





Rapport final

No projet : IA 115467

Titre : Impact de la gestion des effluents d'élevage et du travail du sol sur la qualité et la salubrité des eaux de drainage en cultures annuelles de blé et de maïs-grain

Responsables scientifiques : Dr. Caroline Côté et Dr. Marc-Olivier Gasser

Établissement : Institut de recherche et de développement en agroenvironnement

31 Janvier 2019

Section 1 - Chercheurs impliqués et responsable autorisé de l'établissement (ces personnes doivent également faire parvenir un courriel pour attester qu'ils ont lu et approuvent le rapport.)

Caroline Côté, agr., Ph.D. IRDA. Chercheuse en hygiène de l'environnement agricole. Responsable scientifique du projet – Hygiène de l'environnement agricole

Marc-Olivier Gasser, agr., Ph.D., IRDA. Chercheur en conservation des sols et de l'eau. Responsable scientifique du projet – Conservation des sols et de l'eau

Sylvain Quessy, d.m.v., Ph.D., Université de Montréal. Professeur titulaire, département de pathologie et microbiologie - Faculté de médecine vétérinaire

Ann Letelier^a, Ph.D., Université de Montréal, Professeur titulaire, département de pathologie et microbiologie – Faculté de médecine vétérinaire

Stéphane P. Lemay, ing., agr., Ph.D., IRDA. Directeur recherche et développement. Responsable autorisé.

^aLa Dre Ann Letelier est présentement en congé de maladie prolongé et n'a pas pu commenter le rapport.

Section 2 - Partenaires

Élodie Larouche M.Sc., IRDA. Professionnelle de recherche en hygiène de l'environnement.

Marie-Eve Tremblay, M.Sc., IRDA. Professionnelle de recherche en conservation des sols et de l'eau.

Mylène Généreux, M.Sc., IRDA. Professionnelle de recherche en hygiène de l'environnement.

Section 3 – Fiche de transfert (max 2 à 3 pages)

Veuillez noter que cette fiche sera mise sur le site Web du MAPAQ pour une diffusion grand public. Merci de ne pas faire référence à des tableaux ou des annexes qui sont ailleurs dans le rapport puisqu'ils ne seront pas annexés à la fiche de transfert.

Impact des pratiques agricoles sur les sols et l'eau des drains : une combinaison de physico-chimie, de microbiologie et d'antibiorésistance environnementale

Élodie Larouche, Marie-Ève Tremblay, Mylène Généreux, Sylvain Quessy, Marc-Olivier Gasser et Caroline Côté

No de projet : IA 115467 (réservé à l'administration) Durée : 01/2016 – 01/2019

FAITS SAILLANTS

En 2016 et 2017, des parcelles expérimentales en blé et en maïs-grain fertilisées avec du lisier de porc (2 doses, 1X et 2X) ou des engrais minéraux (MIN) ont été travaillées soit en travail réduit (semis direct), soit de façon conventionnelle (chisel) afin d'évaluer l'impact des pratiques sur plusieurs propriétés du sol et de l'eau de drainage. La qualité physico-chimique de l'eau de drainage a été fortement affectée par le mode de travail du sol et le mode de fertilisation. Même en respectant les critères édictés par la réglementation et les recommandations courantes en agronomie, les concentrations en nitrates et en phosphore ont rarement atteint les critères de qualité pour les eaux de surface ou l'eau potable. Les rendements en blé et maïs-grain étaient généralement plus élevés dans les parcelles recevant du lisier de porc à la dose élevée. Les populations de bactéries E. coli et entérocoques ont augmenté après les épandages de lisier de porc dans le sol et l'eau de drainage pour les deux années de culture, mais les entérocoques ont persisté plus longtemps dans le sol et l'eau de drainage que les E. coli. Les épandages de lisier de porc ont entraîné une augmentation de la concentration des gènes de résistance aux tétracyclines tet(T) et aux sulfamides sul1 pendant au moins une saison de culture à la dose élevée de lisier. Ces gènes de résistance ont également été détectés dans les parcelles recevant uniquement des engrais minéraux (MIN), suggérant la présence d'un réservoir naturel et environnemental de microorganismes résistants aux antimicrobiens. Les épandages de lisier de porc ont entraîné une augmentation de la concentration des gènes de résistance tet(T) et sul1 pendant au moins une saison de culture à une dose plus élevée (2X) que celle recommandée par le CRAAO (1X).

OBJECTIF(S) ET MÉTHODOLOGIE

Le projet visait à mesurer l'effet du mode de fertilisation et du travail du sol sur le rendement du blé (2016) et du maïs-grain (2017), ainsi que sur la qualité physico-chimique et microbiologique des eaux de drainage et du sol. Le projet s'est déroulé à la ferme expérimentale de l'IRDA à Saint-Lambert-de-Lauzon, sur un site où différentes doses de lisier de porc ou des engrais minéraux sont appliqués depuis 1978. Des drains indépendants ont permis de recueillir l'eau issue de chaque parcelle. Des échantillons de sol ont été recueillis à trois profondeurs à chaque automne, ainsi qu'en surface suivant l'épandage de lisier pour l'analyse du pH et des éléments majeurs et mineurs. L'eau des drains a été prélevée selon les précipitations pour l'analyse des matières en suspension et des éléments majeurs et mineurs. Les rendements des cultures ont été mesurés et le contenu en éléments majeurs et mineurs des grains et des tiges a été évalué. Les concentrations en bactéries *E. coli* et entérocoques ainsi qu'en gènes de résistance tet(T), sul1, bla_{CTX-M} , mcr-1 et mcr-2 ont aussi été déterminées dans tous les échantillons.

RÉSULTATS SIGNIFICATIFS POUR L'INDUSTRIE

Le travail du sol n'a pas influencé significativement les rendements en blé et maïs-grain obtenus au cours des deux années du projet, même si les rendements du blé semblaient légèrement inférieurs en 2016 sous un travail réduit du sol (semis direct). Le mode de fertilisation a toutefois significativement influencé les rendements produits en 2016 et 2017. En 2016, les traitements MIN et 2X ont fourni des rendements en grains de blé comparables, alors que les parcelles avec la plus petite dose de lisier (1X) ont produit des rendements significativement plus faibles. Le traitement MIN a toutefois produit des rendements en paille de blé significativement plus élevés que le traitement 2X, qui se distinguaient aussi du traitement 1X. En 2017, les rendements du maïs étaient significativement plus élevés dans le traitement 2X par rapport aux deux autres traitements. Dans l'eau de drainage, les concentrations en nitrates oscillaient entre 10 et 60 mg/L et n'étaient pas si loin du critère de 10 mg/L à atteindre pour l'eau potable. Toutefois, dans le cas du P total et du P total dissous, leurs concentrations étaient souvent de 3 à 40 fois supérieures au critère de 30 µg/L pour la protection de la vie aquatique. Les charges en P total étaient en revanche près de 50 à 70 fois plus faibles que celles des nitrates, mais son critère de qualité de l'eau est 333 fois plus faible que celui des nitrates.

Les populations de bactéries *E. coli* et entérocoques ont significativement augmenté après les épandages de lisier de porc dans le sol et l'eau de drainage pour les deux années de culture, mais les entérocoques ont persisté plus longtemps dans le sol et l'eau de drainage que les *E. coli*. La date de l'échantillonnage ainsi que le mode de fertilisation (1X, 2X ou MIN) ont influencé les concentrations en gènes de résistance *tet*(T) et *sul*1 dans le sol de surface pour les deux années de culture.

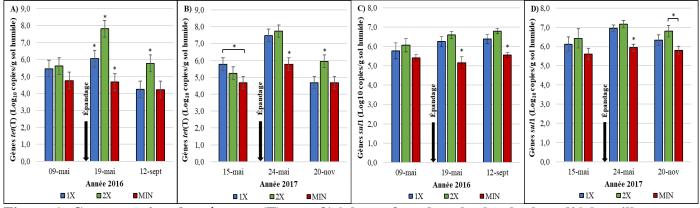


Figure 1. Concentration des gènes tet(T) et sul1 à la surface du sol selon la date d'échantillonnage et du mode de fertilisation. A) tet(T) en 2016 B) tet(T) en 2017 C) sul1 en 2016 D) sul1 en 2017. *Signifie que la moyenne était statistiquement différente.

Les gènes $bla_{\text{CTX-M-1}}$, tet(T) et sul1 ont été détectés dans le lisier de porc, mais pas les gènes mcr-1 et mcr-2. En 2016, la prévalence des gènes $bla_{\text{CTX-M}}$ était de 9,7 % dans l'eau de drainage et de 0 % dans le sol. Pour les deux années de l'étude et selon les parcelles, les prévalences des gènes sul1 dans les échantillons de sol et d'eau de drainage étaient d'au moins 86,1 % et 94,4 %, respectivement. Les prévalences des gènes tet(T) dans les échantillons de sol et l'eau de drainage étaient d'au moins 66,7 % et 54,2 %. Les échantillons de sol provenant des parcelles MIN avaient des prévalences plus faibles que les autres parcelles fertilisées avec du lisier de porc. Les concentrations en gènes tet(T) et sul1 dans l'eau de drainage étaient statistiquement plus élevées le 7 juin 2016, soit 19 jours après l'épandage.

APPLICATIONS POSSIBLES POUR L'INDUSTRIE ET/OU SUIVI À DONNER

Certains sols, dont les loam argileux de la région agricole de Saint-Lambert-de-Lauzon à forte densité animale représentent toujours un défi pour protéger la qualité de leurs eaux de surface. La dose de lisier de porc a eu un impact sur la persistance de certains gènes de résistance aux antimicrobiens dans le sol pendant au moins une saison de culture. Il serait préférable d'épandre du lisier de porc à des doses agronomiques suffisantes pour le besoin de la culture afin de réduire l'effet des pratiques agricoles sur la croissance des réservoirs environnementaux de microorganismes résistants aux antimicrobiens et des gènes de résistance, puis de réduire les niveaux de phosphore transportés par les eaux de drainage.

POINT DE CONTACT POUR INFORMATION

Nom du responsable du projet : Caroline Côté

Téléphone : 450-653-7368 poste 310 Télécopieur : 450-450-653-1927 Courriel : caroline.cote@irda.qc.ca

REMERCIEMENTS AUX PARTENAIRES FINANCIERS

Ces travaux ont été réalisés grâce à une aide financière du Programme de soutien à l'innovation en agroalimentaire, un programme issu de l'accord du cadre Cultivons l'avenir conclu entre le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation et Agriculture et Agroalimentaire Canada.

Section 4 - Activité de transfert et de diffusion scientifique (joindre en annexe la documentation en appui)

Communication orale

- Larouche É., M. Généreux, M.-È. Tremblay, M.-O. Gasser, S. Quessy et C. Côté. Effet des épandages de lisier de porc et du travail du sol sur la présence de microorganismes résistants à la tétracycline et aux bêta-lactamines dans le sol en grandes cultures. 31e congrès de l'Association Québécoise de Spécialistes en Science du Sol. 30-31 mai 2017. Trois-Rivières, Québec, Canada.
- Gasser, M.-O. Champ 7: Qualité de l'eau sous grandes cultures fertilisées au lisier de porc. 2015. Présentation à l'IRDA Saint-Bruno-de-Montarville 18 février 2015.

Présentations par affiche (posters)

- Larouche É., M.-O. Gasser, S. Quessy, C. Côté. Effet des épandages répétés de lisier de porc et du travail du sol sur la présence de gènes de résistance à la tétracycline *tet*(T) dans le sol de surface en grandes cultures. Rendez-vous scientifique annuel & ateliers technologiques, Regroupement de recherche pour un lait de qualité optimale. 30 novembre 2016. Université de Sherbrooke, Québec, Canada.
- Larouche É., M. Généreux, M.-È. Tremblay, M.-O. Gasser, S. Quessy et C. Côté. Effet des épandages répétés de lisier de porc et du travail du sol sur la présence de gènes de résistance à la tétracycline *tet*(T) dans le sol en grandes cultures. Journée de la recherche, Faculté de Médecine Vétérinaire. 10 mars 2017. Université de Montréal, Québec, Canada.

Mémoire de maîtrise et séminaire de présentation des résultats

- Larouche, Élodie. (2017). Effet des épandages de lisier de porc et du travail du sol sur la présence de gènes de résistance aux antimicrobiens dans le sol et l'eau de drainage en grandes cultures (Maîtrise ès sciences (M.Sc.), Université de Montréal, Montréal). Repéré à https://papyrus.bib.umontreal.ca/xmlui/handle/1866/20801.
- Larouche É. Effet des épandages de lisier de porc et du travail du sol sur la présence de gènes de résistance aux antimicrobiens dans le sol et l'eau de drainage en grandes cultures. Séminaire de résultats de maîtrise du GRESA. 3 novembre 2017. Université de Montréal, Québec, Canada.

Article scientifique

Un article est en cours de rédaction et sera soumis sous peu dans un périodique avec comité de révision.

Section 5 - Activités de diffusion et de transfert aux utilisateurs (joindre en annexe la documentation en appui)

Communications orales

- Larouche É., M. Généreux, M.-È. Tremblay, M. Rhouma, M.-O. Gasser, S. Quessy et C. Côté. Effet des épandages répétés de lisier de porc et du travail du sol sur la présence de gènes de résistance aux antimicrobiens dans le sol et l'eau de drainage en grandes cultures. Journée annuelle des étudiants, CentrEau. 22 mars 2018. Université de Sherbrooke, Québec, Canada.
- Gasser, M.-O. et M.-E. Tremblay. 2018. Journée portes ouvertes à la ferme expérimentale de St-Lambert-de-Lauzon. 5 octobre 2018.

Présentations par affiche

• Larouche É., M. Généreux, M.-È. Tremblay, M. Rhouma, M.-O. Gasser, S. Quessy et C. Côté. Effet des épandages répétés de lisier de porc et du travail du sol sur la présence de gènes de résistance aux antimicrobiens dans le sol et l'eau de drainage en grandes cultures. Journée annuelle des étudiants, CentrEau. 22 mars 2018. Université de Sherbrooke, Québec, Canada.

Fiche synthèse

Lors de l'acceptation du rapport, une fiche synthèse sera produite par le service des communications de l'IRDA à partir de la section 3.

Section 6 – Grille de transfert des connaissances

1. Résultats	2. Utilisateurs	3. Message	4. Cheminement des connaissances
Présentez les faits saillants (maximum de 3) des principaux résultats de votre projet.	Pour les résultats identifiés, ciblez les utilisateurs qui bénéficieront des connaissances ou des produits provenant de votre recherche.	Concrètement, quel est le message qui devrait être retenu pour chacune des catégories d'utilisateurs identifiées? Présentez un message concret et vulgarisé. Quels sont les gains possibles en productivité, en rendement, en argent, etc.?	 a) Une fois le projet terminé, outre les publications scientifiques, quelles sont les activités de transfert les mieux adaptées aux utilisateurs ciblés? (conférences, publications écrites, journées thématiques, formation, etc.) b) Selon vous, quelles pourraient être les étapes à privilégier en vue de maximiser l'adoption des résultats par les utilisateurs.
Les concentrations en nitrates et en phosphore dans l'eau de drainage étaient plus élevées que celles respectant les critères de qualité de l'eau. Les parcelles fertilisées avec du lisier de porc à la dose élevée (2X) avait des concentrations en phosphore 3 à 40 fois supérieures au critère de 30 µg/L pour la protection de la vie aquatique.	Agriculteurs Écologistes Toxicologistes Agronomes	Malgré les recommandations courantes en agronomie, les concentrations en nitrates et en phosphore peuvent être élevées dans l'eau de drainage et perturber la qualité des eaux de surface et la vie aquatique.	Les journées porte-ouvertes sur les fermes expérimentales sont un bon moyen de transfert des connaissances et permettent d'atteindre un grand nombre de gens et d'aborder plusieurs sujets. Ce projet étant sis sur un site de longue durée, les résultats issus du projet pourront être transmis pour une longue période suivant la fin des essais présentés dans ce rapport. Ceci pourra être considéré comme étape future.
Les concentrations en bactéries <i>E. c</i> oli et entérocoques ainsi qu'en gènes de résistance <i>tet</i> (T) et <i>sul</i> 1 ont augmenté dans l'eau de drainage les jours suivants l'épandage.	Agriculteurs Microbiologistes Agronomes	Les épandages de lisier de porc contribuent à contaminer le sol et l'eau en milieu agricole. Une attention particulière doit être portée sur les impacts résultants des épandages de lisier de porc.	Les risques liés à l'antibiorésistance sont abordés depuis quelques années seulement, et les événements pour en discuter avec les intervenants sont donc multiples. Les journées de conférence et les articles vulgarisés semblent à ce stade-ci les meilleurs outils et seront privilégiés dans les prochains projets.
Les épandages de lisier de porc à des doses élevées (2X) ajoutent des gènes de résistance aux sulfamides sul1 et aux tétracyclines tet(T) qui persistent dans le sol pendant plus de 180 jours. Cependant, les rendements en blé et en maïs-grain étaient généralement plus élevés dans les parcelles fertilisées avec une dose 2X que dans celles fertilisées avec la dose minimale 1X.	Agriculteurs Agronomes	Un épandage de lisier de porc à des doses plus élevées que celles recommandées par le CRAAQ peuvent augmenter les concentrations en gènes de résistance aux sulfamides et aux tétracyclines dans le sol pendant plus d'une saison de culture, et plus largement, contribuer au phénomène de l'antibiorésistance.	La réflexion précédente s'applique également à ce thème.

Section 7 - Contribution et participation de l'industrie réalisées
L'équipe de recherche a pu compter sur la collaboration d'une entreprise agricole locale pour fournir le lisier de porc épandu au site expérimental. Cette collaboration a notamment servi à documenter l'usage antérieur et présent d'antibiotiques au sein de l'élevage.

Section 8 - Rapport scientifique et/ou technique (format libre réalisé selon les normes propres au domaine d'étude)

INTRODUCTION

Optimiser les prélèvements des cultures en éléments fertilisants tout en réduisant le transport des nutriments et des contaminants provenant des fertilisants organiques ou minéraux représente un défi de taille pour le monde agricole. Au Québec et ailleurs dans le monde, l'eutrophisation des cours d'eau causée par le phosphore, la contamination des nappes phréatiques et des eaux de surface par les nitrates et la présence d'ammonium et de coliformes fécaux dans l'eau des rivières sont des problèmes souvent rapportés et associés aux activités agricoles (Dubrovsky et al., 2010; MDDEP, 2012). En milieu agricole, la qualité des eaux de surface est principalement affectée par les eaux de ruissellement et celles issues des drains souterrains. La part du volume d'eau transitant par le réseau de drainage est variable, mais peut devenir importante lorsque les conditions de ruissellement sont bien contrôlées. La réduction du transport des nutriments et des contaminants microbiens, dont certains sont résistants aux antimicrobiens, vers les drains représente donc un enjeu majeur en vue d'améliorer la qualité de l'eau en bassins versants agricoles (Jamieson et al., 2002).

La résistance antimicrobienne est un problème de santé publique à l'échelle mondiale depuis plusieurs années (Berendonk *et al.*, 2015; Marti *et al.*, 2014). Les agents antimicrobiens sont utilisés pour le traitement de nombreuses infections bactériennes chez les humains et les animaux. La diminution de leur efficacité pour traiter les infections chez les humains et les animaux entraîne des conséquences telles qu'une augmentation des coûts, des traitements plus long ainsi que des taux élevés de mortalité et de morbidité (Berendonk *et al.*, 2015; Marti *et al.*, 2014). Les tétracyclines, les sulfamides, les macrolides, les lincosamides, les polypeptides, les streptogramines ainsi que les β-lactamines sont toutes des familles d'antimicrobiens autorisées pour traiter les infections et dont certains antimicrobiens peuvent être utilisés pour prévenir les infections ou être ajoutées dans les rations alimentaires afin de favoriser la croissance des porcs au Canada (ACIA, 2018; Chevalier, 2012; Pakpour *et al.*, 2012). L'utilisation de ceux-ci a exercé une pression de sélection chez les microorganismes et a conduit à l'apparition de nouvelles souches résistantes (Looft *et al.*, 2012). Le nombre et la diversité des microorganismes pathogènes résistants aux antimicrobiens (MRAs) se sont accrus depuis que ces composés ont été adoptés en médecine (Organisation mondiale de la Santé, 2014; Roberts, 2005).

Les matières fécales d'animaux d'élevage sont une source de MRAs et de gènes de résistance aux antimicrobiens (GRAs) (Chee-Sanford *et al.*, 2009). Il a été démontré que les épandages de fumiers introduisent des microorganismes résistants et des résidus d'antimicrobiens pouvant exercer une pression de sélection pour l'acquisition de GRAs chez les microorganismes du sol (Marti *et al.*, 2014; Solliec *et al.*, 2016; Udikovic-Kolic *et al.*, 2014; Yong-Guan Zhu *et al.*, 2013). Des échanges génétiques peuvent contribuer à la propagation et la dissémination de la résistance antimicrobienne dans l'environnement. Ainsi, les épandages d'engrais organiques peuvent avoir un effet direct sur l'augmentation du réservoir environnemental des GRAs tout comme un effet indirect auprès des microorganismes déjà présents dans le sol et l'eau de drainage (Hartmann *et al.*, 2012; Looft *et al.*, 2012; Y. Zhang *et al.*, 2013). En fait, le sol est un réservoir naturel de GRAs. Plusieurs agents antimicrobiens utilisés aujourd'hui proviennent de microorganismes du sol, telle que la streptomycine qui a été isolée à partir du champignon *Streptomyces*

griseus en 1944 (Michel-Briand, 2009, p.). Les différentes méthodes de travail du sol pourraient aussi jouer un rôle dans le transport des GRAs dans l'environnement par le biais de l'eau de drainage (Berendonk *et al.*, 2015; Garder *et al.*, 2014). Très peu d'informations sont disponibles en ce qui a trait aux impacts du travail du sol sur le transport des gènes dans l'environnement. Des études supplémentaires sont nécessaires afin de mieux évaluer l'impact des différents modes de travail du sol et de mieux comprendre le rôle des pratiques agricoles dans la propagation des contaminants microbiens et des GRAs dans l'environnement (Garder *et al.*, 2014). Les bactéries *Escherichia coli* (*E. coli*) et *Enterococcus* spp. sont souvent porteuses de GRAs et sont aussi utilisées comme indicateurs de contamination fécale (Berendonk *et al.*, 2015; Cools *et al.*, 2001; Stokes et Gillings, 2011).

Dans le cadre de ce projet, la présence des gènes de résistance à la tétracycline a été évaluée. À ce jour, les gènes de résistance codant pour une NADPH-oxydoréductase conduisant à une protection du ribosome, tels que les gènes *tet(T)*, ont été peu étudiés (Marti *et al.*, 2013; Roberts, 2005). La résistance aux sulfamides a été souvent évaluée en recherchant les gènes *sul1*, *sul2* et *sul3*. Le gène *sul1* est lié à un intégron de classe I et est généralement porté par des plasmides, ce qui le rend d'intérêt pour l'évaluation de l'impact d'épandages de fumiers et le potentiel de propagation de la résistance aux sulfamides dans l'environnement (Aiello, 2016; Sköld, 2000). La résistance aux β-lactamines, médiée entre autres par le gène *bla*_{CTX-M-1}, est très répandue. La dissémination des microorganismes résistants à la pénicilline et aux carbapénèmes dans le monde suggère la présence d'un réservoir environnemental de gènes de résistance aux β-lactamines (Y. Zhang *et al.*, 2013). Enfin, la colistine sulfate (CS) est un antimicrobien dont l'utilisation est approuvée dans plusieurs pays (Rhouma, Beaudry, et Letellier, 2016; Rhouma, Beaudry, Thériault, *et al.*, 2016). Cependant, il n'est pas encore approuvé pour utilisation au Canada (83). Depuis la première identification en 2015 d'un gène de résistance à la colistine porté par un plasmide, *mcr*-1, l'environnement a été suspecté d'avoir un rôle dans la propagation de la résistance à la colistine (Schwarz et Johnson, 2016).

Sous des cultures de blé en 2016 et de maïs-grain en 2017, cette étude a permis d'étudier différents paramètres agronomiques, physico-chimiques et microbiologiques à partir d'échantillons de végétaux, de lisier de porc, de sol et d'eau de drainage. Il a été possible de suivre la présence des gènes de résistance tet(T), sul1, bla_{CTX-M} , mcr-1 et mcr-2 sur des parcelles expérimentales ayant reçu des engrais minéraux ou du lisier de porc et dont les sols ont été travaillés de manière conventionnelle (chisel) ou réduite (semis direct) durant plusieurs années. Les hypothèses suivantes ont été émises : D'abord, les modes de fertilisation et le travail du sol influencent les rendements du blé et du maïs-grain ainsi que la quantité des GRAs dans le sol. Aussi, le mode de travail du sol influence le transport des nutriments, des microorganismes et des GRAs dans l'eau de drainage. L'objectif général du projet était de mesurer l'effet du mode de fertilisation et du travail du sol sur le rendement du blé et du maïs, ainsi que sur la qualité physico-chimique et microbiologique des eaux de drainage et du sol. Il visait aussi à préciser l'effet d'épandages répétés de lisier de porc sur la présence des GRAs dans le sol et l'eau de drainage.

MÉTHODOLOGIE

Dispositif expérimental

Le projet s'est déroulé sur un site expérimental de longue durée installé en 1978 sur la ferme expérimentale de l'IRDA à Saint-Lambert-de-Lauzon, Québec, Canada (Figure 1). Le dispositif expérimental visait au départ à comparer l'effet à long terme de différentes doses de lisier de porc, apportées annuellement à doses croissantes de 30, 60, 90 et 120 m³/ha, à un témoin en engrais minéraux sur les rendements d'une monoculture de maïs ensilage et différents paramètres reliés à la qualité du sol. Les traitements suivis dans le cadre de ce projet correspondent aux deux plus faibles doses de lisier (nommées 1X et 2X) et au traitement avec engrais minéraux (MIN). Les traitements ont été distribués aléatoirement sur autant de parcelles disposées en bloc, dans un dispositif en tiroirs répétés quatre fois, pour un total de 12 parcelles expérimentales étudiées. La monoculture de maïs-ensilage a été remplacée en 1998 par une succession de cultures annuelles et de prairies jusqu'en 2006, à partir de laquelle une succession sur trois ans de maïs-grain, canola, blé d'automne a été instaurée. Le canola n'a pas fait partie de la rotation entre 2013 et 2017 pour éviter des problèmes de propagation de la hernie des crucifères. Pour l'expérience en cours, le maïs-grain a été cultivé en 2015, le blé en 2016 et le maïs-grain à nouveau en 2017 (Tableau 1).

Depuis le printemps 2011, la moitié des blocs de parcelles a été soumise à un travail réduit du sol (Blocs 2 et 4) et l'autre moitié à un travail conventionnel (Blocs 1 et 3) (Tableau 2). Le travail réduit consistait à incorporer superficiellement les lisiers (<10 cm) avec un rotoculteur, après leur épandage au printemps et avant les semis, sans aucun autre travail du sol. Le travail conventionnel du sol incluait un passage de chisel en travail primaire à l'automne ou au printemps suivi d'un passage de vibroculteur (herse à ressort) avant et après l'épandage du lisier. À l'automne 2016, un cultivateur lourd avec dent incurvée de type chisel a été utilisé à la grandeur du dispositif pour décompacter plus profondément la semelle de labour et les horizons plus compacts en profondeur, résultant du travail réduit et des passages répétés de l'épandeur à lisier.

Un dispositif de drains agricoles indépendants a été installé en 1998 pour recueillir l'eau de drainage et suivre la qualité de l'eau sous chaque parcelle de façon indépendante (Figure 1).



Figure 1. Plan du dispositif expérimental de Saint-Lambert-de-Lauzon.

Tableau 1. Hybrides, cultivars, dates et taux de semis.

Année	Culture	Cultivar	UTM	Date de semis	Taux de semis
2015	Maïs grain	MZ-1633 DBR	2300	4 juin	80 680 plants/ha
2016	Blé de printemps	AC Walton	-	20 mai	200 kg/ha (>450 grains/m²)
2017	Maïs grain	MZ-1633 DBR	2300	25 mai	88 000 plants/ha

Tableau 2. Détails des opérations de travail de sol réalisées.

		Labour	Préparatio	n du lit de	Enfouissen	nent du	
		(Automne précéde	(Automne précédent)			lisier	
2016	Blocs 1 et 3	Chisel	10 déc	Vibroculteur	10 mai	Vibroculteur	19 mai
2010	Blocs 2 et 4	-		Rotoculteur	10 mai	Rotoculteur	19 mai
2017	Blocs 1 et 3	Sous-soleuse de type Chisel	16 sept	Vibroculteur	23 mai	Vibroculteur	24 mai
2017	Blocs 2 et 4	Sous-soleuse de type Chisel	16 sept	-	-	Vibroculteur	24 mai

Le sol est identifié comme étant de la série Lebras, un Gleysol humique orthique, d'origine fluvio-lacustre, et constitué d'un matériau loameux-grossier, en placage d'environ 60 cm d'épaisseur, sur un matériau limoneux-fin ou loameux-fin lacustre ou marin (Lamontagne *et al.*, 2010). La texture du sol en surface de cette série varie du loam au loam limono-argileux. La granulométrie réalisée en 2001 sur le sol des 20

parcelles, révèle 427 ± 69 g/kg de limon et 275 ± 43 g/kg d'argile de 0-20 cm de profondeur et 445 ± 114 g/kg de limon et 258 ± 49 g/kg d'argile de 20 à 40 cm de profondeur.

Les besoins en éléments fertilisants des cultures ont été établis en fonction des analyses de sol et des grilles de fertilisation contenues dans le Guide de référence en fertilisation (CRAAQ, 2010). Les doses de lisier à appliquer sur les différents traitements ont été déterminées en tenant compte des analyses moyennes du lisier épandu durant les dix dernières années. Le lisier provenait de la pré-fosse d'un élevage de porc à l'engraissement et a été appliqué en un seul chantier d'épandage en pré-semis avec un épandeur à citerne Houle GEA EL66 – 2250 d'une capacité théorique de 10 250 litres. Celui-ci était muni de rampes basses permettant de déposer le lisier près du sol (à moins de 20 cm du sol). Des engrais minéraux ont été appliqués dans les parcelles témoin (Traitement MIN). Ceux-ci étaient appliqués à la volée manuellement, en pré-semis des cultures et en post-levée, suivi d'une incorporation au sol en post-épandage des lisiers (Tableau 3).

Tableau 3. Apports d'engrais minéraux dans le traitement témoin (MIN).

Année	Traitement	Culture	Date	Dose appliquée (kg/ha)		g/ha)
				N	P_2O_5	K_2O
2016	MIN	Blé de printemps	19 mai (au semis)	60	30	20
2010	IVIIIN	Die de printemps	22 juin (post-levée)	60	-	-
2017	MIN	Maïa anain	24 mai (au semis)	60	40	40
2017	IVIIIN	Maïs grain	12 juil. (post-levée)	60	-	-

Le lisier a été échantillonné à trois reprises lors des chantiers d'épandage afin de mesurer la variabilité des propriétés des lisiers durant le chantier. Les échantillons obtenus étaient gardés au frais entre 2 et 8°C jusqu'à leur analyse en laboratoire pour leurs propriétés physico-chimiques. Le lisier de porc a aussi été échantillonné dans des conditions stériles et conservé au froid entre 2 et 8°C pour les analyses microbiologiques et l'extraction de l'ADN génomique. Les échantillons ont été homogénéisés au Polytron (Model PT 3100, Kinematica AG, Littau-Lucerne, Switzerland) avant leur analyse au laboratoire par des méthodes standards reconnues (CPVQ, 1988, 1993; Peters *et al.*, 2003). Le pH a été déterminé à l'électrode dans un échantillon de lisier non dilué. La teneur en azote ammoniacal a été déterminée sur un extrait de 5 g de lisier brassé dans 50 ml d'une solution de KCl 2M (ratio 1 :10) et filtré. Les teneurs en matières sèches et en cendres ont été déterminées respectivement à l'étuve à 105°C et après incinération à 500°C. La teneur en azote total a été dosée avec une méthode Kjehdahl modifiée et les teneurs en éléments totaux P, K, Ca, Mg ont été dosées par spectrophotométrie dans le plasma (ICP), après digestion de l'échantillon par voie humide à l'acide sulfurique et sélénieux (Isaac et Johnson, 1976). Le Tableau 4 rapporte les moyennes et coefficients de variation sur les paramètres mesurés et le Tableau 5 rapporte les quantités d'éléments fertilisants apportés avec les lisiers.

Tableau 4. Moyennes et coefficients de variation des paramètres mesurés sur les lisiers de porc épandus.

	Unité	2016		201	7
Date		25 ma	ai	30 m	ai
Nbre d'échant.		3		3	
pH eau		6,9	1%	7,5	1%
Matière sèche	% b.h.	5,0	3%	7,1	15%
Cendres	% b.s.	27,3	6%	24,1	11%
N total	mg/kg b.h.	4662	4%	6077	1%
N-NH4	mg/kg b.h.	2790	2%	3527	1%
C/N		3,9	2%	4,5	17%
P	mg/kg b.h.	1048	3%	1413	4%
K	mg/kg b.h.	2240	2%	3053	1%
Ca	mg/kg b.h.	1194	5%	1466	6%
Mg	mg/kg b.h.	626	3%	793	6%

Tableau 5. Quantités d'éléments fertilisants apportés avec les lisiers.

Année	Traitement	Dose	MS	C total	N total	N- NH4	P	K	Ca	Mg	
		m ³ /ha				kg/	g/ha				
2016	1X	19	942	342	89	53	19.9	42.6	22.7	11.9	
2010	2X	46	2280	828	215	128	48.2	103.1	54.9	28.8	
2017	1X	19	1353	514	116	67	26.8	58.0	27.9	15.1	
	2X	39	2778	1055	237	138	55.1	119.1	57.2	30.9	

Le Tableau 6 résume les traitements phytosanitaires réalisés ainsi que les doses de pesticides et leurs indices de risque pour la santé (IRS) et l'environnement (IRE). Ces indices ont été calculés avec l'application IRPeQ Express. Un fongicide a été employé dans le blé afin de contrôler la propagation de la tache auréolée. Un régulateur de croissance a aussi été appliqué afin de contrôler les risques de verse dans le blé. Le glyphosate a été utilisé comme agent désherbant dans le maïs l'année suivante.

Tableau 6. Traitements phytosanitaires réalisés.

Date d'application	Nom commercial + concentration	Ingrédient actif	Groupe	Stade de culture	Dose L/ha	IRS	IRE
2016-06-22	Twinline (130 g/L + 80 g/L)	Pyraclostrobine Metconazole	3 & 11	Tallage	0,5 L/ha	237	148
2016-06-30	Éthrel (240 g/L)	Éthéphon	-	Zadocks 43	1,5 L/ha	-	-
2017-06-15	R/T 540 (540 g/L)	Glyphosate	9	Jusqu'à 8 feuilles	3,3 L/ha	35	3

La récolte du blé a été réalisée avec une moissonneuse-batteuse pour les parcelles expérimentales (Wintersteiger, Salt Lake City) opérant sur une largeur de 1,52 m. La batteuse était équipée d'un nez à céréale et d'un sac de récupération installé à l'arrière, pour la mesure de la paille. Le pourtour des parcelles a préalablement été battu et les rendements ont été mesurés dans le centre de la parcelle, sur une longueur de 12 à 13 mètres. Le poids en grain et en paille a été pesé sur chaque passage. Un sous-échantillon de paille et de grain de chaque sous-parcelle a été prélevé et séché à l'étuve pour déterminer la teneur en matière sèche. Le maïs-grain a été récolté sur une longueur de 10 mètres par parcelle avec la même batteuse équipée d'un nez à maïs, sur les rangs 3 et 4 des parcelles. Les tiges et les épis ont été récoltés manuellement sur les rangs 5 et 6. Ceux-ci ont par la suite été ensilés séparément à l'aide d'une ensileuse stationnaire. Le poids total pour chaque fraction a été obtenu au champ. Un sous-échantillon de paille et de grain de chaque sous-parcelle a été prélevé et séché à l'étuve pour déterminer la teneur en matière sèche. Des échantillons composites des biomasses sèches de grains et de pailles récoltés ont été formés par parcelle et envoyés au laboratoire pour fin d'analyse des teneurs en éléments par des méthodes standards reconnues (CPVQ, 1988, 1993). Les biomasses ont été préalablement broyées et tamisées à 0,5 mm. La teneur en azote total a été dosée avec une méthode Kjehdahl modifiée et les teneurs en éléments totaux P, K, Ca, Mg Na, B, Al Cu, Fe, Mn ont été dosées par spectrophotométrie dans le plasma (ICP), après digestion de l'échantillon par voie humide à l'acide sulfurique et sélénieux (Isaac et Johnson, 1976). Les teneurs en C et N total ont également été dosées par combustion sur un appareil LECO. Les prélèvements en éléments dans les parties exportées des cultures ont été calculés avec ces teneurs et les rendements mesurés.

Pour toute la durée du projet, les données aux 10 minutes de température de l'air et du sol, de précipitation, d'humidité de l'air, de vitesse et de direction du vent ainsi que de rayonnement photosynthétique (PAR) ont été mesurées avec une station météorologique automatisée située à moins de 100 m des parcelles. Les données météorologiques ont permis de documenter les conditions sous lesquelles s'est produit le drainage.

Échantillonnages du sol

Le sol a été échantillonné après la récolte à l'automne 2015, 2016 et 2017, à des profondeurs de 0-10, 10-20, et 20-40 cm pour des analyses physico-chimiques et microbiologiques. Le sol a aussi été échantillonné au printemps 2016 et 2017 aux trois mêmes profondeurs quelques jours avant l'épandage ainsi qu'à la surface du sol (0-10 cm) quelques heures après l'épandage pour des analyses microbiologiques supplémentaires. À chaque campagne d'échantillonnage, cinq échantillons étaient prélevés par profondeur sur chaque parcelle et mélangés pour former des échantillons composites. Au laboratoire, la granulométrie a été déterminée par densimétrie à l'hydromètre de Bouyoucos sur les échantillons prélevés en début de projet selon des méthodes standards reconnues (CPVQ, 1988, 1993). La granulométrie des sables a été déterminée par tamisage sur les mêmes échantillons. Tous les échantillons de sol ont été analysés pour le pH à l'eau dans un ratio sol : eau 1:1 et le pH tampon (SMP) dans un ratio sol : eau 1:4 avec une électrode. Les teneurs en C et N total ont été déterminées par combustion sèche sur un appareil LECO. Les teneurs en N minéral (N-NO₃ et N-NH₄) ont été dosées par colorimétrie automatisée dans des extraits de sol : solution de KCl 2M dans un ratio 1 :10. Les teneurs en P, K, Ca, Mg, Al, Cu, Fe, Mn, Zn, et Na ont été dosés par spectroscopie à l'ICP dans des extraits de sol : solution Mehlich 3 dans un ratio 1 :5.

Échantillonnages d'eau de drainage

Tel que mentionné précédemment, chaque parcelle était traversée en son centre d'un drain perforé indépendant, de 10 cm de diamètre, posé à 90 cm de profondeur pour évaluer la qualité des eaux de drainage. Les eaux collectées par le drain étaient acheminées vers un cabanon hiverné, via des collecteurs souterrains. Le débit de ces eaux était mesuré avec des augets basculant en acier inoxydable d'un volume connu, et des lecteurs magnétiques permettant d'enregistrer aux 10 minutes le nombre de bascules d'eau drainée dans un acquisiteur de données. Ce dernier était consultable à distance pour vérifier l'importance des évènements de drainage et planifier l'échantillonnage de l'eau. Un sous-échantillon d'eau était collecté à chaque deux bascules avec un tuyau de petit diamètre fixé sur la base de l'auget. L'eau ainsi acheminée dans un bac de plastique était échantillonnée après chaque évènement d'importance. Les échantillons d'eau prélevés étaient acheminés au laboratoire pour analyse des teneurs de matières en suspension (MES) et en P total (persulfate) dans l'eau brute, ainsi que les teneurs en N-NH4, N-NO3 dosées par colorimétrie automatisée et les teneurs en P, K, Ca, Mg, Na Al, B, Cu, Fe, Zn, Mn dosées à l'ICP dans l'eau filtrée à 45 µm. Les charges en sédiments et en différentes formes de N et de P présentes dans les eaux de drainage ont été calculées en considérant les volumes d'eau drainés et les teneurs ou concentrations en éléments associées à ces volumes.

Pour l'analyse des paramètres microbiologiques, l'eau de drainage a été recueillie directement à la sortie des drains, lorsque les événements de pluie et de fonte des neiges étaient suffisants pour générer des échantillons d'eau dans un délai maximal de 2 heures. En 2016, six événements de pluie ont été échantillonnés dans ces conditions, totalisant 72 échantillons d'eau de drainage. Cinq événements de pluie ont été échantillonnés en 2017, et un autre au printemps 2018 à la fonte de la neige, totalisant 72 échantillons d'eau. Le débit de l'eau de drainage enregistré en 2016 et 2017 est rapporté au Tableau 7.

Tableau 7. Débit de l'eau de drainage au moment de l'échantillonnage en 2016 et 2017.

Saison 2016	Débit (mm/j)	Saison 2017	Débit (mm/j)
07-juin	0,12	24-févr	0,86
13-juin	0,39	10-avr	2,99
21-oct	2,51	16-oct	0,16
30-oct	0,42	30-oct	1,26
04-nov	0,18	06-nov	0,89
01-déc	0,37	30-avr	3,87

Variables mesurées

Pour résumer, les paramètres physico-chimiques évalués dans le lisier de porc sont l'azote ammoniacal (N-NH₄), les éléments totaux N, P, K, Ca, Mg, Al, B, Cu, Fe, Mn, Zn, Na, les matières sèches ainsi que les cendres. Dans les échantillons d'eau de drainage, les matières en suspension (MES), l'azote ammoniacal (N-NH₄), les nitrates (N-NO₃), le phosphore total (persulfate) (Pt) et les éléments totaux dissous P, K, Ca, Mg, Al, B, Cu, Fe, Mn, Zn, Na ont été évalués. Les paramètres évalués dans les échantillons de sol sont le pH, le rapport C/N, N-NH₄ et N-NO₃ extraits à la solution de KCl, ainsi que P, K, Ca, Mg, Al, B, Cu, Fe, Mn, Zn et Na extraits à la solution de Mehlich-3. Dans les grains, la tige et la paille des végétaux, les éléments totaux C, N P, K, Ca, Mg, Al, B, Cu, Fe, Mn, Zn, Na, le rapport C/N ainsi que les rendements ont été évalués. Enfin, les populations d'*E. coli* et *Enterococcus* spp. ont été déterminées dans les échantillons de lisier, de sol et

d'eau de drainage. La détection et quantification des gènes de résistance aux tétracyclines tet(T), aux sulfamides sul1, aux bêta-lactamines bla_{CTX-M} et à la colistine mcr-1 et mcr-2 ont aussi été réalisées dans ces échantillons.

Dénombrements des bactéries

Les bactéries ont été dénombrées avec les protocoles officiels CEAEQ MA.700-Ec.BCIG 1.0 pour l'isolement d'*E. coli* et MA.700-Ent 1.0 pour l'isolement des entérocoques dans les échantillons d'eau de drainage. Sur la base des deux procédures précédentes, un protocole a été adapté pour l'isolement des entérocoques dans des échantillons de sol et de lisier de porc. Cependant, les entérocoques ont été confirmés avec le kit *Enterolert** basé sur la technologie brevetée IDEXX «Defined Substrate Technology» (*DST**). Les populations bactériennes ont été rapportées en UFC par g de lisier de porc et de sol ou par 100 mL d'eau de drainage.

Extraction d'ADN génomique

L'extraction d'ADN génomique a été réalisée avec le kit *Fast DNA SPIN Kit for Feces*TM de la compagnie MP Biomedicals pour les matières fécales, le kit *Fast DNA SPIN Kit for Soil*TM pour le sol et l'eau de drainage en combinaison avec le système *FastPrep*® pour optimiser la lyse cellulaire. Quatre cents milligrammes de lisier de porc et 500 mg de sol ont été pesés pour l'extraction de l'ADN génomique. La filtration sur membrane de nitrocellulose à 0,45 µm a été réalisée pour l'eau seulement, afin d'y extraire l'ADN génomique. Les échantillons d'eau de drainage ont été filtrés avec un maximum de 250 mL par membrane pour récupérer les microorganismes et les matières en suspension tout en évitant le colmatage de celle-ci. Le lisier, le sol et la membrane d'eau de drainage ont ensuite été placés dans des microtubes prévus pour l'extraction d'ADN contenant un mélange de microbilles de silice et de céramique. La concentration et la pureté des extraits d'ADN ont été vérifiées avec le spectrophotomètre Tecan Infinite F200 Pro.

Ouantification des gènes de résistance aux antimicrobiens (GRAs)

La quantification des gènes de résistance aux antimicrobiens tet(T), sul1 et bla_{CTX-M} dans les extraits d'ADN a été réalisée avec la méthode de réaction en chaîne par polymérase en temps réel (qPCR). Les qPCR ont été réalisées avec le thermocycleur CFX96 et les réactifs Sso $Advanced^{TM}$ Universal Inhibitor-Tolerant SYBR® Green Supermix de la compagnie Bio-Rad. Le protocole d'amplification de l'ADN des gènes tet(T), sul1 et $bla_{CTX-M-1}$ est présenté dans le Tableau 8. Pour déterminer le nombre de copies du gène dans les extraits d'ADN, une courbe standard a été réalisée en utilisant des concentrations croissantes connues d'un fragment du gène d'intérêt. Les séquences de ces fragments d'ADN synthétiques sont présentées à l'annexe 1 (Tableau 24). Toutes les amorces et tous les fragments de gènes de résistance aux antimicrobiens ont été obtenus de la compagnie IDT (Integrated DNA Technologies, Inc., Iowa, États-Unis). La limite de détection qPCR des gènes tet(T), sul1 et $bla_{CTX-M-1}$ était respectivement de 14, 20 et 39 copies, tandis que leur la limite de quantification était de 357, 98 et 195 copies. Pour les échantillons de 2016, chaque réaction qPCR contenait en moyenne à 9,5±1,1 ng d'ADN de lisier de porc, 6,4±2,6 ng d'ADN du sol ou 7,8±6,7 ng d'ADN d'eau de drainage. Pour les échantillons de 2017, chaque réaction qPCR contenait en moyenne à 2,4±0,6 ng d'ADN de lisier de porc, 7,4±2,7 ng d'ADN du sol ou 10,1±8,0 ng d'ADN d'eau de drainage. Chaque réaction a été

effectuée en triplicata afin de s'assurer du bon déroulement du qPCR et de la précision de la quantification des gènes. Un contrôle négatif sans ADN a été réalisé avec l'eau désionisée. Le volume total d'une réaction qPCR était de 25 μL. La limite de quantification (LOQ) et la limite de détection (LOD) des gènes ciblés au qPCR étaient respectivement de 14,3 et 357 copies par réaction qPCR pour le gène *tet*(T), 19,7 et 98,4 copies/réaction pour le gène *sul*1 ainsi que 38,9 et 195 copies/réaction pour le gène *bla*_{CTX-M-1}. Un contrôle d'amplification interne (IAC) a été ajouté pour s'assurer que la réaction qPCR n'a pas été inhibée et qu'il n'y a pas de faux négatifs. Les séquences des amorces IAC ainsi que celles du fragment d'ADN synthétique du phage lambda utilisé comme IAC sont présentés à l'annexe 1 (Tableau 25). La spécificité de l'amplicon a été confirmée avec la température de fusion ainsi qu'avec une migration sur gel d'agarose à 3%. Tous les résultats ont été rapportés en nombre de copies par gramme de lisier de porc ou de sol et par mL d'eau filtré, puis normalisés à l'aide du logarithme naturel. Dans les échantillons de l'année 2016, les gènes *mcr*-1 et *mcr*-2 ont été recherchés par PCR conventionnel à l'aide du protocole de Liu et *al*. (Liu *et al*., 2015).

Tableau 8. Protocole d'amplification d'ADN et amorces sélectionnées pour le qPCR.

Nom de l'amorce	Sequence $(5' \rightarrow 3')$	Longueur du fragment (bp)	Concentration des amorces (nM)	Température de dénaturation (°C)	Température d'hybridation (°C)	Références
tet(T) tet(T)-F tet(T)-R	AAGGTTTATTATATAAAAGTG AGGTGTATCTATGATATTTAC	167	250	94	46	(Aminov et al., 2002; Marti et al., 2013)
<i>sul</i> 1 sul1-F sul1-R	GACTGCAGGCTGGTGGTTAT GAAGAACCGCACAATCTCGT	105	200	98	64	(Marti <i>et al.</i> , 2014)
bla _{CTX-M-1} CTX-M-F469 CTX-M-R532	CAGCTGGGAGACGAAACGTT CCGGAATGGCGGTGTTTA	64	400	98	60	(Hartmann et al., 2012; Marti et al., 2013)

Analyse des résultats

Les rendements en biomasse, les prélèvements en éléments par les plantes ainsi que la physico-chimie des sols ont été analysés pour chaque année en analyse de variance (ANOVA) avec la procédure PROC MIXED du progiciel SAS (SAS Institute, 2003). Les effets fixes (traitements de fertilisation et travail du sol) ont été testés avec un test de Fisher afin de vérifier s'ils étaient significatifs et les seuils de probabilité sont surlignés lorsqu'ils ont inférieurs à 0,10. Les sols ont aussi été analysés en tenant compte des effets fixes Année et Profondeur et de leurs interactions avec les traitements. Dans tous les modèles retenus, l'analyse des résidus devait démontrer une distribution aléatoire pour présumer qu'il n'y avait pas de tendance induite par de mauvaises manipulations ou autre.

Les bilans des éléments au niveau de la qualité des eaux de ruissellement et de drainage ont été réalisés sur les concentrations moyennes pondérées et les charges estimées avec les volumes d'eau. Les sommations saisonnières des charges (Dégel : avril, Saison de culture : mai à août, Automne : septembre à décembre,

Hiver : janvier à mars) ont été analysées de la même manière que pour les sols, les effets fixes étant les traitements, années et saisons. L'analyse statistique de ces résultats a toutefois été limitée par le nombre de répétions disponibles pour calculer des charges par période hydrologique et ne permet pas pour l'instant de comparer les résultats par traitement sur une base statistique. Les tendances générales ont toutefois été présentées et discutées. Des bilans comparant les apports en éléments fertilisants par rapport aux prélèvements des cultures et aux pertes dans l'eau et dans l'air ont aussi été calculés.

L'association entre chaque facteur et la prévalence des gènes dans les échantillons a été vérifiée à l'aide de tables de contingence et du test exact de Fisher disponible avec SAS PROC FREQ (version 9.4). Pour les dénombrements de bactéries et de gènes de résistance, un modèle général mixte linéaire avec une fonction logarithmique de liaison est ajusté pour compter les données afin d'évaluer les effets des facteurs et des interactions (Littell *et al.*, 2007). La distribution binomiale ou négative de Poisson a été spécifiée et les effets aléatoires et les mesures répétées ont été pris en compte dans le modèle. La partie aléatoire du modèle a été simplifiée lorsque la convergence n'était pas respectée. La procédure PROC GLIMMIX de SAS a été utilisée. Le seuil a été fixé à 0,05.

RÉSULTATS

Données climatiques

La Figure 2 présente la somme mensuelle des degrés-jours pour les années 2015 à 2017, calculée avec les températures enregistrées sur le site à la station de Saint-Lambert-de-Lauzon, ainsi que les normales climatiques tirées des rapports d'Environnement Canada pour la station avoisinante de Beauséjour (1981 à 2010).

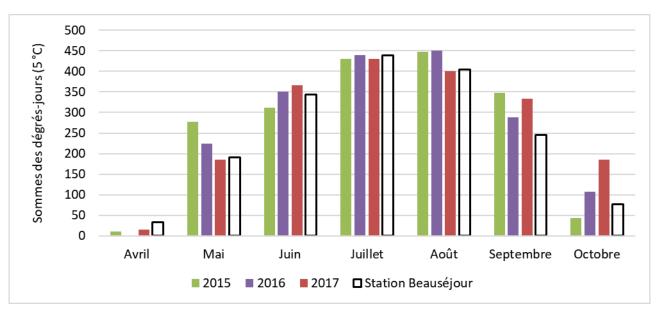


Figure 2. Cumul mensuel des degrés-jours (bases 5°C) de 2015 à 2017 et normales (1981-2010) de la station Beauséjour située à proximité.

La somme des degrés-jours a généralement suivi les normales climatiques durant les deux années de projet 2016 et 2017, mais les températures étaient quelque peu plus élevées que la normale à l'automne, plus spécifiquement en août et septembre 2016, ainsi qu'en septembre et octobre 2017. Il en résulte que les saisons de croissance 2015 à 2017 ont cumulé des valeurs dépassant les 2800 unités thermiques maïs (UTM), alors qu'on attribue à la région 2300 à 2500 UTM (8 années sur 10) et 2652 à 2916 UTM (2 années sur 10) (Tableau 9). La longueur de la période sans gel de 2015 à 2017 était plus longue en comparaison de la normale saisonnière (125 jours).

Tableau 9. Statistiques agrométéorologiques de Saint-Lambert-de-Lauzon de 2015 à 2017 et normales (1981-2010).

	2015	2016	2017	Normales
Précipitations totales annuelles (mm)	1208	1379	1131	1205
Précipitations mai-nov. (mm)	692	780	509	777
Date du dernier gel printanier (0 C)	23 mai	16 mai	25 avr	22 mai
Date du premier gel automnal (-2 C)	18 oct	06 nov	07 nov	25 sept.
Longueur de la saison sans gel (jours)	148	174	196	126
Longueur de la saison de croissance (jours)	210	189	178	-
Unités thermiques maïs (UTM)	3077	2974	3053	-
Fréquence de T° > 30°C	3	6	8	5

Les précipitations cumulées sur base mensuelle sont présentées à la Figure 3. En 2015, les précipitations cumulées de mai à novembre se situaient légèrement sous la normale pour cette période (777 mm), mais légèrement au-dessus des normales d'avril à juillet et sous les normales d'août à novembre. En 2016, le printemps était relativement sec en avril et mai, alors que les mois de juin et juillet ont reçu des précipitations plus abondantes (>200 mm en juillet) que la normale. Les précipitations étaient relativement près des normales au printemps de 2017, mais l'été a été particulièrement sec et sous les normales mensuelles en juillet, août et septembre.

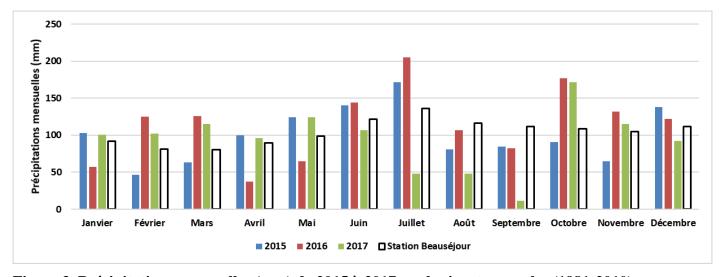


Figure 3. Précipitations mensuelles (mm) de 2015 à 2017 sur le site et normales (1981-2010).

Évolution des propriétés des sols

Le Tableau 26 à l'Annexe 2 présente les analyses de variance sur les propriétés liées à la fertilité du sol. Les effets généraux de l'année d'échantillonnage, de la profondeur d'échantillonnage, des facteurs Fertilisation et Travail du sol, ainsi que de leurs interactions y sont présentés. La plupart de ces propriétés varient significativement en profondeur dans le sol ainsi qu'au cours des années. Le Tableau 10 présente les valeurs moyennes de ces propriétés pour trois ans et trois profondeurs.

Tableau 10. Évolution des propriétés liées à la fertilité du sol de 2015 à 2017 et en fonction de la profondeur.

	Unité	2015	2016	2017	Erreur type
	•	0 à 10) cm	_	
pH eau	-	5.86	6.25	6.57	± 0.08
P M3	mg/kg	119	134	118	± 6.6
К мз	mg/kg	173	188	157	± 6.7
Самз	mg/kg	848	965	1065	± 44
Mg $M3$	mg/kg	92	176	183	± 6.1
Симз	mg/kg	3.48	4.08	4.23	± 0.16
Zn m3	mg/kg	4.83	4.82	4.21	± 0.22
C total	g/kg	2.13	2.04	1.90	±0.08
N total	g/kg	0.161	0.150	0.140	±0.005
P/Al	%	8.63	9.62	8.55	± 0.66
		10 à 2	0 cm		
pH eau	-	5.87	5.95	6.21	± 0.08
P M3	mg/kg	90	92	80	± 6.6
К мз	mg/kg	105	103	90	± 4.8
Самз	mg/kg	857	896	858	± 44
М g мз	mg/kg	72	79	113	± 5.3
Симз	mg/kg	2.64	2.76	2.77	± 0.15
Zn m3	mg/kg	3.30	3.29	2.62	± 0.23
C total	g/kg	1.98	1.81	1.68	± 0.08
N total	g/kg	0.149	0.127	0.120	±0.005
P/Al	%	6.50	6.32	6.14	± 0.61
		20 à 4	0 cm		
pH eau	-	5.88	5.80	6.06	± 0.08
P M3	mg/kg	61	35	40	± 7.4
К мз	mg/kg	88	69	70	± 3.6
Самз	mg/kg	771	599	646	± 48
$\mathbf{M}\mathbf{g}$ мз	mg/kg	66	72	88	± 7.5
Си мз	mg/kg	1.87	0.99	1.62	± 0.09
Zn m3	mg/kg	2.21	1.01	1.11	± 0.16
C total	g/kg	1.50	0.89	1.02	± 0.10
N total	g/kg	0.120	0.071	0.080	± 0.06
P/Al	%	4.44	2.41	3.24	± 0.71

Compte tenu de l'historique du dispositif expérimental, l'effet des traitements était déjà bien visible au départ du projet et l'effet des traitements de fertilisation et de travail de sol était significatif dès 2015. En conséquence, seules les données de 2017 seront présentées, les résultats 2016 présentant les mêmes tendances. Le pH (eau) fait cependant exception à la règle. En effet, compte tenu des apports répétés de chaux au cours du projet, le pH du sol a connu une augmentation substantielle, passant de 5,9 à 6,6 en moyenne à la surface du sol (0-10 cm de profondeur), entre 2015 et 2017 (Figure 4). De plus, le sous-solage pratiqué à l'automne 2016 a permis d'augmenter le pH de 0,2 unité de 10 à 40 cm de profondeur, et d'uniformiser davantage le pH du sol dans le profil. En dehors de l'effet du chaulage pratiqué, les traitements de fertilisation ont aussi eu un effet sur le pH du sol. Ainsi, le traitement MIN (à l'engrais minéral) a significativement réduit le pH (surtout en surface du sol de 0-10 cm de profondeur), par rapport aux autres traitements de fertilisation avec apports de lisier.

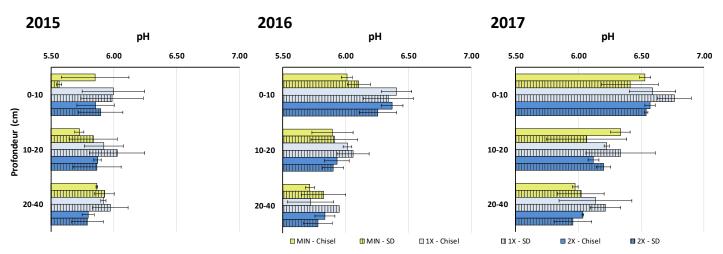


Figure 4. Évolution du pH-eau au cours des années, en fonction des traitements de fertilisation, du travail et de la profondeur du sol.

Malgré des apports répétés de lisier sur les mêmes parcelles année après année depuis 1978, l'enrichissement en phosphore (Mehlich-3) du sol est surtout marqué en 2017 dans les premiers 20 centimètres de la surface du sol (Figure 5). Avec des apports plus faibles en phosphore, le sol sous le traitement MIN présentait des concentrations et une saturation en phosphore plus faibles, alors que les traitements 1X et 2X présentaient des concentrations et saturations qui augmentaient avec la dose de lisier apportée. Les taux de saturation en phosphore atteints dans les traitements MIN, 1X et 2X se situaient respectivement à 4,3, 8,4 et 13,0% à 0-10 cm de profondeur et à 4,5, 5,9 et 8,0 % à 10-20 cm de profondeur. Le traitement 2X semble donc avoir atteint en surface le seuil critique de saturation environnemental de 13.1% retenu par le REA pour des sols ayant moins de 30 % d'argile (CRAAQ, 2010). Cependant, le seuil critique de 8% proposé par Khiari et Giroux (2010) pour les sols du groupe G1b (sols fins avec moins de 60% d'argile) semblent avoir été dépassé dans les traitements 1X et 2X de 0 à 10 cm de pro fondeur dans le sol. Toute année confondue (2015-2017), les interactions profondeur*fertilisation hautement significatives pour plusieurs propriétés du sol (Tableau 26 à 1'Annexe 2), révèlent aussi une augmentation beaucoup plus importante de ces propriétés à la surface du sol (0-10 cm) qu'en profondeur (20-40 cm), sous le traitement de fertilisation 2X.

Les traitements de fertilisation ont affecté les teneurs en potassium, calcium et magnésium extraits à la solution Mehlich-3 de 0 à 10 cm de profondeur dans le sol, ainsi que les teneurs en potassium et magnésium de 10 à 20 cm de profondeur. En revanche, les traitements ont peu affecté ces teneurs de 20 à 40 cm de profondeur dans le sol. Le semis direct semble avoir augmenté les teneurs en Ca Mehlich 3 de 0 à 10 cm de la surface du sol, et diminué les teneurs en Mg Mehlich 3 de 10 à 20 et 20 à 40 cm en profondeur.

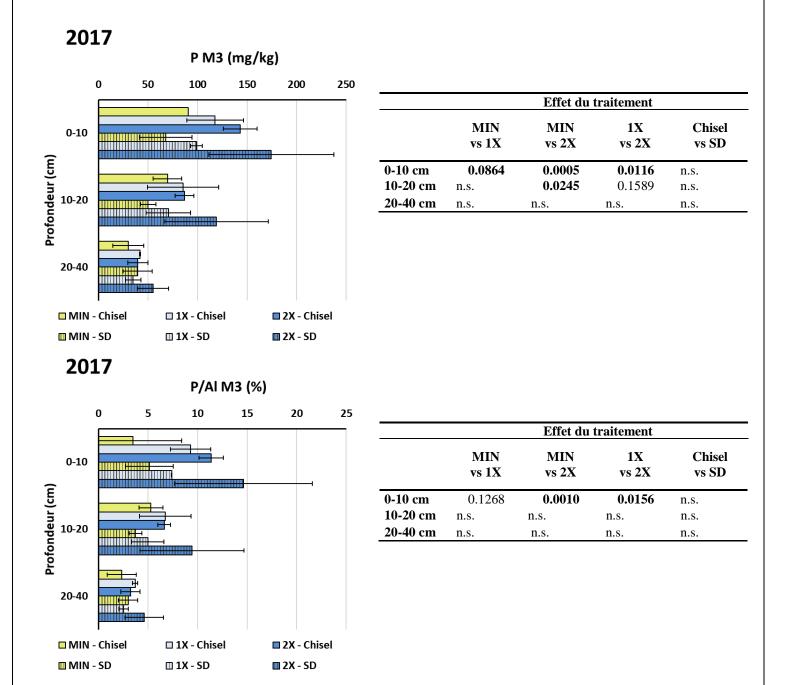
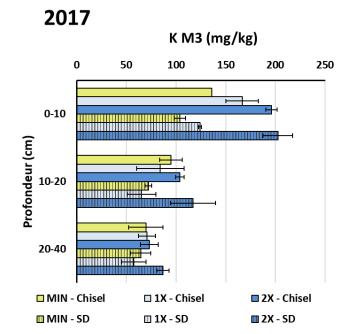
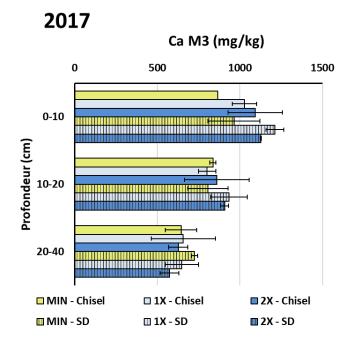


Figure 5. Teneurs en phosphore M3 et ratio P/AI mesurés en 2017. Les barres d'erreurs sont des écartstypes. Probabilités associées aux contrastes entre les traitements à chaque profondeur.



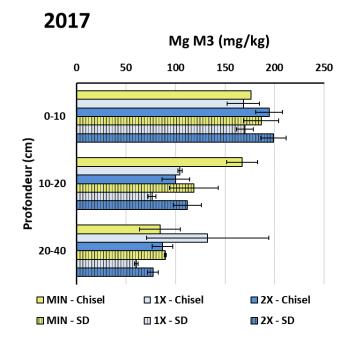
	Effet du traitement			
	MIN vs 1X	MIN vs 2X	1X vs 2X	Chisel vs SD
0-10 cm	0.1052	0.0001	0.0026	0.1496
10-20 cm	n.s.	0.0331	0.0058	n.s.
20-40 cm	n.s.	0.1785	0.1081	n.s.

Figure 6. Teneurs en potassium Mehlich 3 (M3) mesurées en 2017. Probabilités associées aux contrastes entre les traitements à chaque profondeur.



	Effet du traitement			
	MIN vs 1X	MIN vs 2X	1X vs 2X	Chisel vs SD
0-10 cm	0.0056	0.0074	n.s.	0.0546
10-20 cm	n.s.n.s.	n.s.	n.s.	
20-40 cm	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

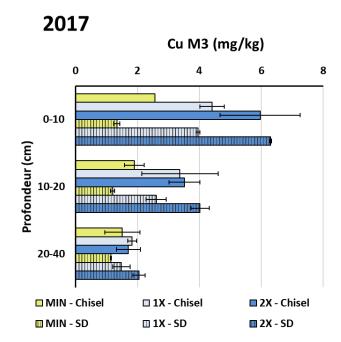
Figure 7. Teneurs en calcium M3 mesurées en 2017. Probabilités associées aux contrastes entre les traitements à chaque profondeur.



	Effet du traitement			
	MIN vs 1X	MIN vs 2X	1X vs 2X	Chisel vs SD
0-10 cm	0.4297	0.1488	0.0189	0.4735
10-20 cm	0.0000	0.0002	0.0573	0.0152
20-40 cm	n.s.	n.s.	n.s.	0.0596

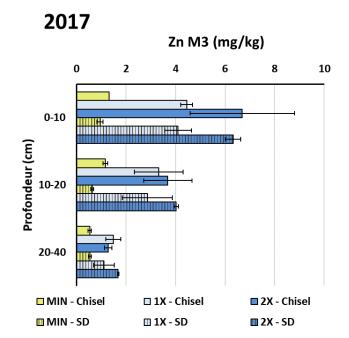
Figure 8. Teneurs en magnésium M3 mesurées en 2017. Probabilités associées aux contrastes entre les traitements à chaque profondeur.

Les traitements de fertilisation ont davantage affecté les teneurs en cuivre et zinc extraits à la solution Mehlich 3 que les bases K, Ca et Mg. Ainsi, à presque toutes les profondeurs, l'apport de lisier de porc à des doses croissantes a fortement augmenté la teneur de ces métaux dans le sol par rapport au traitement témoin recevant seulement des engrais minéraux. Les concentrations mesurées demeuraient toutefois en dessous des seuils de toxicité ou des valeurs du 99^e percentile établis par Deschênes *et al.* (2006) à 9 et 14 mg/kg de Cu et Zn respectivement, mentionné dans CRAAQ (2010).



	Effet du traitement			
	MIN vs 1X	MIN vs 2X	1X vs 2X	Chisel vs SD
0-10 cm	0.0001	0.0000	0.0001	0.1823
10-20 cm	0.0011	0.0000	0.0510	0.3093
20-40 cm	0.1636	0.0302	0.3349	0.4963

Figure 9. Teneurs en cuivre M3 mesurées en 2017. Probabilités associées aux contrastes entre les traitements à chaque profondeur.



	Effet du traitement			
	MIN vs 1X	MIN vs 2X	1X vs 2X	Chisel vs SD
0-10 cm	0.0000	0.0000	0.0006	0.4409
10-20 cm	0.005	0.0000	0.1542	0.6178
20-40 cm	0.0811	0.0439	0.6154	0.9590

Figure 10. Teneurs en zinc M3 mesurées en 2017. Probabilités associées aux contrastes entre les traitements à chaque profondeur.

Rendements

Les rendements en grain ainsi que les volumes de biomasse produits par les cultures sont présentés à la Figure 11. Les données sont présentées sur base d'humidité corrigée à 15 %.

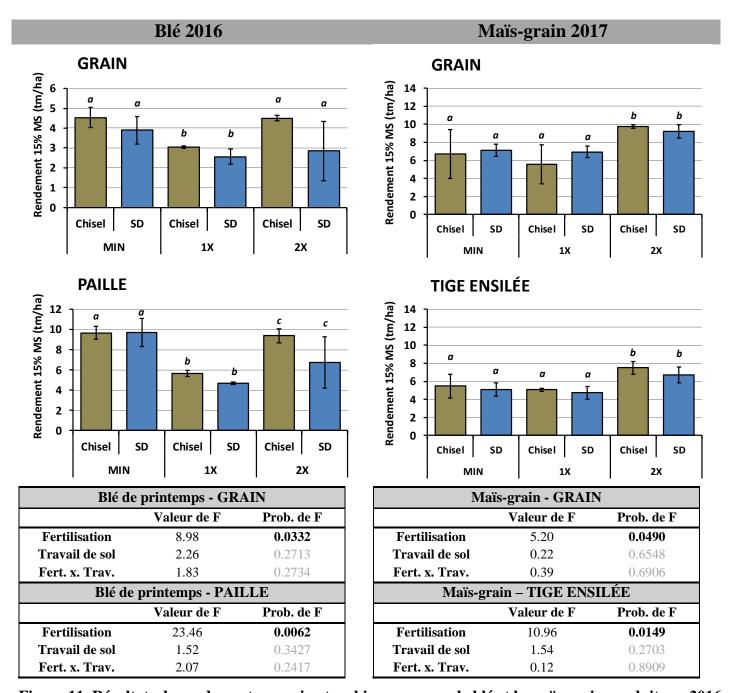


Figure 11. Résultats de rendement en grain et en biomasse pour le blé et le maïs-grain produits en 2016 et 2017, respectivement.

Le travail du sol n'a pas influencé significativement les rendements obtenus au cours des deux années du projet, même si les rendements du blé semblaient légèrement inférieurs en 2016 sous travail réduit. L'une des parcelles du traitement 2X - SD a connu une très forte pression d'adventices ayant entraîné une diminution de rendement du blé, entre autres. Le mode et la dose de fertilisation ont toutefois significativement influencé

les rendements produits en 2016 et 2017. En 2016, les traitements MIN et 2X ont fourni des rendements en grains de blé comparables, alors que les parcelles avec la plus faible dose de lisier (1X) ont produit des rendements significativement plus faibles. Le traitement MIN a toutefois produit des rendements en paille de blé significativement plus élevés que le 2X, qui se distinguaient aussi du traitement 1X. En 2017, les rendements du maïs étaient significativement plus élevés dans le traitement 2X par rapport aux deux autres traitements.

Prélèvements en éléments dans les biomasses aériennes du blé et du maïs

Les prélèvements en éléments ont été calculés pour chaque partie aérienne de la plante (grain et paille du blé; grain, épis et tiges du maïs ensilés) avec les rendements et les concentrations en éléments mesurés dans les biomasses prélevées dans chaque parcelle. Les résultats par partie aérienne et par traitement sont présentés à l'Annexe 2. Le traitement de fertilisation a produit des réponses significatives pour la majorité des éléments mesurés dans les parties aériennes des deux cultures. Le travail de sol ne semble pas avoir produit de tels effets, sauf sur le magnésium dans la paille du blé. La variabilité était cependant plus grande dans les parcelles travaillées au chisel.

À l'exception des prélèvements de calcium et de zinc dans le grain et la paille de blé, les trois traitements de fertilisation ont produit des effets significativement différents les uns des autres sur les différents éléments prélevés par le blé. Pour les prélèvements en éléments dans les différentes parties de la biomasse du maïs, seul le traitement 2X a augmenté les prélèvements, en lien avec les augmentations de rendements en biomasse reliées à ce traitement. Alors que le prélèvement total en N dans la biomasse aérienne du blé (environ 145 kg N/ha) et du maïs (environ 155 kg/ha) était relativement similaire sous l'effet d'un apport de 120 kg/ha d'engrais minéral dans le traitement MIN en 2016 et 2017, les prélèvements en N sous l'effet de la dose de lisier à 2X était pratiquement le double dans le maïs (environ 195 kg N/ha) par rapport au blé (environ 100 kg N/ha).

En moyenne, les concentrations de phosphore étaient plus importantes dans les grains de blé et de maïs que dans les pailles ou les tiges de ces deux cultures. À l'inverse, le potassium et le calcium se retrouvaient en plus grandes concentrations dans les pailles ou tiges que dans le grain. Les concentrations en azote, magnésium, cuivre et zinc étaient réparties de manière plus uniforme entre les grains et les tiges. Comme résultante, les effets des traitements de fertilisation sur les prélèvements en éléments étaient aussi plus significatifs là où leurs concentrations étaient plus élevées dans les biomasses. Par exemple, le traitement 2X a eu plus d'effet sur les prélèvements en P dans les grains de blé et de maïs et que dans les pailles et tiges de ces mêmes cultures, alors qu'à l'inverse les effets de ce traitement sur les prélèvements de K et de Ca étaient plus importants dans les pailles de blé et les tiges de maïs.

Qualité physico-chimique de l'eau de drainage

L'analyse de la qualité physico-chimique de l'eau de drainage est rapportée sur deux ans du 1^{er} juin 2016 au 31 mai 2018. La distribution mensuelle des hauteurs d'eau transitant par les drains agricoles s'étendant de part et d'autre de cette période, du 1^{er} mars 2016 au 31 juillet 2018, est rapportée à la Figure 12. Sur les 1379

et 1131 mm de précipitations totales tombées en 2016 et 2017 respectivement, 798 et 607 ont transité par les drains agricoles, soit 58 et 54% des précipitations totales. Le drainage annuel a été scindé en quatre périodes durant lesquelles l'activité hydrologique dans les drains est contrastée. Les mois de juin à août inclusivement constituent la première période de la saison de culture durant laquelle le drainage est presque inactif en raison de l'évapotranspiration plus intense, mais l'activité biochimique est importante dans le sol en raison de la chaleur, de la fertilisation, du travail de sol et de la croissance des cultures. Les mois de septembre à novembre inclusivement constituent l'automne ou la fin de la saison de croissance et une période durant laquelle les évènements de drainage sont relativement importants. Les mois de décembre à février constituent la période d'hiver durant laquelle les évènements de drainage sont relativement inexistants sauf lors de redoux hivernaux. Les mois de mars à mai constituent la période de dégel durant laquelle le drainage est à son maximum. Toutefois, pour l'année de suivi 2016 en 2017, le seul mois d'avril a été la principale période de dégel et de fonte des neiges durant laquelle la plus grande majorité de l'eau transitant par les drains a été mesurée, soit respectivement 56% et 59% de la hauteur d'eau drainée. Les hauteurs drainées à la fonte des neiges sont élevées dans ce champ et en général dans la région, en raison de l'important couvert de neige qui fond à cette période avec plus de 20 cm d'épaisseur de neige encore présents dans les 11 premiers jours d'avril (Normale climatique de la station Beauséjour d'Environ. Canada). Ces hauteurs d'eau drainées ont également une incidence importante sur les charges d'éléments transitant vers les drains durant cette période et contribuent aussi à réduire de façon substantielle la concentration de ces éléments dans l'eau du sol et des drains au début de la saison de culture. En contraste, les niveaux d'écoulement observés au cours des mois de juillet à septembre variaient de très faibles à nuls.

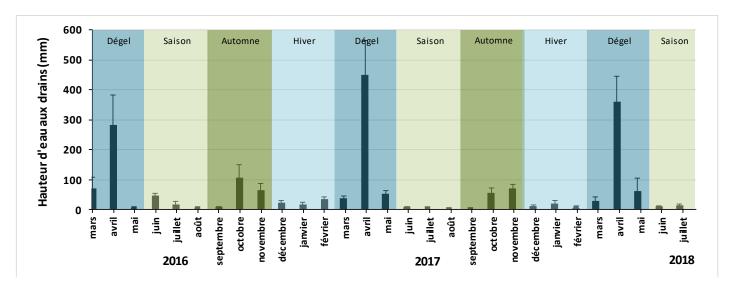


Figure 12. La distribution mensuelle des hauteurs d'eau transitant par les drains agricoles. La barre d'erreur représente l'écart type entre les 12 parcelles.

Les charges et concentrations moyennes pondérées de N-NH₄ dans l'eau de drainage sont présentées par traitement à la Figure 13. Plus de 50 % des pertes d'azote ammoniacal (N-NH₄) ont été mesurées au cours du dégel (en avril plus particulièrement). Sur une base annuelle, c'est toutefois moins de 1 kg/ha d'azote qui a été perdu sous forme ammoniacale, peu importe le traitement. Les concentrations les plus élevées ont été notées en juillet et septembre-octobre au cours de l'année 2017. Cependant, ces concentrations se

maintiennent à des niveaux très faibles, loin sous le critère de qualité de l'eau du MDDELCC (1,5 mg/L de N). Notons aussi une baisse importante des concentrations lors d'une période d'étiage en janvier 2018.

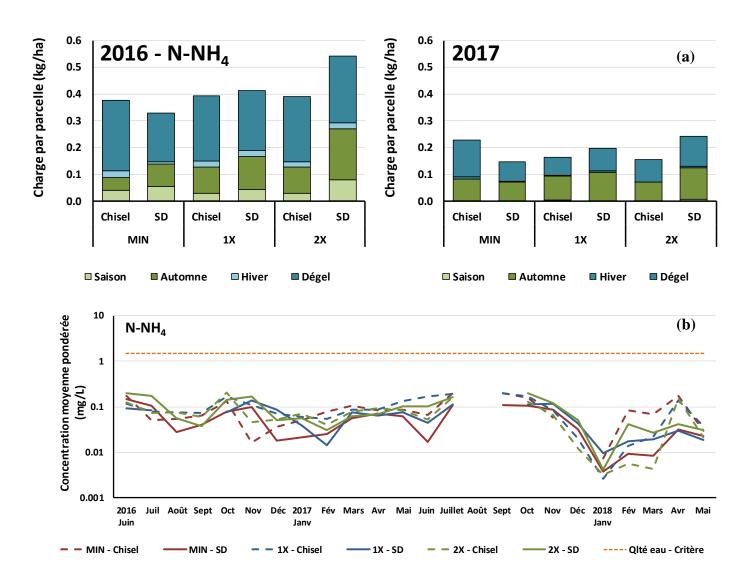


Figure 13. Charges (a) et concentrations moyennes pondérées (b) de N-NH4 dans l'eau de drainage.

Les pertes d'azote sous forme de nitrates (N-NO₂ – N-NO₃) dans les eaux de drainage étaient beaucoup plus élevées en 2016 qu'en 2017, soit d'environ 55 à 95 kg/ha selon les traitements sous le blé en 2016 et d'environ 30 à 60 kg/ha sous le maïs en 2017 (Figure 14a). Pour des quantités comparables d'engrais azotés appliqués sous forme d'engrais minéral (MIN) ou de lisier (1X et 2X) entre les deux années, les pertes en nitrates moins élevées sous la culture de maïs (43 kg N/ha en moyenne) par rapport au blé (78 kg N/ha en moyenne) reflètent les prélèvements de N (dans la biomasse aérienne) plus importants du maïs (154 kg N/ha en moyenne) par rapport au blé (106 kg N/ha en moyenne). Selon la quantité d'azote totale appliquée pour le blé en 2016 sous les traitements MIN, 1X et 2X, soit 120, 89 et 214 kg N/ha, c'est respectivement 51 %, 91 % et 43 % de l'azote qui a été perdu dans l'eau de drainage, tandis qu'avec des apports similaires de 120, 115 et 237 kg/ha pour les mêmes traitements de fertilisation dans le maïs en 2017, les proportions retrouvées dans les drains étaient de 30 %, 34 % et 23 %, respectivement. Dans les deux cultures, une meilleure performance

de la culture à dose plus élevée de lisier (2X) semble avoir réduit la proportion de nitrates retrouvée dans les eaux des drains agricoles, même si elle semble un peu plus élevée en quantité absolue. D'autres mécanismes de pertes (émissions de NH₄ ou de N₂O) ou d'immobilisation de N dans le sol pourraient aussi être en jeu.

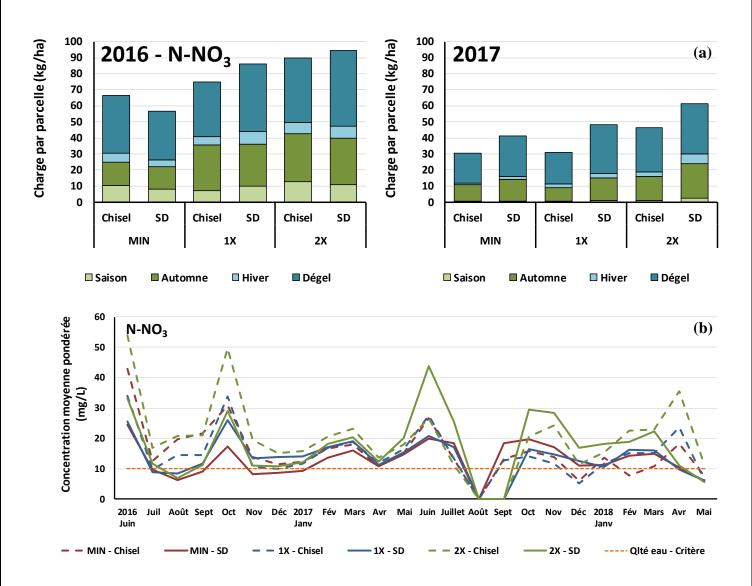


Figure 14. Charges (a) et concentrations moyennes pondérées (b) de N-NO3 dans l'eau de drainage.

Les concentrations moyennes pondérées de nitrates dans l'eau de drainage ont évolué différemment d'une saison à l'autre en 2016 et 2017, mais de façon générale, dépassaient le critère de qualité de l'eau de 10 mg de N-NO₃/L (Figure 14b). Sous les deux cultures, on a observé une augmentation rapide des concentrations dans le mois de juin après l'application des engrais. Une seconde augmentation importante est apparue dans le blé en octobre 2016, mais de façon moins marquée dans le maïs à l'automne 2017. Ces augmentations sporadiques de concentrations de nitrates dans les eaux de drainage reflètent des réponses très rapides de l'influence des apports d'engrais, de l'activité biologique dans le sol et des prélèvements par les cultures.

Les charges de P total dans les eaux de drainage, de même pour les concentrations moyennes pondérées étaient, comme pour les nitrates, plus élevées en 2016 qu'en 2017 (Figure 15 a et b). Les prélèvements légèrement plus importants dans la biomasse du maïs (25 kg P/ha en moyenne) par rapport au blé (22 kg P/ha

en moyenne) ne peuvent expliquer ces résultats à eux seuls. Ces plus faibles charges pourraient être attribuées aux précipitations plus élevées en 2016, ainsi qu'aux plus faibles hauteurs d'eau drainées qui ont entrainé ces charges. Comme pour l'azote, les charges sont d'ailleurs plus importantes durant les périodes hydrologiquement actives, soit à l'automne et à la fonte des neiges. Contrairement à l'azote, l'effet des traitements de fertilisation ne semble pas affecter les charges en P sauf pour le cas de la dose 2X de lisier de porc en travail réduit (SD).

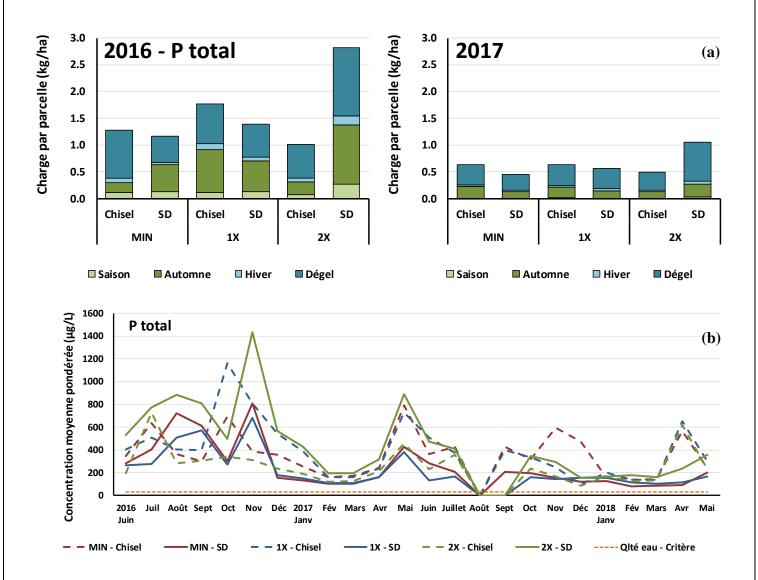


Figure 15. Charges (a) et concentrations moyennes pondérées (b) de P total dans l'eau de drainage.

Contrairement aussi aux charges de nitrates retrouvées dans les drains, qui représentaient respectivement en moyenne sous le blé et le maïs 55 et 27 % de l'azote appliqué sous forme d'engrais (MIN, 1X ou 2X), les charges de P total représentaient seulement 6 et 2 % du P appliqué sous ces mêmes cultures. Les concentrations pondérées de P total dans les eaux étaient cependant très élevées par rapport au critère de qualité de l'eau de 30 µg/L pour la protection de la vie aquatique. On note toutefois une baisse des concentrations importantes en février-mars 2016 et 2017 et en aout-septembre 2017 correspondant à des périodes d'étiage.

Les charges et concentrations moyennes pondérées de P total dissous suivent à peu près les mêmes tendances que le P total (Figure 16 a et b). Les charges annuelles de phosphore soluble mesurées en 2017 sont restées plus faibles qu'en 2016, en moyenne de moins de 1 kg/ha sous chaque traitement. Cette fraction dissoute ou non liée aux sédiments dans l'eau représentait 34 et 44 % du P total présent sous forme de charge dans l'eau sous les cultures de blé et de maïs, respectivement. Par ailleurs, cette fraction augmente de façon linéaire avec la quantité de P apportée en engrais, démontrant comment le P des lisiers de porc est aussi soluble que celui des engrais de synthèse.

Comme pour le P total, les parcelles SD avec la dose 2X de lisier ont perdu près de deux fois plus de phosphore que les autres parcelles, sans explications apparentes. À l'inverse, les parcelles SD pour la dose plus faible de lisier (1X) et pour la fertilisation minérale (MIN) ont suivi. Des conditions intrinsèques au sol (texture, capacité de fixation) et aux drains devraient être investiguées pour expliquer ces résultats. Comme pour le P total, tous les traitements ont maintenu dans l'eau de drainage des concentrations en P total dissous dépassant largement le critère de qualité de l'eau de 30 µg/L. Rappelons que l'indice de saturation en P des sols était de 4,3, 8,4 et 13,0 % à 0-10 cm de profondeur et de 4,5, 5,9 et 8,0 % à 10-20 cm de profondeur dans les traitements MIN, 1X et 2X, respectivement. Le traitement 2X était le seul à avoir atteint à 0-10 cm de profondeur, le seuil critique de saturation environnemental de 13,1% retenu par le REA pour des sols ayant moins de 30 % d'argile (CRAAQ, 2010), tandis que le seuil critique de 8 % proposé par Khiari et Giroux (2010) pour les sols du groupe G1b (sols fins avec moins de 60 % d'argile) a seulement été dépassé dans les traitements 1X et 2X de 0 à 10 cm de profondeur. Ces observations sur la qualité chimique de l'eau dans les drains agricoles ne permettent pas de valider les critères de saturation en P des sols retenus pour protéger la qualité des eaux de surface.

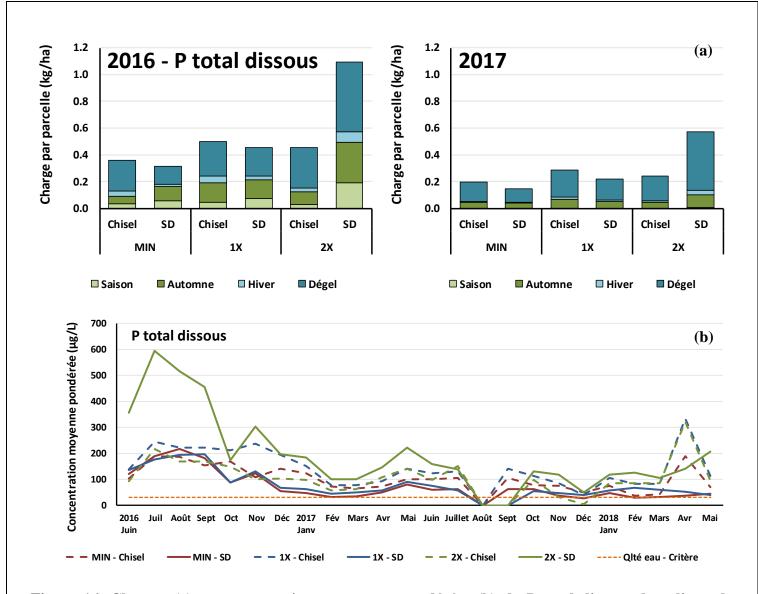


Figure 16. Charges (a) et concentrations moyennes pondérées (b) de P total dissous dans l'eau de drainage.

Les charges et concentrations de K dans l'eau suivent le patron des éléments plus solubles comme les nitrates (Figure 17). Les charges représentaient respectivement 37 et 22 % des quantités de K apportées en engrais dans le blé et le maïs. Elles ont augmenté en général avec les apports aux sols et diminué avec les prélèvements des cultures, mais elles étaient moins tributaires des conditions d'étiage ou de drainage plus intense, comme pour le phosphore. Il n'y pas de critère de qualité pour les eaux de surface relié à K.

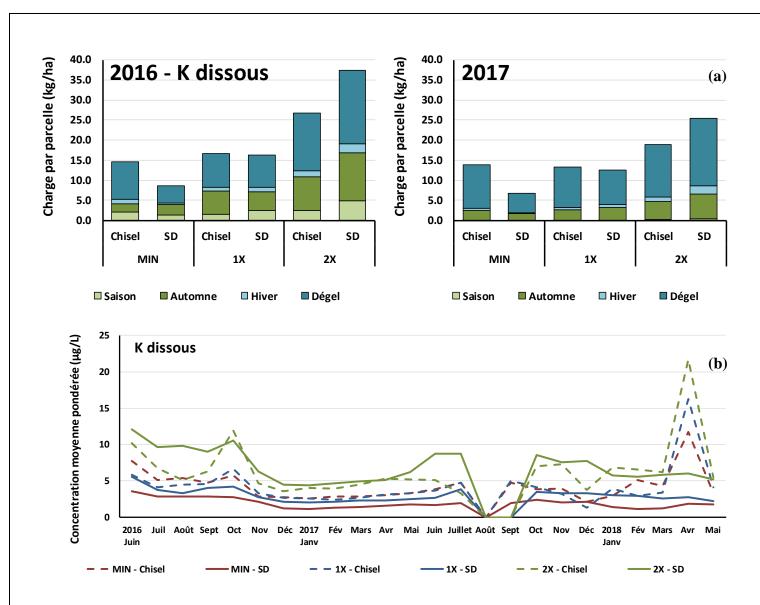


Figure 17. Charges (a) et concentrations moyennes pondérées (b) de K dans l'eau de drainage.

Populations de bactéries dans le lisier de porc et le sol

Les populations d'E. coli dans le lisier de porc étaient légèrement plus élevées en 2016 (5,0 \pm 0,1 Log₁₀ UFC/g) qu'en 2017 (4,6 ± 0,1 Log₁₀ UFC/g). C'est le contraire pour les populations d'entérocoques qui étaient plus élevées en 2017 (4,2 \pm 0,1 Log₁₀ UFC/g) qu'en 2016 (4,8 \pm 0,02 Log₁₀ UFC/g). Les populations d'E. coli dans le sol de surface (0-10 cm) après l'épandage du lisier de porc en mai 2016 ont été influencées par le mode de fertilisation et par l'interaction du travail du sol et du mode de fertilisation (Tableau 11). La profondeur du sol ainsi que la date d'échantillonnage n'ont pas eu d'effets statistiquement significatifs sur les populations des bactéries E. coli. Au contraire, en 2017, la profondeur du sol ainsi que la date d'échantillonnage ont eu un effet sur les populations d'E. coli dans le sol de surface (Tableau 12). Il y avait davantage de bactéries dans le sol de surface après l'épandage que les deux autres dates d'échantillonnage (avant l'épandage et récolte). De plus, en 2017, les concentrations étaient plus élevées avec la dose de lisier 2X qu'avec la dose 1X ou les engrais minéraux. Pour les deux années à l'étude, les populations bactériennes d'E. coli et d'entérocoques n'ont pas statistiquement varié dans les échantillons appartenant aux parcelles fertilisées uniquement avec des engrais minéraux. Les populations d'E. coli à la récolte en 2016, correspondant à 116 jours après l'épandage, et en 2017, correspondant à 180 jours après l'épandage, ont diminué à des concentrations statistiquement similaires à celles avant l'épandage dans les parcelles ayant reçu du lisier de porc.

Tableau 11. Populations moyennes d'E. coli dans le sol en 2016 selon le mode de fertilisation.

	Log ₁₀ UFC/g de sol (moyenne (IC ^a); n=4)					
Fertilisant	09-mai (n=12)	19-mai (n=4)	12-sept (n=12)			
MIN	0,3 (0,2-0,4)	0,5 (0,0-3,0)	0,4 (0,3-0,5)			
1X	0,3 (0,2-0,4)	2,6 (2,3-2,8)	0,4 (0,28-0,5)			
2X	0,3 (0,2-0,3)	3,1 (3,0-3,3)	0,4 (0,3-0,5)			

^aIC correspond à l'intervalle de confiance à 95% du modèle statistique. La limite de détection de la méthode de dénombrement était de 2 UFC/g ou 0,3 Log₁₀ UFC/g de sol. L'épandage a eu lieu le 19 mai et la récolte du blé a été faite le 12 septembre 2016. Les doses de lisiers sont représentées en fonction de la dose recommandée par le CRAAQ 1X ou 2X puis les engrais minéraux par MIN.

Tableau 12. Populations moyennes d'E. coli dans le sol en 2017 selon le mode de fertilisation.

	Log ₁₀ UFC/g de sol (moyenne (IC ^a); n=4)					
Fertilisant	15-mai (n=12)	24-mai (n=4)	20-nov (n=12)			
MIN	0,3 (0,2-0,4)	0,3 (0,0-2,3)	0,3 (0,3-0,4)			
1X	0,4 (0,3-0,4)	2,2 (1,97-2,4)	0,3 (0,3-0,4)			
2X	0,4 (0,3-0,4)	2,5 (2,3-2,7)	0,3 (0,3-0,4)			

^aIC correspond à l'intervalle de confiance à 95% du modèle statistique La limite de détection de la méthode de dénombrement était de 2 UFC/g ou 0,3 Log₁₀ UFC/g de sol. L'épandage a eu lieu le 24 mai et la récolte du maïs-grain a été faite le 20 novembre 2017. Les doses de lisier sont représentées en fonction de la dose recommandée par le CRAAQ 1X ou 2X puis les engrais minéraux par MIN.

Concernant les populations d'entérocoques dans le sol en 2016 et 2017, il n'y a pas eu d'effet statistique du mode de fertilisation ni de la profondeur de sol. Cependant, les populations variaient statistiquement en fonction de la date d'échantillonnage pour les deux années à l'étude (Tableau 13 et Tableau 14). En 2016, les concentrations d'entérocoques ont aussi été influencées par l'interaction entre le mode de fertilisation et la date d'échantillonnage, plus précisément par le mode de fertilisation après l'épandage du lisier de porc le 19 mai 2016. En effet, les populations d'entérocoques étaient plus élevées à la dose 2X que celles à la dose 1X. Elles étaient aussi statistiquement plus élevées à la récolte qu'avant l'épandage du lisier de porc en 2016. Il n'y a pas eu de différence statistique entre les populations dans le sol de surface après l'épandage et la récolte. Il y avait un effet de la date d'échantillonnage sur les concentrations d'entérocoques dans le sol de surface avec un travail réduit du sol (SD), mais il n'y en avait pas en travail conventionnel du sol (chisel) pour les deux années de culture.

En 2017, les concentrations d'entérocoques étaient statistiquement plus élevées dans les échantillons de sol en surface recueillis après l'épandage que ceux datant de quelques jours avant l'épandage ou ceux pris à la récolte du maïs-grain en novembre. Il n'y a pas eu de différences significatives entre les moyennes des populations entre les doses 1X et 2X à la date d'épandage, mais elles étaient statistiquement plus élevées que celles des parcelles fertilisées avec les engrais minéraux. Le 24 mai 2017, après l'épandage, les concentrations d'entérocoques ont été influencées par l'interaction du mode de travail du sol et de fertilisation.

Tableau 13. Population moyennes d'entérocoques dans le sol en 2016 selon le mode de fertilisation.

	Log ₁₀ UFC/g de sol (moyenne (IC ^a); n=4)					
Fertilisant	09-mai (n=12)	19-mai (n=4)	12-sept (n=12)			
MIN	0,2 (0,0-0,9)	0,4 (0,0-3,4)	1,2 (0,8-1,6)			
1X	0,3 (0,0-1,0)	1,7 (1,0-2,3)	1,0 (0,5-1,4)			
2X	0,5 (0,0-1,1)	2,6 (2,4-2,9)	1,2 (0,8-1,7)			

^aIC correspond à l'intervalle de confiance à 95% du modèle statistique. La limite de détection de la méthode de dénombrement était de 2 UFC/g ou 0,3 Log₁₀ UFC/g de sol. L'épandage a eu lieu le 19 mai et la récolte du blé a été faite le 12 septembre 2016. Les doses de lisiers sont représentées en fonction de la dose recommandée par le CRAAQ 1X ou 2X puis les engrais minéraux par MIN.

Tableau 14. Population moyennes d'entérocoques dans le sol en 2017 selon le mode de fertilisation.

	Log ₁₀ UFC/g de sol (moyenne (IC ^a); n=4)				
Fertilisant	15-mai (n=12)	24-mai (n=4)	20-nov (n=12)		
MIN	0,3 (0,1-0,5)	0,8 (0,0-2,2)	0,3 (0,1-0,5)		
1X	0,3 (0,1-0,5)	2,9 (2,8-3,0)	0,5 (0,3-0,6)		
2X	0,3 (0,1-0,5)	3,2 (3,2-3,3)	0,5 (0,4-0,7)		

^aIC correspond à l'intervalle de confiance à 95% du modèle statistique. La limite de détection de la méthode de dénombrement était de 2 UFC/g ou 0,3 Log₁₀ UFC/g de sol. L'épandage a eu lieu le 24 mai et la récolte du maïs-grain a été faite le 20 novembre 2017. Les doses de lisiers sont représentées en fonction de la dose recommandée par le CRAAQ 1X ou 2X puis les engrais minéraux par MIN.

Populations de bactéries dans l'eau de drainage

En résumé, les populations d'*E. coli* dans l'eau de drainage ont varié entre 0,0 et 3,2 Log₁₀ UFC/100mL en 2016, 0,0 et 2,3 Log₁₀ UFC/100mL en 2017, et entre 0,0 et 1,3 Log₁₀ UFC/100mL au printemps 2018. Les populations d'entérocoques dans l'eau de drainage ont varié entre 0,0 et 3,0 Log₁₀ UFC/100mL en 2016, entre 0,0 et 2,8 Log₁₀ UFC/100mL en 2017, et entre 0,7 et 1,9 Log₁₀ UFC/100mL au printemps 2018. Les populations moyennes d'*E. coli* en 2016 sont présentées au Tableau 15. Aucune analyse statistique n'a été faite pour les dénombrements d'*E. coli* dans l'eau de drainage en 2017 puisque les concentrations moyennes n'étaient pas assez différentes entre les traitements. Les Tableaux Tableau 16 et Tableau 17 indiquent les populations d'entérocoques pour 2016 et 2017, respectivement. Les résultats des tests des effets fixes de type 3 sont résumés dans le Tableau 28 à l'annexe 2.

Les populations des bactéries *E. coli* en 2016 ont varié statistiquement en fonction du mode de travail du sol, du mode de fertilisation, de la date d'échantillonnage, ainsi qu'en fonction de l'interaction deux à deux de tous ces facteurs. La concentration moyenne des bactéries *E. coli* dans l'eau était statistiquement plus élevée lors d'un épandage de lisier de porc à la dose 1X qu'à l'application d'engrais minéraux en 2016. Les concentrations d'*E. coli* dans l'eau de drainage ont statistiquement diminuées entre le 07 juin et le 13 juin 2016, correspondant à 19 et 25 jours après l'épandage du lisier de porc (Tableau 15). Le travail du sol a eu un impact sur les populations d'*E. coli* à la dose 2X seulement. En fait, pour une même date d'échantillonnage, le travail du sol n'a pas eu d'effet sur la concentration des bactéries dans l'eau de drainage et ce, peu importe le mode de fertilisation. L'échantillonnage du 1^{er} décembre 2016 n'a pas été pris en compte dans l'analyse statistique afin d'obtenir la convergence du modèle statistique. Cependant, les populations d'*E. coli* à cette date étaient toutes de 0 Log₁₀ UFC/100mL, mais deux parcelles recevant les traitements de travail réduit du sol (SD) avec des doses de lisier de porc 1X et 2X avaient respectivement 0,5 et 0,8 Log₁₀ UFC/100mL d'eau de drainage. Les moyennes étaient semblables à celles du 4 novembre 2016.

Tableau 15. Populations moyennes d'*E. coli* dans l'eau de drainage en 2016 selon le mode de fertilisation.

Fertilisant	Log ₁₀ UFC/100mL d'eau (moyenne (ICa); n=4					
reitiisant	07-juin	13-juin	21-oct	30-oct	04-nov	
MIN	2,4 (2,0-2,8)	1,2 (0,8-1,6)	2,5 (2,1-2,9)	0,6 (0,1-1,0)	0,0 (0,0-0,5)	
1X	2,9 (2,5-3,3)	1,9 (1,5-2,3)	2,4 (2,0-2,8)	0,8 (0,3-1,2)	0,9 (0,4-1,3)	
2X	3,0 (2,6-3,4)	2,2 (1,8-2,6)	1,0 (0,5-1,5)	0,7 (0,1-1,3)	0,4 (0,0-1,0)	

^aIC correspond à l'intervalle de confiance à 95% du modèle statistique. La limite de détection de la méthode de dénombrement était de 1 UFC/mL ou 0,0 Log₁₀ UFC/mL d'eau de drainage. Les doses de lisiers sont représentées en fonction de la dose recommandée par le CRAAQ 1X ou 2X et les engrais minéraux par MIN. L'épandage du lisier de porc a eu lieu le 19 mai et la récolte du blé a été faite le 12 septembre 2016.

Les populations d'entérocoques en 2016 et 2017 ont été statistiquement influencées par la date d'échantillonnage. Cependant, en 2017, elles ont aussi été influencées par le mode de travail du sol puis par une interaction entre le travail du sol et le mode de fertilisation. Les concentrations d'entérocoques ont statistiquement diminué entre le 7 juin et 13 juin 2016 (Tableau 16). Cependant, il y a eu une augmentation significative des concentrations d'entérocoques dans l'eau de drainage le 21 octobre, puis elles ont

statistiquement diminué le 4 novembre 2016, correspondant à 169 jours après l'épandage du lisier de porc. En 2017, les populations d'entérocoques étaient statistiquement différentes entre toutes les dates d'échantillonnage. La date d'échantillonnage du 16 octobre 2017 n'a été prise en compte dans l'analyse statistique étant donné qu'il y avait 7 données manquantes (débit des drains pas suffisant à cette date). Les populations d'entérocoques à cette date variaient entre 2,1 et 2,4 Log₁₀ UFC/100mL. Les populations d'entérocoques étaient significativement plus faibles avant l'épandage du 24 mai 2017 (Tableau 17). Les concentrations ont été plus élevées au mois d'octobre (premier événement d'écoulement des drains après l'épandage en mai 2017), puis ont diminué significativement le 6 novembre, correspondant à 166 jours après l'épandage. L'eau de drainage provenant des parcelles avec le traitement 1X et un travail conventionnel du sol (chisel) contenait davantage d'entérocoques que dans celles ayant eu un travail réduit du sol (SD). La même observation statistique a été faite avec les parcelles fertilisée avec des engrais minéraux. Lors d'un travail réduit du sol, il y avait plus de bactéries dans l'eau des parcelles fertilisées avec du lisier de porc à la dose 2X que dans celles recevant les traitements 1X ou MIN.

Tableau 16. Populations moyennes d'entérocoques dans l'eau de drainage en 2016 selon le mode de fertilisation.

Fertilisant	Log ₁₀ UFC/100mL d'eau (moyenne (ICa); n=4)					
reitinsant	07-juin	13-juin	21-oct	30-oct	04-nov	01-déc
MIN	2,6 (2,3-2,9)	1,8 (1,5-2,1)	2,7 (2,4-3,0)	1,2 (0,9-1,5)	0,7 (0,3-1,0)	1,0 (0,6-1,3)
1X	2,5 (2,2-2,9)	2,0 (1,7-2,2)	2,4 (2,1-2,6)	-2,4 (-299,5-294,7)	0,1 (-0,5-0,7)	0,9 (0,5-1,2)
2X	2,7 (2,4-3,1)	1,9 (1,6-2,2)	2,6 (2,3-2,8)	1,1 (0,8-1,4)	0,4 (-0,1-0,8)	1,3 (0,9-1,6)

^aIC correspond à l'intervalle de confiance à 95% du modèle statistique. La limite de détection de la méthode de dénombrement était de 1 UFC/mL ou 0,0 Log₁₀ UFC/mL d'eau de drainage. Les doses de lisiers sont représentées en fonction de la dose recommandée par le CRAAQ 1X ou 2X puis les engrais minéraux par MIN. L'épandage a eu lieu le 19 mai et la récolte du blé a été faite le 12 septembre 2016.

Tableau 17. Populations moyennes d'entérocoques dans l'eau de drainage en 2017 selon le mode de fertilisation.

Fertilisant	Log ₁₀ UFC/100mL d'eau (moyenne (ICa); n=4)				
refullsant	24-fév	10-avr	30-oct	06-nov	
MIN	0,7 (0,3-1,0)	0,2 (0,0-0,6)	2,2 (2,0-2,5)	1,7 (1,4-1,9)	
1X	0,4 (0,0-0,8)	0,1 (0,0-0,6)	2,3 (2,1-2,5)	2,0 (1,8-2,3)	
2X	0,3 (0,0-0,7)	0,1 (0,0-0,6)	2,6 (2,3-2,9)	2,0 (1,7-2,2)	

^aIC correspond à l'intervalle de confiance à 95% du modèle statistique. La limite de détection de la méthode de dénombrement était de 1 UFC/mL ou 0,0 Log₁₀ UFC/mL d'eau de drainage. Les doses de lisiers sont représentées en fonction de la dose recommandée par le CRAAQ 1X ou 2X puis les engrais minéraux par MIN. Le 19 mai 2016 correspond à la date d'épandage et la récolte du blé a été faite le 12 septembre 2016.

Concentration des gènes de résistance aux antimicrobiens dans le lisier de porc et dans le sol

En 2016, les concentrations moyennes en gènes de résistance à la tétracycline tet(T) et aux sulfamides sul1 dans le lisier de porc étaient respectivement de $9,49 \pm 2,97$ Log₁₀ copies/g et $8,35 \pm 3,10$ Log₁₀ copies/g. En 2017, les concentrations moyennes en gènes tet(T) et sul1 dans le lisier de porc étaient respectivement de $9,11 \pm 3,24$ Log₁₀ copies/g et $8,44 \pm 3,38$ Log₁₀ copies/g. Les gènes de résistance aux bêta-lactamines $bla_{CTX-M-1}$ et à la colistine mcr-1 et mcr-2 étaient sous la limite de détection de la méthode qPCR.

Les concentrations en gènes tet(T) à la surface du sol en 2016 et 2017 ont varié statistiquement selon le mode de fertilisation, la date d'échantillonnage et l'interaction entre ces deux facteurs (annexe 2, Tableau 28). Il n'y a pas eu d'effet significatif en fonction du travail du sol ou de la profondeur du sol (Tableau 18 et Tableau 19). En 2016, tous les facteurs ont eu des interactions significatives sur la concentration des gènes de résistance tet(T). Avant l'épandage du lisier de porc, les concentrations de ces gènes étaient statistiquement similaires dans les parcelles recevant les traitements 1X, 2X ou MIN (Figure 18). Cependant, le 15 mai 2017, il y avait davantage de gènes dans les parcelles fertilisées avec du lisier 1X que dans celles fertilisées avec des engrais minéraux (MIN). Quelques heures après l'épandage, il y avait davantage de gènes dans les parcelles recevant du lisier de porc 1X ou 2X que dans celles fertilisées avec des engrais minéraux pour les deux années de l'étude. En 2016, il y avait statistiquement plus de gènes tet(T) dans les parcelles avec le traitement de lisier 2X que dans celles avec le traitement 1X. À la récolte, les parcelles ayant reçu des doses de lisier de porc 2X avaient des concentrations plus élevées en gènes tet(T) que dans les autres parcelles pour les deux années de culture. Il y avait des concentrations en gènes plus élevées dans les parcelles avec le traitement MIN après l'épandage en 2017 que les deux autres dates d'échantillonnage. Il n'y avait pas de différence statistiquement significative avant l'épandage et à la récolte pour la concentration des gènes dans les parcelles MIN en 2016, mais il y en avait davantage avant l'épandage en 2017. À la dose 2X, les concentrations en gènes tet(T) ont été plus élevées après l'épandage du lisier de porc qu'avant l'épandage ou à la récolte.

Tableau 18. Concentration des gènes de résistance aux tétracyclines tet(T) aux trois profondeurs de sol en 2016.

Date ^a	Profondeur (cm)	Log ₁₀ copies/g de sol (moyenne (IC ^a); n=4)		
Date"		MIN	1X	2X
	0-10	4,75 (3,82-5,68)	5,46 (4,53-6,39)	5,61 (4,69-6,54)
9 mai 2016	10-20	4,78 (3,85-5,70)	5,61 (4,68-6,54)	5,34 (4,41-6,27)
	20-40	-5,99 (-442,79-430,81)	4,07 (3,14-5,00)	4,93 (4,00-5,86)
	0-10	4,22 (3,29-5,15)	4,23 (3,30-5,16)	5,77 (4,84-6,70)
12 septembre 2016	10-20	4,08 (3,15-5,01)	4,93 (4,00-5,86)	4,94 (4,01-5,86)
	20-40	-0,81 (-309,67-308,05)	4,37 (3,44-5,30)	5,07 (4,14-6,00)

^aIC = Intervalle de confiance à 95% du modèle statistique. La limite de détection se situe entre 4,19 et 4,70 Log₁₀ copies/g de sol tandis que la limite de quantification se situe entre 5,58 et 6,10 Log₁₀ copies/g de sol. Le 9 mai 2016 correspond à 10 jours avant l'épandage du lisier de porc, le 19 mai 2016 correspond à la date d'épandage et la récolte du blé a été faite le 12 septembre 2016 correspondant à 116 jours après l'épandage. Les doses de lisiers sont représentées en fonction de la dose recommandée par le CRAAQ 1X ou 2X et les engrais minéraux par MIN.

Tableau 19. Concentration des gènes de résistance aux tétracyclines *tet*(T) aux trois profondeurs de sol en 2017.

	Profondeur (cm)	Log ₁₀ copies/g de sol (moyenne (IC ^a); n=4)		
Date		MIN	1X	2X
	0-10	4,68 (4,22-5,14)	5,78 (5,32-6,25)	5,25 (4,78-5,71)
15 mai 2017	10-20	4,68 (4,22-5,14)	5,23 (4,77-5,70)	5,24 (4,78-5,71)
	20-40	-0,80 (-301,97-300,36)	4,68 (4,21-5,14)	4,68 (4,22-5,15)
	0-10	4,69 (4,23-5,15)	4,68 (4,22-5,14)	5,95 (5,49-6,41)
20 novembre 2017	10-20	4,68 (4,22-5,14)	4,68 (4,22-5,14)	4,68 (4,22-5,14)
	20-40	-0,79 (-301,95-300,38)	4,54 (4,08-5,00)	5,24 (4,78-5,70)

^aIC = Intervalle de confiance à 95% du modèle statistique. La limite de détection se situe entre 4,19 et 4,70 Log₁₀ copies/g de sol tandis que la limite de quantification se situe entre 5,58 et 6,10 Log₁₀ copies/g de sol. Le 15 mai 2017 correspond à 9 jours avant l'épandage du lisier de porc, le 24 mai 2017 correspond à la date d'épandage et la récolte du maïs-grain a été faite le 20 novembre 2017 correspondant à 180 jours après l'épandage. Les doses de lisiers sont représentées en fonction de la dose recommandée par le CRAAQ 1X ou 2X puis les engrais minéraux par MIN.

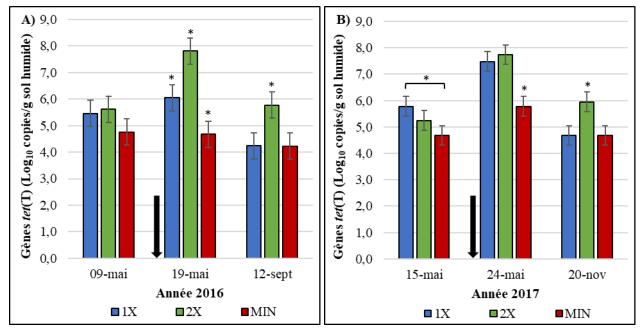


Figure 18. Concentration des gènes tet(T) à la surface du sol selon la date d'échantillonnage et du mode de fertilisation. A) Année 2016 B) Année 2017. *Signifie que la moyenne est statistiquement différente à la date d'échantillonnage. Les épandages de 2016 et 2017, qui ont eu lieu respectivement le 19 mai et le 24 mai, ont été identifiés par les flèches noires sur les graphiques. Les doses de lisiers sont représentées en fonction de la dose recommandée par le CRAAQ 1X ou 2X puis les engrais minéraux par MIN. La limite de détection se situe entre 4,19 et 4,70 Log₁₀ copies/g de sol tandis que la limite de quantification se situe entre 5,58 et 6,10 Log₁₀ copies/g de sol.

Tout comme les gènes tet(T), les concentrations en gènes sul1 à la surface du sol ont été statistiquement influencées par le mode de fertilisation et la date d'échantillonnage, mais il y a eu une interaction entre ces deux facteurs en 2016 seulement (annexe 2, Tableau 28). Il n'y a pas eu d'impact du travail du sol et de la profondeur du sol (Tableau 20 et Tableau 21). Sauf quelques exceptions, il y avait généralement des concentrations en gènes tet(T) et sul1 plus élevées à la surface du sol qu'aux deux autres profondeurs. Après

l'épandage et à la récolte, les concentrations en gènes de résistance aux sulfamides *sul*1 étaient plus basses dans les parcelles avec le traitement MIN que dans celles avec la dose de lisier 2X pour les deux années de culture (Figure 19). En 2016, à la dose de lisier de porc 2X, il y avait des concentrations en gènes plus élevées à la récolte du blé qu'en mai avant l'épandage. En 2017, à la dose 1X, les concentrations en gènes *sul*1 étaient plus élevées après l'épandage qu'aux deux autres dates d'échantillonnage. Il n'y a pas eu de différence statistiquement significative entre les concentrations moyennes dans les parcelles avec les traitements 2X (2017) et MIN (2016 et 2017) entre les dates d'échantillonnage du sol, bien qu'une augmentation soit remarquée après l'épandage.

Tableau 20. Concentration des gènes de résistance aux sulfamides *sul*1 aux trois profondeurs de sol en 2016.

Date	Profondeur (cm)	Log ₁₀ copies/g de sol (moyenne (IC ^a); n=4)		
		MIN	1X	2X
	0-10	5,40 (4,81-6,00)	5,77 (5,17-6,36)	6,05 (5,46-6,65)
9 mai 2016	10-20	4,66 (4,07-5,26)	5,48 (4,88-6,07)	5,59 (4,99-6,18)
	20-40	4,52 (3,92-5,11)	5,29 (4,69-5,88)	5,71 (5,11-6,30)
	0-10	5,56 (4,97-6,16)	6,39 (5,79-6,98)	6,79 (6,20-7,39)
12 septembre 2016	10-20	4,87 (4,28-5,47)	5,54 (4,95-6,14)	5,85 (5,26-6,45)
	20-40	-0,36 (-183,05-182,34)	4,82 (4,22-5,41)	5,32 (4,72-5,91)

^aIC = Intervalle de confiance à 95% du modèle statistique. La limite de détection se situe entre 4,80 et 4,84 log₁₀ copies/g de sol tandis que la limite de quantification se situe entre 5,50 et 5,54 log₁₀ copies/g de sol. Le 9 mai 2016 correspond à 10 jours avant l'épandage du lisier de porc, le 19 mai 2016 correspond à la date d'épandage et la récolte du blé a été faite le 12 septembre 2016 correspondant à 116 jours après l'épandage. Les doses de lisiers sont représentées en fonction de la dose recommandée par le CRAAQ 1X ou 2X et les engrais minéraux par MIN.

Tableau 21. Concentration des gènes de résistance aux sulfamides *sul*1 aux trois profondeurs de sol en 2017.

Date ^a	Profondeur (cm)	Log ₁₀ copies/g de sol (moyenne (IC ^a); n=4)		
		MIN	1X	2X
	0-10	5,61 (5,24-5,98)	6,12 (5,76-6,49)	6,43 (6,06-6,79)
15 mai 2017	10-20	5,17 (4,80-5,54)	5,88 (5,51-6,24)	6,12 (5,76-6,49)
	20-40	4,50 (4,14-4,87)	5,43 (5,06-5,79)	5,58 (5,21-5,94)
	0-10	5,81 (5,44-6,17)	6,33 (5,96-6,70)	6,81 (6,44-7,17)
20 novembre 2017	10-20	5,44 (5,07-5,80)	5,67 (5,30-6,04)	5,95 (5,59-6,32)
	20-40	5,06 (4,69-5,43)	5,90 (5,53-6,26)	5,72 (5,35-6,08)

^aIC = Intervalle de confiance à 95% du modèle statistique. La limite de détection se situe entre 4,80 et 4,84 log₁₀ copies/g de sol tandis que la limite de quantification se situe entre 5,50 et 5,54 log₁₀ copies/g de sol. Le 15 mai 2017 correspond à 9 jours avant l'épandage du lisier de porc, le 24 mai 2017 correspond à la date d'épandage et la récolte du maïs-grain a été faite le 20 novembre 2017 correspondant à 180 jours après l'épandage. Les doses de lisiers sont représentées en fonction de la dose recommandée par le CRAAQ 1X ou 2X puis les engrais minéraux par MIN.

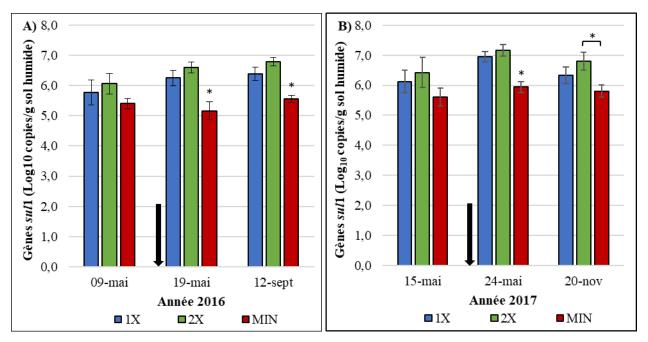


Figure 19. Concentration des gènes sul1 à la surface du sol selon la date d'échantillonnage et le mode de fertilisation. A) Année 2016 B) Année 2017. *Signifie que la moyenne est statistiquement différente à la date d'échantillonnage. Les épandages de 2016 et 2017, qui ont eu lieu respectivement le 19 mai et le 24 mai, ont été identifiés par les flèches noires sur les graphiques. Les doses de lisiers sont représentées en fonction de la dose recommandée par le CRAAQ 1X ou 2X et les engrais minéraux par MIN. La limite de détection se situe entre 4,80 et 4,84 log₁₀ copies/g de sol tandis que la limite de quantification se situe entre 5,50 et 5,54 log₁₀ copies/g de sol.

Concentration des gènes de résistance aux antimicrobiens dans l'eau de drainage

Puisque les concentrations en gènes *tet*(T) dans l'eau de drainage en 2017 et 2018 étaient toutes sous la LOQ, variant entre 0,00 et 300,00 copies/mL, aucune analyse statistique n'a été faite avec ces données. Le Tableau 22 résume les concentrations moyennes en gènes retrouvés dans l'eau de drainage. D'après l'analyse de variance avec les tests des effets fixes de type 3 (annexe 2, Tableau 28), la date d'échantillonnage ainsi que l'interaction entre le mode de fertilisation et le travail du sol ont eu un impact sur la concentration des gènes *tet*(T) dans l'eau de drainage en 2016 et et *sul*1 en 2017. Il y a eu aussi une interaction statistiquement significative entre le travail du sol et la date d'échantillonnage pour les gènes *tet*(T) en 2016. Les concentrations en gènes *tet*(T) dans l'eau de drainage étaient statistiquement plus élevées le 07 et le 13 juin 2016, au moins 19 jours après l'épandage. Elles ont significativement diminué à partir du 30 octobre 2016. Aussi, à cette date d'échantillonnage, il y avait statistiquement plus de gènes dans les parcelles travaillées de façon réduite (SD) que dans celles travaillées conventionnellement (chisel).

Les concentrations en gènes *sul*1 dans l'eau de drainage ont aussi été influencées par le mode de fertilisation en 2016 et 2017. En effet, il y avait statistiquement plus de gènes dans l'eau de drainage provenant des parcelles fertilisées avec la dose de lisier de porc 2X que dans celles 1X ou MIN en 2016, et plus de gènes dans les parcelles 2X et 1X que dans celles MIN en 2017. Les concentrations moyennes en gènes *sul*1 ont statistiquement été plus élevées le 7 juin 2016, puis ont ensuite diminué significativement. En plus, en 2017, les concentrations en gènes *sul*1 ont été influencées par le travail du sol. En effet, dans les parcelles fertilisées avec du lisier de porc à la dose 1X, les concentrations étaient plus élevées dans les parcelles avec un travail

réduit du sol que dans celles travaillées conventionnellement. Il y avait statistiquement moins de gènes dans l'eau de drainage échantillonnée avant l'épandage du lisier de porc en mai 2017 que dans l'eau échantillonnée à l'automne de la même saison de culture.

Tableau 22. Concentration des gènes de résistance aux tétracyclines *tet*(T) et aux sulfamides *sul*1 dans l'eau de drainage en 2016.

Année Date		Log ₁₀ copies/mL (moyenne (IC ^a); n=4)			
Année	d'échantillonnage	tet(T)	sul1		
	7 juin	2,78 (2,34-3,21)	3,56 (3,38-3,74)		
	13 juin	1,96 (1,54-2,38)	1,94 (1,76-2,12)		
2016	21 octobre	1,82 (1,40-2,24)	2,28 (2,10-2,47)		
2016	30 octobre	0,86 (0,28-1,43)	1,51 (1,32-1,70)		
	4 novembre	-6,73 (-285,79-2,72,34)	1,16 (0,96-1,35)		
	1 décembre	0,95 (0,48-1,42)	1,51 (1,32-1,70)		
	24 février		1,77 (1,65-1,90)		
	10 avril		1,87 (1,75-2,00)		
2017	16 octobre	SLQ^b	2,51 (2,31-2,71)		
	30 octobre		2,46 (2,34-2,58)		
	6 novembre		2,24 (2,11-2,36)		
2018	30 avril	SLQ ^c	2,27		

^aIC = Intervalle de confiance à 95% du modèle statistique. ^bSLQ = sous la limite de quantification de 2,38 Log₁₀ copies/mL d'eau de drainage pour l'année 2017. ^cSLQ = sous la limite de quantification de 2,48 Log₁₀ copies/mL. La limite de détection pour le gène *tet*(T) se situe entre 0,98 et 1,38 Log₁₀ copies/mL tandis que la limite de quantification se situe entre 2,38 et 2,78 Log₁₀ copies/mL. La limite de détection pour le gène *sul*1 se situe entre 1,12 et 1,52 Log₁₀ copies/mL tandis que la limite de quantification se situe entre 1,82 et 2,22 Log₁₀ copies/mL.

Prévalences des gènes de résistance aux antimicrobiens

Les gènes *bla*_{CTX-M} étaient en nombre plus petit que la limite de détection de la méthode de qPCR, mais la migration sur gel d'agarose a permis de retrouver quelques échantillons où le gène était tout de même présent. En 2016, la prévalence des gènes *bla*_{CTX-M} dans l'eau de drainage a été de 9,7 % et de 100 % dans le lisier de porc, mais ils n'ont pas été détectés dans les échantillons de sol (Tableau 23). Les prévalences des gènes *sul*1 et *tet*(T) à la récolte du maïs-grain en 2017 étaient plus élevées qu'à la récolte du blé en 2016. Les parcelles fertilisées avec des engrais minéraux avaient des prévalences plus petites que les autres parcelles fertilisées avec du lisier.

D'après les tests exacts de Fisher réalisés, la présence des gènes tet(T) dans le sol en 2016 n'a pas été influencée par le mode de fertilisation, la date d'échantillonnage et le travail du sol, mais l'a été par la profondeur du sol. La présence des gènes tet(T) dans le sol en 2017 a été influencée par le mode de

fertilisation et la profondeur du sol, mais ne l'a pas été par la date d'échantillonnage et le travail du sol. La prévalence des gènes *sul*1 dans le sol en 2016 a été influencée par le mode de fertilisation et la profondeur de sol. Aussi, la présence de ces gènes a été influencée par l'interaction du mode de travail du sol et de fertilisation. En 2017, la prévalence des gènes *sul*1 n'a pas varié en fonction des facteurs étudiés.

Dans les échantillons d'eau de drainage, il y avait presque deux fois plus de gènes *sul*1 présents que de gènes *tet*(T) pour les trois années à l'étude (Tableau 23). D'après les tests exacts de Fisher réalisés, la date d'échantillonnage en 2016 a influencé la prévalence des gènes *tet*(T) dans l'eau. En 2017, le mode de fertilisation ainsi que l'interaction entre le mode de travail du sol et le mode de fertilisation (principalement l'échantillonnage du 24 février 2017) ont influencé la présence des gènes *tet*(T) dans les échantillons d'eau.

Tableau 23. Prévalence des gènes de résistance aux bêta-lactamines, aux sulfamides et aux tétracyclines dans les échantillons d'eau de drainage, de sol et de lisier de porc.

				Prévalence (%)		
Année	Gène	Eau de drainage	Sol avant épandage	Sol après épandage	Récolte	Lisier de porc
	bla _{CTX-M} ^b	9,7	0,0	0,0	0,0	100,0
2016	sul1	94,4	91,7	100,0	86,1	100,0
	tet(T)	54,2	77,8	100,0	66,7	100,0
2017	sul1	100,0	94,4	100,0	100,0	100,0
2017	tet(T)	67,3	91,7	100,0	88,9	100,0
20108	sul1	100,0	ND°	ND	ND	ND
2018 ^a	tet(T)	58,3	ND	ND	ND	ND

^aEn 2018, il n'y a eu qu'un seul échantillonnage d'eau de drainage au printemps, lors de la fonte de la neige. ^bLe gène *bla*_{CTX-M} a été recherché en 2016, mais ne l'a pas été en 2017 et 2018. ^cND = Non Disponible puisqu'il n'y avait aucun échantillon de sol et de lisier de porc en 2018.

DISCUSSION

L'objectif de cette étude était de mesurer l'effet du mode de fertilisation et du travail du sol sur le rendement du blé et du maïs-grain, ainsi que sur la qualité physico-chimique et microbiologique du lisier de porc, de l'eau de drainage et du sol. Il visait aussi à préciser l'effet d'épandages répétés de lisier de porc sur la présence des GRAs dans le sol et l'eau de drainage.

L'effet des doses croissantes de lisier apporté à répétition d'année en année a été différent durant les deux années de projet, en lien avec les besoins différents des cultures de blé et de maïs. Dans le blé, le traitement en engrais minéral (MIN) qui apportait 120, 30 et 30 kg N/ha de N, P₂O₅ et K₂O, respectivement et la dose plus élevée de lisier (2X) (215, 48 et 103 kg/ha de N total, P₂O₅ et K₂O, respectivement) sous travail conventionnel du sol semblent tous les deux avoir comblé les besoins de cette culture par rapport à la plus faible dose de lisier apporté apportant 89, 20 et 43 kg/ha de N total, P₂O₅ et K₂O, respectivement. Le coefficient d'efficacité de N total du lisier de porc par rapport au rendement de blé produit était de 0,90 à la dose 1X et baissait à 0,55 à la dose 2X. Rappelons, qu'il est normal que le coefficient d'efficacité d'un engrais baisse à mesure que la dose augmente, alors que le rendement tend à plafonner. Dans le maïs, le rendement supérieur produit avec la dose plus élevée de lisier (2X) (237, 55 et 119 kg/ha de N total, P2O5 et K₂O, respectivement) démontre que les besoins en éléments fertilisants étaient plus importants que sous le traitement en engrais minéral apportant 120, 40 et 40 kg N/ha de N, P₂O₅ et K₂O, respectivement. Le coefficient d'efficacité de N total du lisier de porc par rapport au rendement de maïs produit serait de 1,00 à la dose 1X et de 0,63 à la dose 2X. Le maïs a donc exigé des quantités plus élevées d'azote que le blé pour obtenir son plein rendement et a généré des coefficients d'efficacité plus élevés pour le lisier. Cette culture semble aussi davantage plus efficace que le blé pour valoriser l'azote du lisier de porc. Des coefficients basés sur les prélèvements en azote dans la biomasse aérienne plutôt que sur le rendement en grain donnent des résultats similaires puisque les rapports de biomasse de tiges sur celle de grains et les concentrations d'azote dans ces différents tissus sont relativement peu variables.

D'autre part, même avec des arrières effets de lisiers apportés d'année en année depuis 1978, les deux cultures de blé et de maïs semblent toujours nécessiter des apports importants en N, puisqu'il y avait dans les deux cas, des réponses aux différentes doses de lisier, d'engrais et finalement de N apportés. Mentionnons, qu'il est peu probable que les réponses aux différents apports de lisier soient reliées à des besoins en d'autres éléments fertilisants puisque dans ces traitements, les teneurs en P, K et éléments mineurs étaient suffisamment élevées pour ne pas nécessiter d'apports supplémentaires en engrais (CRAAQ, 2010). Pour expliquer le faible arrière effet de l'azote des lisiers apportés à répétition depuis de nombreuses années, il faut envisager que d'une année à l'autre, l'azote s'accumulerait dans le sol sous forme non disponible à l'activité biologique et aux plantes ou se perd sous différentes formes dans le système sol-plante, soit sous forme gazeuse (émissions atmosphériques de NH₃, N₂O, N₂) ou dans l'eau de surface ou souterraine sous forme de N-NO₃, N-NH₄ ou organique. Les analyses de sol réalisées depuis de nombreuses années sur ces sols ne révèlent pas d'accumulation de N sous quelques formes que ce soit en surface et en profondeur dans ces sols (données non-présentées), alors l'azote est essentiellement perdu du système sous forme gazeuse et dans l'eau. Les émissions atmosphériques d'azote ammoniacal après l'épandage des lisiers ne devraient pas être nulles, même si le lisier était incorporé rapidement en moins d'une heure sous le traitement sous travail

réduit. Elles devaient aussi être plus importantes dans le traitement sous travail conventionnel au chisel puisque ce le lisier était incorporé 24 heures après l'épandage pour refléter les conditions usuelles de la pratique. Toutefois, dans une étude réalisée sur un dispositif expérimental avoisinant, les pertes ammoniacales n'étaient pas significativement différentes, sous des traitements similaires (T2-lisier incorporé moins d'une heure en travail réduit et T3-lisier incorporé 24 heures après en travail avoisinant) (Gasser *et al.*, 2016). La surface plus travaillée du sol en labour conventionnel pourrait avoir favorisé une meilleure infiltration du lisier et une adsorption de l'azote ammoniacal sur les particules de sol (Rochette *et al.*, 2009). Les pertes moyennes par volatilisation de NH3 ne représentaient toutefois que d'une année à l'autre 3 à 7 % de l'azote ammoniacale appliqué. Dans notre essai, ces pertes ammoniacales n'ont pas été mesurées, mais les rendements plus faibles sinon équivalents observés sous le blé en travail réduit traduisaient soit des pertes ammoniacales aussi importantes, sinon d'autres conditions limitantes pour les rendements.

Les pertes de N par voie des drains étaient en revanche non négligeables. Par rapport à la quantité d'azote totale appliquée pour le blé en 2016 sous les traitements MIN, 1X et 2X, une proportion de 51%, 91% et 43% de cet azote s'est retrouvé dans l'eau de drainage, tandis qu'avec des apports similaires de N dans les mêmes traitements de fertilisation en 2017 dans le maïs, les proportions retrouvées dans les drains étaient de 30%, 34% et 23%, respectivement. Les plus faibles proportions de N retrouvées dans les drains sous le maïs sont en lien avec l'efficacité plus élevée du maïs à prélever l'azote des engrais mentionnée précédemment.

Å la sortie des drains agricoles, la qualité physico-chimique de l'eau a été fortement affectée par les pratiques agricoles. Même en respectant les critères édictés par la réglementation et les recommandations courantes en agronomie, les concentrations en nitrates et en phosphore respectant les critères de qualité pour les eaux de surface ou l'eau potable sont rarement atteintes. Dans le cas des nitrates, les concentrations oscillaient entre 10 et 60 mg/L et n'étaient pas si loin du critère de 10 mg/L à atteindre pour l'eau potable, Toutefois, dans le cas du P total et du P total dissous, leurs concentrations sont souvent de 3 à 40 fois supérieures au critère de 30 μg/L pour la protection de la vie aquatique. Ce dernier critère étant même trop élevé pour la protection de certains plans d'eau. Les charges en P total sont en revanche près de 50 à 70 fois plus faibles que celles des nitrates, mais son critère de qualité de l'eau est 333 fois plus faible que celui des nitrates. Il existe un historique d'épandage à répétition de lisier et d'engrais de synthèse sur ces parcelles, mais les critères agronomiques employés pour maintenir la production agricole et les critères environnementaux au niveau des sols ne parviennent pas à détecter la problématique et à protéger la ressource eau. Certains sols, dont les loam argileux de cette région agricole à forte densité animale représentent donc toujours un défi pour protéger la qualité de leurs eaux de surface.

La résistance antimicrobienne est très répandue autant chez les microorganismes d'origine clinique qu'environnementale. Les pratiques agricoles contribuent à l'ajout de MRAs dans l'environnement lors des épandages de fumiers (Hartmann *et al.*, 2012; Looft *et al.*, 2012; Marti *et al.*, 2014; Y. Zhang *et al.*, 2013). Les gènes *sul*1 et *tet*(T) ont été rapportés chez des bactéries pathogènes aux humains et aux animaux ainsi que dans l'environnement (eau, sol, végétaux, lisier de porc) (Antunes *et al.*, 2005; Clermont *et al.*, 1997; Marti *et al.*, 2013; Roberts, 2005). Les résultats obtenus dans le cadre de ce projet ont montré que la dose de lisier de porc épandue avait un impact sur la concentration des GRAs dans le sol. Après l'épandage du lisier

de porc, il y a eu, pour les deux années de culture, une augmentation de la concentration des gènes *sul*1 et *tet*(T). Bien que moins importante, il y a eu aussi une augmentation dans les parcelles ayant reçu des engrais minéraux, suggérant qu'il est possible que le nombre de microorganismes résistants aux tétracyclines et aux sulfamides ait augmenté dans le sol au début des saisons de culture. Cela pourrait expliquer, en partie, l'augmentation de la concentration des gènes dans les parcelles fertilisées avec du lisier de porc. Cependant, à la dose élevée de lisier de porc (2X), la quantité de gènes *tet*(T) et *sul*1 est restée significativement plus élevée jusqu'à la récolte du blé en septembre 2016 (166 jours post-épandage) ainsi que du maïs-grain en novembre 2017 (180 jours post-épandage). Ainsi, il serait préférable d'épandre du lisier de porc à une dose agronomique (1X) afin de diminuer le risque de propagation de ces gènes à travers les cultures.

Un délai de 116 jours en 2016 ou 180 jours en 2017 (une saison de culture) après l'épandage du lisier de porc n'a pas été suffisant pour éliminer les risques potentiels de résistance antimicrobienne dans le sol. Plusieurs études ont rapporté des abondances élevées de GRAs dans des sols ayant reçu du lisier de porc pendant plus d'une saison de culture (Garder et al., 2014; Hartmann et al., 2012; Knapp et al., 2010; Marti et al., 2014; Wang et al., 2015; S. Zhang et al., 2015). Il est possible que le délai entre l'application du lisier et la récolte ne soit pas suffisamment long pour permettre une diminution de la concentration des gènes à celle comparable aux parcelles ne recevant pas d'engrais organiques. Il est généralement recommandé de récolter au moins 90 à 120 jours après l'épandage de fumier pour s'assurer que les agents pathogènes humains, tels que E. coli et Enterococcus spp., soient à des concentrations suffisamment faibles (Bernard et al., 2003; Marti et al., 2014). La présence de GRAs dans le sol après l'épandage de lisier varie en fonction de divers facteurs tels que la source de fumier, la période d'épandage, les conditions météorologiques et le type de sol. Il a été rapporté qu'un épandage automnal de fumier avait tendance à augmenter la fréquence de détection des gènes dans le sol (Marti et al., 2014). En effet, au début du printemps, les GRAs étaient moins concentrés qu'à la fin d'automne, même s'il restait davantage de gènes dans les parcelles fertilisées avec des engrais organiques que dans les parcelles témoins recevant uniquement des engrais minéraux. Garder et al. (2014) ont publié des résultats montrant une augmentation des gènes erm(B) et erm(F) dans un sol limoneux après l'épandage de lisier de porc en France, mais leur abondance a diminué jusqu'à atteindre des niveaux équivalents à ceux observés dans les parcelles témoins ne recevant pas de lisier après 12 mois. Ils ont aussi mentionné que la détection d'autres gènes de résistance aurait pu conduire à d'autres résultats et conclusions. Scott et al. (2018) ont rapporté une augmentation de l'abondance des gènes sul1, str(A), str(B), aad(A), erm(B) et int1 après avoir épandu un compost de fumier de porc sur un sol de loam argileux de Brookston en Ontario comparé à un sol non fertilisé. Cette augmentation de l'abondance des GRAs était statistiquement significative pendant au moins 5 années après l'épandage, ce qui démontre encore les effets à long terme des applications d'engrais organiques sur l'augmentation de l'abondance des GRAs. De plus, des métaux lourds ainsi que des résidus d'antimicrobiens sont ajoutés au sol lors d'un épandage de fumier. Les GRAs ont été associés à des gènes de résistance aux métaux lourds, permettant la co-sélection de la résistance aux antimicrobiens (Y.-G. Zhu et al., 2013). Cependant, une récente étude a permis de démontrer que la cosélection des GRAs avec les gènes de résistance au cuivre n'était pas le principal mécanisme d'évolution des microorganismes du sol (Kang et al., 2018). Les chercheurs ont rapporté une augmentation du transfert horizontal des gènes avec l'exposition au cuivre en seulement deux mois. En outre, les niveaux sousthérapeutiques de substances antimicrobiennes dans le sol et l'eau exercent une pression de sélection pour l'acquisition de gènes chez des microorganismes de l'environnement (Baquero et al., 2008).

Avant l'épandage du lisier de porc en mai 2016 et 2017, dans le cadre de ce projet, la concentration des gènes sul1 et tet(T) était supérieure dans les parcelles fertilisées avec du lisier de porc que dans celles fertilisées avec des engrais minéraux uniquement. Cette concentration plus élevée en gènes dans les parcelles fertilisées avec du lisier de porc pourrait être expliquée par les applications répétées des années précédentes qui ont conduit à l'accumulation de ces gènes dans le sol (S. Zhang et al., 2015). Marti et al. (2014) ont rapporté que les gènes sul1 étaient significativement plus élevés dans les sols fertilisés à des doses de 79 et 112 m³/ha par rapport aux sols non fertilisés. Même si la dose 2X était deux fois moins élevée dans la présente étude que dans celle de Marti et al. (2014), il y avait tout de même plus de gènes de résistance aux sulfamides et aux tétracyclines dans ces parcelles. Il est normal d'observer une augmentation du nombre de microorganismes et de gènes de résistance dans des échantillons de sol et d'eau de drainage après l'épandage de lisier de porc. Cette augmentation de la concentration des gènes ne devrait pas être exclusivement attribuée à l'ajout de GRAs contenus dans le lisier, mais également à la stimulation des populations microbiennes du sol. Les épandages de fumier apportent des nutriments utiles aux cultures agricoles pour améliorer la qualité du sol et le rendement des cultures, mais ils sont également favorables à la croissance de microorganismes déjà présents dans le sol (Larney et Angers, 2012; Meen et al., 2014).

La détection des gènes dans les échantillons de sol et d'eau provenant des parcelles n'ayant reçu que des engrais minéraux a permis de mieux connaître les quantités et prévalences de ceux-ci dans des conditions exemptes de fertilisants organiques depuis plusieurs années. Ainsi, ce « bruit de fond » de concentration et de prévalence des GRAs a été comparé avec les autres parcelles ayant reçu du lisier de porc. Il s'est avéré que tous les échantillons de sol, peu importe le traitement, contenaient les gènes tet(T) et sul1 après l'épandage. Aussi, les parcelles fertilisées avec des engrais minéraux avaient des prévalences légèrement inférieures aux autres parcelles fertilisées avec du lisier. Fait intéressant, les gènes sul1 présentaient des prévalences élevées dans toutes les parcelles, leur concentration variant cependant selon les traitements. Les gènes sul1 ont été retrouvés dans différents types de sol qui n'étaient pas toujours fertilisés avec des engrais organiques démontrant ainsi que les microorganismes indigènes du sol peuvent les posséder (Heuer et Smalla, 2007; Marti et al., 2014; Wang et al., 2015; X. Zhang et al., 2015). Les gènes tet(T) ont eu des prévalences légèrement plus faibles en 2016 qu'en 2017 et ont varié en fonction du mode de fertilisation en 2017. Il semble ainsi qu'il y ait déjà un réservoir établi de gènes sul1 et tet(T) dans le sol, mais que la concentration de ceux-ci a significativement augmenté après les épandages de lisier de porc pendant au moins une saison de culture. Des chercheurs avaient détecté les gènes tet(T) dans un sol fertilisé avec des fumiers tout comme dans un sol fertilisé avec des engrais organiques (Marti et al., 2013). Plus tard, la même équipe de recherche a rapporté que l'abondance relative du gène sul1 était significativement plus élevée dans les sols fertilisés avec des engrais organiques que dans les sols fertilisés avec des engrais minéraux pendant au moins une saison de culture (Marti et al., 2014).

Les gènes *bla*_{CTX-M-1} n'étaient quantifiables dans aucun échantillon. La prévalence des gènes de β-lactamases à spectre étendu (BLSE) a été associée à une utilisation élevée d'antimicrobiens tels que les pénicillines et les céphalosporines dans les élevages (Dohmen *et al.*, 2015). Les résultats auraient pu être différents en fonction de l'utilisation des antimicrobiens pour l'élevage des porcs. Une étude réalisée en France a permis aux chercheurs de détecter les gènes *bla*_{CTX-M-1 ou 9} et *bla*_{TEM-71} dans le sol de différentes exploitations agricoles recevant des engrais organiques. De plus, cette étude suggère que la résistance aux bêta-lactamines peut être

causée par d'autres gènes que ceux-ci puisque d'autres gènes peuvent être responsables de la résistance (Hartmann *et al.*, 2012).

Les gènes *mcr*-1 et *mcr*-2 n'ont pas été détectés dans les échantillons de lisier de porc, de sol et d'eau de drainage dans le cadre du projet. En fait, ces résultats corroborent l'utilisation restreinte de la colistine dans les fermes porcines du Canada, principalement pour le traitement de la diarrhée post-sevrage chez les porcelets (Rhouma *et al.*, 2017). D'autre part, Guenther et *al.* ont identifié le gène *mcr*-1 dans le fumier de fermes porcines en Allemagne, ce qui était associé à l'utilisation importante de la colistine dans ces fermes (Guenther *et al.*, 2017).

Les modes de travail du sol conventionnels (chisel) ou réduits (semis direct) n'ont pas eu d'impact significatif sur la concentration des GRAs dans le sol et l'eaux de drainage. L'étude de Garder et al. (2014) n'a pas démontré que le travail du sol avait un impact sur la présence de gènes de résistance à l'érythromycine dans le sol et sur le transport de ces gènes dans l'eau de drainage. Ils ont également indiqué que la détection d'autres gènes de résistance aurait pu conduire à d'autres résultats et conclusions. À ce jour, notre étude est l'une des premières à évaluer l'impact du travail du sol sur le transport des GRAs dans l'eau de drainage. D'autres études seront nécessaires pour bien comprendre le lien entre les modes de travail du sol et le transport des GRAs dans l'environnement par le biais des drains agricoles, tout en tenant compte des caractéristiques de chaque région cultivée (conditions météorologiques, humidité, type de sol, etc.). Il est connu que le travail du sol peut avoir un impact sur le mouvement de l'eau à travers les macropores du sol (Jamieson et al., 2002). En outre, des chercheurs ont indiqué que la diversité des microorganismes présents dans le sol était plus grande à la surface du sol lorsque le travail du sol était réduit (van Groenigen et al., 2010).

Il y avait généralement moins de gènes tet(T) et sul 1 dans le sol plus profond (20-40 cm) qu'à la surface du sol (0-10 cm). À partir du 13 juin 2016, une diminution significative de la concentration des bactéries a été observée, ainsi qu'une diminution des gènes tet(T) et sul1 dans l'eau de drainage. Ces résultats dans le sol et dans l'eau en 2016 peuvent s'expliquer par le nombre réduit de microorganismes résistants aux sulfamides trouvés dans l'eau de drainage. En effet, le gène sul1 a souvent été associé à des éléments génétiques mobiles, puis des microorganismes indigènes du sol auraient pu acquérir ces gènes à différentes profondeurs de sol (S. Zhang et al., 2015). En 2016, les mois de mai et juin ont été relativement humides à Saint-Lambertde-Lauzon et les précipitations ont atteint 144 mm en juin. Lorsqu'il pleut, il y a de l'eau de ruissellement et de l'eau de drainage. Il est possible que des microorganismes résistants aux antimicrobiens et des GRAs aient quitté le sol agricole via le ruissellement plutôt que par les drains. Cependant, le transport préférentiel de l'eau dans le sol serait particulièrement actif en sol argileux lors des crues alors que le profil de sol est saturé et soumis au ruissellement de surface, favorisant alors un écoulement relativement rapide vers les drains via les macropores du sol (Michaud et al., 2009b). Plusieurs études rapportent des concentrations importantes de formes particulaires de phosphore dans les drains agricoles, soulignant l'importance des processus d'écoulement préférentiel dans le sol (Enright et Madramootoo, 2004; Giroux et Royer, 2006; Michaud et al., 2009b). Ainsi, les concentrations de bactéries et des gènes de résistance dans l'eau sont inévitablement influencés par les conditions météorologiques (Sura et al., 2016).

Le lisier de porc contenait des concentrations élevées en bactéries E. coli et entérocoques, il a donc été normal d'observer une augmentation de leur concentration dans le sol et l'eau de drainage après l'épandage pour les deux années de culture. Malgré une augmentation des populations en octobre 2016 et 2017, il y avait de moins en moins de bactéries E. coli et entérocoques dans les échantillons d'eau de drainage, bien que les entérocoques aient persisté plus longtemps. Les entérocoques survivent généralement mieux que les bactéries E. coli dans l'environnement (Bernard et al., 2003; Marti et al., 2014). Le risque de retrouver des microorganismes d'origine fécale dans l'eau de drainage est régi par le potentiel de survie et de transport des microorganismes dans le sol (Unc et Goss, 2004; Jamieson et al., 2002). Les populations de microorganismes indicateurs de contamination fécale tel qu'E. coli suivent généralement une décroissance exponentielle dans le sol et peuvent persister jusqu'à environ 100 jours pour un lisier de porc dont le contenu bactérien est élevé (Côté et Quessy, 2005). Cette survie est influencée par une multitude de facteurs tels que l'exposition aux rayons UV, ainsi que l'humidité, la température et l'activité microbiologique du sol, qui peuvent être influencés par le travail du sol (Licht et Al-Kaisi, 2005). Selon Jamieson et al. (2002), les deux variables les plus importantes influençant le transport des microorganismes vers les drains sont l'humidité du sol lors de l'épandage et les précipitations ayant eu lieu au cours des deux ou trois semaines suivant l'épandage. Bien que la majorité des microorganismes entériques soient largués dans les semaines suivant l'épandage, un autre phénomène relié aux changements dans la microflore du sol à la suite des épandages d'engrais de ferme pourrait avoir un impact sur la santé publique à plus long terme, soit la présence de microorganismes résistants aux antimicrobiens dans le sol et l'eau.

Les résultats de cette étude doivent être interprétés dans le contexte des terres agricoles de la région de Chaudière-Appalaches, au Québec, où règnent des conditions météorologiques humides. Marti *et al.* (2014) ont émis l'hypothèse que les conditions climatiques pourraient avoir un impact sur l'abondance des gènes. Ils ont signalé que des conditions plus chaudes et plus sèches réduisent la persistance des bactéries résistantes, tandis que des conditions plus fraîches et humides favorisent la croissance de bactéries résistantes. Les conditions météorologiques humides du site expérimental peuvent avoir influencé le transport des gènes et des bactéries dans les eaux de drainage, ainsi que leur concentration dans le sol. Ensemble, les résultats de la présente étude suggèrent que, selon diverses activités agricoles, le sol pourrait constituer un réservoir de gènes de résistance à la tétracycline et de sulfamides ainsi que de bactéries résistantes.

CONCLUSION

En conclusion, à la sortie des drains agricoles, la qualité physico-chimique de l'eau a été fortement affectée par les pratiques agricoles. Même en respectant les critères édictés par la réglementation et les recommandations courantes en agronomie, les concentrations en nitrates et en phosphore respectant les critères de qualité pour les eaux de surface ou l'eau potable ont été rarement atteints. Dans le cas des nitrates, les concentrations oscillaient entre 10 et 60 mg/L et n'étaient pas si loin du critère de 10 mg/L à atteindre pour l'eau potable, Toutefois, dans le cas du P total et du P total dissous, leurs concentrations étaient souvent de 3 à 40 fois supérieures au critère de 30 μg/L pour la protection de la vie aquatique. Ce dernier critère étant même trop élevé pour la protection de certains plans d'eau. Les charges en P total étaient en revanche près de 50 à 70 fois plus faibles que celles des nitrates, mais son critère de qualité de l'eau est 333 fois plus faible que celui des nitrates. Il existe un historique d'épandage à répétition de lisier et d'engrais de synthèse sur ces parcelles, mais les critères agronomiques employés pour maintenir la production agricole et les critères environnementaux au niveau des sols ne parviennent pas à détecter la problématique et à protéger la ressource d'eau. Certains sols, dont les loam argileux de cette région agricole à forte densité animale représentent donc toujours un défi pour protéger la qualité de leurs eaux de surface.

Ce projet a permis de démontrer que les épandages de lisier de porc entraînent une augmentation de la concentration des gènes tet(T) et sul 1 pendant au moins une saison de culture à une dose plus élevée (2X). Le travail du sol a influencé les concentrations en gènes de résistance aux tétracyclines et aux sulfamides ainsi que celles des bactéries E. coli et entérocoques dans le sol et l'eau de drainage, mais il n'a pas été possible de définir l'effet d'un travail réduit ou conventionnel du sol étant donné la variabilité des résultats obtenus. De plus, le mode de travail du sol n'a pas influencé les rendements en blé et maïs-grain. Les populations de bactéries E. coli et entérocoques ont augmenté après les épandages de lisier de porc dans le sol et l'eau de drainage pour les deux années de culture, mais les entérocoques ont persisté plus longtemps dans le sol et l'eau de drainage que les E. coli. Des GRAs dans les parcelles témoins (MIN) ont été détectés malgré l'absence d'épandage de lisier de porc, suggérant la présence d'un réservoir naturel et environnemental de MRAs. Puisque la dose de lisier de porc a eu un impact sur la persistance de certains GRAs dans le sol, de futures recommandations aux agriculteurs pourraient être faites afin de réduire l'effet des pratiques agricoles sur les réservoirs de ces gènes dans l'environnement. Les parcelles fertilisées avec une dose agronomique (1X) avaient des concentrations généralement plus faibles en gènes que celles fertilisées avec une dose plus élevée (2X). Ainsi, il serait préférable d'épandre du lisier de porc à des doses agronomiques (1X) suffisantes pour le besoin de la culture. Cependant, plusieurs autres facteurs peuvent jouer un rôle dans la dissémination des GRAs. Des facteurs tels que les différents travaux de sol, les conditions météorologiques ainsi que la source et la composition du lisier de porc doivent encore être étudiés. Enfin, les épandages de lisier de porc, selon la dose épandue, contribuent à augmenter les réservoirs environnementaux de gènes tet(T) et sul1 pendant au moins une saison de culture.

RÉFÉRENCES

- ACIA. (2018 février). Recueil des notices sur les substances médicatrices. Dans *Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA)*. [Gouvernement du Canada]. Récupéré de http://www.inspection.gc.ca/animaux/aliments-du-betail/substances-medicatrices/fra/1300212600464/1320602461227#bgd
- Aiello, E. S. (dir.). (2016). *The Merck veterinary manual* (Onzième édition éd.). États-Unis. Récupéré de http://www.merckvetmanual.com/
- Aminov, R. I., Chee-Sanford, J. C., Garrigues, N., Teferedegne, B., Krapac, I. J., White, B. A. et Mackie, R. I. (2002, 4 janvier). Development, Validation, and Application of PCR Primers for Detection of Tetracycline Efflux Genes of Gram-Negative Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(4), 1786-1793. doi: 10.1128/AEM.68.4.1786-1793.2002
- Antunes, P., Machado, J., Sousa, J. C. et Peixe, L. (2005 février). Dissemination of sulfonamide resistance genes (sul1, sul2, and sul3) in Portuguese Salmonella enterica strains and relation with integrons. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(2), 836-839. doi: 10.1128/AAC.49.2.836-839.2005
- Baquero, F., Martínez, J.-L. et Cantón, R. (2008 juin). Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(3), 260-265. doi: 10.1016/j.copbio.2008.05.006
- Berendonk, T. U., Manaia, C. M., Merlin, C., Fatta-Kassinos, D., Cytryn, E., Walsh, F., ... Martinez, J. L. (2015 mai). Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. *Nature Reviews Microbiology*, *13*(5), 310-317. doi: 10.1038/nrmicro3439
- Bernard, C., Côté, C., Côté, D., Giroux, M., Grégoire, R., Joncas, R. et Martin, D.-Y. (2003, 16 avril). Mémoire de l'Institut de recherche et de développement en agroenvironnement inc. Institut de Recherche et de Développement en Agroenvironnement inc. Récupéré de http://www.bape.gouv.qc.ca/sections/mandats/prod-porcine/documents/MEMO303.pdf
- Chee-Sanford, J. C., Mackie, R. I., Koike, S., Krapac, I. G., Lin, Y.-F., Yannarell, A. C., ... Aminov, R. I. (2009). Fate and Transport of Antibiotic Residues and Antibiotic Resistance Genes following Land Application of Manure Waste. *Journal of Environment Quality*, *38*(3), 1086. doi: 10.2134/jeq2008.0128
- Chevalier, P. (2012). L'usage des substances antimicrobiennes en production animale: position des experts et des gouvernements. Institut national de santé publique du Québec. 60 p.
- Clermont, D., Chesneau, O., De Cespédès, G. et Horaud, T. (1997 janvier). New tetracycline resistance determinants coding for ribosomal protection in streptococci and nucleotide sequence of tet(T) isolated from Streptococcus pyogenes A498. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41(1), 112-116. Récupéré de PubMed Central
- Cools, D., Merckx, R., Vlassak, K. et Verhaegen, J. (2001 mai). Survival of E. coli and Enterococcus spp. derived from pig slurry in soils of different texture. *Applied Soil Ecology*, *17*(1), 53-62. doi: 10.1016/S0929-1393(00)00133-5
- CPVQ. (1988). Méthodes d'analyse des sols, des fumiers et des tissus végétaux l'ère édition. (s. l.) : MAPAQ.
- CPVQ. (1993). Méthodes d'analyse des sols, des fumiers et des tissus végétaux 2e édition. (p. AGDEX 533). MAPAO.
- CRAAQ. (2010). Guide référence en fertilisation 2e édition. Québec : Comission chimie et fertilité des sols.
- Deschênes, L., Chassé, R., Giroux, C., Bastien, C., Jean, L., Bécaert, G., ... Côté, G. (2006). *Développement d'une méthode d'évaluation de la mobilité et de la biodisponibilité des éléments traces métalliques d'un sol*. [Rapport de recherche final] (p. 146 + annexe). Montréal (Québec) : École Polytechnique.
- Dohmen, W., Bonten, M. J. M., Bos, M. E. H., van Marm, S., Scharringa, J., Wagenaar, J. A. et Heederik, D. J. J. (2015 octobre). Carriage of extended-spectrum β-lactamases in pig farmers is associated with occurrence in pigs. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European*

- *Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 21(10), 917-923. doi: 10.1016/j.cmi.2015.05.032
- Dubrovsky, N. M., Burow, K. R., Clark, G. M., Gronberg, J. A. M., Hamilton, P. A., Hitt, K. J., ... Wilber, W. G. (2010). *The Quality of Our Nation's Waters -- Nutrients in the Nation's Streams and Groundwater*, 1992–2004. (p. 174). États-Unis.
- Garder, J. L., Moorman, T. B. et Soupir, M. L. (2014 8/01). Transport and Persistence of Tylosin-Resistant Enterococci, Genes, and Tylosin in Soil and Drainage Water from Fields Receiving Swine Manure. *Journal of Environmental Quality*, 43(4), 1484-1493. doi: 10.2134/jeq2013.09.0379
- Gasser, M.-O., Tremblay, M.-E., Girad, M., Martel, S. et Levesque, A. (2016). Efficacité agronomique et environnementale de l'incorporation immédiate des lisiers sous cultures annuelles en semis direct et en travail conventionnel du sol. [Rapport final] (p. 52 + annexes). Québec.
- Guenther, S., Falgenhauer, L., Semmler, T., Imirzalioglu, C., Chakraborty, T., Roesler, U. et Roschanski, N. (2017, 1 mai). Environmental emission of multiresistant Escherichia coli carrying the colistin resistance gene mcr-1 from German swine farms. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(5), 1289-1292. doi: 10.1093/jac/dkw585
- Hartmann, A., Locatelli, A., Amoureux, L., Depret, G., Jolivet, C., Gueneau, E. et Neuwirth, C. (2012, 9 mars). Occurrence of CTX-M Producing Escherichia coli in Soils, Cattle, and Farm Environment in France (Burgundy Region). *Frontiers in Microbiology*, *3*. doi: 10.3389/fmicb.2012.00083
- Heuer, H. et Smalla, K. (2007 mars). Manure and sulfadiazine synergistically increased bacterial antibiotic resistance in soil over at least two months. *Environmental Microbiology*, *9*(3), 657-666. doi: 10.1111/j.1462-2920.2006.01185.x
- Isaac, R. A. et Johnson, W. C. (1976). Determination of total nitrogen in plant tissue, using a block digestor. *J Assoc Off Anal Chem.* Récupéré de agris.fao.org http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201303012147
- Jamieson, R. C., Gordon, R. J., Sharples, K. E., Stratton, G. W. et Madani, A. (2002). Movement and persistence of fecal bacteria in agricultural soils and subsurface drainage water: a review. *Canadian Biosystems Engineering/Le génie des biosystèmes au Canada*, 44. Récupéré de http://csbe-scgab.ca/publications/cbe-journal/browse/3555-movement-and-persistence-of-fecal-bacteria-in-agricultural-soils-and-subsurface-drainage-water-a-review
- Kang, W., Zhang, Y.-J., Shi, X., He, J.-Z. et Hu, H.-W. (2018, 1 octobre). Short-term copper exposure as a selection pressure for antibiotic resistance and metal resistance in an agricultural soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(29), 29314-29324. doi: 10.1007/s11356-018-2978-y
- Khiari, L. et Giroux, M. (2010). La gestion du Phosphore, Chapitre 6. Dans *Guide de référence en fertilisation* (2e édition) (p. 167-186). Québec : Comission chimie et fertilité des sols.
- Knapp, C. W., Dolfing, J., Ehlert, P. A. I. et Graham, D. W. (2010, 15 janvier). Evidence of increasing antibiotic resistance gene abundances in archived soils since 1940. *Environmental Science & Technology*, 44(2), 580-587. doi: 10.1021/es901221x
- Lamontagne, L., Martin, A. et Nolin, M. C. (2010). Étude pédologique du bassin versant du Bras d'Henri (Québec). (p. 78 + Annexes). Québec (Québec) : CRDSGC, Agriculture et Agroalimentaire Canada.
- Larney, F. J. et Angers, D. A. (2012, 1 janvier). The role of organic amendments in soil reclamation: A review. *Canadian Journal of Soil Science*, 92(1), 19-38. doi: 10.4141/cjss2010-064
- Littell, R. C., Milliken, G. A., Stroup, W. W., Wolfinger, R. D. et Schabenberger, O. (2007, 25 juin). SAS for Mixed Models, Second Edition. (s. 1.): SAS Institute.
- Liu, Y.-Y., Wang, Y., Walsh, T. R., Yi, L.-X., Zhang, R., Spencer, J., ... Shen, J. (2015 novembre). Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet Infectious Diseases*. doi: 10.1016/S1473-3099(15)00424-7
- Looft, T., Johnson, T. A., Allen, H. K., Bayles, D. O., Alt, D. P., Stedtfeld, R. D., ... Stanton, T. B. (2012, 31 janvier). In-feed antibiotic effects on the swine intestinal microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(5), 1691-1696. doi: 10.1073/pnas.1120238109

- Marti, R., Scott, A., Tien, Y.-C., Murray, R., Sabourin, L., Zhang, Y. et Topp, E. (2013 septembre). Impact of Manure Fertilization on the Abundance of Antibiotic-Resistant Bacteria and Frequency of Detection of Antibiotic Resistance Genes in Soil and on Vegetables at Harvest. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(18), 5701-5709. doi: 10.1128/AEM.01682-13
- Marti, R., Tien, Y.-C., Murray, R., Scott, A., Sabourin, L. et Topp, E. (2014 mai). Safely Coupling Livestock and Crop Production Systems: How Rapidly Do Antibiotic Resistance Genes Dissipate in Soil following a Commercial Application of Swine or Dairy Manure? *Applied and Environmental Microbiology*, 80(10), 3258-3265. doi: 10.1128/AEM.00231-14
- MDDEP. (2012). Portrait de la qualité des eaux de surface au Québec 1999-2008. Québec : Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs, (MDDEP).
- Meen, V. S., Maurya, B. R., Meena*, R. S., Meena, S. K., Singh, N. P., Malik, V. K., ... Jat, L. K. (2014, 15 janvier). Microbial dynamics as influenced by concentrate manure and inorganic fertilizer in alluvium soil of Varanasi, India. *African Journal of Microbiology Research*, 8(3), 257-263. doi: 10.5897/AJMR2013.5448
- Michel-Briand, Y. (2009). Une histoire de la résistance aux antibiotiques. Paris : L'Harmattan.
- Organisation mondiale de la Santé. (2014). *Antimicrobial resistance : Global report on surveillance*. [Antimicrobial resistance]. France : WHO Library. Récupéré de http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112642/1/9789241564748_eng.pdf?ua=1
- Pakpour, S., Jabaji, S. et Chénier, M. R. (2012 janvier). Frequency of antibiotic resistance in a swine facility 2.5 years after a ban on antibiotics. *Microbial Ecology*, 63(1), 41-50. doi: 10.1007/s00248-011-9954-0
- Partridge, S. R., Ellem, J. A., Tetu, S. G., Zong, Z., Paulsen, I. T. et Iredell, J. R. (2011 décembre). Complete sequence of pJIE143, a pir-type plasmid carrying ISEcp1-blaCTX-M-15 from an Escherichia coli ST131 isolate. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *55*(12), 5933-5935. doi: 10.1128/AAC.00639-11
- Peters, J., Combs, S. M., Hoskins, B., Jarman, J., Kover, J. L., Watson, M. E., ... Wolf, N. (2003). Recommended methods of manure analysis (A3769). Univ. Wisconsin-Ext: (n. é.).
- Rhouma, M., Beaudry, F. et Letellier, A. (2016 août). Resistance to colistin: what is the fate for this antibiotic in pig production? *International Journal of Antimicrobial Agents*, 48(2), 119-126. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.04.008
- Rhouma, M., Beaudry, F., Thériault, W., Bergeron, N., Beauchamp, G., Laurent-Lewandowski, S., ... Letellier, A. (2016). In vivo therapeutic efficacy and pharmacokinetics of colistin sulfate in an experimental model of enterotoxigenic Escherichia coli infection in weaned pigs. *Veterinary Research*, 47. doi: 10.1186/s13567-016-0344-y
- Rhouma, M., Fairbrother, J. M., Beaudry, F. et Letellier, A. (2017, 19 mai). Post weaning diarrhea in pigs: risk factors and non-colistin-based control strategies. *Acta Veterinaria Scandinavica*, *59*, 31. doi: 10.1186/s13028-017-0299-7
- Roberts, M. C. (2005, 15 avril). Update on acquired tetracycline resistance genes. *FEMS microbiology letters*, 245(2), 195-203. doi: 10.1016/j.femsle.2005.02.034
- Rochette, P., Angers, D. A., Chantigny, M. H., MacDonald, J. D., Gasser, M.-O. et Bertrand, N. (2009, 1 mai). Reducing ammonia volatilization in a no-till soil by incorporating urea and pig slurry in shallow bands. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 84(1), 71-80. doi: 10.1007/s10705-008-9227-6
- Schmidt, G. V., Mellerup, A., Christiansen, L. E., Ståhl, M., Olsen, J. E. et Angen, Ø. (2015, 26 juin). Sampling and Pooling Methods for Capturing Herd Level Antibiotic Resistance in Swine Feces using qPCR and CFU Approaches. *PLOS ONE*, 10(6), e0131672. doi: 10.1371/journal.pone.0131672
- Schwarz, S. et Johnson, A. P. (2016). Transferable resistance to colistin: a new but old threat. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(8), 2066-2070. doi: 10.1093/jac/dkw274
- Scott, A., Tien, Y.-C., Drury, C. F., Reynolds, W. D. et Topp, E. (2018 mars). Enrichment of antibiotic resistance genes in soil receiving composts derived from swine manure, yard wastes, or food wastes,

- and evidence for multiyear persistence of swine Clostridium spp. *Canadian Journal of Microbiology*, 64(3), 201-208. doi: 10.1139/cjm-2017-0642
- Sköld, O. (2000 juin). Sulfonamide resistance: mechanisms and trends. *Drug Resistance Updates: Reviews and Commentaries in Antimicrobial and Anticancer Chemotherapy*, *3*(3), 155-160. doi: 10.1054/drup.2000.0146
- Solliec, M., Roy-Lachapelle, A., Gasser, M.-O., Coté, C., Généreux, M. et Sauvé, S. (2016, 1 février). Fractionation and analysis of veterinary antibiotics and their related degradation products in agricultural soils and drainage waters following swine manure amendment. *Science of The Total Environment*, 543, Part A, 524-535. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.11.061
- Stokes, H. W. et Gillings, M. R. (2011, 1 septembre). Gene flow, mobile genetic elements and the recruitment of antibiotic resistance genes into Gram-negative pathogens. *FEMS Microbiology Reviews*, 35(5), 790-819. doi: 10.1111/j.1574-6976.2011.00273.x
- Sundström, L., Rådström, P., Swedberg, G. et Sköld, O. (1988 août). Site-specific recombination promotes linkage between trimethoprim- and sulfonamide resistance genes. Sequence characterization of dhfrV and sulI and a recombination active locus of Tn21. *Molecular & general genetics: MGG*, 213(2-3), 191-201. Récupéré de PubMed
- Sura, S., Degenhardt, D., Cessna, A. J., Larney, F. J., Olson, A. F. et McAllister, T. A. (2016 04/01). Transport of Three Antimicrobials in Runoff from Windrows of Composting Beef Cattle Manure. *Journal of Environmental Quality*, 45(2), 494-502. doi: 10.2134/jeq2015.05.0254
- Udikovic-Kolic, N., Wichmann, F., Broderick, N. A. et Handelsman, J. (2014, 21 octobre). Bloom of resident antibiotic-resistant bacteria in soil following manure fertilization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(42), 15202-15207. doi: 10.1073/pnas.1409836111
- van Groenigen, K.-J., Bloem, J., Bååth, E., Boeckx, P., Rousk, J., Bodé, S., ... Jones, M. B. (2010 janvier). Abundance, production and stabilization of microbial biomass under conventional and reduced tillage. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(1), 48-55. doi: 10.1016/j.soilbio.2009.09.023
- Wang, F.-H., Qiao, M., Chen, Z., Su, J.-Q. et Zhu, Y.-G. (2015, 15 décembre). Antibiotic resistance genes in manure-amended soil and vegetables at harvest. *Journal of Hazardous Materials*, 299, 215-221. doi: 10.1016/j.jhazmat.2015.05.028
- Zhang, S., Gu, J., Wang, C., Wang, P., Jiao, S., He, Z., ... Han, B. (2015, 11 août). Characterization of Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes on an Ecological Farm System,. *Journal of Chemistry*, *Journal of Chemistry*, 2015. doi: 10.1155/2015/526143, 10.1155/2015/526143
- Zhang, X., Liu, D., Zhang, S., Wei, X., Song, J., Zhang, Y., ... Li, J. (2015, 12 juin). Host-virus interaction: the antiviral defense function of small interfering RNAs can be enhanced by host microRNA-7 in vitro. *Scientific Reports*, 5. doi: 10.1038/srep09722
- Zhang, Y., Zhang, C., Parker, D. B., Snow, D. D., Zhou, Z. et Li, X. (2013, 1 octobre). Occurrence of antimicrobials and antimicrobial resistance genes in beef cattle storage ponds and swine treatment lagoons. *The Science of the Total Environment*, 463-464, 631-638. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.06.016
- Zhu, Y.-G., Johnson, T. A., Su, J.-Q., Qiao, M., Guo, G.-X., Stedtfeld, R. D., ... Tiedje, J. M. (2013, 26 février). Diverse and abundant antibiotic resistance genes in Chinese swine farms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(9), 3435-3440. doi: 10.1073/pnas.1222743110
- Zhu, Yong-Guan, Johnson, T. A., Su, J.-Q., Qiao, M., Guo, G.-X., Stedtfeld, R. D., ... Tiedje, J. M. (2013, 26 février). Diverse and abundant antibiotic resistance genes in Chinese swine farms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(9), 3435-3440. doi: 10.1073/pnas.1222743110

ANNEXE 1

Tableau 24. Séquence des nucléotides utilisés pour la courbe standard qPCR.

Gène ciblé	Séquence de l'ADN standarda (5' – 3')	# accession	Référence
tet(T)	ACAG <u>AAGGTTTATTATATAAAAGTGGGGCGATTAATAAAATTGGAAGAGTTGATAATGCTACAACGACAACGGATT</u> CGATGGAACTTGAAAGAGATAGGGGAATAACTATACGGGCGTCTACAGTTTCATTTAATTACAATGATACAAAGGTA AATATCATAGATACACCT	L42544.1	(Clermont et al., 1997)
sul1	TTGCTGAGGCG <u>GACTGCAGGCTGGTGGTTATGCACTCAGCGCAGCG</u>	U12441.2	(Sundström et al., 1988)
bla _{CTX-M-1}	TGCGATGTGCAGCACCAGTAAAGTGATGGCCGCGGCCGCGGTGCTGAAGAAAAGTGAAAGCGAACCGAATCTGTTA AATCAGCGAGTTGAGATCAAAAAAATCTGACCTTGTTAACTATAATCCGATTGCGGAAAAGCACGTCAATGGGACGAT GTCACTGGCTGAGCTTAGCGCGGCCGCGCTACAGTACAG	JN194214.1	(Partridge et al., 2011)

^a Les nucléotides ciblés par les amorces sont soulignés.

Tableau 25. Séquence des amorces et du fragment de gène Lambda amplifié^a.

Gènes ciblés	Séquence des amorces IAC (5' – 3')	Séquence du fragment amplifié ^b (5' – 3')
tet(T)	IAC-tetT-F AGGTTTATTATATAAAAGTGGTCCGATATCACGAA IAC-tetT-R AGGTGTATCTATGATATTTACCCCCTCCGGCGTG	ACAGAAGGTTTATTATATAAAAGTGGTCCGATATCACGAAGGATAAATGCAGCAAAT GCCTGAGCGGTTGTAAGTTCCGCAATAACGTCGGCAACTTTGGCGGCTTCCTTTCCAT TAACAAACTTTCGCAGTAAATCCCATGACACAGACAGAATCAGCGATTCTGGCGCAC GCCCGGCGATGTGCGCCAGCGGAGTCGTGCGGCTTCGTGGTAAGCACGCCGGAGGG GGTAAATATCATAGATACACCT
sul1	IAC-sul1-F GACTGCAGGCTGGTGGTTATGTCCGATATC IAC-sul1-R GAAGAACCGCACAATCTCGTCCCCTCCGGC	TTCGGGACTGCAGGCTGGTTATGTCCGATATCACGAAGGATAAATGCAGCAAAT GCCTGAGCGGTTGTAAGTTCCGCAATAACGTCGGCAACTTTGGCGGCTTCCTTTCCAT TAACAAACTTTCGCAGTAAATCCCATGACACAGACAGAATCAGCGATTCTGGCGCAC GCCCGGCGATGTGCGCCAGCGGAGTCGTGCGGCTTCGTGGTAAGCACGCCGGAGGG GACGAGATTGTGCGGGTTCTTC
bla _{CTX-M-1}	IAC-bla-F469 CAGCTGGGAGACGAAACGTTGTCCGATATC IAC-bla-R532 CCGGAATGGCGGTGTTTACCCCTCCGGCGT	TGCGCAGCTGGGAGACGAAACGTTGTCCGATATCACGAAGGATAAATGCAGCAAAT GCCTGAGCGGTTGTAAGTTCCGCAATAACGTCGGCAACTTTGGCGGCTTCCTTTCCAT TAACAAACTTTCGCAGTAAATCCCATGACACAGACAGAATCAGCGATTCTGGCGCAC GCCCGGCGATGTGCGCCAGCGGAGTCGTGCGGCTTCGTGGTAAGCACGCCGGAGGG GTAAACACCGCCATTCCGGACCA

[&]quot;Le fragment de gène Lambda a été utilisé comme un contrôle interne d'amplification (IAC) (Schmidt *et al.*, 2015). ^bLes nucléotides ciblés par les amorces sont soulignés.

ANNEXE 2

Tableau 26. Résumé des analyses de variance sur les propriétés physico-chimiques du sol. Probabilités associées aux effets fixes de type 3 (prob. De F).

	An	Prof.	Fertilisation	Travail du sol	An* Prof.	Année* Ferti.	Année* Trav.	Prof.* Ferti.	Prof.* Trav.	Ferti.* Trav.	Année* Prof.* Ferti.	Année* Prof.* Trav.	Année* Ferti.* Trav.	Prof.* Ferti.* Trav.	Année* Prof.* Ferti.* Trav.
pН	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	0,87	p < 0,001	0,63	0,85	0,01	0,19	0,07	0,41	0,36	0,21	0,42	0,09
pH_SMP	p < 0,001	p < 0,001	0,25	0,17	p < 0,001	0,32	0,06	0,06	0,18	0,44	0,10	0,83	1,00	0,90	0,27
C_Leco	p < 0,001	p < 0,001	0,34	0,34	0,002	0,01	0,46	0,30	0,26	0,74	0,29	0,67	0,66	0,34	0,39
N_Leco	p < 0,001	p < 0,001	0,22	0,54	0,002	0,04	0,79	0,13	0,51	0,73	0,29	0,45	0,74	0,23	0,40
N-NH ₄	0,002	0,04	0,07	0,63	0,81	0,24	0,68	0,34	0,87	0,39	0,30	0,60	0,40	0,17	0,46
N-NO ₃	0,001	p < 0,001	0,05	0,30	p < 0,001	0,01	0,29	0,02	0,22	0,36	0,02	0,46	0,24	0,59	0,17
P M3	0,01	p < 0,001	0,03	0,97	0,003	0,41	0,87	p < 0,001	0,08	0,47	0,21	0,46	0,41	0,85	0,54
P M3/Al M3	0,27	p < 0,001	0,06	1,00	0,02	0,99	0,94	p < 0,001	0,08	0,44	0,38	0,69	0,67	0,71	0,67
K M3	p < 0,001	p < 0,001	0,001	0,21	0,003	0,004	0,70	p < 0,001	0,05	0,47	0,02	0,77	0,12	0,80	0,62
Ca M3	0,06	p < 0,001	0,22	0,24	p < 0,001	0,06	0,95	p < 0,001	0,95	0,52	0,52	0,25	0,35	0,38	0,17
Mg M3	p < 0,001	p < 0,001	0,002	0,17	p < 0,001	0,87	0,73	0,01	0,02	0,01	0,12	0,80	0,38	0,02	0,29
Cu M3	0,13	p < 0,001	p < 0,001	0,10	p < 0,001	0,12	0,46	p < 0,001	0,02	0,16	0,04	0,45	0,11	0,25	0,20
Zn M3	0,002	p < 0,001	0,001	0,17	0,004	0,11	0,65	p < 0,001	0,04	0,99	0,11	0,69	0,34	0,24	0,61

Tableau 27. Résumé des analyses de variance sur les concentrations moyennes en gènes de résistance aux antimicrobiens dans le sol de surface (0-10 cm).

Variables mesurées	Annás				Pr	> F		
Variables mesurées	Année	Travail	Fertilisation	Date	Travail*Ferti	Ferti*date	Travail*date	Travail*Ferti*date
E ast	2016	0,9355	0,5694	0,0671	0,9902	0,7280	0,9827	1,0000
E. coli	2017	0,8287	0,4945	0,0490	0,9945	0,6211	0,9892	0,9999
Entérocoques	2016	0,7764	0,2170	0,0098	0,8124	0,0472	0,7572	0,7150
	2017	0,8929	0,4252	0,0046	0,9874	0,5673	0,9529	0,9996
4.04(T)	2016	0,0680	<0,0001	<0,0001	0,0055	0,0008	0,0154	0,0368
tet(T)	2017	0,9193	<0,0001	<0,0001	0,5849	<0,0001	0,1012	0,1893
au.11	2016	0,6395	<0,0001	0,0002	0,0975	0,0273	0,2117	0,0918
sul1	2017	0,2055	<0,0001	<0,0001	0,1155	0,1349	0,4714	0,2912

Probabilités associées aux effets fixes de type 3 (prob. De F). Le seuil a été fixé à 5%. Les effets significatifs sont en gras.

Tableau 28. Résumé des analyses de variance sur les concentrations moyennes en bactéries et en gènes de résistance aux antimicrobiens dans l'eau de drainage.

Variables mesurées	Annác				Pr	> F		
Variables mesurées	Année	Travail	Fertilisation	Date	Travail*Ferti	Ferti*date	Travail*date	Travail*Ferti*date
E. coli	2016	0,0036	0,0062	<0,0001	0,0501	0,0005	0,0154	0,5122
Entárocogues	2016	0,9880	0,9930	<0,0001	0,2165	0,5660	0,9670	0,7842
Entérocoques	2017	0,0179	0,8486	<0,0001	0,0028	0,1381	0,5103	0,5674
tet(T)	2016	0,9733	0,9994	<0,0001	0,0033	0,1702	<0,0001	-
a11	2016	0,1000	<0,0001	<0,0001	0,0018	0,6641	0,0568	0,4677
sul1	2017	0,0411	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0689	0,2041	-

Probabilités associées aux effets fixes de type 3 (prob. De F). Le seuil a été fixé à 5%. Les effets significatifs sont en gras.

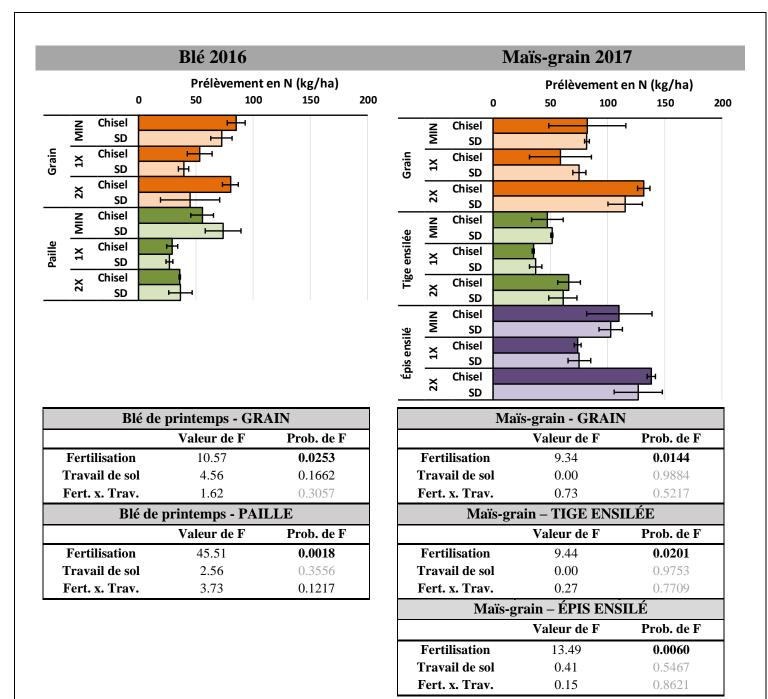


Figure 20. Prélèvement en N obtenus dans les grains et la biomasse pour le blé et le maïs-grain en 2016 et 2017 respectivement.

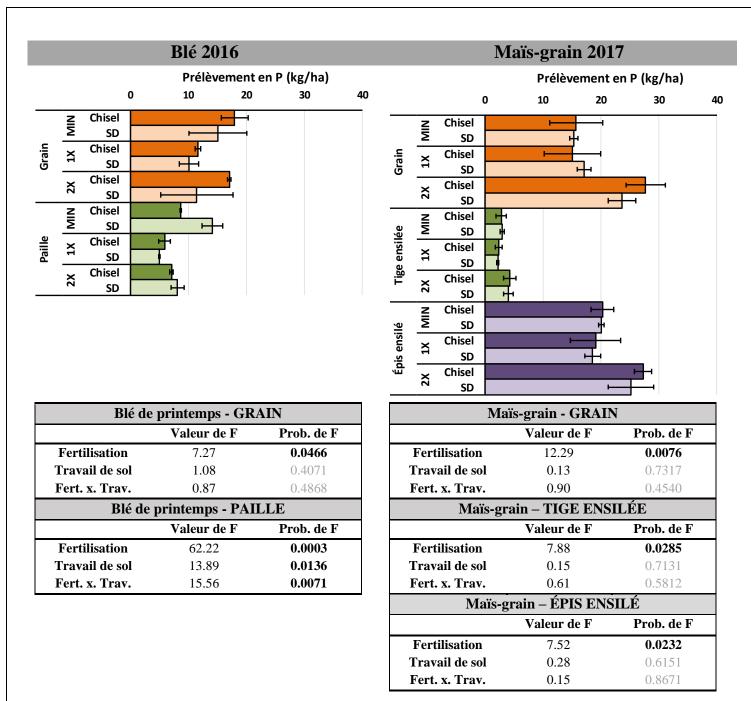
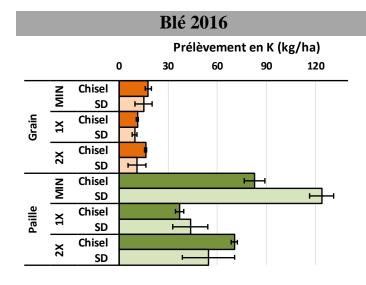


Figure 21. Prélèvement en P obtenus dans les grains et la biomasse pour le blé et le maïs-grain en 2016 et 2017 respectivement.

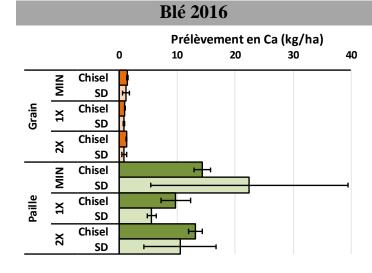


				Prél	èvemen	t en K (k	g/ha)
		(0	30	60	90	120
	Z	Chisel	-	4			
	Σ	SD	н				
Grain	1X	Chisel	-				
Ğ	7	SD	н	ı			
	×	Chisel		-			
	7	SD		4			
	Z	Chisel		-			
ée	Z	SD					
Tige ensilée	1X	Chisel		H			
e	Ή.	SD		Н			
Ë		Chisel				-	
	7	SD				Ī	
	Z	Chisel					
<u>, e</u>	Z	SD		н			
iusi	1X	Chisel					
Épis ensilé	-	SD		H			
Éρ		Chisel		-			
	7	SD		Н			

Blé de printemps - GRAIN						
	Valeur de F	Prob. de F				
Fertilisation	9.23	0.0317				
Travail de sol	1.22	0.3845				
Fert. x. Trav.	1.14	0.4059				
Blé de	printemps - PAI	LLE				
	Valeur de F	Prob. de F				
Fertilisation	51.04	0.0002				
Travail de sol	4.27	0.0844				

Ma	aïs-grain - GRAII	N
	Valeur de F	Prob. de F
Fertilisation	9.86	0.0127
Travail de sol	0.06	0.8199
Fert. x. Trav.	0.81	0.4877
Maïs-g	rain – TIGE ENS	ILÉE
	Valeur de F	Prob. de F
Fertilisation	44.71	0.0002
Travail de sol	1.83	0.2247
Fert. x. Trav.	0.09	0.9111
Maïs-	grain – ÉPIS ENS	ILÉ
	Valeur de F	Prob. de F
Fertilisation	5.74	0.0508
Travail de sol	0.85	0.3991
Fert. x. Trav.	0.23	0.8025

Figure 22. Prélèvement en K obtenus dans les grains et la biomasse pour le blé et le maïs-grain en 2016 et 2017 respectivement.

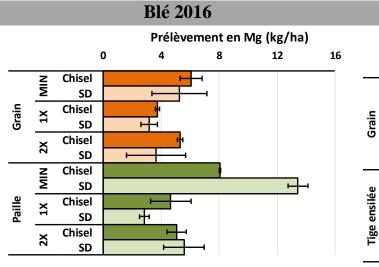


				Pı	rélèvem	ent	en Ca (k	g/ha)
		(0	10)	20	3	0 40
	Z	Chisel						
	M	SD	ŀ					
Grain	1X	Chisel	ŀ					
Ğ	⊣	SD						
	2X	Chisel	ŀ					
	7	SD						
	Z	Chisel			-			
ée	Σ	SD		_	-			
Tige ensilée	1X MIN	Chisel		-				
e		SD		\pm				
Ë	5 X	Chisel			-			
	7	SD			-	4		
	Z	Chisel						
é	Z Z	SD	Ŀ					
isus	1 X	Chisel	ŀ					
Épis ensilé		SD	<u> </u>					
Ę	X	Chisel	<u>l</u> t					
	7	SD	<u>l</u>					

Blé de printemps - GRAIN						
	Valeur de F	Prob. de F				
Fertilisation	6.98	0.0497				
Travail de sol	1.34	0.4531				
Fert. x. Trav.	0.53	0.6237				
Blé de	printemps - PAI	LLE				
	Valeur de F	Prob. de F				
Fertilisation	2.77	0.1757				
Travail de sol	0.01	0.9370				
Fert. x. Trav.	1.06	0.4260				

Ma	aïs-grain - GRAII	V
	Valeur de F	Prob. de F
Fertilisation	1.17	0.3976
Travail de sol	0.07	0.8131
Fert. x. Trav.	1.16	0.4001
Maïs-g	rain – TIGE ENS	ILÉE
	Valeur de F	Prob. de F
Fertilisation	12.66	0.0186
Travail de sol	0.12	0.7911
Fert. x. Trav.	0.20	0.8267
Maïs-	grain – ÉPIS ENS	SILÉ
	Valeur de F	Prob. de F
Fertilisation	2.74	0.1780
Travail de sol	0.13	0.7516
Fert. x. Trav.	0.14	0.8757

Figure 23. Prélèvement en Ca obtenus dans les grains et la biomasse pour le blé et le maïs-grain en 2016 et 2017 respectivement.



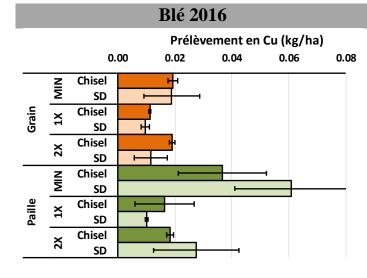
		()	4	8	12	16
	z	Chisel		F			
	Z	SD			H		
.⊑	1X	Chisel			-		
Grain	Ή	SD			-		
	×	Chisel					
	7	SD			-	\lnot	
	Z	Chisel		F		→	
ée	Σ	SD					
Tige ensilée	1X MIN	Chisel			-		
e		SD			Ē		
Ë	×	Chisel			_	⊣	
	7	SD			-	—	
	Z	Chisel			—	⊢	
é	Z	SD					
isu	1X	Chisel			_		
Épis ensilé	<u> </u>	SD			-		
Ēρ	×	Chisel				-	
	7	SD				_	

Prélèvement en Mg (kg/ha)

Blé de printemps - GRAIN									
Valeur de F Prob. de l									
Fertilisation	11.02	0.0236							
Travail de sol	0.85	0.4537							
Fert. x. Trav.	0.77	0.5196							
Blé de	printemps - PAI	LLE							
	Valeur de F	Prob. de F							
Fertilisation	69.48	0.0002							
Travail de sol	7.12	0.0445							
Fert, x. Tray.	17.40	0.0056							

Ma	aïs-grain - GRAII	V
	Valeur de F	Prob. de F
Fertilisation	10.11	0.0120
Travail de sol	0.23	0.6472
Fert. x. Trav.	0.90	0.4567
Maïs-g	rain – TIGE ENS	ILÉE
	Valeur de F	Prob. de F
Fertilisation	5.12	0.0616
Travail de sol	1.16	0.3310
Fert. x. Trav.	0.26	0.7809
Maïs-	grain – ÉPIS ENS	SILÉ
	Valeur de F	Prob. de F
Fertilisation	9.59	0.0135
Travail de sol	0.54	0.4883
Fert. x. Trav.	0.12	0.8907

Figure 24. Prélèvement en Mg obtenus dans les grains et la biomasse pour le blé et le maïs-grain en 2016 et 2017 respectivement.



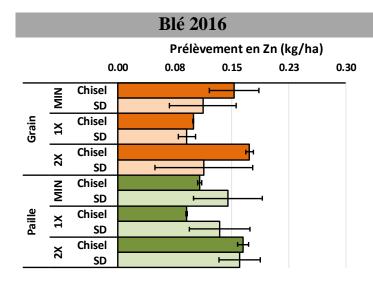
Prélèvement en Cu (kg/ha) 0.00 0.02 0.04 0.06 0.08 Chisel 1X MIN SD Chisel SD 2X Chisel SD 1X MIN Chisel Tige ensilée SD Chisel SD Chisel 2 SD 2X | 1X | MIN Chisel Épis ensilé SD Chisel SD Chisel SD

Maïs-grain 2017

Blé de printemps - GRAIN										
Valeur de F Prob. de F										
Fertilisation	8.38	0.0372								
Travail de sol	0.58	0.5863								
Fert. x. Trav.	1.74	0.2859								
Blé de	printemps - PAI	LLE								
	Valeur de F	Prob. de F								
Fertilisation	17.15	0.0058								
Travail de sol	3.19	0.1343								
Fert. x. Trav.	2.85	0.1495								

Maïs-grain - GRAIN									
	Valeur de F	Prob. de F							
Fertilisation	5.92	0.0481							
Travail de sol	0.34	0.5847							
Fert. x. Trav.	0.26	0.7840							
Maïs-grain – TIGE ENSILÉE									
	Valeur de F	Prob. de F							
Fertilisation	22.25	0.0032							
Travail de sol	0.15	0.7181							
Fert. x. Trav.	0.56	0.6050							
Maïs-ş	grain – ÉPIS ENS	SILÉ							
	Valeur de F	Prob. de F							
Fertilisation	1.06	0.4273							
Travail de sol	0.94	0.4344							
Fert. x. Trav.	1.08	0.4216							

Figure 25. Prélèvements en Cu obtenus dans les grains et la biomasse pour le blé et le maïs-grain en 2016 et 2017 respectivement.



		0	00	0.08	0.15	0.23	0.30
		0.		0.00	0.13	0.23	
	Z	Chisel		-			
	Σ	SD					
<u>.</u>	1X	Chisel			$\dashv \top$		
Grain	Ή	SD		-	₽		
	$\overline{}$	Chisel					
	χ	SD			-	_	
	Σ	Chisel	-	-			
ée		SD	+				
ısil	1, 1,	Chisel		-			
Tige ensilée		SD		H			
Ē	X	Chisel			-		
		SD					
	z	Chisel					
<u>, e</u>	Σ	SD			H-1		
nsi		Chisel					
Épis ensilé	1X	SD					
Éр	$\overline{}$	Chisel					
	5	SD				_	

Prélèvement en Zn (kg/ha)

Blé de printemps - GRAIN									
Valeur de F Prob. de F									
Fertilisation	4.50	0.0946							
Travail de sol	1.60	0.3335							
Fert. x. Trav.	1.19	0.3922							
Blé de	printemps - PAI	LLE							
	Valeur de F	Prob. de F							
Fertilisation	50.91	0.0014							
Travail de sol	0.97	0.5042							
Fert. x. Trav.	12.54	0.0189							

Ma	aïs-grain - GRAII	V
	Valeur de F	Prob. de F
Fertilisation	3.62	0.1068
Travail de sol	0.79	0.4135
Fert. x. Trav.	0.93	0.4535
Maïs-g	rain – TIGE ENS	ILÉE
	Valeur de F	Prob. de F
Fertilisation	17.69	0.0103
Travail de sol	0.61	0.5166
Fert. x. Trav.	0.07	0.9318
Maïs-	grain – ÉPIS ENS	SILÉ
	Valeur de F	Prob. de F
Fertilisation	5.93	0.0635
Travail de sol	1.28	0.3748
Fert. x. Trav.	3.70	0.1229

Figure 26. Prélèvements en Zn obtenus dans les grains et la biomasse pour le blé et le maïs-grain en 2016 et 2017 respectivement.

Tableau 29. Prélèvements en éléments totaux dans la biomasse aérienne du blé en 2016 (grain et paille) et du maïs en 2017 (épis et tiges ensilées)

Biomasse	Fertilisation	Travail du sol	N To	otal	P	•	K		C	a	M	g	C	u	Z	n
Blé	MIN	Chisel	141	18	27	2	101	8	15.8	1.5	14.1	0.8	0.06	0.02	0.26	0.04
		SD	146	25	29	7	139	13	23.6	17.6	18.7	2.6	0.08	0.03	0.26	0.09
	1X	Chisel	83	15	18	1	48	3	10.7	2.6	8.4	1.5	0.03	0.01	0.19	0.00
		SD	67	8	15	2	53	12	6.4	0.9	6.0	0.9	0.02	0.00	0.22	0.05
	2X	Chisel	116	7	24	1	87	3	14.4	1.2	10.4	0.9	0.04	0.00	0.34	0.01
		SD	82	36	20	7	66	22	11.4	6.7	9.2	3.5	0.04	0.02	0.27	0.09
Maïs	MIN	Chisel	158	43	23	3	82	21	10.5	3.1	18	3.5	0.06	0.01	0.26	0.08
		SD	154	11	23	1	72	3	11.3	1.9	18	0.9	0.05	0.00	0.17	0.02
	1X	Chisel	109	4	21	5	72	5	10.2	0.6	16	2.3	0.03	0.00	0.22	0.03
		SD	112	15	21	1	71	5	9.8	1.4	14	1.9	0.04	0.01	0.19	0.01
	2X	Chisel	204	13	32	3	145	25	15.0	1.6	21	1.3	0.06	0.01	0.33	0.02
		SD	188	33	29	5	138	10	15.9	3.6	20	3.2	0.06	0.01	0.32	0.06

