 2011) : cela contribuerait à réduire les flux de nitrates dans les eaux de surfaces et

dans les nappes en profondeur et pouvoir appliquer de façon plus régulière des boues d'épurations pour stimuler la production de biomasse. Ces plantes agiraient comme des 'tueurs' de pathogènes et de bactéries impliquées dans les processus de nitrification dans les sols réduisant ainsi la production de nitrates et de dioxyde d'azote, deux substances nocives pour l'environnement.

Le sorgho est la cinquième céréale en termes de volumes de production et de surfaces cultivées dans le monde. Le sorgho présente de nombreux atouts environnementaux : au-delà d'une diversification des assolements, il prélève efficacement l'azote minéral du sol ce qui limite ses besoins en engrais azotés : un apport de boues d'épuration pourrait limiter davantage l'épandage d'engrais voir supprimer totalement ces apports. Le sorgho est par ailleurs peut exigeant en eau (gnis-pédagogie 2014).

II - Matériel et méthodes

II - A - Expérience en pots sous serre

L'expérience menée dans une serre de l'université de Lincoln (Annexe 2) se compose de 6 plantes : le Mānuka (*Leptospermum scoparium*, *L. scop.*), le Kānuka (*Kunzea ericoides*, *K. eric.*) (deux espèces originaires de Nouvelle-Zélande), le pin de Monterey (*Pinus radiata*, *P. rad.*, originaire de Californie), le ray-grass (*L. perenne*), et deux plantes oléagineuses, le colza (*Brassica napus*, *B. napus*) et le sorgho commun (*Sorghum bicolor*, *S. bicolor*). *L. perenne* est l'espèce contrôle de l'expérimentation (Figure 4).

En novembre 2013, ces 6 espèces ont été plantées dans des pots sous serre. Trois amendements ont été appliqués pour chaque plante : un amendement de boues issues d'une station de traitement des eaux usées (boues d'épuration : BE), un amendement de boues d'épuration et sciure mélangées ('BE + sciure') auxquels s'ajoute un contrôle (aucun amendement). Chaque pot a fait l'objet de 4 répliques sauf *L. perenne* qui en a 6 (Figure 4).

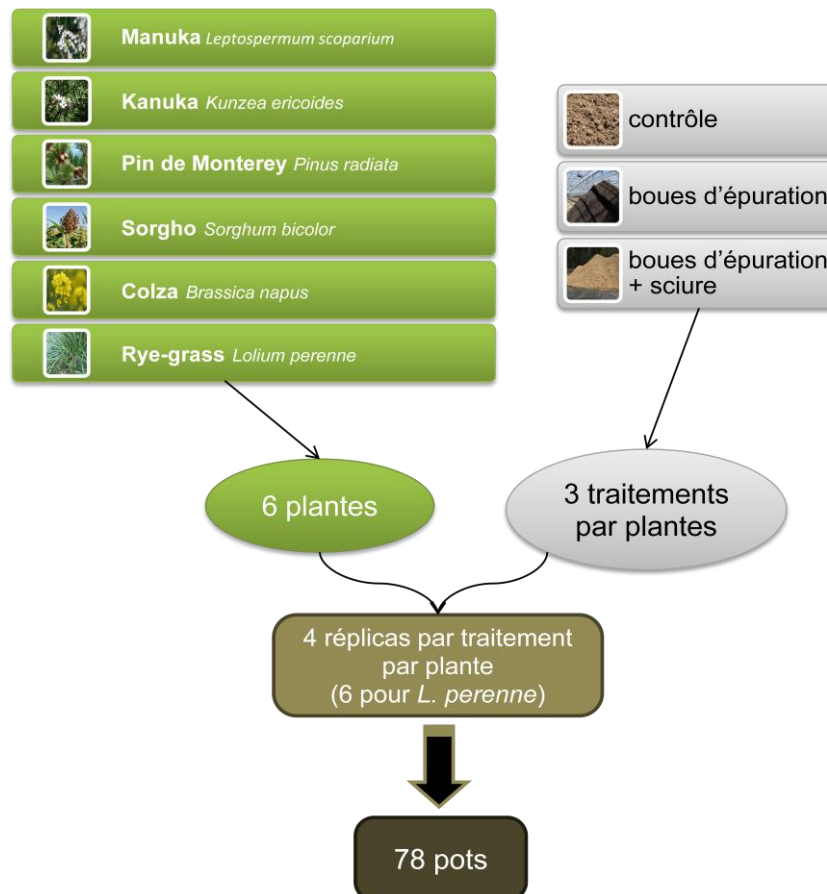


Figure 4 : Schéma explicatif de l'expérimentation en pots sous serre.

Chaque plante pousse sous 3 modalités de sol et pour chaque modalité, il existe 4 répliques (6 pour *L. perenne*).

Le ray-grass, le colza et le sorgho ont été plantés à partir de graines ; les trois espèces ligneuses Mānuka, Kānuka et pin de Monterey sont issues d'une pépinière. Chaque pot à son propre système d'irrigation par deux goutte-à-goutte qui apportent une quantité d'eau en fonction des besoins de la plante ainsi que par un système général d'irrigation qui délivre la même quantité d'eau à chaque pot. Le Tableau 4 résume les quantités d'eau apportées à chaque plante.

Tableau 4 : Apport total en eau aux plantes pendant les 6 mois de l'expérimentation.

Espèces	Apports en eau (litres)
Ray-grass (<i>L. perenne</i>)	67
Colza (<i>B. napus</i>)	115
Sorgho (<i>S. bicolor</i>)	68
Mānuka (<i>L. scoparium</i>)	150
Kānuka (<i>K. ericoides</i>)	184
Pin (<i>P. radiata</i>)	164

1 - Le sol

Le sol utilisé pour l'expérience est un sol peu fertile issu d'une exploitation laitière située près de Masterton, Wairarapa sur l'île du Nord (Annexe 3). Le sol est un sol limoneux (silt loam) dont la composition est de 60% de limons et 27% de sables pour 13% d'argile. La végétation couvrant le sol a été arrachée et le sol a été prélevé sur environ 15 à 20 cm de profondeur. Une importante quantité de sol a été prélevée, tamisé à 4 mm puis homogénéisée de façon à ce que le sol soit le même dans chaque pot. Au fond de chaque pot, 1.5 kg de graviers ont été versés pour favoriser le drainage (Figure 5) ; cette couche de gravier est contenue entre deux toiles fines de nylon. Les pots ont ensuite été remplis de 10 kg de sol en trois temps successifs pour éviter tout gradient de densité.

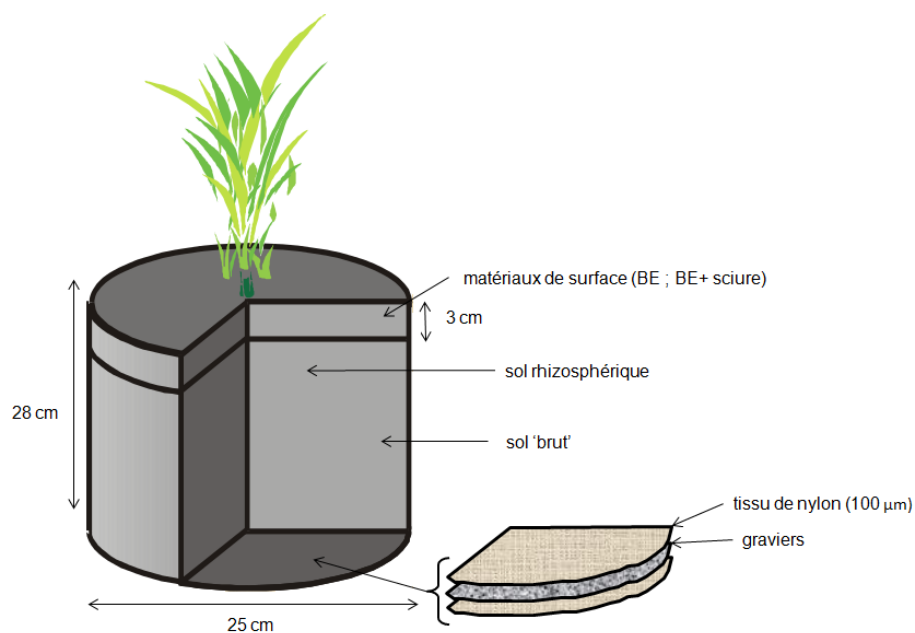


Figure 5 : Schéma type d'un pot.

2 - Les matériaux de surface

Les boues d'épurations sont issues de la station de traitement des eaux usées de Kaikoura, Canterbury, Ile du Sud (Annexe 3). Les boues ont été nettoyées de tout déchet plastique ou autre déchet non organique et ont ensuite été homogénéisées puis tamisées à 1 mm avant d'être séchées à l'air. Ces déchets ont été appliqués à 50 t/ha soit 485 g en poids frais par pot (245.5 g de poids sec).

La sciure de bois est issue d'une plantation de *Pinus radiata* de Kaikoura. La sciure a été mélangée de façon à ce qu'elle soit homogène avant son application dans les pots puis tamisée à 2 mm et appliquée humide dans les pots à 25 t/ha soit 373 g de poids frais par pot (373 g de poids sec).

3 - Caractéristiques chimiques du sol et des matériaux de surface

Le sol utilisé présente des concentrations en éléments clés pour les plantes relativement faibles. La concentration en phosphore disponible pour les plantes (P Olsen) notamment (Tableau 5) mais aussi en cuivre sont relativement faibles et montrent que le sol est peu fertile et demande des apports en fertilisants pour optimiser la croissance des cultures le cas échéant.

Certaines des données présentées dans le Tableau 5 ont été nécessaires (notamment l'azote et le carbone ; Tableau 6) avant de débiter l'expérience pour discuter de la quantité de boues d'épuration et de sciure à ajouter.

Tableau 5 : Propriétés du sol et des matériaux de surface (les concentrations sont en mg/kg sauf lorsque l'unité est indiquée et 'n.m' signifie que la mesure n'a pas été effectuée).

	sol	BE	sciure
pH (H ₂ O)	6,1	4,5	5,7
CEC (me/100g)	21	47 (0)	9,3 (0,2)
saturation des bases (%)	55	n.m	n.m
C total (%)	6,5	27 (0,06)	48 (0,0)
N total (%)	0,46	2,55 (0,67)	0,06 (0,01)
P Olsen (mg/l)	11		
Aluminium Al	30029 (125)	17922 (313)	235 (70)
Bore B	13,7 (0,2)	22 (0,6)	2,2 (0,2)
Calcium Ca	4003 (43)	5988 (135)	708 (21.5)
Cuivre Cu	4,8 (0,02)	696 (11)	2,04 (0,6)
Fer Fe	20728 (125)	13123 (222)	236 (76)
Magnesium Mg	2337 (16)	3147 (64)	198.3 (13.5)
Manganèse Mn	152 (3)	204 (5)	45 (1)
Phosphore P	548 (3)	5033 (112)	52 (5)
Potassium K	117	3955 (56)	464 (23)
Souffre S	385 (1,2)	7489 (168)	72 (6,7)
Zinc Zn	28,5 (0)	1048 (29)	7 (1)
Arsenic As	4,3 (0,1)	18,4 (0,5)	0,28 (0,06)
Cadmium Cd	0,197 (0,006)	4,9 (0,12)	0,08 (0,01)
ex-Cd	n.m	1.58 (0.01)	n.m
mg Cd/kg P	0,36 µg	969	n.m
Chrome Cr	17 (0,1)	146 (9)	12 (5)
Lithium Li	23 (0,07)	15 (0,3)	0,16 (0,05)
Nickel Ni	5 (0,4)	50 (3,7)	3,2 (1)
Plomb Pb	8,8 (0,1)	12 (2,6)	52 (5)

Tableau 6 : Quantités de matériaux de surface appliquées (t/ha sauf quand une autre unité est indiquée)

Les quantités ont été appliquées en se basant sur la concentration en azote.

	BE	sciure	mélange BE + sciure
application	50	25	2:1
C	13,5	11,9	25456
N (kg/ha)	1273	14,89	1288
C/N	10,6	908	19,76

La charge en Cd dans les boues d'épuration est très importante si on la rapporte à la concentration en phosphore du sol (Tableau 5). A cette concentration en P, l'épandage de fertilisants phosphatés est nécessaire en Nouvelle-Zélande pour la croissance des plantes. En NZ, la limite de concentration en Cd dans les fertilisants phosphatés (superphosphates) pour leur application est de 280 mg Cd/kg P dans le sol. Les BE contiennent près de trois fois et demie plus de Cd par kg de P que la limite autorisée ; c'est pour cette raison que le Cd constitue l'un des enjeux majeurs de

l'épandage des boues. Les fertilisants phosphatés contiennent naturellement du Cd : jusqu'en 1995, la très grande majorité des phosphates provenaient de l'île de Nauru (Océan Pacifique Sud) très riche en Cd.

Par ailleurs, les concentrations en métaux et en particulier le Cd dans le sol et les BE utilisés pour l'expérimentation sont toutes sous les valeurs limites recommandées (Tableau 2 **(B)**) mais des éléments traces comme le Cu ou le Cd ont des concentrations très élevées dans les boues.

II - B - Démontage de l'expérimentation et traitements des échantillons

Le 'démontage' de l'expérimentation a été réalisé fin février-début mars 2014 après que les plantes aient poussé pendant 6 mois pendant la période estivale sous la serre. Les températures sous la serre étaient relativement élevées avec des pics atteignant 28°C lors de journées chaudes et ensoleillées. Cependant, les écarts de températures jours/nuits sont relativement importants en Nouvelle-Zélande.

Il est important de noter par ailleurs que des mesures de températures entre le couloir central de la serre et les bords de la serre près des fenêtres ont révélé que les écarts de température étaient parfois de près de 3°C ce qui a pu influencer la croissance et l'absorption du Cd dans les parties aériennes des plantes à travers le processus d'évapotranspiration.



Figure 6 : Parties végétales aériennes 'récoltées' et qui ont fait l'objet d'analyses.

La Figure 6 résume les différents compartiments 'récoltés'. Un minimum d'outils métalliques a été utilisé pour éviter toute contamination. Les parties végétales supérieures ont été coupées au plus près de l'interface sol/tronc en évitant au maximum toute contamination du tronc par le sol (un lavage à l'eau distillée de la base du tronc a été effectué). Pour le sorgho et le colza, les graines ont été récoltées pour être analysées à part. La biomasse du ray-grass a été récoltée au ciseau en coupant

au plus proche de l'interface sol/biomasse en évitant au maximum toute contamination de la biomasse par le sol.

Les trois premiers centimètres de chaque pot qui représentent les matériaux de surface ont été isolés puis le sol rhizosphérique a été prélevé à partir des parties racinaires. Ces parties racinaires une fois libérées du sol ont été lavées à l'eau claire puis à l'eau distillée.

1 - Traitements des échantillons végétaux

Pour les espèces Mānuka, Kānuka et pin, les feuilles ont été séparées des tiges et pour le sorgho et le colza, les graines ont été séparées du reste de la biomasse. Tous les organes végétaux ont été séchés à l'air (60°C pendant 5 jours) et conservés en sachets plastiques pour éviter leur réhumectation. Ces organes végétaux ont ensuite été broyés pour les analyses par spectrométrie. Les parties les plus fines ont été directement broyées finement (broyeur Retsch ZM200, tamis de 1.0 mm) ; les parties les plus grosses et rigides comme les tiges des espèces ligneuses ont préalablement été broyées de façon grossière avec une autre machine (broyeur Retsch-Mühle).

Les échantillons dont le poids ou le volume était trop faible pour être broyés dans ces machines ont été broyés dans des flacons plastiques contenant des billes de céramique.

2 - Traitements des sols

Les sols rhizosphériques ont été séchés à 60°C jusqu'à stabilisation du poids puis tamisés à 2 mm avec un tamis en nylon. Pour chaque échantillon, 5 g de sol sec sont placés dans un tube à centrifugeuse avec 30 ml de nitrate de calcium à 0.05M ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 0.05M). Les tubes sont agités pendant 2 heures (agitateur rotatif de conception manuelle) avant d'être centrifugés pendant 10 minutes à 3000 tour par minute (centrifugeuse Kubota 8420). Le surnageant est ensuite récupéré et filtré (filtres Whatman No.52 (7 μm)) avant d'être conservé au réfrigérateur avant les analyses par ICP-OES.

L'extraction au $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ est un bon indicateur de l'absorption du Cd par les plantes (Black, McLaren et al. 2011). L'ion Ca^{2+} est un élément dont le rayon et la configuration électronique sont très proches de l'ion Cd^{2+} : leurs comportements en solution et leur réactivité à l'interface solide/solution sont proches ce qui permet au Ca^{2+} de désorber le Cd pour s'adsorber sur ses sites (Van Cappellen, Charlet et al. 1993).

II - C - Analyses

1 - Analyses des parties végétales, du sol rhizosphérique et des matériaux de surface

pH

Le pH à l'eau des sols rhizosphériques a été mesuré (pH-mètre Mettler Toledo Seven easy) à partir de 15 g (+/- 0.1 g) de sol frais (conservé au réfrigérateur jusqu'aux analyses) dans 25 ml d'eau distillée. La mesure est faite après agitation mécanique des flacons et stabilisation pendant une nuit.

humidité relative

Un échantillon de sol frais est pesé (10-20 g) puis séché à 105°C pendant 24 heures. Une fois sec, les échantillons sont placés à refroidir dans un dessiccateur avant la mesure.

carbone total (TC)/azote total (TN)

Le carbone total et l'azote total ont été déterminés par un analyseur C/N (Elementar Vario MAX CN analyser) (Annexe 4).

ICP-OES

Les échantillons végétaux ont été analysés pour leurs concentrations en Cd par spectrométrie par torche à plasma à émission optique (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) Varian 720 ES ICP Optical Emission Spectrometer (Annexe 4)) après digestion acide : les tubes de Téflon® contenant 0.3 g d'échantillon dans 2.5 ml d'acide nitrique (HNO₃) et 2.5 ml de peroxyde d'hydrogène sont soumis à la digestion acide dans un four (CEM MarsXpress). Une fois les tubes refroidis, 10 ml d'eau distillée sont ajoutés dans chaque tube avant l'analyse. Les extraits ont été conservés à 4°C avant analyse (Annexe 4).

2 - Analyses statistiques

Les données ont été analysées avec le logiciel Minitab® 16 (Minitab Inc, State College, Pennsylvania, USA) par ANOVA avec le test de Fisher (Least Square Difference) pour la comparaison des moyennes ($p=0.05$).

III - Résultats

III - A - Evolution du poids de la biomasse

Les mesures de l'évolution du poids de la biomasse ne représentent pas un objectif principal de l'étude. En effet, la littérature contient de très nombreuses études qui montrent que l'ajout de boues d'épuration augmente le poids de la biomasse.

L'ajout de boues d'épuration a cependant eu l'effet attendu d'augmentation de la biomasse aérienne des plantes (les racines ne seront pas considérées dans cette étude ; l'étude des racines est plus pertinente pour des études de dépollution par phytoremédiation (phytoextraction ou phytostabilisation)). Le Tableau 7 présente l'augmentation de la biomasse aérienne des plantes après ajout des BE ou du mélange de BE + sciure. L'augmentation de la biomasse est variable en fonction de l'espèce considérée et en particulier en fonction de l'organe considéré (tiges, feuilles, graines).

Tableau 7 : Poids de la biomasse aérienne des plantes à la fin de l'expérimentation (g).

¹ pour le colza et le sorgho, la biomasse correspond aux tiges et feuilles mesurées ensemble ; pour le ray-grass, la biomasse correspond aux brins.

Les indices ^a et ^b sont les résultats des tests statistiques de l'ANOVA : deux lettres identiques indiquent que les variations entre traitements pour une même espèce ne sont pas significativement différentes.

plantes	traitements	graines	feuilles ¹	tiges ¹	biomasse ¹
L. perenne	contrôle	x	x	x	12 (0.8) ^a
	BE	x	x	x	23 (0.7) ^b
	BE + sciure	x	x	x	17 (1.2) ^c
B. napus	contrôle	aucunes	x	x	0,2 (0.06) ^b
	BE	12 (2)	x	x	34 (2.5) ^a
	BE + sciure	8,4 (2.3)	x	x	37 (3.3) ^a
S. bicolor	contrôle	2,1 (0.3) ^b	x	x	37 (2) ^b
	BE	10 (1.7) ^a	x	x	49 (7) ^a
	BE + sciure	4,6 (0.8) ^b	x	x	40 (2.7) ^b
L. scop.	contrôle	x	32 (2.5) ^c	52 (3) ^d	x
	BE	x	45 (2) ^b	88 (6) ^b	x
	BE + sciure	x	42 (2) ^b	65 (1.3) ^c	x
K. eric.	contrôle	x	19 (2.6) ^c	38 (4) ^c	x
	BE	x	33 (2.5) ^b	57 (3.6) ^b	x
	BE + sciure	x	29 (2.3) ^{bc}	58 (3.4) ^b	x
P. rad.	contrôle	x	39 (7.7) ^c	36 (6) ^b	x
	BE	x	62 (2) ^a	49 (6.5) ^{ab}	x
	BE + sciure	x	44 (3.5) ^{bc}	34 (2) ^b	x

On retrouve les mêmes tendances pour toutes les plantes : l'ajout de BE augmente sensiblement la production de biomasse mais l'ajout de sciure limite cette augmentation ; pour certaine plante, la sciure annule même l'effet de l'ajout des boues car le poids de la biomasse est parfois statistiquement identique entre le contrôle et l'ajout de BE + sciure.

Plus de détails sont annexés (Annexe 5).

III - B - Quantification du cadmium extractible

Toutes les valeurs de Cd extractible du sol rhizosphérique sont sous la limite de détection ou inexploitable statistiquement à l'exception du sol sur lequel le ray-grass a poussé (Tableau 7) (le ray-grass est par ailleurs la seule espèce dont les racines se situent essentiellement en surface et interfère donc le plus avec les matériaux de surface). Cela pourrait s'expliquer par l'emprise au sol des racines des brins de ray-grass qui couvrent quasiment l'intégralité des pots et pourraient ainsi former des chemins préférentiels de tailles macroscopiques pour le transport en solution du Cd des matériaux de surface vers le sol sous-jacent. Dans tous les cas, le ray-grass est la seule espèce pour laquelle le Cd extractible est mesurable dans le sol rhizosphérique et c'est également l'espèce qui présente la plus forte augmentation de concentration en Cd dans sa biomasse après ajout des BE (voir III - C - Le cadmium dans la biomasse aérienne des plantes).

Tableau 8 : Cadmium extractible dans le matériau de surface et le sol rhizosphérique à la fin de l'expérimentation (mg Cd/kg de sol).

Les lettres en exposant sont les résultats de l'ANOVA : deux lettres identiques indiquent que les différences de Cd extractible ne sont pas significativement différentes.

		contrôle	BE	BE + sciure
L. perenne	matériau de surface		0,186 (0,055) ^a	0,288 (0,042) ^a
	sol rhizosphérique	0,00026 (0,0001) ^b	0,0078 (0,0016) ^a	0,0025 (0,0007) ^b
B. napus	matériau de surface		0,463 (0,105) ^a	0,412 (0,017) ^a
S. bicolor	matériau de surface		0,251 (0,095) ^a	0,536 (0,06) ^a
L. scoparium	matériau de surface		0,230 (0,118) ^a	0,531 (0,075) ^a
K. ericoides	matériau de surface		0,349 (0,077) ^a	0,441 (0,086) ^a
P. radiata	matériau de surface		0,352 (0,042) ^a	0,479 (0,033) ^a

1 - Matériaux de surface

Les concentrations en Cd en solution ne montrent pas de différences significatives entre les deux traitements (BE et BE + sciure ; Tableau 7). L'ajout de sciure aux BE n'a donc pas d'effets sur la solubilisation du Cd dans le matériau de surface.

Considérant que les différences entre les traitements ne sont pas significatifs, les concentrations en Cd dans la solution du matériau de surface est toujours de l'ordre de quelques dixièmes de mg Cd/kg de sol.

Il est important de noter que bien que les sols et matériaux de surface aient été mélangés avant leur application dans les pots, on ne peut ignorer une certaine hétérogénéité spatiale. Lors de la 'déconstruction' de l'expérimentation, il n'a pas été facile de séparer de façon très précise les matériaux de surface du sol rhizosphérique en raison du 'mélange' qui avait commencé à s'opérer dans cette zone de contact, des racines qui s'étaient également développées dans cette zone et surtout de difficultés physiques à séparer proprement ces deux compartiments.

2 - Sol rhizosphérique

L'effet de l'ajout des matériaux de surface est ici frappant pour le ray-grass car l'ajout de boues d'épuration a considérablement augmenté le Cd extractible mais l'ajout de sciure aux boues a largement modéré cette concentration (Figure 7), qui est près de quatre fois moins importantes que celle du sol ayant reçu les BE mais près de dix fois supérieures à celle du contrôle. La concentration en Cd extractible est de l'ordre de 30 fois supérieure dans le sol rhizosphérique qui a reçu les boues par rapport au sol du contrôle.

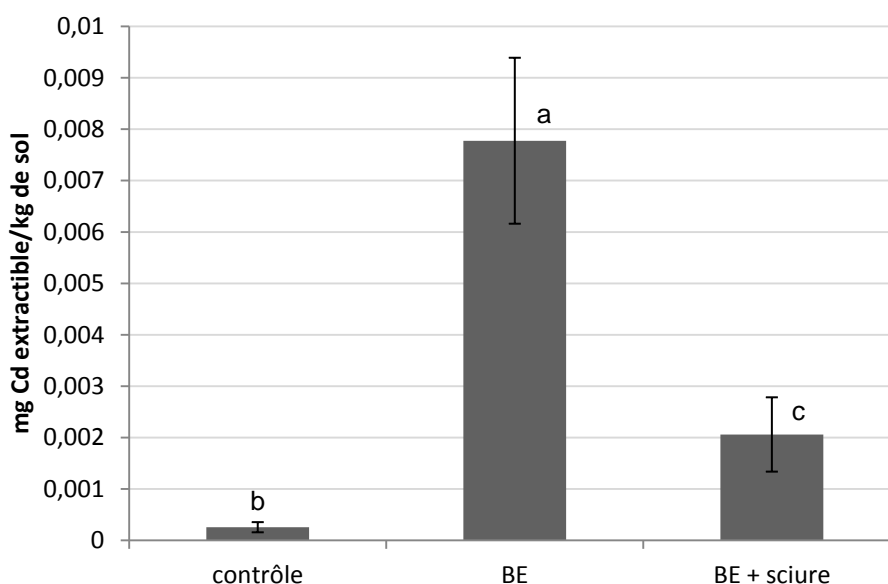


Figure 7 : Concentration en Cd extractible dans le sol rhizosphérique du ray-grass (mg Cd extractible/kg de sol).

3 - Lien entre le Cd extractible des matériaux de surface et le Cd extractible du sol rhizosphérique

L'extraction au $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ permet de déterminer le Cd qui peut facilement être solubilisé dans la solution du sol et par conséquent être absorbé par les plantes (l'absorption d'éléments par les plantes se fait principalement par voie soluble). Cela comprend l'ion Cd^{2+} qui est la forme la plus abondante et la plus facilement absorbée par les plantes mais aussi des espèces comme CdCl^- et Cd-OM qui sont cependant moins facilement absorbées par les plantes.

Par ailleurs, les résultats montrent que l'ajout de boues d'épuration en couverture du sol dans de telles proportions n'a qu'à impact limité sur la concentration en Cd total dans le sol rhizosphérique.

Tableau 8 : Effet théorique de l'ajout des boues d'épuration sur la concentration totale en cadmium du sol rhizosphérique.

	sol	BE
masse (kg)	10	0,485
Cd total (mg/kg)	0,197	4,88
Cd extractible (mg/kg)		0,166-0,463
masse Cd totale/pot (mg)	1,97	2,37
masse Cd extractible matériaux de surface (mg)		0,081-0,225

En effet, le Tableau 8 montre que bien qu'en considérant que la totalité du Cd extractible dans les boues d'épuration soit susceptible de s'accumuler dans le sol rhizosphérique, alors la concentration en Cd dans le sol rhizosphérique serait augmentée de 4% à 11% maximum (respectivement +0.081 et +0.225%).

III - C - Le cadmium dans la biomasse aérienne des plantes

Chaque plante à sa propre physiologie et ses propres interactions avec le sol rhizosphérique bien que les processus qui se déroulent dans cette zone soient similaires pour toutes les plantes. Leur capacité à absorber le Cd issus des boues d'épuration est très variable également (Singh and Agrawal 2008). Les exsudats racinaires et les absorptions de nutriments et autres éléments chimiques dépendent des besoins de la plante, de sa capacité à faire face à cet élément indésirable et aux conditions pédoclimatiques du milieu dans lequel la plante évolue.

Le Tableau 9 montre la masse totale de Cd accumulée dans les parties aériennes des plantes au cours de l'expérience. Les valeurs mesurées révèlent que l'ajout de BE augmente considérablement la quantité relative de Cd absorbée par la biomasse par rapport au contrôle mais ces valeurs restent très faibles, bien en dessous des valeurs présentant des risques sanitaires.

Tableau 9 : Masse totale de cadmium extraite par la biomasse aérienne (en mg).

	contrôle	BE	BE + sciure
<i>L. perenne</i>	0,0081	0,060	0,044
<i>B. napus</i>	0,0004	0,052	0,055
<i>S. bicolor</i>	0,0084	0,035	0,028
<i>L. scop.</i>	0,0098	0,024	0,017
<i>K. eric.</i>	0,0089	0,021	0,031
<i>P. rad.</i>	0,0200	0,052	0,040

1 - Espèces ligneuses

Toutes les concentrations exprimées dans cette partie sont exprimées en mg de Cd/kg matière sèche (MS).

Les matériaux de surface de BE et de BE + sciure n'ont pas d'effets par rapport aux contrôles sur la concentration en Cd dans les feuilles pour aucunes des trois espèces. Seules les concentrations dans les tiges montrent des différences significatives (Tableau 10) entre les traitements : la concentration en Cd dans ces tiges est de l'ordre de quelques dizaines de µg/kg. Ces concentrations sont extrêmement faibles et reflètent la faible concentration en Cd extractible du sol rhizosphérique.

Tableau 10 : Concentration en cadmium dans les différentes parties aériennes des trois espèces ligneuses en fonction de l'amendement (A) (exprimées en mg Cd/kg MS) et facteur d'augmentation de l'absorption du cadmium dans les tiges des trois espèces ligneuses (B).

Tableau (A) : les indices ^a et ^b sont les résultats des tests statistiques de l'ANOVA : deux lettres identiques indiquent que les variations entre traitements pour une même espèce ne sont pas significativement différentes.

Tableau (B) : 'n.s' signifie que l'augmentation de la concentration en Cd entre les traitements considérés n'est pas significative).

(A)

	contrôle	BE	BE + sciure
tiges			
<i>L. scop.</i>	0,0055 (0,0029) ^b	0,023 (0,002) ^a	0,015 (0,003) ^{ab}
<i>K. eric.</i>	0,0074 (0,0001) ^a	0,042 (0,003) ^a	0,100 (0,026) ^b
<i>P. rad.</i>	0,0082 (0,0009) ^b	0,016 (0,002) ^{ab}	0,027 (0,003) ^a
feuilles			
<i>L. scop.</i>	0,049 (0,002)	0,061 (0,009)	0,051 (0,002)
<i>K. eric.</i>	0,065 (0,015)	0,075 (0,010)	0,078 (0,014)
<i>P. rad.</i>	0,071 (0,010)	0,112 (0,037)	0,114 (0,016)

(B)

contrôle > BE			contrôle > BE + sciure		
<i>L. scop.</i>	<i>K. eric.</i>	<i>P. rad.</i>	<i>L. scop.</i>	<i>K. eric.</i>	<i>P. rad.</i>
x4.2	n.s	x2	x2.7	x13.5	x3.3

Les deux amendements ont des effets très significatifs sur les concentrations en Cd dans les **tiges**. Les concentrations dans les tiges qui ont reçu les amendements sont de l'ordre de 4 à 5 fois supérieures à celle du contrôle.

Bien que les concentrations soient significativement différentes entre les amendements, les effets de l'ajout de sciure sont très variables : la sciure diminue légèrement l'absorption du Cd pour le Mānuka et au contraire l'augmente pour le Kānuka et le pin. Le Kānuka se démarque de la tendance observée pour les deux autres espèces : l'ajout de sciure double la concentration dans les tiges (en dépit d'une erreur importante sur les mesures).

En ce qui concerne les variations inter-espèces, le Kānuka est l'espèce qui est la plus sensible au Cd pour les tiges.

On note donc que :

1. l'amendement de boues d'épuration a un réel impact sur l'absorption du Cd dans les tiges et que l'ajout de sciure augmente le Cd absorbé pour le Kānuka et le pin.
2. aucune différence significative ne sont observées entre les contrôles et les amendements en ce qui concerne l'absorption du Cd dans les feuilles.

2 - Espèces à usages agronomiques

En ce qui concerne la **biomasse** des ces plantes, les valeurs ne sont pas significativement différentes entre le contrôle et les deux amendements pour le colza mais pour le sorgho, les amendements engendrent une nette augmentation de la concentration en Cd (Tableau 11).

La forte concentration en Cd observée dans le contrôle colza est due à l'absence de croissance de ces contrôles. Par la demande évapotranspiratoire de la plante, le Cd s'est accumulé dans une biomasse qui est resté très faible en réponse à un stress probablement nutritif (la plante a probablement souffert d'une carence en soufre, un élément déterminant dans la croissance du colza qui en demande beaucoup) ce qui mène à de fortes concentrations en Cd dans ses parties aériennes.

Tableau 11 : Concentration en Cd dans les parties aériennes des espèces à usages agronomiques exprimées en poids secs. (^{n.s} signifie que les variations entre traitements ne sont pas significativement différentes).

On appelle biomasse les parties aériennes végétatives sans prendre en compte les graines et biomasse totale, l'ensemble des parties aériennes de ces plantes : biomasse totale = biomasse + graines.

	contrôle	BE	BE + sciure
BIOMASSE			
<i>B. napus</i>	0,286 (0,030) ^{n.s}	0,294 (0,029) ^{n.s}	0,338 (0,023) ^{n.s}
<i>S. bicolor</i>	0,049 (0,0017) ^b	0,133 (0,020) ^a	0,159 (0,018) ^a

GRAINES			
<i>B. napus</i>	x	0,058 (0,011)	0,054 (0,010)
<i>S. bicolor</i>	0,022 (0,009)	0,076 (0,039)	0,045 (0,022)
BIOMASSE TOTALE			
<i>L. perenne</i>	0,104 (0,016) ^b	0,378 (0,033) ^a	0,368 (0,033) ^a
<i>B. napus</i>	0.286	0.352	0.392
<i>S. bicolor</i>	0.071	0.209	0.204

Un classement des capacités d'accumulation du Cd par différentes familles végétales a distingué les familles peu accumulatrices de Cd comme les Légumineuses, les familles modérément accumulatrices comme les Graminées et Cucurbitacées et les familles fortement accumulatrices comme les Crucifères (Kuboi, Noguchi et al. 1986). Il n'est donc pas surprenant de voir que le colza (Crucifère) accumule beaucoup plus de Cd dans sa biomasse que le sorgho (Graminée) (Figure 8). Par ailleurs, le Cd s'accumule généralement davantage dans les feuilles puis dans les tiges et les graines (Kuboi, Noguchi et al. 1986).

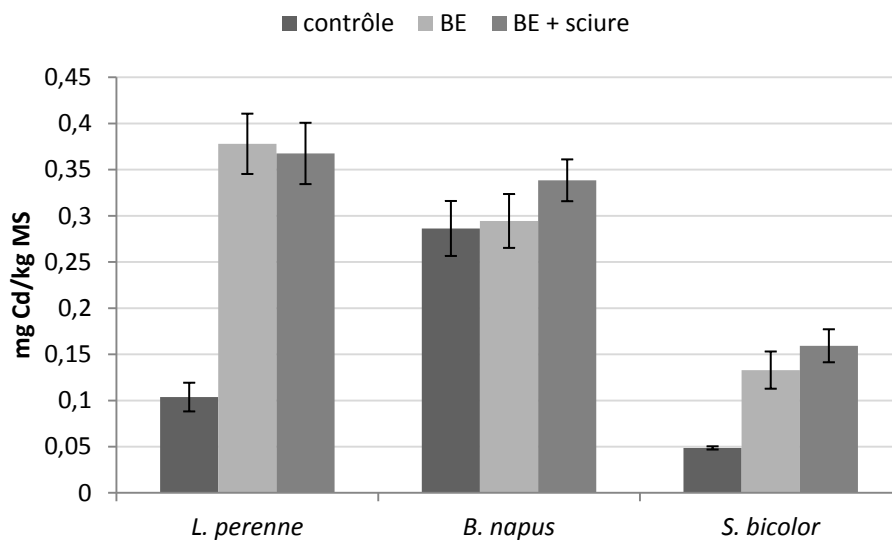


Figure 8 : Concentration en Cd dans la biomasse.

L'enrichissement en Cd dans le ray-grass est celui qui est le plus important. L'ajout de BE a provoqué une augmentation de la concentration de plus de trois fois et demi celle du contrôle. Ici encore, l'ajout de sciure n'a pas eu d'effet sur l'absorption du Cd dans la biomasse pour laquelle la concentration en Cd reste semblable à celle du seul ajout de BE.

L'espèce *L. perenne* représente un enjeu majeur car elle est largement cultivée dans de nombreuses régions tempérées et en NZ en particulier comme espèce de pâturage et l'utilisation systématique de fertilisants phosphatés provoque l'accumulation du Cd dans la biomasse : Taylor et al. ont mesuré une concentration moyenne de 0.43 mg Cd/kg de sol pâturé ayant reçu des fertilisants phosphatés alors

que la concentration moyenne mesurée dans les sols de NZ à été mesuré à 0.16 mg Cd/kg. L'épandage des boues d'épuration est donc à considérer en fonction du passé agricole des sols.

Cependant, les concentrations en Cd présentées ici sont exprimées par kilogramme de matière sèche (kg MS). Or si les BE sont appliquées au champ et que le champ est pâturé, il est nécessaire de considérer la masse fraîche (MF), ce qui limite la concentration par kilogramme pâturé. On a alors les concentrations suivantes exprimées en poids frais : 0.016, 0.054 et 0.051 mg Cd/kg de MF respectivement pour le contrôle, l'amendement de BE et l'amendement de BE + sciure.

Les variations de concentrations en Cd entre les traitements dans les **graines** ne sont significatives pour aucunes des plantes oléagineuses colza et sorgho (Tableau 11). Cela s'explique très probablement par les très importantes erreurs types observées. En effet, la préparation des graines avant leurs analyses est sujette à d'importantes variations car pour chaque graine, il est nécessaire de retirer l'enveloppe qui entoure la partie comestible des graines. L'enveloppe est un organe qui agit comme une barrière biologique à certains éléments toxiques que le xylème peut transporter. Elle contient donc des concentrations en Cd bien supérieures à la concentration des parties internes des graines car elle accumule et 'stock' le Cd dans ses tissus. Dans les procédés industriels, après que les grains aient été nettoyés, ils sont décortiqués pour ôter le péricarpe (l'enveloppe) qui n'est généralement pas consommé et considéré comme un déchet. Les grains peuvent alors être moulus. L'endosperme qui est la partie comestible des graines constitue 94% de l'huile contenue dans la graine entière (ONU_FAO 1993). Pour des raisons de faisabilité, nous avons fixé à 10 minutes le temps maximal passé sur chaque graine à retirer l'enveloppe. Néanmoins, la difficulté de cette opération mène très probablement à ces importantes erreurs types.

Cependant, en ce qui concerne les sorgho grains, sorgho grains ensilage et sorgho fourrager pour l'alimentation du bétail ou la production d'agrocaburants, la plante ou la graine entière est récoltée et il est alors nécessaire de prendre en compte la concentration totale en Cd de la plante.

En ce qui concerne la **biomasse totale** des espèces, les concentrations ne sont pas significativement différentes entre les contrôles et les amendements pour les deux plantes (Figure 9). Cela s'explique une fois encore par les erreurs types importantes sur les graines.

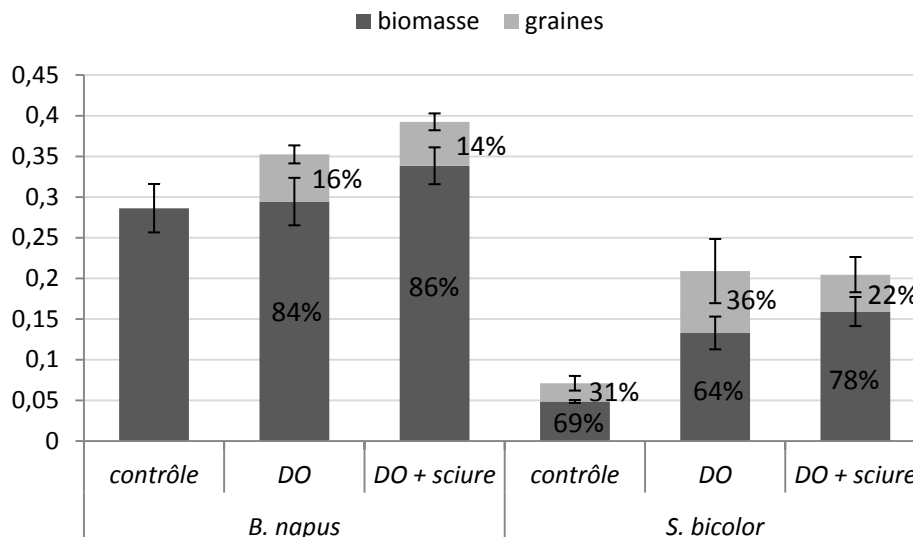


Figure 9 : Parts relatives des concentrations en Cd dans la biomasse et les graines des plantes oléagineuses.

Le fait que de multiples opérateurs aient travaillé sur la 'récolte' de l'expérience a probablement joué sur la variabilité des mesures : même si une tâche est effectuée de manière semblable par deux personnes, le risque de variabilité dans les résultats est toujours plus grand que si cette tâche est toujours effectuée par un même opérateur.

Par ailleurs, même si le broyage des parties végétales a été réalisé de façon à limiter au maximum la contamination des échantillons (broyage des échantillons de la plus faible concentration en Cd attendue vers la plus élevée ; nettoyage de la machine entre chaque échantillon : aspiration, dépoussiérage à l'air comprimé sous hotte aspirante ; nettoyage plus approfondi entre les différentes parties végétales d'une même espèce et entre les espèces végétales), le risque de contamination entre échantillons n'est pas à exclure. Cela peut expliquer en partie les importantes erreurs sur les résultats pour certaines mesures.

III - D - Confrontation des résultats au cadre réglementaire et législatif

La multitude d'organisations publiques de sécurité sanitaire qui proposent des valeurs limites ainsi que l'évolution des cadres législatifs rendent le travail de détermination des valeurs limites difficile, compte tenu du fait que ces valeurs sont propres à chaque type d'aliment ou à chaque partie comestible d'une plante. Le Tableau 12 (A) montre ce que la FAO et l'EFSA propose en ce qui concerne l'absorption du Cd par l'homme. Cependant ces chiffres varient en fonction du type d'être humain et de sa santé générale.

Le Tableau 12 (B) résume les concentrations limites dans les aliments proposées par les différentes organisations de sécurité alimentaire et sanitaire. Ce sont ces valeurs qui seront considérées ici pour déterminer si les parties végétales du colza et du sorgho ainsi que le pâturage du ray-grass sont à risques ou non (en considérant les conditions de l'expérience).

Tableau 12 : Cadre législatif et réglementaire des absorption du cadmium chez l'homme et des concentrations en cadmium dans les végétaux par la FAO, l'EFSA et l'ANSES.

(A)

	JECFA ¹	EFSA ² (groupe CONTAM ³)
Consommation limite	25 µg/kg de poids corporel et mensuel ⁴	2.5 µg/kg de poids corporel et hebdomadaire (2009)

¹ Joint FAO (Food and Agriculture Organisation of the United Nations)/WHO (World Health Organisation) Expert Committee on Food Additive

² European Food and Safety Authority (Autorité européenne de sécurité des aliments)

³ Groupe scientifique sur les contaminants de la chaîne alimentaire

⁴ WHO (in preparation). *Safety evaluation of certain food additives and contaminants in food*. Geneva, World Health Organization (WHO Food Additives Series, No. 64; <http://www.who.int/ipcs/publications/jecfa/monographs/en/index.html>) [summary in FAO/WHO (2010). *Summary and conclusions of the seventy-third meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Geneva, 8–17 June 2010*. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations; Geneva, World Health Organization (JECFA/73/SC; <http://www.who.int/entity/foodsafety/publications/chem/summary73.pdf>)]. Et alinorm 01/10 Annexe XIII PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES COMMISSION DU CODEX ALIMENTARIUS Vingt-quatrième session Genève (Suisse), 2 - 7 juillet 2001).

(B)

	FAO	EFSA ¹	ANSES ² (proposition 2011)
Aliment	Limite indicative (mg/kg)	TM ³ (mg/kg PF ⁴)	TM proposée (mg/kg PF)
Céréales, légumes secs (pois, haricots lentilles ...), légumineuses (étape 6 de la procédure)	0,1	0,1 ^{1,6}	0,075 (céréales)
Légumes (y compris pomme de terre)	0,05	0,05 (0.1 ⁶)	0,075
Légumes à feuilles (salades, choux ...)	0,2	0,2	0,15
Blé, céréales à grain, riz	0,2	0,2	0,1 (hors blé dur)
Graines oléagineuses (hors coquelicot : 1 ; graines de soja : 0.1 et graines pour la production d'huiles)			0,5 (TM EAT2 ⁵ graines oléagineuses : 0,017)

¹ According to Regulation (EC) No 1881/2006 latest amended by Regulation (EC) No 629/2008 in Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on cadmium in food. The EFSA Journal (2009) 980, 1-139.

² Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation : proposition faite suite à la réévaluation des TM par l'EFSA.

³ Teneur Maximale

⁴ Poids Frais

⁵ Etude de l'Alimentation Totale 2011

⁶ COMMISSION REGULATION (EC) No 629/2008 of 2 July 2008 amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in food.

En ce qui concerne les concentrations en Cd dans les plantes à destination de l'alimentation humaine, plusieurs limites impératives et limites 'guides' existent. Les valeurs les plus restrictives ici seront considérées, à savoir 0.075 mg/kg de poids frais (PF) pour les céréales (ANSES 2011).

Il est nécessaire d'exprimer les concentrations en Cd en PF pour les plantes oléagineuses et le ray-grass afin de pouvoir comparer les valeurs obtenues aux valeurs réglementaires (Tableau 133).

Tableau 13 : Concentration en Cd dans les différentes parties aériennes des plantes exprimées en mg de Cd par kg de masse fraîche.

	contrôle	BE	BE + sciure
FEUILLES/BIOMASSE			
<i>B. napus</i>	0,038	0,066	0,062
<i>S. bicolor</i>	0,015	0,014	0,014
GRAINES			
<i>B. napus</i>		0,019	0,018
<i>S. bicolor</i>	0,011	0,014	0,011
BIOMASSE TOTAL			
<i>B. napus</i>	0,038	0,085	0,080
<i>S. bicolor</i>	0,026	0,028	0,026

Les biomasse et biomasse totale ont toutes des concentrations inférieures à 0.1 mg/kg PF et sont donc conformes aux valeurs de recommandations de la FAO, aux valeurs réglementaires européennes ainsi qu'aux valeurs limites établies pour la Nouvelle-Zélande (Australian_Government_ComLaw 2013). En revanche, les concentrations dans la biomasse totale du colza lorsque le sol a reçu un amendement de BE et BE + sciure présentent des concentrations supérieures aux valeurs limites proposées par l'ANSES (respectivement 0.085 et 0.080 mg/kg PF) et ne sont donc pas propres à la consommation selon les propositions de cette organisation. Ici bien que l'ajout de sciure limite légèrement l'absorption du Cd, elle ne permet pas de rendre les graines propres à la consommation.

Les concentrations observées dans les graines de colza sont semblables voire inférieures aux concentrations observées lors de l'étude ETA2 de l'ANSES (Tableau 12 (B)) et sont donc comestibles tout comme celles du sorgho qui sont inférieures à ces valeurs.

En ce qui concerne les plantes utilisées comme plantes fourragères, la réglementation européenne fixe la concentration maximale en Cd à 1 mg Cd/kg d'aliments pour animaux d'une teneur en humidité de 12% (Commission Européenne 2002). Cependant, le document ne précise pas s'il s'agit d'une concentration pour un poids frais ou un poids sec. Il est donc difficile de pouvoir comparer les valeurs obtenues dans le cadre de cette expérience avec la réglementation en vigueur. Les concentrations en Cd dans la biomasse totale sont de 0.352 et 0.209 mg/kg de matière sèche pour les sols ayant reçu l'amendement de boues d'épuration, respectivement pour le colza et le sorgho. Dans les deux cas, les concentrations mesurées sont inférieures à cette limite mais la teneur en humidité de 12% pour ces mesures n'est pas respectée. Cependant si l'on considère la valeur limite de 1 mg Cd/kg pour les produits destinés à l'alimentation animale, tous les échantillons mesurés y sont inférieures et les cultures peuvent donc être utilisées comme plantes fourragères. Une étude du Cétiom de 2003 réalisée en France sur les graines et les tourteaux de colza et tournesol a révélé que plus de 90% des graines de colza ont des concentrations en Cd inférieures à 0.1 mg Cd/kg et plus de 90% des graines de tournesol ont des concentrations inférieures à 0.5 mg Cd/kg. Dans les tourteaux, toutes les mesures étaient inférieures à 0.2 mg Cd/kg pour le colza et 70% sont inférieures à 0.7 mg Cd/kg pour le tournesol. Aucune valeur ne dépassaient 1 mg Cd/kg (Dauguet 2006).

Pour le Mānuka et le Kānuka, aucune limite n'existe en Nouvelle-Zélande concernant les concentrations en Cd. Le Cd est pourtant transférable de la biomasse vers le miel de Mānuka : il a été montré que les concentrations en Cd dans du miel produit en Italie et les concentrations dans d'autres marqueurs biologiques comme la biomasse du trèfle (*Trifolium pratense*) sur le même site ont une relation linéaire (Leita, Muhlbachova et al. 1996, Przybyłowski and Wilczyńska 2001). Il serait également nécessaire d'établir un guide de valeurs limites à respecter dans la masse sèche du Kānuka et du pin pour pouvoir les utiliser sans aucun risque.

III - E - Bilan

L'ajout de boues d'épuration augmente considérablement la biomasse mais augmente aussi la concentration en Cd dans les parties végétales aériennes bien que chaque plante réagisse différemment. Le ray-grass répond le plus aux BE en raison de sa structure végétale et de son mode de croissance.

En revanche, les résultats de concentrations en Cd dans les différents compartiments végétaux des plantes confrontés aux valeurs limites recommandées ou réglementaires montrent que l'ajout de sciure aux BE n'est pas pertinent dans les conditions de l'expérience. En effet, alors que la sciure limite considérablement l'augmentation de biomasse dans presque tous les cas, les concentrations en Cd sont toujours inférieures aux limites (à l'exception des graines de colza).

D'autres amendements comme la lignite semblent plus pertinents pour limiter l'absorption du Cd par le ray-grass *L. perenne*. Simmler (2013) a montré que cet amendement permet de réduire l'absorption de manière significative sans pour autant réduire la biomasse. Cependant l'étude a été faite à partir de sol contenant du Cd issu de fertilisants phosphatés : dans ce contexte la spéciation du Cd peut être différente que celle de boues d'épuration (dans les fertilisants, le Cd est très complexé au soufre) (Simmler, Ciadamidaro et al. 2013).

IV - Discussion

Effets de l'ajout de sciure aux boues d'épuration.

L'ajout de sciure aux boues d'épuration n'a donc pas eu l'effet attendu de réduction de l'absorption du cadmium par les parties aériennes des plantes. La sciure n'a pas non plus eu l'effet attendu en ce qui concerne le cadmium extractible dans les matériaux de surface. Pourtant plusieurs études ont montré la pertinence de la sciure de bois pour adsorber le cadmium en solution. Deux études dont les caractéristiques principales sont rassemblées dans le Tableau 14 s'accordent sur le fait que l'efficacité de la sorption du Cd sur la sciure dépend des quatre principaux facteurs que sont le pH de la solution, le temps de contact, la concentration initial en Cd en solution et la concentration en sciure en suspension (Božić, Stanković et al. 2009, Semerjian 2010). Les deux études montrent que l'équilibre entre les phases solide et liquide est atteint très rapidement, en moins de 20 minutes et ce pour toutes les concentrations initiales en Cd considérées. En revanche, l'optimum de sorption du Cd sur la sciure est réalisé à des valeurs très différentes dans les deux études en ce qui concerne le pH et la concentration en sciure en suspension.

Tableau 14 : Comparaison des valeurs optimales des principaux paramètres influençant l'adsorption du Cd sur la sciure de bois entre deux études utilisant des sciures de différentes natures.

(A)

	matériau et traitement	temps de contact (10 g/l de sciure ; pH 9)	pH de la solution (5 mg Cd/l ; 20 g/l de sciure)	concentration en sciure en suspension (1-50 g/l)
(Semerjian 2010)	Sciure de pin d'Alep (<i>Pinus halepensis</i>) tamisée à 1.18 mm, lavée à l'eau distillée plusieurs fois et séchée à 100°C pendant 48 h.	10-20 min	9	10 mg/l (en 30 min pour [Cd]=5 mg/l)

(B)

	matériau et traitement	temps de contact (1-90 min)	pH de la solution	concentration en sciure en suspension (2-40 g/l)
(Božić, Stanković et al. 2009)	Sciure de hêtre (<i>Fagus sylvatica</i>), tilleul (<i>Tilia</i>) et peuplier (<i>Samsun clone</i>)	moins de 20 minutes (modèle de Langmuir)	3.5-5 (capacité d'adsorption de 7-8 mg/g de sciure)	40

L'étude de Božić (Tableau 18 **(B)**) met en avant d'autres paramètres qui influencent l'adsorption des métaux sur la sciure, au-delà du temps de contact et du pH initial : les différentes espèces d'ions en solution ont un effet sur l'adsorption des métaux. Les auteurs ont trouvé la sélectivité suivante : $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Fe}^{2+}$. Or dans notre étude, les boues d'épuration sont très riches en Zn, ce qui pourrait expliquer que le Cd ne se soit pas adsorbé sur la sciure. La taille des particules n'a pas influencé l'adsorption des métaux dans l'étude de Božić (testé pour les ions Cu^{2+} et avec de la sciure de tilleul) mais plus la concentration en sciure est importante et plus l'adsorption est importante.

Les deux études présentent globalement les mêmes conclusions quant à la pertinence de l'utilisation de sciure pour enlever le Cd d'une solution aqueuse. En revanche, l'étude de Božić révèle que le métal le plus facilement adsorbé est le Cu^{2+} lorsque plusieurs métaux sont présents dans la phase aqueuse. De petites différences dans les modalités d'adsorption des ions métalliques existent entre les différents types de sciure mais la tendance générale est similaire.

Le fait que l'on n'est pas observé de diminution du Cd en solution dans les sols peut également être dû à un effet tampon du sol : au fur et à mesure que la sciure adsorbe le Cd déjà présent en solution, ce qui se fait très rapidement, l'équilibre se rétablit entre la phase solide et la phase liquide. Semerjian a montré qu'une augmentation de la concentration en Cd en solution mène à une diminution du pourcentage de Cd adsorbé par la sciure. Entre 1 et 50 mg Cd/l, le taux d'extraction du Cd de la phase liquide sur la sciure est passé de 100% à 87% (pH 9 et 10 mg/l de sciure) et cette diminution a été attribuée à la saturation des sites d'adsorption pour une certaine concentration en Cd. La saturation de la sciure constituerait une explication possible à notre étude. Cependant, aux concentrations de Cd considérées (> 1 mg Cd/kg et plus de 350 g de sciure dans les matériaux de surface), il semble probable que la sciure se soit saturée. Une expérience en batchs d'adsorption du Cd sur de la sciure de *Pinus radiata* (35 g/l de sciure) réalisée à l'université de Lincoln en juin 2014 (Mamun S., Benyas E. 2014, pas encore publié) à différentes concentrations en Cd et différents pH a montré que pour les pH 3.5 et 5.1, les paliers sont atteints pour des concentrations en solution de 12 et 14 ppm Cd respectivement pour 170 et 220 ppm Cd adsorbés. A pH 6.5, le palier n'est pas clairement visible mais il est estimé vers 18-20 mg Cd/l pour 330 mg Cd/kg adsorbé. Ces données et celles de l'expérience de Semerjian sont bien supérieures aux concentrations en question dans notre expérimentation ici. L'explication la plus probable du fait que la sciure semble ne pas avoir adsorbé le Cd concerne donc les fortes concentrations en d'autres éléments traces, en particulier le Zn (plus de 1000 ppm dans les BE) et le Cu (700 ppm dans les BE).

Une étude a caractérisé de façon très précise une sciure de cèdre (*Deodar cedrus*) afin de définir une méthode qui permettrait de 'nettoyer des compartiments de l'environnement du Cd' (Memon, Memon et al. 2007). Le comportement cinétique et thermodynamique de la sciure a été étudié. Les résultats montrent que l'équilibre est très rapidement atteint et que la sciure présente de très grande capacité d'adsorption du Cd à l'instar des expériences citées ci-dessus. Par ailleurs, dans leur étude, la sciure a été séchée à 100°C pendant plusieurs heures avant d'être appliquée. Les résultats obtenus dans le cas de notre étude sont donc en contradiction avec les travaux de Memon (2007).

Effets des variations de pH

Le pH est un des facteurs principaux qui ont un effet sur l'équilibre solide/solution du Cd dans le sol. Pour certains sols, il explique presque la totalité des variations observées de cet équilibre : une étude faite sur un sol argilo-limoneux ayant reçu des boues pendant plus de 40 ans a montré que le pH explique plus de 90% des variations de Kd entre ce sol et le contrôle (Bergkvist, Berggren et al. 2005).

Le pH du sol rhizosphérique a diminué pour plusieurs plantes entre le contrôle et les pots ayant reçu les matériaux de surface. Le ray-grass et le colza présente des profils similaires avec des pH qui ont diminué de 0.2 et 0.4 unités respectivement ce qui favorise la solubilisation du Cd. Pour le ray-grass, le faible pH des boues a en effet solubilisé davantage de Cd ce qui s'est repercuté dans la concentration dans la biomasse. Le colza montre une légère augmentation de sa concentration en Cd dans sa biomasse en même temps que le pH du sol ayant reçu les amendements a diminué par rapport au contrôle. Pour le sorgho et du Mānuka, le pH ne montre pas de différences significatives entre le contrôle et les amendements ni entre les amendements entre eux. Le pH est inférieur à celui du sol au début de l'expérience d'environ 0.15 à 0.2 unités pour ces deux plantes.

On pouvait en effet s'attendre à une diminution du pH en raison des exudats racinaires des plantes (acides organiques) et en raison du faible pH des matériaux de surface. Ces résultats sont en désaccords avec ceux observés lors d'une expérience menée au champ pendant 2 ans après apports de différentes boues d'épuration et de fertilisants : dans l'étude en question, tous les sols ayant reçu le traitement 'biosolids' ('composted biosolids + bark' ; 'dewatered biosolids' ; 'composted biosolids + bark waste') ont vu leur pH diminuer après les 3 ans de l'expérimentation. En revanche, les sols ayant reçu le traitement 'biowaste' (composted waste from poultry and food processing industry') ont vu leur pH augmenter (Neilsen, Hogue et al. 1998). Cependant, il a aussi été observé des variations de pH en fonction du type de nutrition de la plante : une étude a montré que malgré un chaulage du sol, les plantes dont la nutrition implique l'ammonium et les nitrates ont acidifié leur sol rhizosphérique alors que les plantes dont la nutrition implique uniquement les nitrates ont alcalinisé leur sol rhizosphérique (Bravin, Martí et al. 2009). L'effet plante est donc à prendre en compte dans la variation du pH. Il est cependant surprenant que toutes les plantes montrent une évolution du pH similaire par rapport au pH initial du sol.

La tendance générale observée est donc une diminution du pH du sol rhizosphérique en présence de BE en surface par rapport au contrôle. Il est donc utile de suivre l'évolution du pH du sol pour déterminer s'il est nécessaire de chauler le sol pour augmenter le pH du sol et ainsi réduire l'adsorption des métaux par les plantes (Neilsen, Hogue et al. 1998).

Conditions pédoclimatiques

Dans l'étude menée ici, les pots ne contiennent pas de vers de terre qui peuvent pourtant jouer un rôle non négligeable dans la redistribution du Cd des matériaux de surface vers le sol rhizosphérique. Les anéciques sont en mesure de transporter du Cd ingéré ou fixé à leur épiderme et de l'amener en profondeur. La redistribution de matières organiques que les anéciques provoquent est également une autre source de

Cd vers la profondeur à partir des complexes Cd-MO. Une étude montre des résultats intéressants concernant la redistribution des ETM par deux types d'anéciques (*L. terrestris* et *N. giardi*) dans un sol ayant reçu un amendement de boues ; l'étude montre que le Cd est le seul ETM (parmi les quatre métaux étudiés Cu, Cd, Pb, Zn) pour lequel les concentrations dans les turricules et galeries de vers sont inférieures à la concentration du sol environnant (bien que ces résultats soient en contradiction avec d'autres études). Cela peut s'expliquer par la forte accumulation du Cd dans les tissus des vers ce qui limiterait l'excrétion du Cd dans les turricules ou galeries : il se peut aussi que le comportement alimentaire des vers implique des particules qui contiennent peu de Cd fixé si les concentrations en Cd du sol restent modérées. En revanche dans les galeries et turricules du sol soumis aux boues, la **disponibilité** du Cd a augmenté par rapport au témoin (jusqu'à 80 à 90% du Cd total est disponible dans ces microsites). Il y a donc redistribution et changements de spéciation du Cd dans ces microsites du à l'activité de ces deux anéciques en raison des variations de propriétés physiques, chimiques et biologiques dans ces microsites par rapport au sol et qui sont favorables à la disponibilité du Cd (Ablain 2002). Cependant, bien que les matériaux utilisés dans l'étude d'Ablain comme dans notre étude ici contiennent des concentrations non négligeables en Cd, le contexte n'est pas celui d'une pollution en Cd ; ainsi les vers ont encore à disposition des MO non contaminées par le Cd, ce qui limite les flux de métaux depuis les matériaux de surface vers le sol en profondeur pour le Cd (en revanche pour des métaux comme le Cu et le Zn, les effets sont plus significatifs).

Par ailleurs, l'amendement de boues d'épuration est à considérer avec la topographie également. De nombreuses zones de sylviculture se trouvent dans des zones vallonnées voir très vallonnées comme c'est le cas dans les Port Hills près de Christchurch (Canterbury) ou dans les Grampians au sud de Nelson (Nelson). L'épandage de boues sur de telles surfaces n'est pas pertinent car les matériaux risquent d'être transportés en bas de pente dès les premières pluies, qui plus est sur des sols sans couvert végétal. Un guide édité par la New Zealand Forest Research Institute (organisme public de recherche) répertorie les critères à respecter en ce qui concerne le choix du site d'épandage. Pour ce qui est de la pente, le guide recommande de ne pas appliquer de boues sur des pentes supérieures à 25° (Magesan 2010). Le rapport établit également des critères à prendre en compte comme les propriétés du sol, le type de végétation, la distance entre la source des boues et leur site d'épandage, la ressource en eau, la biodiversité, le climat mais aussi l'acceptation sociale avant la mise en place de l'épandage.

Utilisation de modèles

Au-delà des analyses de sols et de plantes comme cela a été fait dans cette étude, plusieurs modèles ont été testés pour prédire la concentration en éléments traces dans les plantes et ainsi déterminer une méthode moins coûteuse et plus rapide et simple à mettre en place. Baize D. et Tomassone R. (2003) ont déterminé un modèle qui prend un compte des paramètres relativement simples et qui donne de très bonnes corrélations pour les concentrations en Cd de grains de blé à partir des analyses de sol. Le Cd est l'élément pour lequel le modèle proposé donne les meilleurs résultats. Les entrées prennent en compte la teneur totale en Mn du sol, le Cd extractible au

DTPA et le Cd extractible au nitrate d'ammonium (qui peut être remplacé par le pH du sol). Le DTPA (complexant organique) solubilise les éléments échangeables et ceux complexés à la MO et aux hydroxydes de Al, Fe et Mn (Lebourg, Sterckeman et al. 1998). Le modèle consiste à étudier les relations entre les concentrations en Cd dans les grains de blé en fonctions des concentrations mesurées dans les sols par les deux solvants et pour la teneur totale en Mn du sol étudié (Baize D. 2003)

D'autres études récentes ont également étendu l'utilisation des modèles de transfert du sol à la plante (soil to plant transfer, STP) à tous les métaux susceptibles d'interférer avec la chaîne alimentaire. Ces modèles prennent en compte des paramètres clés du sol comme le pH, la CEC, les concentrations totales et disponibles en métaux du sol ainsi que les apports journaliers en métaux pour les animaux (bovins et ovins) et l'homme. Les résultats sont comparés ensuite aux valeurs limites en vigueur et aux différentes législations pour déterminer les transferts chez l'homme et les risques sanitaires éventuels (Rodrigues, Pereira et al. 2012).

V - Conclusion et perspective

L'ajout de boues d'épuration a donc fortement augmenté la biomasse de toutes les plantes comme cela était attendu ainsi que la concentration en Cd dans les compartiments végétaux. En revanche, l'ajout de sciure aux boues a limité l'augmentation de biomasse sans pour autant limiter la quantité de Cd absorbé par les plantes. Par ailleurs, les quantités de Cd mesurées dans la biomasse se sont avérées toujours inférieures aux valeurs limites sauf pour la biomasse aérienne totale du colza (exprimées en matière fraîche) ; ainsi l'ajout de sciure dans les conditions de l'expérience n'est pas pertinent.

Dans le cadre de cette étude, l'épandage des boues est destiné à être effectué une seule fois pour les trois espèces ligneuses, de façon à limiter les risques sanitaires potentiels. Cela permettrait en effet de régler une partie des problèmes de stockage de ces boues, de tirer parti de terrains dégradés et pour des entreprises, de tirer parti de plantes à hautes valeurs économiques tel que le Mānuka. En revanche, pour les espèces à usages agronomiques, l'épandage peut être amené à être réalisé à plusieurs reprises et dans cette optique, les risques d'absorption du Cd au-delà des concentrations réglementaires ou des concentrations 'guides' semblent bien plus importants en considérant le sol et les matériaux utilisés car le colza a déjà des concentrations supérieures aux limites établies par l'ANSES.

L'effet escompter de l'ajout de sciure était d'augmenter la teneur en matière organique du sol et ainsi limiter la solubilisation du Cd dans la solution du sol mais cela ne s'est pas réalisé. La sciure a été ajoutée humide aux boues d'épuration et cela a pu avoir un effet sur la solubilisation. Ensuite, la sciure utilisée ici est issue de plantation de pin de Monterey car elle s'est avérée la plus pertinente compte tenu du contexte sylvicole néo-zélandais. L'utilisation de sciures de différentes formes végétales et à différentes concentrations permettrait de comparer l'influence des constituants chimiques et de leurs propriétés (qualitativement mais aussi quantitativement) sur la capacité de la sciure à limiter l'absorption du Cd.

Les résultats obtenus ici sont donc encourageant dans la perspective de voir davantage de boues d'épuration épandues en ce qui concerne le Cd. Cependant, comme indiqué précédemment, d'autres contaminants minéraux et organiques peuvent s'avérer dangereux pour la santé humaine et animale. Il serait nécessaire de faire durer une telle expérimentation plus longtemps et au champ de façon à se placer en conditions réelles et intégrer des conditions pédoclimatiques réelles. Une étude plus approfondie est alors indispensable pour déterminer les risques éventuels d'accumulation d'autres polluants dans les sols. Il est important de mesurer également les concentrations en Cd dans les sols avant l'application de boues d'épuration : une très grande majorité des sols de Nouvelle-Zélande sont déficients en phosphate ce qui a mené le pays à une utilisation importante des fertilisants phosphatés naturellement riches en Cd ce qui élève les concentrations en Cd dans certaines régions à des niveaux préoccupants.

Références bibliographiques

Ablain, F. (2002). Rôle des activités lombriciennes sur la redistribution des éléments traces métalliques issus de boue de station d'épuration dans un sol agricole. UMR Ecobio, Université de Rennes: 153.

ADEME (2014). "Sites pollués et sols. Techniques de traitement. Sols pollués. Phytoextraction."

ADEME ; Agence de l'eau RMC et Recyval, S. (1995 ; 1998 ; 2000). "Composition moyenne des boues d'épuration épandues en agriculture en France."

Alloway, B. J. (2012). Heavy metals in soils ; trace metals and metalloids in soils and their behaviour. A. B.J. Reading (UK).

ANSES (2011). Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à la révision des teneurs maximales en cadmium des denrées alimentaires destinées à l'homme. Maison-Alfort, ANSES. **Saisine n° 2011-SA-0194**.

Australian_Government_ComLaw (2013). Australia New Zealand Food Standards Code - Standard 1.4.1 - Contaminants and Natural Toxicants. Australia. **F2013C00140**.

Baize D., T. R. (2003). "Modélisation empirique du transfert du cadmium et du zinc des sols vers les grains de blé tendre." Étude et Gestion des Sols **10**(4): 20.

Beesley, L. and M. Marmiroli (2011). "The immobilisation and retention of soluble arsenic, cadmium and zinc by biochar." Environmental Pollution **159**(2): 474-480.

Bergkvist, P., et al. (2005). "Cadmium Solubility and Sorption in a Long-Term Sludge-Amended Arable Soil." J. Environ. Qual. **34**(5): 1530-1538.

Black, A., et al. (2011). "Evaluation of soil metal bioavailability estimates using two plant species (*L. perenne* and *T. aestivum*) grown in a range of agricultural soils treated with biosolids and metal salts." Environmental Pollution **159**(6): 1523-1535.

Božić, D., et al. (2009). "Adsorption of heavy metal ions by sawdust of deciduous trees." Journal of Hazardous Materials **171**(1-3): 684-692.

Bravin, M. N., et al. (2009). "Rhizosphere alkalisation — a major driver of copper bioavailability over a broad pH range in an acidic, copper-contaminated soil." Plant and Soil **318**(1-2): 257-268.

Brown, S., et al. (2004). "In Situ Soil Treatments to Reduce the Phyto- and Bioavailability of Lead, Zinc, and Cadmium." J. Environ. Qual. **33**(2): 522-531.

Calvet, R. (2003). Le Sol, Propriétés et fonctions (tome 1).

Chaney (1990). "Public health and sludge utilization—food chain impact." BioCycle **31**: 5.

Commission-Européenne (2002). Proposition modifiée d'une directive (CEE) du conseil relative à l'utilisation des boues d'épuration en agriculture.

Commission_Européenne (2002). "Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council on undesirable substances in animal feed - Council statement."

Das, P., et al. (1997). "Studies on cadmium toxicity in plants: A review." Environmental Pollution **98**(1): 29-36.

Dauguet, S. (2006). Mise en place d'un plan de surveillance de la qualité sanitaire dans la filière des oléagineux. Journées Qualis. Bordeaux (France), Cétiom Pessac.: 16.

Davison, W. and H. Zhang (1994). "In situ speciation measurements of trace components in natural waters using thin-film gels." Nature **367**(6463): 546-548.

DCANZ (2014). "The Dairy Companies of New Zealand - Statistics New Zealand."

Dell'Amico, E., et al. (2008). "Improvement of Brassica napus growth under cadmium stress by cadmium-resistant rhizobacteria." Soil Biology and Biochemistry **40**(1): 74-84.

EPA (2000). Toxicological Profile for Cadmium. Draft for Public Comment. A. EPA's Integrated Risk Information System (IRIS). Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Public Health Service, GA. Atlanta, GA., U.S. Department of Health and Human Services.

gnis-pédagogie (2014). "Origines et caractéristiques du sorgho." from <http://www.gnis-pedagogie.org/sorgho-intro-caracteristiques-plante.html>.

Gray, C. and R. McLaren (2006). "Soil Factors Affecting Heavy Metal Solubility in Some New Zealand Soils." Water, Air, and Soil Pollution **175**(1-4): 3-14.

Green, C. E., et al. (2003). "Interactions Between Cadmium Uptake and Phytotoxic Levels of Zinc in Hard Red Spring Wheat." Journal of Plant Nutrition **26**(2): 417-430.

Hahner, J. L., et al. (2013). "The Phytoremediation Potential of Native Plants on New Zealand Dairy Farms." International Journal of Phytoremediation **16**(7-8): 719-734.

Hodgson, T. J. (1981). "Growing Media for Container Nurseries: An Interim Statement." South African Forestry Journal **117**(1): 34-36.

Jackson, A. P. and B. J. Alloway (1992). "The transfer of cadmium from agricultural soils to the human food chain."

Kirkham, M. B. (2006). "Cadmium in plants on polluted soils: Effects of soil factors, hyperaccumulation, and amendments." Geoderma **137**(1-2): 19-32.

Kuboi, T., et al. (1986). "Family-dependent cadmium accumulation characteristics in higher plants." Plant and Soil **92**(3): 405-415.

Kukier, U., et al. (2004). "The effect of pH on metal accumulation in two Alyssum species." Journal of Environmental Quality **33**(6): 2090-2102.

Kulling, D., Stadelmann, F., Herter, U. (2001). Sewage Sludge – Fertilizer or Waste? UKWIR Conference. Brussels.

Lassoued (2012). L'effet des boues d'épuration (liquides et sèches) sur l'absorption des métaux lourds par le ray grass (Lolium Perenne). 4^e Conférence sur les Techniques Analytiques Nucléaires et Conventionnelles et leurs Applications (TANCA 2012). Rabat (Morocco).

Lebourg, A., et al. (1998). "Trace Metal Speciation in Three Unbuffered Salt Solutions Used to Assess their Bioavailability in Soil." J. Environ. Qual. **27**(3): 584-590.

Leita, L., et al. (1996). "Investigation of the use of honey bees and honey bee products to assess heavy metals contamination." Environmental Monitoring and Assessment **43**(1): 1-9.

Lenntech (2014). "Tableau périodique : Cadmium-Cd."

Lux, A., et al. (2011). "Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review." Journal of Experimental Botany **62**(1): 21-37.

Magesan, G. N., Wang H., Clinton P. (2010). Best management practices for applying biosolids to forest plantations in New Zealand. . S.-N. g. biomaterials: 42.

Martin-Garin, A., Simon, O. (2004). Fiche radionucléide Cd 109 et environnement. Direction de l'environnement et de l'intervention - Service d'étude du comportement des radionucléides dans les écosystèmes.: 14.

Martinez F., C. C., Teresa W., Iglesias I. (2002). Urban organic wastes effects on soil chemical properties in degraded semiarid ecosystem. Seventeenth WCSS, Symposium No. 20. Thailand: 9.

McBride, M., et al. (1997). "Solubility control of Cu, Zn, Cd and Pb in contaminated soils." European Journal of Soil Science **48**(2): 337-346.

Memon, S. Q., et al. (2007). "Sawdust—A green and economical sorbent for the removal of cadmium (II) ions." Journal of Hazardous Materials **139**(1): 116-121.

MfE (2003). Guideline for safe application of biosolids to land in New Zealand. . N. Z. W. a. W. Association., Ministry for the Environment 183.

mia (2014). "Meat Industry Association of New Zealand (Inc) - Industry Statistics."

Ministère de l'écologie, d. l. é., du développement durable et de la mer. (2009). Recueil de textes sur l'assainissement : textes techniques relatifs à l'épandage des boues d'épuration résultant du traitement des eaux usées domestiques. , Direction générale de l'aménagement, du logement et de la nature ; Direction de l'eau et de la biodiversité: 43.

Monbet, P. and M. Coquery (2003). Approches analytiques pour l'évaluation de la biodisponibilité des métaux dans les milieux aquatiques. Rapport technique. u. C. A. e. E. INERIS: 46.

MPI (2014). "High performance Manuka plantations." from <http://www.mpi.govt.nz/agriculture/funding-programmes/primary-growth-partnership/high-performance-Mānuka-plantations>.

Nandakumar K., R. S., Rajarajan A., Savarimuthu E; (1998). "Suitability of Dindigul town's sewage sludge for field application: nutritional perspective. ." Pollut. Res. **17**(1): 4.

Neilsen, G. H., et al. (1998). "Evaluation of organic wastes as soil amendments for cultivation of carrot and chard on irrigated sandy soils." Canadian Journal of Soil Science **78**(1): 217-225.

Oleszczuk, P. (2006). "Influence of different bulking agents on the disappearance of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) during sewage sludge composting." Water, Air, and Soil Pollution **175**(1-4): 15-32.

ONU_FAO (1993). "Le sorgho et les mils dans la nutrition humaine." (Hubbard Hall et Earle 1950).

Pari, G., et al. (2003). A Flat kiln and utilization of sawdust charcoal: Its capacity as a soil conditioner and for carbon storage F. J. I. C. A. U. o. K. Forest Product Technology Research and Development Center, Short-tern expert from JICA.

Parkpain, P., et al. (1998). "Heavy metals and nutrients chemistry in sewage sludge amended Thai soils." Journal of Environmental Science and Health, Part A **33**(4): 573-597.

Pinto, A. P., et al. (2004). "Influence of organic matter on the uptake of cadmium, zinc, copper and iron by sorghum plants." Science of The Total Environment **326**(1-3): 239-247.

Prosser, J. A. (2011). Msc thesis : Mānuka (*Leptospermum scoparium*) as a remediation species for biosolids amended lands. , Massey University, New Zealand: 162.

Przybyłowski, P. and A. Wilczyńska (2001). "Honey as an environmental marker." Food Chemistry **74**(3): 289-291.

Ramulu, U. S. S. (2002). "Reuse of municipal sewage and sludge in agriculture." Scientific publishers, Jodhpur, India.

Robinson (2014). Upatke of Cd by roots in the rhizosphere soil. Lincoln University.

Robinson, B. (2012). Closing the loop: biosolids to rebuild degraded soils. Lincoln University, New Zealand: 41.

Rodrigues, S. M., et al. (2012). "Soil–plant–animal transfer models to improve soil protection guidelines: A case study from Portugal." Environment International **39**(1): 27-37.

Rossi, G., et al. (2002). "Capability of Brassica napus to Accumulate Cadmium, Zinc and Copper from Soil." Acta Biotechnologica **22**(1-2): 133-140.

Salisbury F.B., R. C. W. (1992). Cells: Water, Solution and Surfaces. Plant physiology. Belmont (California, USA), Wadsworth Publishing Company. **4th edition**: 184.

Sánchez-Monedero, M. A., et al. (2004). "Land application of biosolids. Soil response to different stabilization degree of the treated organic matter." Waste Management **24**(4): 325-332.

Sauvé, S., et al. (2003). "Solid–Solution Partitioning of Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn in the Organic Horizons of a Forest Soil." Environmental Science & Technology **37**(22): 5191-5196.

Semerjian, L. (2010). "Equilibrium and kinetics of cadmium adsorption from aqueous solutions using untreated Pinus halepensis sawdust." Journal of Hazardous Materials **173**(1–3): 236-242.

Simmler, M., et al. (2013). "Lignite Reduces the Solubility and Plant Uptake of Cadmium in Pasturelands." Environmental Science & Technology **47**(9): 4497-4504.

Singh, R. P. and M. Agrawal (2008). "Potential benefits and risks of land application of sewage sludge." Waste Management **28**(2): 347-358.

Van Cappellen, P., et al. (1993). "A surface complexation model of the carbonate mineral-aqueous solution interface." Geochimica et Cosmochimica Acta **57**(15): 3505-3518.

Zhang, H. (2003). DGT - for measurement in waters, soils and sediments. . D. Ltd. Skelmorlie, Quernmore, Lancaster LA2 0QJ, UK.

Zhang, H. and W. Davison (1995). "PERFORMANCE-CHARACTERISTICS OF DIFFUSION GRADIENTS IN THIN-FILMS FOR THE IN-SITU MEASUREMENT OF TRACE-METALS IN AQUEOUS-SOLUTION." Analytical Chemistry **67**(19): 3391-3400.

Zhang, H. and W. Davison (2001). "In situ speciation measurements. Using diffusive gradients in thin films (DGT) to determine inorganically and organically complexed metals." Pure and Applied Chemistry **73**(1): 9-15.

Annexes

Annexe 1 : Propriétés générales du cadmium (Cd).

Annexe 2 : Photographies de l'expérience en pot réalisée sous une serre de l'université de Lincoln.

Annexe 3 : Carte de la Nouvelle-Zélande indiquant les lieux de provenance des boues d'épurations, de la sciure de bois (respectivement Kaikoura et Christchurch, île du Sud) et du sol (Masterton) (île du Nord).

Annexe 4 : Informations théoriques sur le fonctionnement des machines analytiques utilisées.

Annexe 5 : Détails des augmentations du poids de la biomasse en fonction des matériaux de surface.

Annexe 6 : Détermination de la disponibilité en métaux du sol par Diffusive Gel Transfer (DGT) pour confronter et affiner les résultats obtenus par extraction au nitrate de calcium ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$).

Annexe 1 : Propriétés générales du cadmium (Cd).

Numéro atomique	48
Nombre d'oxydation	+2
Masse atomique	112.4 g/mol
Masse volumique	8.7 g/cm ³ (à 20°C)
Température de fusion	321 °C
Température d'ébullition	767 °C
Rayon atomique	0.154 mm
Configuration électronique	4d ¹⁰ 5s ²
Energies de première et deuxième ionisation	866 - 1622 kJ/mol

Annexe 2 : Photographies de l'expérience en pot réalisée sous une serre de l'université de Lincoln.

A gauche, l'expérience dans son ensemble ; à droite, le système d'irrigation d'un pot (ici du colza ayant reçu ici des boues d'épuration mixées à de la sciure de pin).



Annexe 3 : Carte de la Nouvelle-Zélande indiquant les lieux de provenance des boues d'épurations, de la sciure de bois (respectivement Kaikoura et Christchurch, île du Sud) et du sol (Masterton) (île du Nord).

Annexe 4 : Informations théoriques sur le fonctionnement des machines analytiques utilisées.

Principe du fonctionnement de l'analyseur C/N Elementar Vario MAX CN :

La machine fonctionne selon le principe de la combustion en tube catalytique sous oxygène et à haute température (800°C). Les gaz de combustion (CO₂ et NO₂) sont ensuite réduits à travers une colonne de tungstène et d'oxyde de cuivre (photographie ci-dessous à gauche) et séparés des autres gaz. L'humidité résiduelle de ces gaz est ôtée (les gaz passent dans des colonnes de dessiccation : photographie ci-dessous à droite) avant qu'ils ne soient séparés entre eux dans des colonnes d'adsorption spécifique puis détectés l'un après l'autre par un capteur de conductivité thermique. L'hélium est le gaz de transport à travers les différentes unités de la machine.



Principe du fonctionnement de l'analyseur ICP-OES Varian 720 ES (photographie ci-dessous) :

La technique Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry (ICP) est une méthode d'analyse chimique élémentaire. Une fois les échantillons végétaux traités par digestion acide, le passeur automatique envoie un volume défini par une pompe péristaltique dans un tube de verre au bout duquel il traverse une flamme (le gaz utilisé est de l'argon Ar). Les solutions de calibrations des métaux qu'on souhaite analysés sont également diffusées à travers le plasma. Une chaîne de réaction physico-chimique se produit pour émettre des atomes ou des ions à partir de l'échantillon. La solution est d'abord mise sous forme nébuleuse à travers le plasma (1) ; l'aérosol doit ensuite être évaporé pour former de fines particules de soluté sec (2) ; ces particules doivent alors être vaporisées (3) puis les molécules dissociées en atomes libres (4). Les atomes libres sont ensuite excités sous formes d'ions. Les ondes émises par les éléments contenus dans l'échantillon sont ensuite dirigés vers des miroirs et analysés par un détecteur CCD.

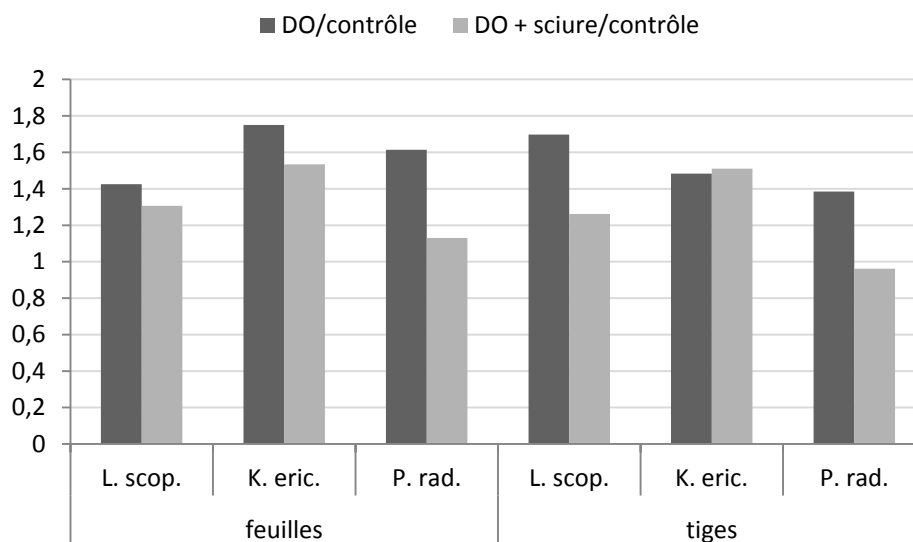
Le principe de cette méthode repose sur la structure atomique des éléments. Connaissant la longueur d'onde à laquelle chaque élément émet pour une certaine excitation, on détermine la concentration de l'élément sachant que l'intensité des pics observés sur les spectres est proportionnelle à la concentration de cet élément dans l'échantillon.



Annexe 5 : Détails des augmentations du poids de la biomasse en fonction des matériaux de surface.

Espèces ligneuses

Toutes les parties végétales présentent une augmentation de leur biomasse lorsque les boues dépurées sont appliquées sur le sol. Des variations intra et interspécifiques existent mais la tendance générale montre que la sciure limite l'augmentation de biomasse, parfois même jusqu'à annuler complètement l'effet des BE comme c'est le cas pour le pin (figure ci-dessous).



Facteur d'augmentation du poids de la biomasse pour les différentes parties végétales aériennes des trois espèces ligneuses entre les deux types de matériaux de surface et les contrôles.

Les feuilles de Kānuka présentent un ratio supérieur à celui du Mānuka, ce qui en fait l'espèce la plus intéressante pour la production d'huile essentielle (tableau ci-dessous) car l'huile essentielle de Mānuka et Kānuka est obtenue par distillation à la vapeur d'eau des feuilles de ces arbres. En revanche si le Mānuka présente le plus fort rendement des parties ligneuses, c'est le pin qui sera privilégié pour la sylviculture : l'ajout de boues d'épuration permet de multiplier par un facteur 1.4 le rendement des parties ligneuses de cette espèce.

Augmentation de la biomasse (en pourcentage) des parties végétales aériennes des trois espèces ligneuses : ↗ symbolise une augmentation et ↘ une diminution. 'n.s' signifie que les différences de biomasse ne sont pas significativement différentes.

	contrôle > BE (% ↗)			contrôle > BE + sciure (% ↗)		
	<i>L. scop.</i>	<i>K. eric.</i>	<i>P. rad.</i>	<i>L. scop.</i>	<i>K. eric.</i>	<i>P. rad.</i>
feuilles	42	75	61	30	53	13
tiges	70	48	38	26	51	n.s

Plantes oléagineuses

L'ajout de sciure limite considérablement la croissance des **graines** du sorgho (*S. bicolor*) par rapport au simple amendement de boues d'épuration (table ci-dessous). Il n'y a pas de données pour le colza car aucunes graines n'ont été récoltées pour le contrôle (x).

Augmentation de la biomasse (en pourcentage) des parties végétales aériennes des trois espèces à usages agronomiques : ↗ symbolise une augmentation et ↘ une diminution.

	contrôle > BE (% ↗)			contrôle > BE + sciure (% ↗)		
	<i>L. perenne</i>	<i>B. napus</i>	<i>S. bicolor</i>	<i>L. perenne</i>	<i>B. napus</i>	<i>S. bicolor</i>
biomasse	89	x	31	41	x	6
graines	x	x	371	x	x	120

Pour le colza, l'ajout de sciure n'a pas d'effet sur la **biomasse** par rapport à l'amendement de boues d'épuration seul et le contrôle n'a que très peu poussé : on ne peut donc pas mesurer l'augmentation de biomasse de façon pertinente.

En ce qui concerne la biomasse du sorgho, l'ajout de boues d'épuration est donc pertinent pour augmenter les rendements et utiliser cette plante comme plante fourragère ou plante à destination de la production d'agrocarburants (au-delà d'autres problèmes environnementaux et sociaux que l'utilisation peut engendrer et qui ne seront pas discutés ici). Le rendement des graines est lui aussi fortement augmenté ce qui est intéressant pour la production d'huile alimentaire et de farine. L'augmentation du poids de la biomasse du ray-grass est également très intéressante d'un point de vue agronomique pour le pâturage.

Annexe 6 : Détermination de la disponibilité en métaux du sol par Diffusive Gel Transfer (DGT) pour confronter et affiner les résultats obtenus par extraction au nitrate de calcium ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$).

Les notes suivantes sont le fruit du travail effectué pour maîtriser la méthode de DGT, autant la pratique que la théorie, avant de pouvoir déployer des sondes dans les sols et être capable de comprendre et analyser les résultats. Les résultats concernant le déploiement des sondes dans les sols n'ont pas pu être acquis avant l'écriture de ce rapport et feront l'objet d'une note complémentaire ultérieurement.

La technique nécessite un temps d'apprentissage de la façon dont couler les gels et monter les sondes, ainsi que déployer des sondes et analyser les résultats pour déterminer la qualité du déploiement (cohérence des résultats entre les sondes et entre les sondes et les concentrations que l'on cherche à mesurer). La première phase d'apprentissage à consister à déployer les sondes dans une solution de phosphore pour ensuite lors d'une seconde phase, les déployer dans une solution de métaux (Cd, Ni, Pb et Zn à 10 ppb). Cela permet de s'assurer que le déploiement dans les sols qui est plus onéreux tant au niveau des matériaux utilisés que des analyses soit le plus 'propre' possible.

La méthode de DGT va permettre de compléter les données fournies par les extractions au $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. L'apport principal de la DGT concerne la disponibilité du Cd en terme qualitatif : il permet de déterminer sous quelles spéciations le Cd se trouve disponible dans le sol, notamment la proportion de complexe entre le Cd et la matière organique Cd-OM.

Principes de la technique ; matériel et méthode.

La technique de DGT vise à mesurer la concentration en métaux présents dans la solution de compartiments de l'environnement (eau, sol, sédiments) et d'en étudier la spéciation. Cette méthode peut être appliquée à des environnements dont la concentration est homogène ou bien mélangée comme les cours d'eau ou plan d'eau et des environnements pour lesquels il existe une certaine hétérogénéité comme les sols et les sédiments. La technique a été mise au point en 1994 par Davison W. et Zhang H. à l'université de Lancaster, UK et repose sur les principes de diffusion des particules à travers un gel de diffusion et accumulation des éléments traces métalliques sur une résine. Tous les protocoles sont issus des travaux de ces deux chercheurs.

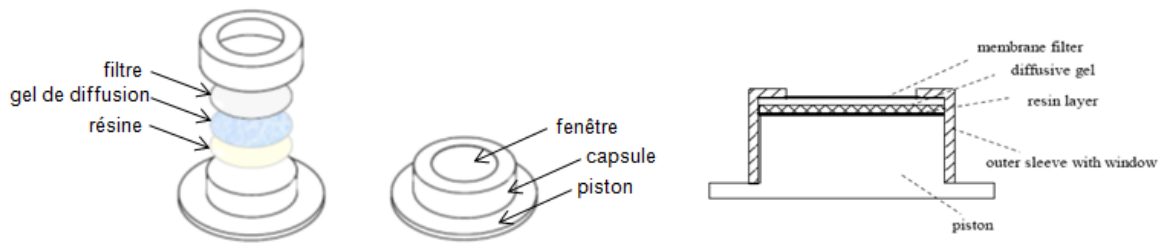


Schéma d'une sonde de DGT (à gauche) (Monbet and Coquery 2003) et vue en coupe (à droite)(Zhang 2003).

Le matériel et l'environnement utilisés pour la fabrication des gels et le montage des sondes (figure ci-dessus) doit être le plus propre possible et exclure toute contamination possible des sondes par des sources de métaux (machines, outils ou autres équipements qui contiennent des taches de rouilles ...). Le matériel est rincé dans deux bains d'acide nitrique à 10% avec rinçage à l'eau ultra pure entre chaque bain. Seules des boîtes de plastiques blanc sont utilisées pour rincer le matériel.

Protocoles de fabrication des gels et montage et déploiement des sondes en solution de P.

Les protocoles sont inspirés de ceux développés par Zhang et Davison depuis les années 2000 à l'université de Lancaster, UK. Les gels de diffusion et les résines sont préparés à partir d'une solution de gel contenant une solution d'acrylamide (40%), un gel liant DGT (2%) dans les proportions suivantes : 15 ml de gel liant, 47.5 ml d'eau ultra-pure et 37.5 ml de solution acrylamide.

La préparation des gels de diffusion se fait à partir de 10 ml de la solution ci-dessus, 70 μ l de persulfate d'ammonium (APS, 10%) et 25 μ l de N, N, N'-Tetramethylethylenediamine (TEMED), 99%. Cette préparation est ensuite pipetée entre 2 plaques de verres rectangulaires entre lesquelles l'épaisseur est de 0.8 mm. Les plaques sont ensuite placées au four à 46°C pendant 85 min avant d'être placées dans un bain de nitrate de sodium 0.1 mol/l (M) (NaNO_3 0.1M) après rinçage à l'eau ultra-pure.

La préparation des résines se fait à partir de 10 ml de la première solution de gel mentionnée, 1 g de Metsorb, 60 μ l d'APS et 15 μ l de TEMED. De même, la préparation est pipetée entre deux plaques de verre carrées dont entre lesquelles l'épaisseur est de 0.4 mm. Une fois passées au four à 46°C, les résines sont conservées dans des bains de 0.1M NaNO_3 .

Le montage des sondes se fait selon le schéma ci-dessus. Le découpage des gels de diffusion et des résines est effectué avec un gabarit de façon à ce qu'ils se placent parfaitement bien les uns sur les autres et recouvrent toute la surface du piston. Au bout de 24 heures (ou plus en fonction des conditions de déploiement), les résines sont extraites des sondes et éluées dans une solution d'acide nitrique à 1 M. Les dosages pour déterminer les quantités d'ions métalliques accumulées sur la résine sont effectués par ICP-OES (Zhang and Davison 2001).

Pendant la durée des manipulations, des ajustements ont constamment été opérés pour limiter les contaminations éventuelles. En particulier, les bains d'acides présentaient de fortes concentrations en Zn probablement dû au processus de remplissage de la cuve d'eau distillée. Les bains d'acides ont donc été changés et des protections supplémentaires mise en place lors du remplissage de la cuve. Par ailleurs, suite aux difficultés à couler les résines entre les plaques de verres, l'acrylamide a été changée et les manipulations se sont avérées être plus faciles et propres.

Il est important de noter que bien le matériel utilisé et les protocoles suivis ont respectés les exigences de l'analyse d'éléments traces métalliques en laboratoire, le laboratoire dans lequel les manipulations ont été effectuées n'est pas un laboratoire Class-350. Dans un tel laboratoire, un flux d'air laminaire traverse le laboratoire de façon homogène et l'air entrant passe à travers un filtre à particule. Les préparations ont cependant été préparées sous hotte de Class 3.5. Dans un tel laboratoire, des chaussures de laboratoire ainsi qu'une résille doivent être portées. Pour limiter toute contamination, les blouses utilisées sont propre au laboratoire et n'en sorte pas et sont en polypropylène. Les parties métalliques de la pièce ont été peintes pour limiter la diffusion de particules métalliques dans la pièce.

Fondements théoriques

Le principe expérimental est sensiblement le même dans les différents compartiments de l'environnement étudiés mais les principes théoriques sous-jacents pour calculer la concentration effective dans l'environnement sont différents.

- Pour l'étude de la concentration en ETM dans un environnement relativement homogène le principe théorique repose sur la première loi de Fick :

$$F = D_{ETM} \frac{C_{sol}}{\Delta_g + \Delta_f} [1]$$

où

F est le flux de Cd à travers le gel de diffusion ($\text{mg}/\text{cm}^2/\text{s}$)

D_{ETM} est le coefficient de diffusion de l'élément trace métallique (ETM) dans le gel (dépend de la température et du milieu de diffusion) (cm^2/s)

C_{sol} est la concentration en éléments dans la solution (mg/l)

Δ_g est l'épaisseur du gel de diffusion (cm)

Δ_f est l'épaisseur du filtre (cm)

A partir de l'équation [1], on peut alors exprimer la C_{sol} en fonction du flux :

$$C_{sol} = \frac{F \times (\Delta_g + \Delta_f)}{D_{ETM}} [2],$$

On détermine F en l'exprimant en fonction de la masse de métal accumulé sur la résine :

$$F = \frac{M}{A \times t}$$

où M (mg) est la masse de métal accumulée sur la résine de surface A (la surface de la fenêtre est 2.54 cm^2) pendant un temps de déploiement des sondes t (s).

Les sondes sont constituées d'une couche de résine chélatante Chelex-100® de 0.04 cm d'épaisseur (résine de Metsorb pour l'analyse en solution de phosphore) sur laquelle se superpose une couche de gel perméable d'épaisseur 0.08 cm et de taille de pores définies ; un filtre d'épaisseur 0.014 cm repose sur ces deux couches pour empêcher toute particule colloïdale de diffuser à travers le gel. Cette couche de gel limite la vitesse d'accumulation des métaux sur la résine imitant ainsi l'absorption des métaux par les racines d'une plante et permet de définir un gradient de concentration au sein du gel. Les ETM sont accumulés et fixés sur la résine de façon linéaire et quantitative avec le temps. On mesure directement un flux moyen d'espèces labiles le temps du déploiement de la sonde et ce flux peut être directement interprété comme la concentration moyenne de métal labile à l'interface entre la surface de la sonde et le sol pendant le temps de déploiement de la sonde. La vitesse d'accumulation des métaux sur la résine est proportionnelle à la concentration de l'élément en question dans l'environnement extérieur. Entre le gel et la solution il existe une couche limite de diffusion (Diffusive Boundary Limit, DBL) ; dans le milieu naturel, celle-ci est généralement négligeable par rapport à la couche de gel est peut-être négligée (Davison and Zhang 1994, Zhang and Davison 1995).

- Lorsque les sondes déployées dans un milieu hétérogène comme du sol ou des sédiments, c'est la seconde loi de Fick qui s'applique au système.

La concentration en ETM n'est pas la même en tout point de la solution du sol en raison de la phase solide. En raison de l'hétérogénéité du sol, la concentration en ETM de la solution du sol diminue au niveau de l'interface sonde/sol et varie avec le temps ce qui implique d'intégrer ces variations.

Le flux est alors déterminé en utilisant la deuxième loi de Fick ; $F = D_{ETM} \frac{\partial c(t,x)}{\partial x}$ et la

concentration est obtenue par $\frac{\partial c}{\partial t} = D_{ETM} \frac{\partial^2 c}{\partial x^2}$.

On peut également exprimer le flux par $F = \frac{M}{A \times t}$ mais on a alors $F = \frac{(C_A - C_B) \times D_e}{\Delta}$

où

C_A est la concentration en ETM dans la solution au point A (mg/l)

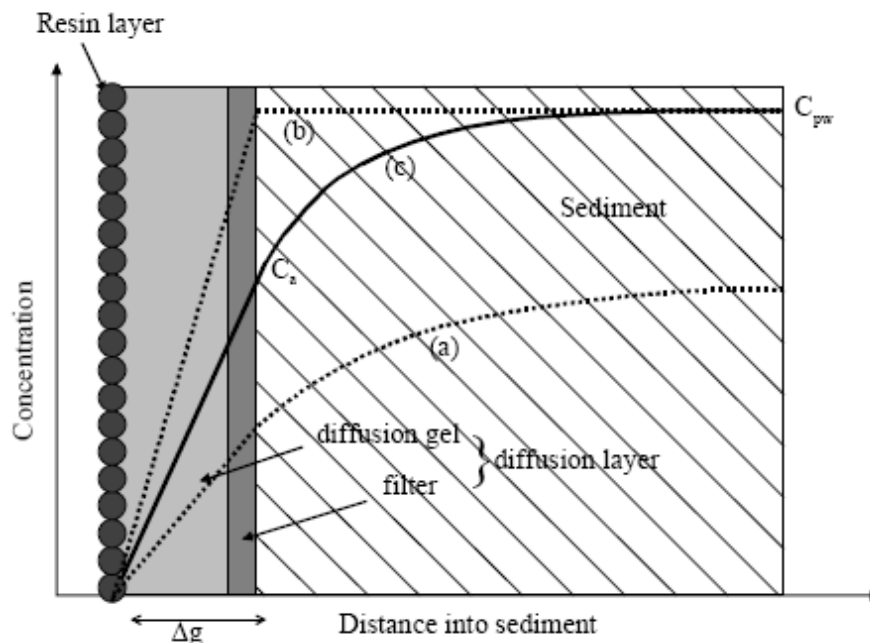
C_B est la concentration en ETM dans la solution au point B (mg/l)

D_e est le coefficient de diffusion des ETM dans la solution corrigé de la tortuosité du sol

; $D_e = \frac{D_0}{\theta^2}$ où θ^2 est la tortuosité calculé par la formule $\theta^2 = 1 - 2 \ln \phi_s$ (cm^2/s).

Δ l'épaisseur totale $\Delta_g + \Delta_f$ (cm)

Dans le sol, le flux vers les résines à travers les sondes DGT sera une composante : $F_{DGT} = F_{diff.} + F_{solid\ phase}$. $F_{solid\ phase}$ correspond aux interactions entre la phase solide et la phase liquide. En effet, avec le temps et les variations de concentrations dans la solution du sol, la recherche de l'équilibre des concentrations entre phases solide et liquide (déterminé par le K_d qui est la constante de répartition du métal entre la phase solide et la phase liquide pour un sol donné : $K_d = \frac{C_{ETM\ solid}}{C_{ETM\ solution}}$ où C_{ETM} est la concentration en en ETM) provoque une solubilisation d'espèces chimiques adsorbées sur la phase solide. Cette dissociation du métal de la phase solide dépend de plusieurs paramètres comme la nature des complexes ou la nature de la phase solide (MO et qualité de celle-ci, argiles) ainsi que son organisation spatiale (en fonction de la 'géométrie' des particules solides, une espèce solubilisée mettra plus ou moins de temps pour parvenir à la sonde). Par ailleurs, le gradient de concentration qui s'établit implique que la désorption se produit de plus en plus loin du filtre jusqu'à ce que l'équilibre soit atteint (figure ci-dessous).



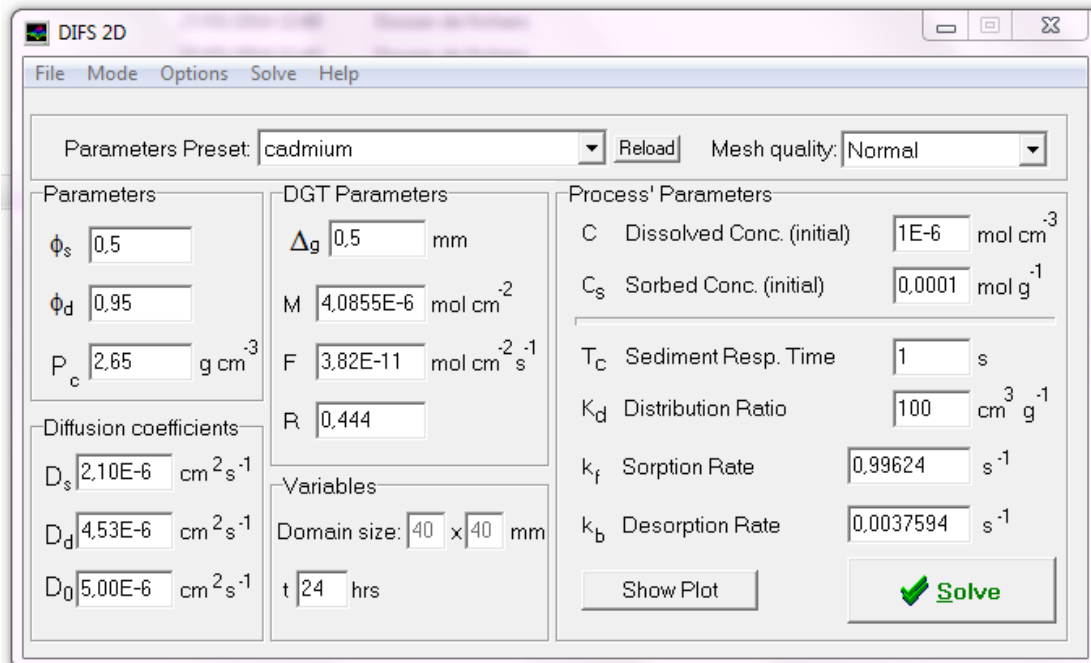
Représentation schématique en coupe de la concentration en ETM à l'interface sonde/sol. Les gradients de concentrations à l'équilibre sont représentés dans trois cas différents : (a) déplétion sans réapprovisionnement de la solution (b) réapprovisionnement de la solution au fur et à mesure que les métaux diffuse à travers le gel (c) réapprovisionnement partiel de la solution.

Lorsque les sondes sont déployées dans le sol, deux types de résines sont utilisés : une première résine qui fixe le Cd libre et une seconde en-dessous qui fixe uniquement les complexes organométalliques, ce qui permet de quantifier les différentes formes sous lesquelles le Cd se trouve.

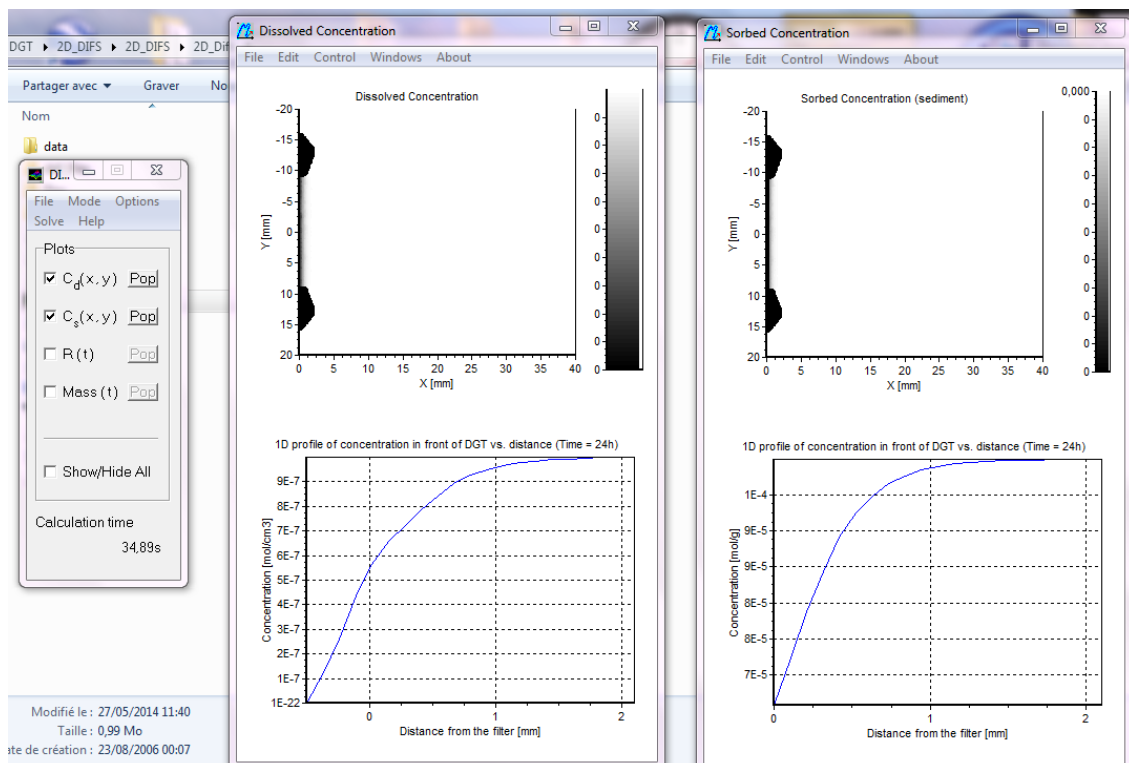
Modèle DIFS

Le logiciel DIFS (figures ci-dessous) est un logiciel de simulation du comportement des ETM lors du déploiement des sondes dans le sol. Les paramètres d'entrées sont la

porosité du sol ϕ_s , la porosité du gel de diffusion ϕ_d , le coefficient de diffusion en phase soluble D_0 , l'épaisseur du gel Δ_g , le temps de déploiement des sondes t , la concentration initiale dissoute C ainsi que le temps de réponse du sédiment T_c et le coefficient K_d .



Capture écran des entrées du modèle DIFS. Le logiciel permet entre autre de comprendre l'effet des variations de paramètres avant son utilisation pour déterminer le Kd des sols étudiés.



Capture écran des sorties du modèle.

Logiciel : DGT Induced Fluxes in Sediments (DIFS)

Développeur : Mike Harper, Wlodek Tych, Bill Davison, Institute of Environmental and Natural Sciences, Lancaster University, Lancaster LA1 4YQ, UK.

Tel. +44-1524-593935; fax: +44-1524-593985

E-mail w.davison@lancaster.ac.uk

A l'issue du déploiement des sondes dans les sols et de l'analyse des résines, il sera alors possible de confronter les valeurs expérimentales au modèle et de déterminer un coefficient de partition phase solide/phase liquide K_d pour chaque sol en fonction de l'espèce végétale et de l'amendement que le sol a reçu. Cela permettra de déterminer l'effet des amendements sur la mise en solution des métaux et de confronter ces résultats à ceux acquis par extraction au $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$.

Remerciements

Je remercie mon maître de stage Brett Robinson pour son suivi au cours de mon stage. Merci Brett pour toutes nos discussions et tes explications et conseils au fur et à mesure de l'avancement des travaux. Merci également à Juergen pour sa disponibilité lors de nos discussions concernant l'expérimentation et les résultats acquis.

Je remercie également Nik pour m'avoir initié aux mesures de métaux traces par DGT ... Nik, bien que la technique soit très intéressante et qu'on puisse passer de bons moments au labo, je ne suis pas sûr d'avoir la patience de travailler avec les métaux traces ! Merci d'avoir pris le temps de m'expliquer les manipulations, de m'avoir formé au travail en 'clean lab' et de m'avoir guidé dans la théorie de la technique. Merci également à Lynne, qui a dû supporter le 'bloody student' ... je comprends mieux le travail que représente la préparation des échantillons et l'analyse ICP !

Depuis Paris, Laure Vieublé m'a accompagné par mail au cours de ce stage. C'est encourageant et enrichissant de pouvoir discuter de l'évolution du stage avec une personne extérieure, merci Laure d'avoir pris le temps de communiquer par emails tout au long de mon stage.

De bons moments passés avec les collègues de bureaux ou des bureaux d'à côté et sans qui ces 5 mois de stage auraient été moins amusants et beaucoup plus ennuyants : Benj (Benyam ... !), Fabio crispella, Nelly (mais si BSA on vous aime bien quand même ...) et Krit Krit, Laura, Nicole, Emma et Daniel les kiwis (qui devaient penser qu'il y avait bien trop de français dans ce bureau !), Ebrahim, Alexis, Merce, Jen, Charlotte, Shamim, Obed.

Merci également à tous ceux qui ont participé à mon accueil de près ou de loin et à faire que l'on se sente bien dans ce Burns building et en NZ : Roger C., Kathryn L., Barry, Amal ... et bien sûr Roger M. qui m'a accueilli et m'a fait partager la vie en NZ ...

Au-delà de ce stage, je souhaite remercier tout particulièrement Jérôme Poulenard de l'Université de Savoie pour m'avoir donné goût à la science du sol et m'avoir encouragé à suivre le master Sols à Agroparistech. A bientôt ...

And last but not least, je pense bien évidemment à mes parents qui m'ont permis d'arriver jusqu'ici ... dans tous les sens du terme : merci pour votre soutien financier mais surtout, surtout, pour votre présence et votre soutien dans tous mes projets au cours de mes études supérieures ... ;-).

Résumé

La valorisation des boues d'épuration répond à des enjeux environnementaux de plus en plus importants en Nouvelle-Zélande : l'épandage de ces boues évite leur stockage et permet de recycler l'importante quantité d'éléments nutritifs et de matière organique. Cependant, ces boues issues du traitement des eaux usées contiennent des quantités non négligeables de cadmium (Cd), un métal non nécessaire au métabolisme des êtres vivants : l'utilisation agricole répétée de ces boues peut mener à son accumulation dans les sols et avec le temps aux autres compartiments de l'environnement et de la chaîne alimentaire. L'absorption du cadmium par les plantes peut donc limiter la valorisation des boues sur les sols agricoles. Le but de cette étude est de déterminer si l'ajout de boues d'épuration présente un risque sanitaire en raison de l'absorption du cadmium par les plantes et d'étudier l'effet de l'ajout de sciure utilisé comme matériau adsorbant sur l'absorption du cadmium. De nombreux autres ajouts ont été étudiés avec succès mais les plantes originaires de Nouvelle-Zélande Mānuka et Kānuka à fortes valeurs économiques et culturelles n'ont été l'objet que de très peu de recherches concernant le cadmium. Cette expérimentation s'inscrit dans un projet scientifique plus important concernant le management des boues d'épuration et leurs effets physico-chimiques et biologiques sur les sols.

Les extractions au nitrate de calcium ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) montrent que l'ajout de sciure ne limite pas la solubilisation du Cd dans les matériaux de surface et les résultats indiquent que cet ajout ne permet pas non plus de limiter l'absorption du Cd par les parties aériennes des plantes dans les conditions de l'expérience. Cependant, les concentrations en cadmium mesurées dans ces deux arbustes sont très faibles et permettent un épandage de boues sans risques sanitaires concernant le Cd. Les plantes à usages agronomiques montrent des concentrations en cadmium supérieures aux limites dans certains compartiments. Davantage d'études sont nécessaires pour déterminer l'effet de la sciure sur d'autres contaminants minéraux et organiques des boues et leurs impacts sanitaires.

Mots-clés : cadmium, boues d'épuration, sciure de pin, rhizosphère, Mānuka.

Abstract

Sewage sludge contain small amount of cadmium (Cd), a non essential trace metal element for organisms. Repeated application in agriculture can lead to its accumulation in soils and Cd concentration can exceed guidelines or limits established by governmental agencies. Not only Cd interferes with environments but also with food chain which is critical for such a food products exporter country like New Zealand. This study aims to determine whether adding sawdust from pine to biosolids can mitigate Cd uptake by aerial parts of plants. Mānuka and Kānuka are at particular interests due to their high both economic and cultural values. This experiment is part of a bigger scientific project about biosolids management and the effect of biosolids on soil properties (physical chemical and biological).

Calcium nitrate extraction ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) show that adding sawdust to biosolids doesn't lead in a drop on free cadmium in soil solution and results indicate that sawdust does not have any effect neither on Cd uptake by plants. Furthermore, it reduces the increase in biomass that biosolids provide. However, above limits of Cd in plants have only been measured in sorghum seeds considering the French limit established by

ANSES. More studies need to be carried on to assess the impact of others organic and mineral contaminants contained in sewage sludge.

Key-words: cadmium, biosolids, sawdust, rhizosphere soil, Mānuka.