

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

RISQUE DE PERSISTANCE ET IMPACT SUR LES FONCTIONS DU SOL DES
HERBICIDES À BASE DE GLYPHOSATE EN GRANDES CULTURES DE MAÏS
ET SOYA

THÈSE

PRÉSENTÉ(E)

COMME EXIGENCE PARTIELLE

AU DOCTORAT EN SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

PAR

SOPHIE MACCARIO

NOVEMBRE 2020

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.10-2015). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier Monsieur Marc Lucotte, Professeur à l'Université du Québec à Montréal (UQAM), mon directeur, pour la confiance et le soutien qu'il m'a accordée en dirigeant jusqu'au bout de cette thèse malgré les hauts et les bas.

Je remercie Monsieur Michel Labrecque, Professeur à Université de Montréal (UDEM), mon co-directeur, pour le soutien qu'il m'a apporté.

J'adresse mes remerciements à Messieurs Matthieu Moingt et Serge Paquet, assistants de recherche à l'UQAM, pour leur soutien scientifique et leurs connaissances techniques qui ont favorisé le bon déroulement de ma thèse.

Tous mes remerciements à Monsieur Richard Hogue, chercheur à l'Institut de Recherche et de Développement en Agroenvironnement (IRDA) à Québec, qui m'a permis de pratiquer des analyses métagénomiques et d'apporter ainsi un complément d'expertise, et à Monsieur Thomas Jeanne, professionnel de recherche à l'IRDA, pour tout le temps passé à analyser les échantillons et traiter les résultats, et m'aider à interpréter les données.

Pour la partie expérimentation, je tiens à remercier Monsieur Marcelo Gomes, Professeur à l'Université Fédérale du Paraná (Brésil) et Madame Élise Smedbol,

doctorante, pour leur soutien et leur efficacité, Madame Sophie Chen et Monsieur Pierre Cayer, techniciens de laboratoire en Chimie à l'UQAM et Monsieur Sylvain Dallaire, technicien de laboratoire en Biologie à l'UQAM qui m'ont aidée dans l'utilisation des appareils et ont partagés leur expérience afin d'étayer ma thèse, sans oublier Monsieur Émile Samson.

J'exprime aussi toute ma gratitude à mes collègues de travail et les stagiaires formant mon équipe, pour les bons moments passés sur le terrain ou en laboratoire, et leur travail efficace.

Un grand remerciement à tous les partenaires du projet, aussi bien les professeurs rattachés que les agronomes, ainsi que les agriculteurs qui nous ont reçus dans leurs champs afin d'effectuer nos échantillonnages et qui ont accepté de répondre à nos questionnaires

Enfin, je veux finir ces remerciements en les adressant à ma famille qui par son affection, son soutien et ses encouragements m'a permis d'arriver au bout de ce travail et qui a toujours été présente dans les bons moments comme dans les moments de doute.

DÉDICACE

À mes associées Andréanne et Marie-Soleil de
LOCO pour leur patience et leur
compréhension à mon égard.

À ma mère et à ma sœur très présentes lors du
dernier rush

À tous mes amis qui m'ont supportée pendant
toutes ces années

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES.....	viii
LISTE DES TABLEAUX.....	x
LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES	xii
LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS	xvii
RÉSUMÉ	xix
ABSTRACT.....	xxii
AVANT PROPOS.....	xxiv
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I Réention du glyphosate et de l'AMPA dans un sol de grandes cultures des basses terres du Saint-Laurent, Québec, Canada	12
1.1 Introduction.....	14
1.2 Matériel et méthodes.....	16
1.2.1 Site d'étude et caractéristiques du sol	16
1.2.2 Extraction du glyphosate et de l'AMPA	20
1.2.3 Dosage du glyphosate et de l'AMPA.....	20
1.2.4 Traitement des données et analyses statistiques.....	22
1.3 Résultats.....	23

1.3.1	Variabilité des pratiques et des précipitations.....	23
1.3.2	Occurrence du glyphosate et de l'AMPA dans les sols	26
1.3.3	Teneurs en glyphosate et AMPA	27
1.4	Discussion.....	31
1.4.1	Rétention temporaire du glyphosate et dégradation ultérieure	31
1.4.2	Impact des fertilisants sur la désorption du glyphosate et de l'AMPA ...	37
1.4.3	Prédisposition du glyphosate et de l'AMPA au lessivage dans les sols ..	39
1.5	Conclusion	42

CHAPITRE II Impact d'un herbicide à base de glyphosate sur le risque de lixiviation des nutriments et sur la composition de la communauté microbienne dans le sol

2.1	Introduction.....	46
2.2	Matériel et méthodes.....	50
2.2.1	Conditions expérimentales en milieu contrôlé.....	50
2.2.2	Analyses chimiques.....	52
2.2.3	Analyse des données	56
2.3	Résultats.....	58
2.3.1	Paramètres chimiques et teneurs en herbicide	58
2.3.2	Évolution des teneurs en cations échangeables dans les sols.....	59
2.3.3	Évolution des teneurs en oxy-hydroxydes métalliques dans les sols.....	62
2.3.4	Évolution des différentes formes de phosphore dans les sols	63
2.3.5	Évolution de la communauté microbienne dans les sols.....	66
2.4	Discussion.....	71
2.4.1	Risque de lixiviation des nutriments déclenché par l'application de HBG : 71	
2.4.2	Effets sur les communautés microbiennes des sols.....	80
2.5	Conclusion	87

CHAPITRE III Influence des pratiques de gestion du soya et des conditions pedologiques sur la persistance du glyphosate et de l'AMPA dans les sols

2	90
---	-------	----

3.....	90
3.1 Introduction.....	90
3.2 Matériel et méthodes.....	92
3.2.1 Zone d'étude et échantillons de sol.....	92
3.2.2 Analyse des teneurs en glyphosate et en AMPA	95
3.2.3 Analyses chimiques du sol.....	96
3.2.4 Traitement des données et analyses statistiques.....	97
3.3 Résultats.....	98
3.3.1 Répartition des teneurs en glyphosate et en AMPA.....	98
3.3.2 Effet du nombre d'applications et du travail du sol	101
3.3.3 Effet de la texture de surface du sol	102
3.4 Discussion.....	106
3.4.1 Persistance et accumulation du glyphosate et de l'AMPA	106
3.4.2 La texture des sols comme facteur clé de la dynamique des HBG	109
3.5 Conclusion	113
CONCLUSION GÉNÉRALE.....	115
RÉFÉRENCES.....	132
ANNEXES 1	177
ANNEXES 2	198

LISTE DES FIGURES

Figures	Pages
1.1. Précipitations journalières moyennes exprimées en mm dans le bassin de l'Assomption pendant toute la période d'échantillonnage.....	25
1.2. Les teneurs en glyphosate extractible à l'eau dans le sol des grandes cultures au cours de la période d'échantillonnage de trois ans (a. 2011, b. 2012 et c. 2013).	28,
1.3. Les teneurs en AMPA extractible à l'eau dans le sol des grandes cultures au cours de la période d'échantillonnage de trois ans (a. 2011, b. 2012 et c. 2013)	30
2.1. Analyse répétée du cycle du phosphore pendant 28 jours, en utilisant l'extraction séquentielle du phosphore a) P échangeables, b) P fixés sur les oxydes, c) P incorporé dans l'apatite, d) P organique et e) la phosphatase acide	65
2.2. Diversité alpha microbienne 4 jours après l'application de HBG suivant les doses 0 ; 0,90 et 1,80 kg i.a ha ⁻¹ pour les différents groupes taxonomiques a) bactéries, b) champignons et c) protistes à l'aide des indices globaux Chao1 (1) et Shannon (2)	67
2.3. Analyse PCoA basée sur les distances pondérées pour 1) bactéries, 2) champignons et 3) protistes, en fonction des différentes traitements 0 ; 0,90 et 1,80 kg i.a. ha ⁻¹	68

2.4. Effet de l'application de HBG sur 1) les bactéries, 2) les champignons et 3) protistes en utilisant l'analyse de composition de microcosme (ANCOM), par comparaison entre le témoin et la concentration maximale ($p < 0,1$).....	70
3.1. Emplacement (marqué par un X) des sites d'étude dans la plaine agricole du Saint-Laurent lors de la campagne d'échantillonnage en 2014 avant le semis et en octobre 2014, au moment de la récolte	93
3.2. Distribution des concentrations de glyphosate 1) et d'AMPA 2) selon le type de culture dans les sols agricoles sous culture de soya au printemps 2014 avant le semis (a) et en octobre 2014, au moment de la récolte (b)	100
3.3. Histogrammes des teneurs en glyphosate et AMPA 1) et de leur fréquence de détection dans les sols 2) au moment de la récolte, selon le nombre d'applications.....	102
3.4. Distribution des teneurs de glyphosate 1) et d'AMPA 2) selon la texture du sol argileuse (TA), limoneuse (TL) ou limono-sableuse (TLS) au printemps 2014 avant le semis (a) et en octobre 2014, au moment de la récolte (b).....	103
3.5. Représentation graphique de l'ACP basée selon les composantes 1 et 2, en intégrant la variable supplémentaire des trois grandes textures de sol (argileuses, loameuses et sableuses), et en fonction des trois régions de soya (BIO, IP et GR)..	105

LISTE DES TABLEAUX

Tableaux	Pages
1.1. Structure et propriétés du glyphosate et de l'AMPA.....	3
1.2. Caractéristiques chimiques des sols.....	17
1.3. Étapes de gestion des cultures et dates d'échantillonnage des sols.....	19
1.4. Fréquences de détection du glyphosate et de l'AMPA extractibles à l'eau...	26
1.5. Teneurs en glyphosate et AMPA extractibles à l'eau.....	27
2.1. Caractéristiques chimiques du sol.....	51
2.2. Teneurs en glyphosate et AMPA extractible à l'eau dans les sols après application de différentes doses de HBG (0, 0,90 et 1,80 kg i.a. ha ⁻¹) en mg kg ⁻¹	59
2.3. Moyennes ± déviation standard de la teneur en cations échangeables du sol en mg kg ⁻¹ pour les jours 1, 2 et 4 après l'application de HBG.....	60
2.4. Valeur des analyses à mesures répétée pour les différents oxydes et hydroxydes du sol pour 1, 2, 4, 7, 14 et 28 jours après application de HBG.....	63

2.5. Valeur des analyses à mesures répétée pour les différentes formes de Phosphore du sol pour 1, 2, 4, 7, 14 et 28 jours après application de HBG.....	64
3.1. Pratiques de désherbage et de préparation du sol sur les sites échantillonnés au cours du mois de mai 2014.....	93
3.2. Nombre de sites par classe texturale des sols échantillonnés dans les cinq régions de l'étude.....	95
3.3. Teneurs totales en glyphosate et AMPA dans les sols agricoles de l'ensemble de l'étude	99
3.4. Contribution partielle des variables en % représentant la composition des sols issues de l'ACP	104

LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

ACP : Analyse à Composantes Principales

ACTA : Association de Coordination Technique Agricole

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

ADNe : AND environnemental

ADNr : ADN recombiné

a.i. : ingrédient actif

AMPA : Acide Aminomethylphosphonique

ARN : Acide Ribonucléique

ANCOM : ANalyse statistique de la COMposition des Microcosmes

ASV : Variante de Séquence d'Amplicons

BIO : Biologique

CA : Californie

CEAEQ : Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec

CEC : Capacité d'Echange Cationique

cdb : Citrate-Dithionite-Bicarbonate

C-N : Carboxyméthylène-Azote

C-P : Carbone-Phosphore

dNTP : DésoxyriboNucléotides Tri-Phosphate

DT : Temps de Demi-vie

DW : Poids sec

EPSPS : Enzyme 5-EnolPyruvylShikimate-3-Phosphate Synthase

GC-ECD : Chromatographe en phase gazeuse couplé à un détecteur à capture électronique

GM : Génétiquement Modifié

GR : `Résistant au Glyphosate

HBG : Herbicide à Base de Glyphosate

HPLC : Chromatographie Liquide à Haute Performance

i.a : ingrédient actif

IP : Identité Protégée

LD : Limite de Détection

LQ : Limite de Quantification

MANOVA : Analyse Multivariée de Variance

MAPAQ : Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec

MDDELCC : Ministère du Développement Durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les Changements Climatiques

ON : Ontario

OTU : Unités Opérationnelles Taxonomiques

Pb : Paire de Bases

PCoA : Analyse des coordonnées principales

PCR : Réaction en Chaîne par Polymerase

POEA : Amine Polyoxyéthylène

P/P : Poids/Poids

QIIME : Aperçu quantitatif de l'écologie microbienne

RLE : Expression Relative du Log

RR : Résistante au Roundup

SCWG : Groupe de travail sur la classification des sols

TA : Texture Argileuse

TCB : TriChloroBenzène

TFAA : TriFluoroAcétique Anhydre

TFE : Tétrafluoroéthylène

TL : Texture Loameuse

TLS : Texture Sableuse

UV : Ultra Violet

VIS : ViSible

XR : Rayon X

LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS

μl : Microlitre

μm : Micromètre

$\mu\text{g ml}^{-1}$: Microgramme par millilitre

mm : Millimètre

$\text{mg kg}^{-1} \text{ dw}$: Milligramme par kilogramme de poids sec

kg ha^{-1} : Kilogramme par hectare

l : Litre

M : Moles par litres

G.l^{-1} : Grammes par litre

mg.kg^{-1} : Milligrammes par kilogramme

g.m^{-3} : Grammes par mètre cube

kg.ha^{-1} : Kilogrammes par hectare

pH : Potentiel Hydrogène

rpm : Tour par minute

$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$: micromoles par secondes par mètre carré

RÉSUMÉ

Les observations fréquentes de teneurs élevées dans l'environnement en glyphosate et acide aminométhylphosphonique (AMPA), principal produit de dégradation du glyphosate, laissent présager une mobilité assez importante de ces composés dans les sols. Une telle contamination environnementale peut entraîner des problèmes de toxicité pour les organismes non ciblés dans les différentes matrices environnementales. Dans cette problématique, un des défis pour la science est de mieux comprendre la dynamique du glyphosate et de l'AMPA dans les sols agricoles et d'expliquer la différence entre les observations faites en laboratoire et celles recueillies en milieu naturel.

Dans le cadre de cette thèse, nous étudions la présence et le devenir du glyphosate et de l'AMPA dans les sols agricoles en fonction de la variabilité naturelle en champ et de la diversité des pratiques culturales utilisées en grandes cultures. Un suivi des teneurs extractibles à l'eau du glyphosate et de l'AMPA, a été réalisé en champ afin d'identifier les facteurs favorisant leur mobilité et leur persistance dans les sols agricoles. La biodisponibilité des nutriments (cations et phosphore), ainsi que la composition des communautés microbiennes ont été mesurées dans un sol naturel traité aux herbicides à base de glyphosate (HBG) afin de mettre en évidence leur impact sur la fertilité des sols. Enfin, une étude à l'échelle de la plaine agricole du St Laurent a été menée dans la plaine agricole du Saint-Laurent afin d'évaluer l'occurrence et les teneurs en glyphosate et AMPA dans les sols agricoles de surface sous culture de soya et maïs et d'identifier les principaux facteurs de persistance des deux composés au niveau des pratiques agricoles et de la pédologie des sols.

Un fort potentiel de mobilité du glyphosate a été observé pendant plusieurs semaines après l'application d'HBG, soulignant que ce composé était susceptible d'être lessivé lors de pluies. Le risque a été amplifié suite à une fertilisation réalisée avec des boues

d'épuration fortement chargées en phosphore et en phosphonates, entraînant une désorption importante de glyphosate et d'AMPA dans les sols. Les études en milieu contrôlé ont mis en évidence une solubilisation de certains nutriments essentiels du sol tel que le calcium, le magnésium et le cuivre par formation de complexes solubles avec le glyphosate ou par compétition de ce composé pour les sites d'adsorption sur les surfaces minérales du sol. Bien que l'analyse génétique de la composition microbienne des sols n'ait pas montré de changement dans les jours suivant l'application aux doses recommandées, une perte de ces éléments minéraux et des changements physico-chimiques plus marqués dans les sols pourraient affecter certains phylums bactériens plus sensibles, tels que les actinobactéries et les acidobactéries. La persistance et l'accumulation du glyphosate et de l'AMPA observées dans l'étude à l'échelle de la plaine agricole du St Laurent pourraient amplifier les risques de toxicité. Les sols argileux soumis à des applications répétées ont favorisé la constitution d'un réservoir de glyphosate dans les sols de par la présence de certains cations échangeables. Les molécules de glyphosate pourraient être temporairement immobilisées mais de manière réversible sur les argiles par réaction de complexation. Cette voie de sorption du glyphosate est encore peu étudiée en conditions réelles du fait de la multitude de molécules naturelles présentes dans les sols pouvant interagir avec les cations et rentrer en compétition avec le glyphosate. Cette étude a aussi permis de mettre en évidence la persistance élevée de l'AMPA quels que soit le type de sol ou le système de culture.

Lorsqu'ils sont partagés avec les différents acteurs du milieu agricole, les résultats de cette thèse contribuent à améliorer notre compréhension des risques que présentent les HBG pour l'environnement et les fonctions des sols agricoles.

Mots clés : herbicide, mobilité, phase labile, fertilité, communautés microbiennes, sols agricoles, persistance, variabilité naturelle, fertilisation, pratiques agricoles

ABSTRACT

The frequently reported presence of residues of glyphosate-based herbicides (GBH) in the environment, namely glyphosate itself and its main degradation product, aminomethylphosphonic acid (AMPA) suggests a fairly high mobility of these chemicals in soils. Such environmental contamination can lead to major toxicity problems for non-target organisms in the different environmental matrices. Within this context, a key scientific challenge is to better understand glyphosate and AMPA dynamics in agricultural soils, and to explain the difference observed between controlled experiments and in situ observations.

In this thesis, we study the presence and fate of glyphosate and AMPA in agricultural soils as a function of the natural variability of field conditions and the diversity of cultural practices used in field crops. A monitoring of water-soluble glyphosate and AMPA was conducted in the field to identify factors promoting the mobility and the persistence of these compounds in agricultural soils. The bioavailability of nutrients (cations and phosphorus) and the composition of microbial communities were measured in a field of GBH-treated soil to demonstrate the effect of the herbicide on soil fertility. Finally, an evaluation of the total glyphosate and AMPA soil contents was carried out at the scale of the agricultural St Lawrence Lowlands and combined with the production of a portrait of agricultural practices and soil variability, in order to highlight the main factors that promote the persistence of both compounds in agricultural systems.

A high potential of glyphosate mobility was observed for several weeks after GBH application, highlighting the fact that this compound was susceptible to be leached out in rainfall events. The risk was amplified by the application of stabilized sewage sludge rich in phosphorus and phosphonates, resulting in significant desorption of glyphosate and AMPA present in soils. Studies in controlled conditions showed a solubilization of some essential nutrients of the soil such as calcium, magnesium and copper by formation of soluble complexes with glyphosate or by competition of this compound for the adsorption sites on the soil mineral surfaces. A leaching of these elements could lead to a decrease of soil fertility as well as changes in the composition of

microbiological communities. The persistence and accumulation of glyphosate and AMPA observed in the large-scale study could increase the toxicity risks of GBH. Clay soils subjected to repeated applications have favoured the constitution of a reservoir of glyphosate in soils related to the presence of exchangeable cations. Glyphosate may be temporarily but reversibly retained on clays by complexation reaction. This glyphosate sorption way is still poorly studied in open field conditions because of the multitude of natural molecules present in soils, which can interact with cations and compete with glyphosate. This study also revealed the high persistence of AMPA whatever the soil type or the cultivation system.

When shared with field crop stakeholders, the results of this thesis contribute to improve our understanding of the risks of GBH for the environment and for soil functions.

Keywords : herbicide, mobility, labile phase, fertility, microbial communities, agricultural soil, persistence, natural variability, fertilization, agricultural practices

AVANT PROPOS

Ce travail de recherche a été rédigé sous la forme d'une thèse par article pour laquelle je suis l'autrice principale, en collaboration avec mes co-directeurs de recherche Marc Lucotte et Michel Labrecque. L'ensemble du projet de thèse a été réalisé dans le cadre d'une subvention CRSNG en partenariat stratégique octroyée à Marc Lucotte et Michel Labrecque ainsi que d'une subvention à la Découverte du CRSNG octroyée à Marc Lucotte.

La thèse porte sur le comportement des herbicides à base de glyphosate (HBG) dans les sols agricoles et des effets sur la fertilité des sols. Nous avons mis en évidence que l'usage répété de ces herbicides dans les grandes cultures pourrait favoriser la mobilité et la persistance du glyphosate et de son produit de dégradation l'AMPA dans les sols et affecter la rétention des nutriments pour les cultures et les micro-organismes. Puis nous avons recherché les facteurs responsables de la persistance des deux composés dans les sols afin d'identifier le mode d'application et les pratiques associées qui présentent le plus de risque.

Le premier chapitre présente le potentiel de mobilité d'un herbicide à base de glyphosate dans des sols sous culture de soya et maïs en rotation et teste l'impact des fertilisations avec des boues phosphatées et du lisier de porc appliqués pour satisfaire les besoins élevés de ce type de culture en phosphore. L'autrice de cette thèse a fait toutes les interprétations et rédigé l'ensemble du travail. Les co-auteurs Mathieu Moingt et Serge Paquet sont à l'origine du développement des analyses de glyphosate et d'AMPA dans le laboratoire de recherche, et ont apporté leur expertise en tant que chimistes et statisticiens. La co-autrice Louise Hénault-Éthier a participé conjointement avec l'autrice aux campagnes d'échantillonnage sur trois ans dont une part du projet s'inscrivait dans le cadre de sa thèse de doctorat.

Dans un second chapitre, nous abordons les effets d'une application de cet herbicide sur la rétention des nutriments et la composition des communautés microbiennes des sols selon les trois grands groupes taxonomiques bactéries, champignons et protistes qui constituent la base de l'équilibre du microcosme du sol agricole. L'auteur de cette thèse a fait toutes les interprétations et rédigé l'ensemble du travail. La co-auteur Élise Smedbol a contribué conjointement à la mise en place et au déroulement de l'expérience en serre, qui s'inscrivait également dans sa thèse de doctorat. Les co-auteurs Richard Hogue et Thomas Jeanne ont procédé aux analyses de la métagénomique dans les échantillons au sein de leur laboratoire de recherche et ont apporté leur expertise au niveau de la microbiologie des sols et du traitement statistique des données. Serge Paquet a contribué à la mise en place du design expérimental de la serre et au traitement statistique des données. Mathieu Moingt a participé aux analyses de glyphosate et d'AMPA et a apporté son expertise en chimie.

Le dernier chapitre repose sur une étude à grande échelle tournée vers les modes d'applications des HBG et pratiques associées en grande culture de soya, effectuée dans 48 sols agricoles du Québec avant le semis et l'application de l'herbicide puis au moment de la récolte. Nous identifions également les facteurs qui favorisent la persistance de glyphosate et d'AMPA dans les sols. L'auteur de cette thèse a fait toutes les interprétations et rédigé l'ensemble du travail. La co-auteur Élise Smedbol a contribué conjointement à la mise en place et au déroulement de l'ensemble du projet, qui s'inscrivait également dans sa thèse de doctorat, aussi bien au niveau de l'échantillonnage, que des entrevues et questionnaires auprès des agriculteurs ou de la constitution de la base de données. Le co-auteur Mathieu Moingt a contribué à la mise en place du projet et au développement analytique pour les analyses de glyphosate et d'AMPA dans les divers sols du Québec. Enfin le co-auteur Émile Samson-Brais a fait une grande partie des analyses de glyphosate et d'AMPA de ce chapitre.

Pour terminer nous discuterons de la relation entre les résultats des différents chapitres, et de leur contribution dans l'évaluation des risques d'un usage répété des herbicides à base de glyphosate. Nous parlerons aussi de la pertinence d'un suivi environnemental de cet herbicide dans les sols agricoles afin de prévenir les effets négatifs sur la santé du sol et des cultures. Enfin nous présenterons les perspectives envisagées dans la continuité de ces travaux afin de mettre en place des outils concrets pour la surveillance des champs par les agriculteurs.

INTRODUCTION

Les herbicides à base de glyphosate (HBG) sont une classe de produits à large spectre et non sélectifs de la famille des amino-phosphonates dont l'ingrédient actif est le glyphosate (ACTA, 2010). Commercialisés pour la première fois en 1974 par la compagnie Monsanto, ils sont aujourd'hui la catégorie d'herbicides la plus utilisée au monde (Duke *et al.*, 2008). L'utilisation en agriculture des HBG est passée de 0,4 à 113,4 millions de kg entre 1974 et 2014, soit environ 300 fois plus (Benbrook, 2016). En 1996, les premières cultures de technologie Roundup Ready (RR) ont été introduites sur le marché pour le soya, le maïs et le coton (Benbrook, 2016), participant drastiquement à l'augmentation de l'utilisation des HBG en grandes cultures. Ces cultures sont tolérantes au glyphosate ce qui permet d'appliquer les HBG sur les plantes cultivées lorsqu'elles sont au stade de croissance de trois feuilles. Les HBG sont aussi couramment utilisés dans les cultures conventionnelles au printemps avant le semis sur les sols pour brûler les mauvaises herbes en place et réduire la compétition pour les futures plantes cultivées avant que les adventices ne soient trop vigoureuses et plus difficiles à enlever. Benbrook (2016) a observé une augmentation du nombre moyen d'applications passant de 1,1 en 1996 à 1,52 en 2014 par saison de culture pour le soya en Amérique du Nord. Cet auteur a aussi mis en évidence que les doses moyennes appliquées sont passées de 0,7 à 1,1 kg d'ingrédient actif (i.a.) ha⁻¹ entre 1996 et 2014. En parallèle les semis directs sans labour ont connu un fort développement ces

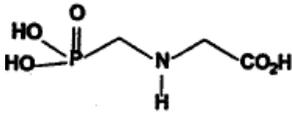
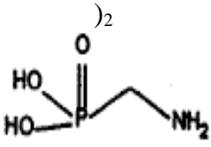
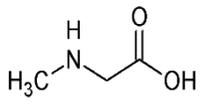
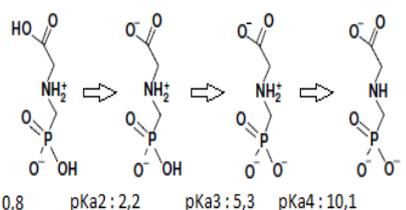
dernières années dans les cultures de maïs et soya, permettant aux producteurs de réduire considérablement le temps passé au champ avant les semis, de limiter l'érosion du sol et de favoriser une meilleure santé du sol. Cela a favorisé l'utilisation des HBG afin de compenser l'élimination du labour qui servait à réguler les adventices. Tout cela a favorisé l'apparition de mauvaises herbes résistantes au glyphosate (Green, 2016), entraînant une augmentation des doses appliquées et d'une diversification des types d'herbicides afin de maintenir les rendements agricoles.

Le glyphosate (N-phosphonométhyl glycine) est un composé amphotère comprenant une fonction amine secondaire basique au centre de la molécule un acide carboxylique et un acide phosphonique aux extrémités. La molécule a donc la possibilité de former des sites cationiques et anioniques (Székacs et Darvas, 2012). La structure et les propriétés du glyphosate et de son principal produit de dégradation l'AMPA sont présentés dans le tableau 1.1.

Le glyphosate est combiné à un mélange d'adjuvants qui améliore l'efficacité de l'ingrédient actif en favorisant sa pénétration dans les plantes, le plus connu étant le polyoxyéthylène amine (POEA). Une fois absorbé par la plante, le glyphosate bloque la biosynthèse des acides aminés phénylalanines, tyrosines et tryptophanes par inhibition de la 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), une enzyme de la voie shikimate (Siehl, 1997). Lors de l'application, une partie du glyphosate peut tomber directement sur les sols, particulièrement au printemps lorsque les plantes ne recouvrent pas complètement ceux-ci. De plus, le glyphosate déposé sur les feuilles des plantes peut aussi atteindre le sol après lessivage par la pluie (Davidson *et al.*, 2000). Enfin, une fraction de ce qui a été absorbée par la plante peut aussi rejoindre le sol par

exsudation des racines (Newman, 2006) et/ou par décomposition des débris organiques (Locke *et al.*, 2009).

Tableau 1.1. Structure et propriétés du glyphosate et de deux produits de dégradation, l'AMPA et la sarcosine

Glyphosate	AMPA	Sarcosine	Références
<p>Formule $(HO)_2P(O)CH_2NHCH_2CO_2H$</p> 	<p>$NH_2CH_2P(O)(OH)$</p> 	<p>$C_3H_7NO_2$</p> 	Giesy et al, 2000
<p>Formes ioniques</p>  <p>pKa1 : 0,8 pKa2 : 2,2 pKa3 : 5,3 pKa4 : 10,1</p>	<p>pKa₁ : 0,8 pKa₂ : 5,4 pKa₃ : 10</p>	<p>pKa₁ : 2,23 pKa₂ : 10,01</p>	Chen et al, 2009
<p>Propriétés Forte constante d'adsorption variant selon le type de sol (charges, pH, carbone organique, oxydes, type d'argile) Constante d'adsorption (modèle de Freundlich en μg^{1-n} (mL) $n g^{-1}$) 40 à 118 93 à 2045</p>	99 à 1517		Bergström et al, 2011 Baez et al, 2014
<p>Soluble dans l'eau 11,6 g l⁻¹ à 25 °C</p>	5,8 g l ⁻¹ à 25 °C	1480 g l ⁻¹ à 20 °C	ACTA, 2010 Imfeld et al, 2013
Chélateur de cations			Borggaard and Gimsing, 2008

Les propriétés présentées dans le tableau 1.1 aident à mieux comprendre la dynamique du glyphosate et de son composé de dégradation dans les sols. La mobilité de ces composés dans les sols, soit leur capacité à se déplacer ou être déplacés dans l'espace, dépend majoritairement des conditions physico-chimiques du sol, incluant également la dynamique des autres éléments présents. Une fois dans les sols, une phase initiale d'adsorption engendre une rétention importante du glyphosate, suivi d'une réaction lente sur plusieurs jours où les quantités de composé adsorbées sont beaucoup plus faibles (Borggaard et Gimsing, 2008). Cela entraîne l'immobilisation du glyphosate dans le sol par fixation sur les surfaces du sol (Sprankle *et al.*, 1975; Rueppel *et al.*, 1977; Gimsing et Borggaard, 2008). L'immobilisation temporaire du glyphosate dépendrait en grande partie de facteurs pédologiques tels que la teneur en cations comme le cuivre et le fer amorphe, la teneur en phosphate et enfin le pH du sol, et aussi du temps de contact avec le sol (Piccolo *et al.*, 1994; De Jonge et de Jonge, 1999; Morillo *et al.*, 2000 ; Gimsing et Borggaard, 2002 ; Orggaard et Gimsing, 2008). La rétention du glyphosate diffère selon les types de sol (Dejonge *et al.*, 2001; Dion *et al.*, 2001; Wang, 2005; Al-Rajab *et al.*, 2008). Le glyphosate peut être fortement adsorbé sur les composés minéraux dans le sol et en particulier les oxydes de fer et d'aluminium capables de fixer les cations et les anions grâce à leur grande surface d'adsorption (Piccolo *et al.*, 1994; Vereecken, 2005 ; Gimsing *et al.*, 2007, 2008; Borggaard et Gimsing, 2008). La fixation se produit sur les surfaces à charges variables en raison d'une affinité plus élevée pour les cations trivalents tels que Al^{3+} et Fe^{3+} . La capacité des silicates des argiles à adsorber le glyphosate est plus faible que celle des oxydes, du fait qu'ils sont dominés par des charges permanentes (Gimsing et Borggaard, 2002). La capacité d'adsorption du glyphosate des silicates d'argile dépend de la quantité de cations présente dans la solution du sol car il peut y avoir formation d'un complexe entre les cations inter-couches et le glyphosate (McConnel et Hossnier, 1985). La

formation de complexes entre le glyphosate et les cations du sol se fait grâce à son fort pouvoir chélateur (Subramaniam et Haggard, 1988 ; Glass, 1987 ; Sprankle *et al.*, 1975 ; Bernard *et al.*, 2005 ; Barrett et McBride, 2006). L'adsorption peut aussi se faire par échange de ligand entre le glyphosate et la surface d'adsorption, entraînant la formation d'un groupe hydroxyle en surface (Borggaard et Gimsing, 2008). La matière organique participe aussi à la sorption du glyphosate par formation de complexes entre l'humus et le glyphosate en impliquant les cations divalents ou trivalents (Piccolo *et al.*, 1996). Cependant, l'importance de la matière organique dans la rétention du glyphosate dans les sols est encore controversée avec des résultats dans la littérature qui s'opposent (Gimsing et Borggaard, 2008). La matière organique pourrait aussi faire compétition en bloquant les sites de sorption du glyphosate mais aussi surtout du phosphate dans les sols.

Le phosphore est un facteur qui influe sur la sorption du glyphosate et de l'acide aminométhylphosphonique (AMPA), principal produit de dégradation du glyphosate, dans les sols. Le phénomène de compétition entre le glyphosate et le phosphate pour les mêmes sites d'adsorption sur les oxydes et la matière organique est dépendant du temps (Borggaard *et al.*, 2005) et se produit selon deux voies : i) à pH bas (Tisdale et Werner, 1968), le phosphore s'adsorbe sur des argiles par échange de ligand avec le fer, l'aluminium ou le groupe OH sur la surface des argiles (Parfitt *et al.*, 1975) ; ii) le phosphore précipite rapidement à pH élevé avec formation de phosphate de fer et d'aluminium et devient insoluble dans le temps et lorsque la température augmente (Hemwall, 1957). Il peut y avoir aussi une liaison argile-Ca²⁺-phosphate entraînant une précipitation du phosphate et le rendant insoluble dans les sols alcalins ; iii) liaison de type absorbant-cation-phosphate (Levesque et Schnitzer, 1967), par exemple sous la forme de phosphate-acide fulvique-métal-phosphate. Le phosphate dans les sols est

souvent en concurrence avec les anions naturels du sol pour le site de liaison (Tisdale et Werner, 1968). Les caractéristiques similaires du glyphosate et du phosphore peuvent provoquer une désorption de ces composés dans les sols qui peuvent alors retourner dans la solution du sol. L'adsorption du phosphate peut entraîner une désorption du glyphosate du fait des sites d'adsorption en commun (Dideriksen et Stipp, 2003; Gimsing et Borggaard, 2001; Schnürer *et al.*, 2006). Les ratios de sorption sur les sites avec groupement hydroxyle sont de 1:1 pour le phosphate et de 1:2 pour le glyphosate (Dideriksen et Stipp, 2003), ce qui permet au phosphore de s'adsorber plus fortement que le glyphosate sur ce type de site.

En plus de la possibilité de désorption par compétition pour les sites d'adsorption du sol, la forte solubilité du glyphosate (Tableau 1.1) associée à des variations physico-chimiques du sol peut entraîner une dissolution du composé dans les sols, sous forme ionique et réactive. Le passage de l'eau peut lixivier le glyphosate par percolation lente à travers le sol, le rendant plus mobile. Le composé est alors susceptible d'être lessivé, c'est-à-dire transporté par l'eau, et être entraîné soit vers la nappe phréatique par infiltration; soit vers les cours d'eau par ruissellement.

Ainsi concernant le temps de dégradation du glyphosate dans les sols, Carlisle et Trevors (1988) concluent qu'il varie beaucoup, avec une demi-vie allant de moins d'une semaine à plusieurs années. Cette variation peut être due en partie au fait que le taux de dégradation est inversement corrélé à la sorption du sol (Sørensen *et al.*, 2006). Le temps de demi-vie dépendant d'un grand nombre de facteurs pédologiques et environnementaux. Bento *et al.*, (2016) ont identifié une DT90, c'est à dire le temps nécessaire pour que 90 % du composé soit dégradé en un composé secondaire dans un intervalle allant de 8 à 280 jours pour le glyphosate et de 88 à 148 jours pour l'AMPA.

La microbiologie des sols joue un grand rôle dans la persistance du glyphosate. En effet, le glyphosate est dégradé selon deux principales voies de dégradation par la microbiologie des sols : i) coupure par l'enzyme C-P lyase de la liaison carbone-phosphore (C-P) du glyphosate et formation de la sarcosine (N-méthylglycine), produit de dégradation rarement détectable dans les sols. Au cours de ce processus, il y a libération de phosphate par l'activité bactérienne; ii) clivage de la liaison carboxyméthylène-azote (C-N) catalysé par une oxydase conduisant à la formation d'AMPA capable de s'adsorber et persister dans les sols (Hove-Jensen *et al.*, 2014). Un certain nombre de micro-organismes est capable de dégrader le glyphosate et de l'utiliser comme substrat (Kuklinsky-Sobral, 2005). Ainsi des changements microbiologiques dans les sols pourraient impacter la persistance du glyphosate et de l'AMPA par une baisse de la dégradation de ces composés. De par le mécanisme d'action du glyphosate, certains micro-organismes possédant la voie métabolique de l'EPSPS pourraient être affectés par les applications d'HBG (Hermann et Weaver, 1999 ; Padgett *et al.*, 1995; Cerdeira et Duke, 2006). Des études ont pu voir des effets sur la microbiologie des sols, mais souvent à des concentrations élevées et souvent peu représentatives du champ (Busse *et al.*, 2001 ; Ratcliff *et al.*, 2006 ; Weaver *et al.*, 2007 ; Mijangos *et al.*, 2009). D'autres études n'ont pas rapporté de différences significatives au niveau de l'activité et de la composition des populations microbiennes suite à l'application de HBG (Barriuso *et al.*, 2011 ; Nakatani *et al.*, 2014 ; Allegrini *et al.*, 2015). Les micro-organismes sont fortement impliqués dans les processus de rétention et de dégradation du glyphosate mais ont aussi un rôle important dans la disponibilité des nutriments, notamment celle du phosphore (Richardson *et al.*, 2011). En effet, le phosphore est, pour la majeure partie, hydrolysé par la phosphatase produite par les micro-organismes (Bünemann, 2008). De nombreuses bactéries ont aussi la capacité d'acidifier le milieu afin de libérer des anions organiques (Khan *et al.*, 2007).

Un impact du glyphosate sur les populations impliquées dans les processus d'oxydo-réduction de certains nutriments pourrait aussi favoriser les carences chez les plantes, tels que le calcium, magnésium, zinc et cuivre (Zobiolo *et al.*, 2010) ainsi que le manganèse qui est principalement réduit par les micro-organismes du sol (Huber *et al.*, 2004). Dans la littérature un grand nombre d'études ont rapporté des carences en nutriments des plantes exposées au glyphosate (Jolley *et al.*, 2004 ; Bott *et al.*, 2008). Tout cela pourrait affecter les fonctions du sol sur le long terme et augmenter les risques liés à l'utilisation de HBG et de son produit de dégradation dans les sols.

De plus, le glyphosate et l'AMPA sont largement détectés dans tous les compartiments environnementaux. Au Québec, ces deux composés sont maintenant systématiquement détectés dans les cours d'eau (Giroux *et al.*, 2015, 2018). La plus récente étude de Giroux *et al.*, (2018) a montré que les pics maximums de détection du glyphosate et de l'AMPA dans les cours d'eau et les sédiments se situaient chaque année dans la période de juin-juillet, correspondant à la période d'application des HBG. Ainsi les risques de mobilité de ces composés lors de l'application d'un HBG sont bien réels. Cela montre que certains facteurs dans les champs peuvent affecter sa rétention. Ces composés ont aussi été détectés au printemps, bien avant les applications, ce qui peut être le signe d'une persistance d'une année à l'autre de ces composés. Une fois dans les sédiments, le glyphosate peut s'adsorber sur les particules solides telles que les oxydes, ce qui favorise sa persistance dans les milieux aquatiques (Degenhardt *et al.*, 2012 ; Ronco *et al.*, 2016 ; Wang *et al.*, 2016).

Tout au long de cette thèse, nous allons nous intéresser aux deux phases dans lesquels peuvent être présents le glyphosate et l'AMPA dans le sol : la phase labile facilement lixiviable et plus disponible pour la dégradation et une phase non labile fortement

adsorbée qui favorise la persistance des composés dans le sol (Laitinen *et al.*, 2009; Bergström *et al.*, 2011). La répartition entre ces deux fractions dépend, d'une part de la nature des liaisons que ces composés forment dans le sol et, d'autre part, des changements physico-chimiques qui peuvent survenir dans les sols par des facteurs externes tels que les pratiques agricoles et les variations climatiques. Cela influence directement sur la rétention et la persistance du glyphosate et de l'AMPA dans les sols. Des changements dans la rétention du glyphosate peuvent affecter celle des autres éléments impliqués dans les mécanismes de sorption et augmenter le lessivage de ces éléments impactant par le fait même la fertilité des sols et les risques de pollution pour l'environnement. De plus une augmentation de la persistance du glyphosate et de l'AMPA pourrait entraîner une accumulation potentielle de la fraction non labile de ces deux composés dans les sols et augmenter les risques environnementaux liés à l'utilisation des HBG et des teneurs de plus en plus importantes dans le sol. Cela pourrait présenter des risques importants de toxicité pour les organismes non cibles et pour l'environnement.

La littérature scientifique s'est beaucoup basée sur des études en conditions de laboratoire pour comprendre chaque mécanisme d'action dans les sols du glyphosate et de l'AMPA dans les sols. C'est une étape essentielle pour avoir une bonne compréhension du comportement du glyphosate et de l'AMPA. Mais cela ne prend pas en compte la variabilité naturelle et rend difficile les recommandations adaptées aux réalités des agriculteurs qui utilisent ces produits. En effet, les doses sont en général supérieures aux doses réelles utilisées. Il est souvent nécessaire d'utiliser des concentrations largement supérieures à celles utilisées en champ pour arriver à voir une tendance claire et expliquer les mécanismes en jeu. De plus les facteurs sont souvent comparés un à un, ce qui prend rarement en compte les effets synergiques ou

antagonistes entre les différents facteurs. La fraction extractible à l'eau dans les sols pour le glyphosate et l'AMPA a été très peu abordée et les études utilisent en général des extractions fortes qui permettent de déterminer la teneur totale de ces composés mais sans pouvoir différencier la fraction labile et la fraction non labile (Bergström *et al.*, 2011; Aparirio *et al.*, 2013; Guanarathna *et al.*, 2018; Garba *et al.*, 2018). Pourtant, la distinction entre ces deux fractions permettrait de mieux comprendre le comportement de l'herbicide dans les sols et les impacts qu'il peut avoir sur les fonctions des sols.

Cette thèse vise à mieux comprendre les processus d'interaction entre les HBG utilisés par les agriculteurs et les éléments impliqués dans le maintien de la fertilité des sols, tout en incluant le contexte environnemental et socio-économique des cultures. Le projet s'est déroulé en conditions réelles en collaboration avec les agriculteurs, chez qui nous avons pu échantillonner directement les sols. Les doses de HBG appliquées tout au long de l'étude correspondent à celles utilisées par les agriculteurs au Québec et recommandées par les manufacturiers. La région d'étude correspond à des champs québécois de grandes cultures situés dans les Basses Terres du Saint-Laurent (Québec) avec un climat tempéré et humide, sous rotation de soya et de maïs. Cette zone d'étude est représentative de la plupart des régions où une agriculture intensive est pratiquée avec utilisation d'herbicides à base de glyphosate, et avec un travail du sol sur de grandes étendues et une fertilisation massive avec des engrais chimiques. Les méthodes utilisées pour la détermination du potentiel de lixiviation des nutriments sont basées sur les analyses de fertilité adaptées aux sols agricoles du Québec. Pour le glyphosate et de l'AMPA, l'approche a porté sur la distinction entre la fraction labile et celle non labile afin de pouvoir distinguer la part de ces composés potentiellement lessivable tout au long de l'étude. Enfin, les données concernant les pratiques agricoles et l'historique

de culture ont été récoltées à l'aide de questionnaires soumis aux agriculteurs et du site Infosol (MAPAQ). Les données climatiques ont été compilées à partir des données des stations météorologiques les plus proches des sites d'étude.

L'objectif global de la thèse a porté sur l'étude du comportement d'un HBG après application en culture de maïs et soya en rotation et sur l'identification des principaux facteurs pouvant impacter la rétention et la persistance du glyphosate et de l'AMPA dans les sols. Le projet est divisé en trois objectifs spécifiques : i) Décrire la mobilité du glyphosate et de l'AMPA dans des sols agricoles du Sud du Québec suite à l'application d'un HBG pendant trois années consécutives et l'impact potentiel de la fertilisation et des variations climatiques sur leurs potentiels de lessivage; (ii) Évaluer l'impact de l'application d'un HBG sur la rétention des nutriments du sol et sur la diversité et la composition des populations microbiennes du sol en conditions semi-contrôlées; (iii) Déterminer les liens entre la variabilité naturelle des sol agricoles et les pratiques agronomiques, et la persistance du glyphosate et de l'AMPA suite à l'application de HBG dans des cultures de soya.

Pour répondre à ces objectifs, nous aborderons dans un premier chapitre la notion de rétention du glyphosate et de l'AMPA dans les sols, ainsi que les facteurs qui favorisent leur mobilité. Un deuxième chapitre portera sur les interactions de la phase labile du glyphosate avec les différents éléments du sol et de ses effets sur les trois grands groupes taxonomiques microbiens bactéries, champignons et protistes en se servant d'une nouvelle approche basée sur le séquençage des amplicons d'ARNr. Enfin le troisième chapitre de cette thèse abordera la notion de persistance du glyphosate et de l'AMPA à travers une analyse exploratoire à une échelle régionale, prenant en compte les caractéristiques et l'historique de chaque site.

Ce chapitre sera soumis dans sa version en anglais dans la revue Canadian Journal of Soil Science.

CHAPITRE I

RÉTENTION DU GLYPHOSATE ET DE L'AMPA DANS UN SOL DE GRANDES CULTURES DES BASSES TERRES DU SAINT-LAURENT, QUÉBEC, CANADA

Sophie Maccario¹, Marc Lucotte¹, Matthieu Moingt¹, Serge Paquet¹, Louise Hénault-Ethier¹, Michel Labrecque²

¹ Université du Québec à Montréal, Institut des Sciences de l'Environnement, Chaire de recherche du GEOTOP, CP 8888, Succ. Centre-Ville, Montréal, AC, Canada, H3C 3P8

² Université de Montréal, Institut de recherche en biologie végétale, 4101 Sherbrooke Est, Montréal, QC, Canada, H1X 2B2.

Résumé

L'industrie des semences génétiquement modifiées (GM) résistantes au glyphosate est en pleine expansion dans le monde entier. Par conséquent, la présence de glyphosate ainsi que de l'acide aminométhylphosphonique (AMPA), son principal produit de dégradation, ont été signalées à diverses concentrations dans la plupart des cours d'eau de la région agricole du Québec. Dans cette étude, les teneurs en glyphosate et en AMPA dans les sols de grandes cultures des basses terres du Saint-Laurent cultivés selon une rotation de soja et de maïs résistant au glyphosate (GR) ont été suivies pendant trois années consécutives (2011-2013) dans un sol arable de type loam sableux. Un herbicide à base de glyphosate (HBG) a été appliqué chaque année au stade de croissance V3 des plantes, à la dose de 0,72, 0,89 et 0,81 kg i.a. ha de glyphosate en 2011, 2012 et 2013 respectivement. Des teneurs significatives de glyphosate extractible à l'eau ont été mesurées dans les échantillons de sol (jusqu'à 0,29 mg kg⁻¹ de sol) quelques semaines après l'application de HBG, ce qui représente 9,57 % de la quantité de HBG appliquée aux cultures la première année. Néanmoins, les teneurs en glyphosate extractible à l'eau ont radicalement diminué au cours de la saison de croissance, tandis qu'une fraction de ce composé était progressivement observée sous sa forme dégradée dans les sols soit de l'AMPA extractible à l'eau. La deuxième année de l'étude, 56 % des échantillons de sol contenaient du glyphosate avant la nouvelle application de HBG, suggérant une désorption partielle du glyphosate non extractibles par les pratiques de fertilisation et les précipitations. Des teneurs significatives d'AMPA extractibles à l'eau ont été mesurées dans les échantillons de sol (jusqu'à 2,03 mg kg⁻¹ de sol) au cours de la même période, dont une partie pourrait provenir des détergents phosphonates présents dans les boues d'épuration qui ont été appliquées dans le champ. La nature de la fraction extractible à l'eau du glyphosate et de l'AMPA suggère un risque de lixiviation par le biais des mouvements d'eau des sols agricoles vers les cours d'eau voisins. La persistance de ces composés augmenterait le risque de lessivage longtemps après l'application de HBG.

Mots clés : herbicide, monitoring, désorption, pratiques agricoles, persistance dans le sol, risque de mobilité

1.1 Introduction

Le glyphosate est un composé herbicide actif à large spectre et non sélectif, largement utilisé dans les grandes cultures industrielles, devenue la classe d'herbicide la plus utilisée dans le monde pour la lutte contre les mauvaises herbes depuis le développement de semences résistantes au glyphosate (GR) résistantes au glyphosate (Duke et Powles, 2008). Le Québec (Canada) ne fait pas exception au reste de l'industrie agricole, avec une très large adoption en particulier pour le soja et le maïs en rotation sur les mêmes surfaces agricoles. Une légère diminution a été observée depuis 2015 au niveau des volume de ventes agricoles totales du glyphosate (MDDELCC, 2020), mais également pour d'autres catégories d'herbicides largement utilisées telles que les triazines (baisse marquée de 58,7% entre 2017 et 2018) ou les chloroacétanilides, associée à une diminution générale des ventes d'herbicide. Malgré les tendances observées sur les ventes, le rapport du MDDELCC conclut que cette tendance à la baisse n'a pour le moment pas été vraiment signalée sur le terrain, montrant une utilisation toujours très importante du glyphosate par les agriculteurs de grandes cultures. Bien que les HBG soient principalement appliqués sur les feuilles des plantes cultivées au stade post-levée, des quantités importantes de cet herbicide rejoignent les horizons supérieurs du sol après chaque application (Lupi *et al.*, 2015).

Appartenant au groupe des organophosphorés, le glyphosate peut être dégradé dans les sols par l'activité microbienne, en tant que sarcosine ou en tant qu'acide aminométhylphosphonique (AMPA) (Hove-Jensen *et al.*, 2014). Parmi les deux produits de dégradation, l'AMPA est le produit dominant dans l'environnement agricole (Sviridov *et al.*, 2015 ; Li *et al.*, 2016). Un temps de demi-vie (DT50) pour le glyphosate variant de 1 à 197,3 jours a été rapporté dans des sols agricoles de différents

types et différentes conditions climatiques (Giesy *et al.*, 2000). Cheah *et al.*, (1998) ont quant à eux observé un DT50 de 19,2 jours dans un sol sablo-limoneux et à l'opposé 309,7 jours dans de la terre noire. Bergström *et al.*, (2011) ont rapporté un DT50 allant entre 110 et 151 jours dans un sol argileux du Nord de l'Europe. Par contre, l'AMPA apparaît plus persistant avec un temps de demi-vie pouvant aller jusqu'à 240 jours et principalement dans les sols argileux (Giesy *et al.*, 2000). La persistance du glyphosate et de l'AMPA dans les sols est en partie due à leur grande capacité d'adsorption sur les oxydes et l'argile (Gimsing et Borgaard, 2008; Ololade *et al.*, 2014; Maqueda *et al.*, 2017). La DT50 mesurée dans les loams sableux variait de 9 à 19 jours pour le glyphosate (Simonsen *et al.*, 2008; Rajab *et al.*, 2010; Bergström *et al.*, 2011) et de 32 à 60 jours pour l'AMPA (Simonsen *et al.*, 2008; Bergström *et al.*, 2011). Le glyphosate et l'AMPA ont été fréquemment détectés dans les eaux de surface d'étangs et de ruisseaux agricoles aux États-Unis (Battaglin *et al.*, 2014) et au Québec (Giroux *et al.*, 2015 ; Giroux *et al.*, 2018). La portion de glyphosate et d'AMPA extractibles à l'eau est potentiellement transportée par ruissellement et lessivage (Rajab *et al.*, 2010), représentant ainsi un risque de toxicité pour les organismes aquatiques non ciblés (DeLorenzo *et al.*, 2001; Tsui et Chu, 2003; Smedbol *et al.*, 2017; 2018). Le glyphosate et l'AMPA extractibles à l'eau dans les sols sont influencés par les processus de dégradation progressive, d'adsorption et de désorption des composés et par la formation de composés résiduels non extractibles (Rajab *et al.*, 2010). Certains facteurs peuvent modifier la durée de vie et le risque de mobilité, tels que les caractéristiques du sol (Cheah *et al.*, 1997; Kjær *et al.*, 2011) et les conditions rédox (Druart *et al.*, 2011) influencés par les conditions pédoclimatiques et les pratiques agricoles (Rampoldi *et al.*, 2014). En conditions de champ, les pratiques agricoles telles que la fertilisation avec des phosphates peuvent être un facteur augmentant la mobilité du glyphosate et de l'AMPA dans les sols. Cela est dû à la capacité du groupement phosphonate du

glyphosate et de l'AMPA à se fixer dans les sols, et rentrant en compétition avec les mêmes sites de fixation que les phosphates (Sprankle *et al.*, 1975). En laboratoire, il a déjà été démontré que les applications de phosphore peuvent remobiliser le glyphosate par effet de compétition pour les mêmes sites d'adsorption (Laitinen *et al.*, 2009; Gomes *et al.*, 2015). Certaines pratiques de fertilisation associées à de fortes pluies pourraient augmenter le lessivage de ces composés dans l'environnement.

L'objectif de la présente étude est d'évaluer le potentiel de mobilité du glyphosate et de l'AMPA dans un sol cultivé en rotation maïs-soja. Cela a été réalisé directement dans un champ ouvert de grandes cultures pendant trois années consécutives, avec une application par année et à une dose couramment utilisée par les producteurs locaux. L'impact de la fertilisation phosphatée sur la mobilité du glyphosate et de l'AMPA dans les sols, incluant l'épandage de boues d'épuration chargées en phosphonates, a été aussi estimée.

1.2 Matériel et méthodes

1.2.1 Site d'étude et caractéristiques du sol

Le site d'étude se situe à Saint-Roch-de-l'Achigan, au Québec (45°50'48''N, 73°36'17''O). La superficie totale du champ dans lequel s'est portée cette étude est de 9 hectares et les détails du site d'échantillonnage ont été donnés par Hénault-Ethier *et al.*, (2017). C'est un sol minéral de type podzol humique orthique (ACC, 2002), de la série Achigan (IRDA, 2009). Ce sol sableux loameux très fin de type acide et non calcaire repose au sommet d'un lit d'argile imparfaitement drainé (Tableau 1.2), avec la présence de la nappe phréatique à moins de deux mètres de profondeur aussi bien durant les périodes de dormance et de croissance des cultures. Il demeure saturé d'eau

durant certaines périodes ce qui en fait un sol exposé au lessivage, condition courante de la région agricole des basses terres du Saint-Laurent.

Tableau 1.2 Caractéristiques chimiques des sols

Matière Organique (%)	2,1–4,4
pH _{eau}	6,48–6,83
pH _{tampon}	7,0–7,2
CEC (meq 100g sol)	15,6–16,5
Sable (%) ^a	61
Limon (%) ^a	36
Argile (%) ^a	3
P saturation (P/Al) (mg kg ⁻¹)	5,46–7,60
K Mehlich (kg ha ⁻¹)	90–147
Ca Mehlich (kg ha ⁻¹)	1019–1849
Mg Mehlich (kg ha ⁻¹)	123–292
Mn Mehlich (ppm)	22,3–57,3
Cu Mehlich (ppm)	0,75–1,81
Al Mehlich (ppm)	342–444

Les sols échantillonnés proviennent du site d'étude et ont été collectés en 2013-05-02 par AgroEnviroLab, LaPocatière, Québec, laboratoire d'agronomie accrédité par CEAEQ et ISO-CEI 17025

^a sable <2mm; limon <63µm, argile <2 µ

Avant notre étude, des carottes étaient cultivées dans ce champ expérimental jusqu'en 2007. Ensuite, du soya non génétiquement résistant au glyphosate (GR) a été cultivé en 2008 et du maïs non GR en 2009 et 2010. Lors de la présente étude en 2011, du soja GR a été cultivé pour la première fois sans fertilisation, suivi de deux années de culture

de maïs GR avec fertilisation par des boues d'épuration stabilisées en 2012 et fertilisation par du lisier de porc en 2013, conformément aux recommandations agronomiques (Tableau 1.3). Une fois par an, le HBG était pulvérisé après le stade de croissance V3 des plantes, avec une rampe conventionnelle aux taux de 0,72 ; 0,89 et 0,81 kg d'ingrédient actif (i.a.) ha⁻¹ (2011, 2012 et 2013 respectivement) comme prescrits par le manufacturier (Tableau 1.3). La période de culture s'étend de mai à octobre, suivie d'un hiver froid ralentissant les activités biologiques du sol. Neuf échantillons de sol de surface provenant du même champ dans l'horizon de sol travaillé ont été recueillis à l'aide d'un carottier manuel sur une profondeur de 20 cm et à 25 mètres les uns des autres pour un total de 83 échantillons dans 10 campagnes d'échantillonnage. Les sols prélevés les uns après les autres ont été recueillis dans un rayon de deux mètres du point de prélèvement de l'année précédente, en mesurant avec un ruban à mesurer à partir du bord du champ. Neuf répliqués d'échantillon ont été récoltés dans le champ par campagne. Les échantillons ont été séparés en deux, avec une partie conservée au congélateur à -20°C dans l'attente des analyses de glyphosate et d'AMPA, et une autre partie mise à l'étuve à 60 % afin de déterminer la teneur en eau. Le sol a été pesé avant puis après le séchage total pour déterminer le pourcentage en eau des échantillons.

Tableau 1.3. Étapes de gestion des cultures et dates d'échantillonnage des sols

Année 2011	Taux d'application	Date
Semis du soya		4 Juin
Application du HBG ^a	0,72 kg ha ⁻¹	4 Juillet
Échantillonnage #1		12 Juillet
Échantillonnage #2		26 Juillet
Échantillonnage #3		09 Août
Année 2012		
Échantillonnage #4		11 Mai
Application de boues stabilisées ^b et fertilisation (33.5–0–16.3)	15000 kg ha ⁻¹ et 210 kg ha ⁻¹ respectivement	14 Mai
Semis du maïs et fertilisation (N:P:K 7.9–21.5–10)	278 kg ha ⁻¹	17 Mai
Échantillonnage #5		28 Mai
Application du HBG ^c	0,89 kg ha ⁻¹	11 Juin
Échantillonnage #6		13 Juin
2 nd fertilisation (N:P:K 46–0–0)	88 kg ha ⁻¹	20 Juin
Échantillonnage #7		26 Juin
Échantillonnage #8		19 Juillet
Année 2013		
Application de lisier de porc ^d	45 m ³ ha ⁻¹	07 Mai
Semis du maïs et fertilisation (N:P:K 23–14–0)	143 L ha ⁻¹	10 Mai
Échantillonnage #9		21 Mai
Application du HBG ^e	0,81 kg ha ⁻¹	14 Juin
Échantillonnage # 10		26 Juin

^a Gardien® (Classic®–chlorimuron-ethyl 36 g + Polaris® sel d'isopropylamine de glyphosate à 360 g l⁻¹) 2,5L dilué et appliqué à 150 L ha⁻¹);

^b 8280–9140 mg P kg⁻¹ dw, 12000–18000 mg Al kg⁻¹ dw;

^c Galaxie II® (Polaris® sel d'isopropylamine de glyphosate à 360 g l⁻¹ + Ultime® 37,5% de rimsulfuron et 37,5% de nicosulfuron (2,47 L dans 150 L ha⁻¹)),

^d ≥ 13 mg L⁻¹ PO₄ dw,

^e Galaxie II® (Ultime® 37,5% de rimsulfuron and 37,5% de nicosulfuron + Polaris® sel d'isopropylamine de glyphosate à 360 g l⁻¹ (2,25 L dans 150 L ha⁻¹))

1.2.2 Extraction du glyphosate et de l'AMPA

Des fractions extractibles à l'eau de glyphosate et d'AMPA dans des échantillons de sol ont été recueillies selon la procédure analytique de Bergström *et al.* (2011). Après avoir prélevé les carottes de sol jusqu'à 20 cm de profondeur, tous les échantillons ont été stockés dans un congélateur (-20 °C) jusqu'à l'analyse. Avant l'analyse, les échantillons ont été tamisés à 2 mm et les fragments de plantes visibles ont été retirés. Dix grammes de sol humide ont été agités dans des tubes Falcon de 50 ml avec 40 ml d'eau Milli-Q pendant 30 minutes à 200 tours par minute, traités aux ultrasons pendant dix minutes et centrifugés pendant 20 minutes à 3400 tours par minute. Ensuite, 40 µl du surnageant limpide ont été filtrés sur des filtres à disque Nylaflo™ à membrane de nylon de 0,22 µm et transférés dans des flacons d'injection en verre de deux millilitres, puis évaporés à sec sous un courant de N₂. La dérivation a été réalisée en ajoutant 500 µl d'acétate d'éthyle (TFE) (Sigma-Aldrich Canada, Oakville) (qualité HPLC de Fisher Scientific, États-Unis d'Amérique) et un millilitre d'acide d'éthyle trifluoroacétique (TFAA) anhydre (Sigma-Aldrich Canada, Oakville), puis en chauffant à 100 °C pendant une heure. Après refroidissement à température ambiante, les échantillons ont été évaporés à sec sous un courant d'azote et dissous dans 200 µl de pyridine et 800 µl d'acétate d'éthyle Sigma-Aldrich Canada, Oakville, USA) avant l'analyse. Un µl de 1-bromopentadécane (Sigma-Aldrich Canada, Oakville, USA) pureté 97 %) a été ajouté avant l'injection afin d'évaluer la reproductibilité de l'injection. Deux µl de l'échantillon extrait ont été injectés en mode *split*.

1.2.3 Dosage du glyphosate et de l'AMPA

Les analyses du glyphosate et de l'AMPA ont été effectuées sur un chromatographe en phase gazeuse Varian CP-3800 (instruments Varian Analytical, Walnut Creek, Californie, États-Unis) équipé d'une cellule de détection à capture d'électrons avec

modèle à feuille 63Ni 02-001972-01 et d'un auto-échantillonneur CP-8400. Le système a utilisé une colonne capillaire Restek RXI-5SIL MS (30 mx 0,25 mm ID, 0,25 μm). Les paramètres de fonctionnement fixés par la méthode correspondaient à : un débit constant d'hydrogène de haute pureté fixé à 1,4 ml min^{-1} , une durée d'analyse de 30,17 min, une température d'injection de 250 $^{\circ}\text{C}$ et une température du détecteur de 300 $^{\circ}\text{C}$. Le programme de température de four se basait sur une température initiale de 60 $^{\circ}\text{C}$ pendant 0,50 min suivi d'une montée en température de 6 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ jusqu'à atteindre la température cible de 170 $^{\circ}\text{C}$ puis d'une montée de température de 60 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ jusqu'à atteindre 250 $^{\circ}\text{C}$, cette température étant ensuite maintenue pendant dix minutes.

La quantification était basée sur la comparaison des pics de chaque composé avec un étalon pur référentiel de glyphosate et d'AMPA. Pour ce faire dix grammes de sol humide ont été enrichis avec un millilitre d'une solution de N-(phosphonométhyl) glycine, glyphosate (Sigma-Aldrich Canada, Oakville; pureté > 98 %) et d'acide (aminométhyl)phosphonique, AMPA (Sigma-Aldrich Canada, Oakville, pureté > 99 %). La solution mère était de 50 et 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$, respectivement. Après avoir maintenu le sol en contact avec la solution pendant 24 h, l'échantillon enrichi a été extrait comme indiqué précédemment. Deux échantillons de références pour l'identification et la quantification du glyphosate (0,025 et 0,05 $\mu\text{g ml}^{-1}$) et de l'AMPA (0,05 et 0,1 $\mu\text{g ml}^{-1}$) dans des échantillons de sol ont été utilisées pour chaque série de sols. La solution standard a été préparée à partir de la poudre du composé pur et diluée dans de l'eau nanopure pour obtenir une concentration de 0,25 $\mu\text{g ml}^{-1}$ pour le glyphosate et de 0,5 $\mu\text{g ml}^{-1}$ pour l'AMPA. Cette solution a été stockée à 4 $^{\circ}\text{C}$. Les standards ont été évaporés sous un courant d'azote et dérivatisés comme décrit ci-dessus dans les fioles à injection. Lors de la séquence d'analyse, les standards ont été systématiquement injectés après cinq échantillons afin d'assurer la reproductibilité de

l'analyse. Un blanc a été placé entre chaque échantillon pour vérifier qu'aucune contamination ne s'était produite entre les échantillons. Toutes les aires ont été corrigées à l'aide du 1-bromopentadécane ajouté juste avant injection, pour chaque séquence d'injection. Pour la quantification, les aires de réponse du glyphosate et d'AMPA dans le chromatogramme ont été calculées par rapport à celles des standards de référence. La teneur en eau de chaque échantillon a été considéré dans le calcul afin d'obtenir les données en poids sec. Les aires obtenues pour le glyphosate et l'AMPA dans les sols échantillonnés se situent dans la zone de linéarité (0 à 50 µg l) déterminée à l'aide des droites d'étalonnage. Des échantillons d'un sol témoin, situé à proximité du champ à l'étude et n'ayant jamais reçu d'HBG, ont été fortifiés avec de la solution standard de glyphosate et de l'AMPA pour servir de contrôle qualité pour ces séquences d'injection. Une analyse préalable de ces échantillons de sol a été effectuée pour vérifier qu'ils ne contenaient pas de glyphosate et d'AMPA.

La limite de détection (LD) obtenue dans le sol était de 0,04 mg kg⁻¹ dw (poids sec) pour le glyphosate et de 0,03 mg kg⁻¹ dw pour l'AMPA. La limite de quantification (LQ) dans cette matrice de sol avec la méthode d'extraction à l'eau était de 0,138 mg kg⁻¹ dw pour le glyphosate et de 0,09 mg kg⁻¹ dw pour l'AMPA.

1.2.4 Traitement des données et analyses statistiques

Les données pluviométriques quotidiennes proviennent de la station météorologique de l'Assomption, la plus proche du site à l'étude (13,8 km). Les données ont été compilées à partir du site d'Environnement Canada pour toute la période d'étude. La teneur théorique en glyphosate qui a atteint le sol après l'application de l'herbicide a été calculée pour déterminer le pourcentage de glyphosate disponible après l'application (% de glyphosate extractible). La formule suivante a été utilisée :

*(taux d'application *aire échantillonnée)/poids de sol échantillonné*

en tenant compte du taux d'application de 0,72 kg ha⁻¹ de glyphosate effectué en 2011, une densité sèche du sol de 1,3 g m⁻³ (Dam *et al.*, 2005; Grasser *et al.*, 2012) et une profondeur de pénétration des HBG de 20 cm. La même méthode de calcul a été appliquée en 2012 et 2013. Lorsque le glyphosate et l'AMPA n'ont pas été détectés dans les échantillons, la valeur 0,01 mg kg⁻¹ a été utilisée dans tous les calculs et tests statistiques.

Lorsque le glyphosate et l'AMPA extractibles à l'eau ne suivaient pas une distribution normale, le test ANOVA non paramétrique à un facteur a été utilisé pour comparer différentes campagnes entre elles pour la même année. Les échantillons étant indépendants avec plus de deux groupes, le test de Kruskal-Wallis basé sur les rangs a été utilisé pour déterminer s'il existait une différence dans les teneurs concentration entre les campagnes. Lorsque les groupes étaient différents, ils ont été comparés paire par paire en utilisant la méthode non paramétrique de Wilcoxon pour identifier les différences, avec un seuil significatif fixé à 0,05. Tous les tests ont été réalisés avec le logiciel JMP Pro 14 de SAS Institute (Cary, NC, USA).

1.3 Résultats

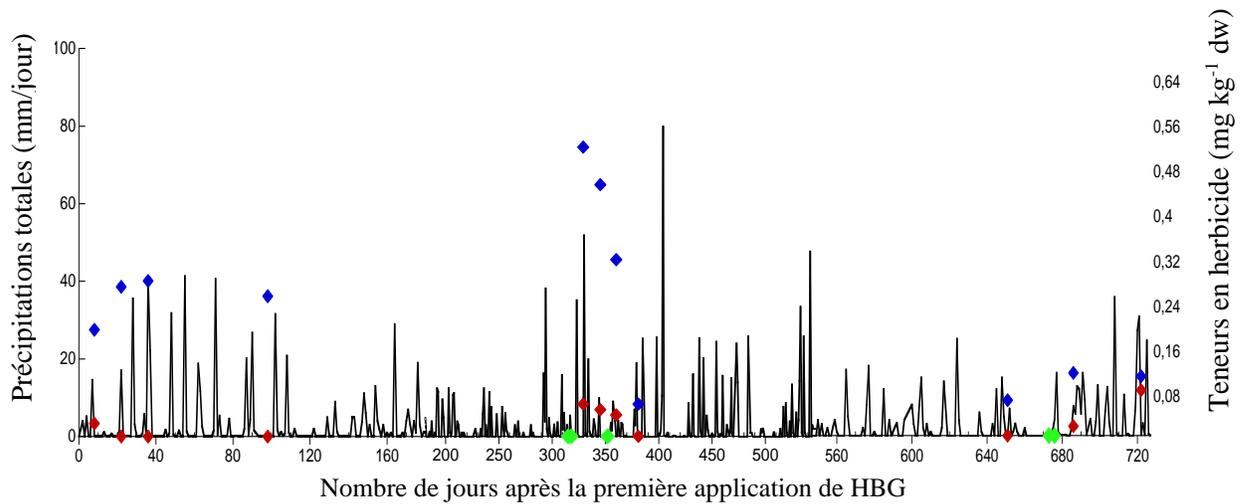
1.3.1 Variabilité des pratiques et des précipitations

En 2011, la date de semis du soya a été effectuée début juin soit un mois plus tôt que pour le maïs en 2012 et 2013. Les applications de HBG ont quant à elles été appliquées pour les deux types de culture un mois après le semis, soit début juillet pour le soya en 2011, et juin pour le maïs en 2012 et 2013. Les pratiques de fertilisation ont elles aussi différé entre les deux types de culture. Le sol agricole a été fertilisé à plusieurs reprises

au cours de la période culturale de 2012 et 2013, contrairement à celle de 2011 durant laquelle seul de l'herbicide à base de glyphosate a été appliqué (Figure 1.1). En 2012, au total deux fertilisations ont été effectuées. Des boues d'épuration stabilisées avec une haute teneur en phosphore et aluminium (Tableau 1.3) ont été appliquées quatre semaines avant l'herbicide à base de glyphosate, en combinaison avec une fertilisation d'azote et de potassium à l'aide d'un engrais de synthèse. Une seconde fertilisation à l'azote avec engrais de synthèse a eu lieu une semaine après l'application de HBG. En 2013, du lisier de porc a été épandu cinq semaines avant l'application de HBG, suivi d'une fertilisation d'azote et de phosphore à l'aide d'engrais de synthèse la même semaine au moment du semis. La composition du lisier de porc montre des teneurs en phosphore moins élevées que les boues d'épuration, ce qui a nécessité un apport complémentaire de phosphore afin d'atteindre les besoins du maïs.

Aucun épisode pluvieux n'a été enregistré lors des applications de HBG ou des diverses fertilisations. Les campagnes d'échantillonnage ont au contraire été choisies pour coïncider avec de forts épisodes pluvieux la journée même et les jours précédents (Figure 1.1). En 2011, une succession d'épisodes pluvieux a été enregistrée au cours des cinq semaines suivant l'application de l'herbicide, en particulier les jours d'échantillonnage avec 17 et 40 mm d'eau par jour, trois semaines puis cinq semaines après l'application. En 2012, 37 mm d'eau sont tombés sept jours après l'application des boues. Cela a été suivi de plusieurs autres épisodes de fortes pluies avant la deuxième application de HBG. Les campagnes post application de 2012 ont également été précédées d'important épisodes pluvieux allant de 10 à 30 mm les 3 ou 4 jours précédents. Enfin en 2013, les précipitations ont été moins importantes que les autres années entre la fertilisation et la dernière application de HBG, mais plus élevées après

la troisième application de HBG avec 69 mm mesurés les 5 jours précédents la dernière campagne d'échantillonnage de cette étude.



Les jours sont exprimés en jours juliens et la première application de HBG de l'étude le 4 juillet 2011, correspond au jour 0

◆ représente les teneurs moyennes en Glyphosate pour chaque campagne d'échantillonnage

◆ représente les teneurs moyennes en AMPA pour chaque campagne d'échantillonnage

Les déviations standard ne sont pas incluses dans cette figure pour la visibilité du graphique, mais sont présentés dans le tableau 3.

◆ représente les période de fertilisation (les détails pour les fertilisations donnés dans le tableau 2)

Figure 1.1. Précipitations journalières moyennes exprimées en mm dans le bassin de l'Assomption pendant toute la période d'échantillonnage.

1.3.2 Occurrence du glyphosate et de l'AMPA dans les sols

Tableau 1.4. Fréquence de détection du glyphosate et de l'AMPA

Année	Semaines après application ^a	Échantillonnage	n	Glyphosate %	AMPA %	
2011						
	1	9	#1	9	44	67
	2	6	#2	6	0	100
	5	9	#3	9	0	100
2012						
	-4	9	#4	9	0	100
	-1	8	#5	8	75	91
	0	8	#6	8	75	75
	2	9	#7	9	55	75
	5	9	#8	9	0	55
2013						
	-3	9	#9	9	22	76
	2	7	#10	7	57	86

^a Le nombre de semaines après application de HBG a été déterminé, avec des valeurs négatives pour les campagnes avant application et des valeurs positives après application.

En 2011, 44 % des échantillons contenaient du glyphosate extractible à l'eau la première semaine après l'application de HBG mais n'étaient plus détectables à partir de la troisième semaine (n = 6) (Tableau 1.4). En 2012, le glyphosate était toujours détectable dans 75 % (n = 8) et 55 % (n = 9) des échantillons respectivement immédiatement et deux semaines après l'application de HBG (Tableau 1.4). Ce composé n'était plus détectable à partir de la cinquième semaine de culture (n = 9). En 2013, deux semaines après l'application du HBG, 57 % des échantillons de sol contenaient du glyphosate (n = 7) (Tableau 1.4).

L'AMPA a été détecté plus fréquemment que le glyphosate, dans 71 échantillons au total (n = 86) (Tableau 1.4). Après l'application de HBG en 2011, l'AMPA a été détecté

dans 67 % des échantillons de sol (n = 9) une semaine après l'application de HBG, et dans tous les échantillons trois semaines après l'application de HBG (n = 6) (Tableau 1.4), avec une augmentation significative de 3,5 fois entre ces deux périodes. En 2012, l'AMPA a été mesuré dans 75 % des échantillons la semaine suivant la deuxième application de HBG (n = 8), puis dans 78 % (n = 9) et 56 % (n = 9) deux et cinq semaines respectivement (Tableau 1.4). En 2013, deux semaines après l'application du HBG, 86 % des échantillons contenaient de l'AMPA extractible à l'eau (n = 7).

1.3.3 Teneurs en glyphosate et AMPA

Tableau 1.5. Teneurs en glyphosate et AMPA extractibles à l'eau

Année	Semaines après application ^a	n	camp agne	Glyphosate			AMPA	
				mg kg ⁻¹	%	Maxi mum	mg kg ⁻¹	Maxi mum
2011								
	1	9	#1	0,03±0,03*	8,43	0,07	0,08±0,07	0,86
	2	6	#2	Nd	-	0,01	0,28±0,13	0,48
	5	9	#3	Nd	-	0,01	0,29±0,19	0,58
2012								
	-4	9	#4	Nd	-	0,01	0,26±0,11	0,41
	-1	8	#5	0,07±0,09	19,68	0,29	0,55±0,59	2,03
	0	8	#6	0,06±0,05	16,87	0,17	0,48±0,57	1,42
	2	9	#7	0,05±0,04	14,05	0,1	0,34±0,46	1,28
	5	9	#8	Nd	-	0,01	0,07±0,10	0,31
2013								
	-3	9	#9	0,03±0,02*	8,43	0,05	0,12±0,09	0,23
	2	7	#10	0,09±0,07	25,3	0,19	0,12±0,06	0,19

^a Le nombre de semaines après application a été déterminé selon l'application annuelle de HBG, avec des valeurs négatives pour les campagnes avant application et des valeurs positives après application

Le glyphosate extractible à l'eau a été mesuré dans un intervalle de teneurs allant de 0,13 à 0,29 mg kg⁻¹ dw dans 25 échantillons après l'application de HBG pour les trois années de l'étude (Tableau 1.5). Pour L'AMPA, l'intervalle mesuré était compris entre 0,09 et 2,03 mg kg⁻¹ de poids sec (Tableau 1.5), soit à une teneur maximale sept fois plus élevée que le glyphosate dans les sols.

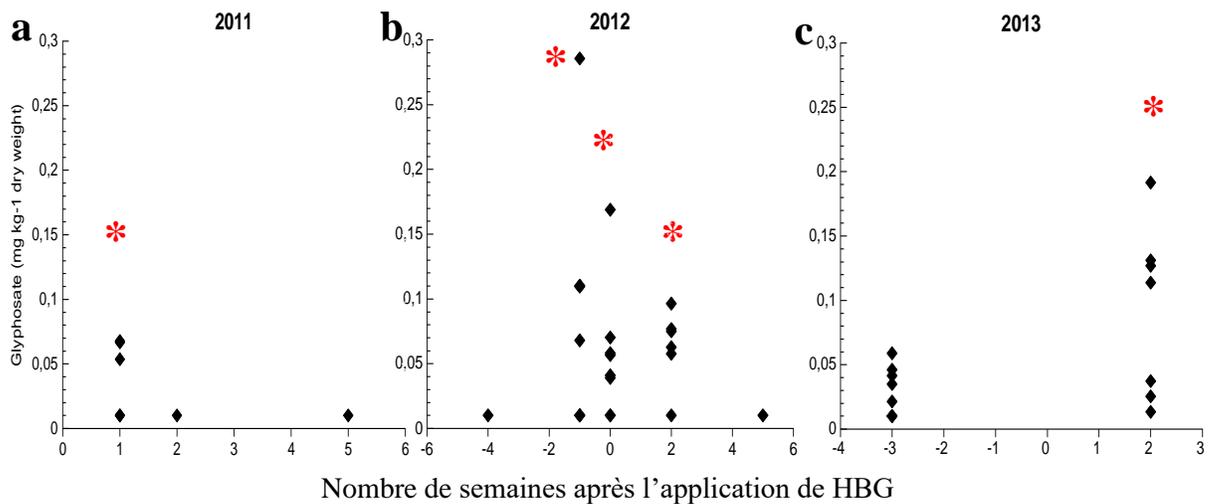


Figure 1.2 Teneurs en glyphosate extractible à l'eau dans le sol des grandes cultures au cours de la période d'échantillonnage de trois ans (a. 2011, b. 2012 et c. 2013). L'application annuelle de HBG est représentée par le chiffre "0" sur l'axe des temps chaque année. La différence entre les campagnes a été déterminée à l'aide des tests statistiques de Kruskal-Wallis: une comparaison a été faite entre les campagnes pour chaque année. Les campagnes significativement différentes ont été identifiées de la manière suivante : * quand significativement différent de la campagne 0 ou ** lorsque significativement différent de la campagne 0 et des campagnes identifiées avec le marqueur *.

Les résultats de cette étude ont révélé une augmentation significative de la proportion de glyphosate extractible à l'eau présente dans les sols au cours de chaque année juste après l'application. En 2011, des teneurs moyennes proches de la limite de détection ont été observées la semaine suivant l'application de HBG, puis en dessous de la limite

de détection pour la troisième semaine et la cinquième semaine (Figure 1.2.a). En ce qui concerne l'AMPA, les teneurs mesurées la troisième semaine et la cinquième semaine sont significativement plus élevées que celles mesurées la première après application (Figure 1.3.a). En 2012, les teneurs maximales de l'étude du glyphosate ($0,29 \text{ mg kg}^{-1}$) et de l'AMPA ($2,03 \text{ mg kg}^{-1}$) ont été mesurées dans les extraits à l'eau des sols lors de la même campagne d'échantillonnage, soit une semaine avant l'application de HBG (Figure 1.2.b et Figure 1.3.b). Cette campagne correspond aux échantillons collectés deux semaines après l'application des boues d'épuration et une semaine après le semis accompagné d'une seconde fertilisation au phosphore (Tableau 1.3). Dans les extraits de sol collectés avant l'application des boues, soit quatre semaines avant l'application de HBG, le glyphosate n'était pas détectable et l'AMPA était présent dans des concentrations semblables à celles de l'année précédente. Par la suite, les teneurs d'AMPA mesurées lors de l'application de HBG, ainsi que les deux semaines suivantes, sont significativement plus élevées que celles la cinquième semaine après application, signe d'une réduction d'un facteur cinq de la quantité d'AMPA disponible entre deux et cinq semaines après application de HBG (Figure 1.3.b).

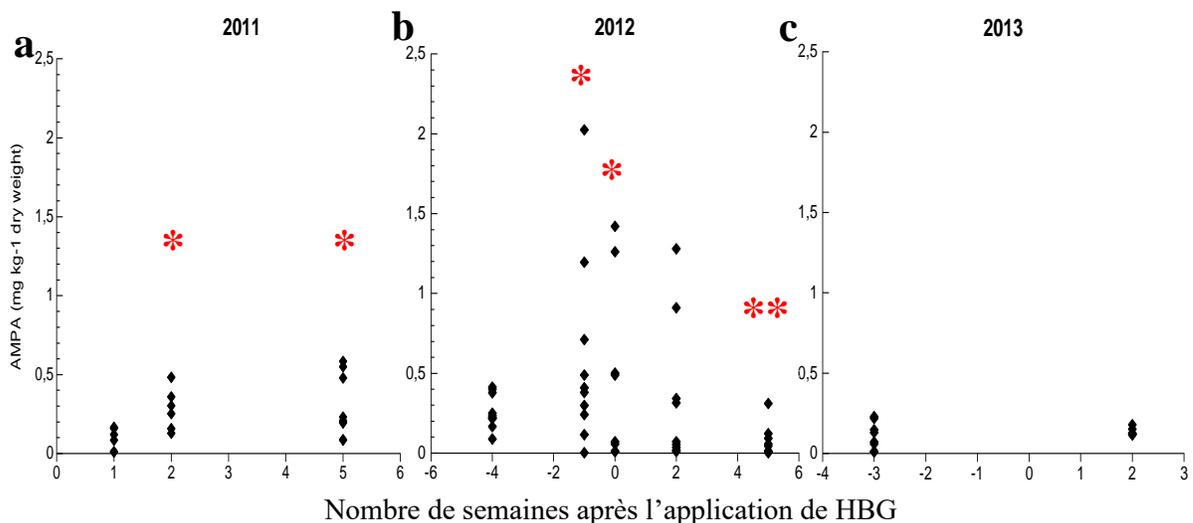


Figure 1.3. Les teneurs en AMPA extractible à l'eau dans le sol des grandes cultures au cours de la période d'échantillonnage de trois ans (a. 2011, b. 2012 et c. 2013). L'application annuelle HBG est représentée par le chiffre "0" sur l'axe des temps chaque année. La différence entre les campagnes a été déterminée à l'aide des tests statistiques de Kruskal-Wallis: une comparaison a été faite entre les campagnes par année. Les campagnes significativement différentes ont été identifiées de la manière suivante : * quand significativement différent de la campagne 0 ou ** lorsque significativement différent de la campagne 0 et des campagnes identifiées avec le marqueur *..

En 2013, les teneurs en glyphosate ont été détectées proche de la LD dans seulement deux échantillons après l'application de lisier de porc, soit trois semaines avant la troisième application de HBG ($n = 9$) (Figure 1.2.c). Comme pour les deux années précédentes, l'application de HBG de 2013 a augmenté la proportion de glyphosate extractible à l'eau, avec des teneurs significativement plus élevées deux semaines après application de HBG comparé aux teneurs mesurées trois semaines avant l'application (Figure 1.2.b). Pour l'AMPA aucune différence significative n'a été observée entre les teneurs avant et après l'application de lisier de porc et la dernière application de HBG

en 2013 (Figure 1.3.c), montrant qu'il n'y a pas eu d'apport d'AMPA par le fertilisant organique. Aucune augmentation significative de la teneur moyenne en AMPA dans les sols n'a pu être mise en évidence au cours des trois années de l'étude en comparant la deuxième semaine après l'application de HBG année par année (Tableau 1.3).

Enfin lorsque l'on s'intéresse à la proportion de glyphosate retrouvé sous forme extractible à l'eau après application, les résultats du calcul montre que 8,43% du glyphosate appliqué était extractible à l'eau après l'application de la dose recommandée de 0,72 kg ha⁻¹ en 2011 (Tableau 1.4). Sur la base du même calcul, mais avec la dose correspondant à l'application de l'année, 19,68 % de glyphosate était extractible dans l'eau en 2012 et 25,3 % en 2013 (Tableau 1.4).

1.4 Discussion

1.4.1 Rétention temporaire du glyphosate et dégradation ultérieure

Nos résultats montrent une rétention temporaire du glyphosate facilement extractible à l'eau dans les sols agricoles jusqu'à plusieurs semaines après application de HBG. Les teneurs mesurées pouvant aller jusqu'à 0,19 mg kg⁻¹ dans les campagnes d'échantillonnage post application montrent qu'une part non négligeable de ce composé qui se retrouve dans les sols (Tableau 1.4). En 2011, 44 % des échantillons contenaient du glyphosate la semaine après l'application de HBG, malgré que la couverture du sol fournie par les mauvaises herbes et les plantes cultivées au stade de trois feuilles, limitant les dépôts directs de l'herbicide sur le sol. La partie absorbée par les plantes rendent le composé herbicide peu disponible sur le long terme par emprisonnement dans le matériel végétal (Maqueda *et al.*, 2017 ; Okada *et al.*, 2017). Mais d'après Bariuan *et al.* (1999) seulement 3 à 38 % du glyphosate appliqué est

déposé sur les plantes, le reste se retrouvant directement sur le sol. D'autres études ont montré aussi qu'une grande partie de l'herbicide pouvait se retrouver dans les sols de surface (Haney *et al.*, 2002; Syan *et al.*, 2014; Okada *et al.*, 2016). Une partie de ce qui a été déposé sur les plantes a pu aussi rejoindre le sol par ruissellement lors de l'épisodes pluvieux survenus entre l'application et l'échantillonnage, avec un total de 15 mm de pluie tombée la veille de l'échantillonnage. Corrêa *et al.*, (2000) appuie ces observations car il a mesuré un taux d'absorption de seulement 30 à 50 % de ce qui a été appliqué par les plantes exposées. Ainsi cela met en avant l'exposition pour les organismes non cible en surface est généralement sous-estimé du fait que l'on prend les teneurs moyennes sur l'ensemble de la couche de sol travaillée, alors que l'herbicide apparaît plus concentré à certains endroits selon les caractéristiques du sol et le chemin préférentiel de ruissellement et d'infiltration (Haney *et al.*, 2002; Okada *et al.*, 2016). Ainsi les teneurs mesurées dans les sols représentent la quantité extractible à l'eau du composé sur une profondeur de 20 cm, mais peut sous-estimer les quantités accumulées en surface du sol. La proportion de glyphosate extractible à l'eau retrouvée en 2012 et 2013 a été encore plus importante après la seconde et la troisième application, probablement en lien direct avec l'augmentation des doses appliquées en 2011, sans toutefois dépasser l'intervalle de 0,50 à 0,90 kg i.a ha⁻¹ utilisé en Amérique du Nord (Benbrook, 2012). Yang *et al.* (2015) ont démontré que le glyphosate mobile dans les sols représentait 14 % du glyphosate initialement appliqué et le risque de transport du glyphosate pouvait être augmenté avec une importante érosion des sols, incluant aussi la phase adsorbée sur des particules. Leur étude confirme nos résultats avec une détection du glyphosate dans les eaux de ruissellement de la première campagne après application de GBH.

La diminution des teneurs en glyphosate dès la troisième semaine après application, associée à la présence d'AMPA dans la majorité des échantillons de sol, montre qu'une part du glyphosate a pu se dégrader rapidement dans les sols agricoles. L'AMPA a été mesuré dans 67 % des échantillons dès la première semaine après application, révélateur d'une dégradation rapide du glyphosate présent dans la phase extractible à l'eau. L'AMPA est un bon indicateur de la dégradation du glyphosate grâce à sa persistance plus importante que l'autre composé de dégradation, la sarcosine, qui très rarement détecté dans les sols à cause de sa dégradation rapide (Hove-Jensen *et al.*, 2014). Ces observations sont appuyées l'étude de Rajab *et al.* (2010) qui ont mesuré une apparition rapide de l'AMPA suite à la dégradation du glyphosate. Ils ont pu suivre l'évolution en mesurant le ¹⁴C-glyphosate et de l'AMPA après application. Ainsi dès le troisième jour après application 12,7 % d'AMPA ont été mesuré par rapport à la dose d'herbicide appliqué, puis 58,9 % à 22 jours et 91,1 % à 80 jours. Cheah *et al.* (1998) ont mesuré 50 % d'AMPA après 45 jours. Dans notre étude, la DT50 n'a pas pu être calculée car l'expérience s'est déroulée en plein champ sans traceur isotopique. De plus seule une extraction forte aurait pu servir à estimer la DT50, en mesurant tous les résidus dans le sol, même ceux fortement adsorbés. Malgré cela, les résultats des autres études renforcent l'hypothèse qu'une part de l'AMPA extractible à l'eau a pu venir directement de la dégradation du glyphosate. Cette observation est aussi en accord avec l'étude de Napoli *et al.* (2015), qui ont détecté pour la première fois de l'AMPA 6,8 jours après le premier traitement annuel de GBH dans les lixiviats.

La présence de glyphosate extractible à l'eau dans les échantillons de la campagne pré-application de HBG en 2012 ont mis en lumière une rétention du glyphosate dans les sols sous une forme plus fortement adsorbée. En effet, le

glyphosate n'étant plus détectable dans les sols dès trois semaines après application de HBG en 2011, il a pu s'adsorber plus fortement dans les sols et constituer une réserve non détectable avec une extraction à l'eau. Avec un pH du sol inférieur à 8, le glyphosate était présent sous forme adsorbable sur les oxydes métalliques et les argiles, dû à la présence de charges variables en surface (Rampazzo *et al.*, 2013; Borggaard et Gimsing, 2008). Piccolo *et al.* (1996) ont montré que le glyphosate pouvait aussi s'adsorber en formant des complexes avec la matière organique via des cations présents dans des échantillons d'humus ou en électrolytes dans le sol. L'adsorption du glyphosate a aussi augmenté sa persistance, puisqu'il est encore présent une année plus tard (Figure 1.3). Le climat nordique québécois avec une saison d'hiver froide non propice à la dégradation du composé a pu favoriser cette persistance dans le sol. Cette observation a été appuyée par Helander *et al.*, (2012) et Simonsen *et al.*, (2008). Ces derniers ont mesuré des teneurs correspondant à 0,08 % et 0,48 % de l'herbicide appliqué pour le glyphosate et l'AMPA respectivement, vingt-sept mois après l'application de HBG. Stenrod *et al.*, (2005) ont observé une dégradation bien inférieure dans les sols pour des températures à -5 °C comparé à +5 °C, lié à un ralentissement très élevé de l'activité microbologique des sols, principale voie de dégradation des composés. En ce qui concerne son composé de dégradation l'AMPA, sa présence tout au long de l'étude montre un aussi fort potentiel de persistance dans les sols agricoles. Cela est appuyé par la littérature qui a montré que l'AMPA est 11 à 21 fois plus persistant que le glyphosate dans des conditions de températures élevées (Mamy et Barriuso, 2005 ; Bento *et al.*, 2016). Fomsgaard *et al.* (2003) ont retrouvé des traces d'AMPA trois à cinq ans après application de HBG mais pas de traces de glyphosate. Ces études ont mesuré les résidus à l'aide d'une extraction basique capable d'aller récupérer la majeure partie de l'AMPA adsorbé dans le sol, mais cela a permis de montrer qu'il existe une réserve d'AMPA fortement adsorbée dans les sols. Ce stock

persistant et immobile d'AMPA pourrait avoir un effet toxique sur le long terme par remobilisation de ces composés lors de changements dans le sol. Certains auteurs ont montré que l'AMPA pouvait être lessivé dans les sols et donc être transportés vers les cours d'eau ou nappes phréatiques (Landry *et al.*, 2005 ; Imfeld *et al.*, 2013). Dans notre étude, le fait que l'on mesure l'AMPA extractible à l'eau à chaque campagne pourrait signifier qu'une partie de ce qui a été accumulé dans les sols reste disponible et lessivable.

Malgré leur forte capacité d'adsorption dans les sols, la rétention du glyphosate et de l'AMPA semble temporaire, avec une remobilisation possible de ce stock en phase plus mobile et extractible à l'eau. En effet les teneurs maximales de l'étude ont été mesurées 329 jours après l'application de HBG de 2011, avec teneurs allant jusqu'à 0,29 et 2,03 mg kg⁻¹ pour le glyphosate et l'AMPA respectivement et ce dans la majorité des échantillons de cette campagne d'échantillonnage (75 % pour le glyphosate et 100% pour l'AMPA) (Tableau 1.4). Les quantités désorbées correspondent à 19 % de la quantité de glyphosate appliquée en moyenne en 2012 et 22 % en 2013. Piccolo *et al.* (1994) appuient nos observations en révélant que 15 à 80 % de la molécule de glyphosate fixée dans les sols a été désorbée par les pratiques agricoles ou des épisodes pluvieux en fonction du type de sol ou du contexte climatique. Ces pourcentages sont tout de même à prendre avec précaution car seule une étude en milieux fermé ou avec des traceurs isotopiques permettraient de retracer exactement que ces résidus viennent en totalité de l'application de HBG de l'année précédente. Cette rétention temporaire semble être liée au type de sol sable loameux très fin, avec une proportion d'argile et de matière organique assez faible (3% dans les deux cas) (Tableau 1.1). D'un autre côté, Sidoli *et al.* (2016) ont mis de l'avant une corrélation positive entre la capacité du sol à adsorber le glyphosate et la proportion en oxydes de

fer et d'aluminium, contrairement à l'argile et le carbone organique. Ces auteurs ont montré ainsi que la présence d'oxyde était l'un des facteurs les plus importants pour la sorption du glyphosate dans le sol. Parmi les 17 sols étudiés de type loam ou loam sableux, celui qui correspondait le plus à notre étude au niveau de la composition avait un coefficient d'adsorption (K_f) de 43 pour le glyphosate, alors que la moyenne était de 137 pour les 17 sols étudiés, correspondant à une capacité plutôt modérée d'adsorption. Enfin dans l'étude de Rabab *et al.* (2008) le pH était également un facteur déterminant pour la sorption. Dans cette étude le loam sableux avait un K_f plus élevé que le loam argileux du fait d'un pH plus acide. Ainsi même avec une présence importante d'oxydes et d'argile dans les sols, en pH plus basique le glyphosate pourrait avoir une sorption limitée dans les sols. En ce qui concerne l'AMPA, Lupi *et al.* (2015) ont mis de l'avant une contamination à l'AMPA de sols non exposés aux applications de HBG, montrant la capacité de mobilité et de diffusion de l'AMPA dans l'environnement. L'AMPA est plus dépendant de la biodisponibilité des sites d'adsorption que le glyphosate. En effet, aucune concurrence pour les sites d'adsorption ne semble se manifester entre les deux composés (Baez *et al.*, 2015). L'adsorption de l'AMPA était affectée par les équilibres de concentration et pourrait l'être encore plus par les changements physicochimiques du sol. Cela va dans le sens de nos résultats qui ont mis de l'avant qu'il y a toujours une part d'AMPA disponible qui peut être lessivée en cas de fortes pluies. Cela montre que le phénomène d'adsorption est loin d'être irréversible et que l'AMPA et le glyphosate peuvent être désorbés à l'interface eau-sol avant de se retrouver dans les cours d'eau. Cela a aussi été observé dans la littérature, au niveau des eaux de ruissellement récoltées (Candela *et al.*, 2010; Coupe *et al.*, 2012; Donald *et al.*, 2002; Passeport *et al.*, 2014).

1.4.2 Impact des fertilisants sur la désorption du glyphosate et de l'AMPA

Les applications d'engrais organiques sont à l'origine de la désorption du glyphosate observée avant application de HBG en 2012 et 2013 dans les sols agricoles. Le glyphosate a été détecté lors de la campagne d'échantillonnage après que le producteur ait effectué un épandage de boues d'épuration stabilisées municipales quatre semaines avant application de HBG, suivi d'une seconde fertilisation au phosphore organique 11 jours avant que l'on ne retrouve ces teneurs très élevées (Figure 1.2.b). En 2013, le lisier de porc a été épandu cinq semaines avant l'application de HBG et a été suivi d'une fertilisation minérale quelques jours après, lors du semis de maïs (Figure 1.2.c). Après épandage des engrais organiques, deux facteurs ont pu être à l'origine de la désorption du glyphosate : i) par des changements chimiques dans les sols suite à l'application des fertilisants organiques fortement chargée en matière organique et minéraux et ii) par la libération de grandes quantités de phosphore soluble biodisponible et réactif dans les sols. Les engrais organiques contiennent plus d'eau que les engrais minéraux et favorisent la libération de grandes quantités de phosphore soluble directement assimilable par les plantes (Beaudin et al., 2008). Ces grandes quantités de phosphore soluble sont très réactives avec les minéraux du sol et ont pu libérer des quantités non négligeables de glyphosate par effet de compétition pour les mêmes sites d'adsorption. Cela a été appuyé par Sidoli *et al.* (2016) ont aussi observé que la quantité de phosphore disponible jouait un rôle dans la capacité d'adsorption des sols, avec une corrélation négative entre le glyphosate ou l'AMPA et le phosphore, confirmé par l'étude de Paradelo *et al.*, (2015). Ce phénomène était expliqué par une compétition pour les mêmes sites d'adsorption sur la surface des oxydes entraînant une baisse de l'adsorption du glyphosate dans les sols (Waiman *et al.*, 2016). D'autres études, comme celle de Laitinen *et al.* (2009) en Finlande ont mis en évidence un

phénomène de lessivage du glyphosate dans les eaux de ruissellement après application d'engrais phosphatés.

Lorsqu'on compare les deux types d'épandages organiques, les boues d'épuration stabilisées ont eu un effet de désorption plus important que le lisier de porc pour le glyphosate. En effet, la moyenne des teneurs était plus de deux fois plus élevée en 2012 que en 2013 lors de la campagne d'échantillonnage après l'épandage de l'engrais organique, et la valeur maximale mesurée de glyphosate extractible à l'eau était six fois plus élevée en 2012 qu'en 2013 (Tableau 1.4). Aussi le glyphosate a été détecté dans 75 % des échantillons en 2012 et dans seulement 22 % en 2013 à la même campagne. Cette différence observée entre les deux types d'engrais a pu venir de leur composition, avec des teneurs en phosphore, aluminium et métaux lourds plus élevés dans les boues que dans le lisier. Les boues ont apporté 20 fois plus de phosphore dans les sols que le lisier (Tableau 1.3). Cela a pu faire une grande différence au niveau de la compétition pour les sites d'adsorption entre le glyphosate et le phosphore. L'aluminium et les métaux lourds contenus dans les boues a pu aussi intervenir dans la capacité de fixation du phosphore et du glyphosate dans les sols. Une augmentation importante de la forme totale et disponible du phosphore dans les sols fertilisés avec des boues d'épuration a augmenté jusqu'à 170 % le taux initial de phosphore biodisponible et total dans un sol loameux dans l'étude de Suhadolc *et al.*, (2010), confirmant nos observations. L'étude de Reimer *et al.* (2005) confirme quant à elle le faible impact du lisier de porc, puisqu'ils n'ont observé aucune différence sur la minéralisation du glyphosate en conditions de champ suite à l'application de lisier par rapport à des sols témoins.

En ce qui concerne l'AMPA, seules les boues d'épuration ont augmenté les teneurs dans les sols. Les teneurs maximales d'AMPA ont été mesurées lors de la campagne d'échantillonnage après l'application des boues d'épuration en 2012 (Tableau 1.4). L'application de lisier n'a pas eu d'effet sur les teneurs en AMPA extractible à l'eau. Comme pour le glyphosate, les quantités très importantes de phosphore dissous ajoutées au sol par les boues en 2012 a pu entraîner par désorption une partie de l'AMPA par compétition avec les sites d'adsorption. L'étude de Sidoli *et al.*, (2016) appuie nos observations. Cette compétition a aussi été largement démontrée par Simonsen *et al.* (2008) et Zhao *et al.*, (2009). Un apport extérieur d'AMPA venant directement des boues d'épuration pourrait expliquer les teneurs aussi élevées d'AMPA allant jusqu'à 2,03 mg kg⁻¹ dans les sols en 2012. En effet, les boues d'épuration sont fortement chargées en acides phosphoniques issues des détergents industriels (Botta *et al.*, 2009 ; Hanke *et al.*, 2010 ; Struger *et al.*, 2015). Ces acides phosphoniques ont pu se dégrader rapidement en AMPA par photooxydation après application (Nowack, 2003). Un certain nombre d'études ont mesuré des concentrations importantes d'AMPA dans les eaux d'épuration (Kolpin *et al.*, 2006, Botta *et al.*, 2009).

1.4.3 Prédiposition du glyphosate et de l'AMPA au lessivage dans les sols

Les évènements pluvieux augmentent le risque de lessivage des sols, avec la présence fréquente du glyphosate et de l'AMPA dans les sols sous forme extractibles à l'eau le jour ou le lendemain d'un épisode pluvieux. En effet, les échantillonnages ont été effectués en général après ou pendant un épisode pluvieux afin de vérifier si c'est un facteur qui pouvait affecter la mobilité de ces composés dans le sol (Figure 1.3). Ainsi lorsque le sol était saturé en eau, par de forts épisodes pluvieux répétitifs ou par la fonte des neiges caractéristique des climats nordiques, les deux composés ont un

plus fort potentiel de mobilité dans les loams sableux. Ces résultats ont été confirmés par l'étude de Hénault-Ethier *et al.* (2017) effectuée sur le même site d'étude à Saint-Roch-de-l'Achigan, qui ont observé de plus fortes concentrations de glyphosate et d'AMPA dans les eaux d'infiltration et de ruissellement après le premier événement pluvieux d'importance suivant l'application de HBG, confirmé par l'étude de Candela *et al.*, (2010) et Coupe *et al.* (2012). Cette étude a aussi mis en évidence la présence de glyphosate et d'AMPA dans les eaux de ruissellement à la fonte des neiges, confirmé par Laitinen *et al.* (2009). Ces derniers auteurs ont montré que 99 % des pertes de lixiviation totales obtenues provenaient de la période de la fonte de la neige et de décongélation du sol. Notre étude permet de mieux comprendre pourquoi les teneurs en glyphosate et surtout en AMPA ont été lessivées dans ces études en montrant que lorsque le sol est plus chargé en eau, la teneur en glyphosate et surtout en AMPA extractibles à l'eau sont plus élevée, et donc plus à risque pour le lessivage.

Les applications répétées année après année de HBG pourraient augmenter le risque de lessivage des deux composés, avec une plus grande quantité de résidus non extractibles dans les sols qui pourraient se désorber. Dans notre étude, les teneurs de glyphosate extractibles à l'eau ont augmenté d'une année à l'autre après l'application avec un pourcentage du glyphosate appliqué retrouvé dans les sols sous forme mobile plus élevé en 2012 puis en 2013. En effet, en 2013, entre l'application de HBG et l'échantillonnage des sols, il est tombé 76,8 mm de pluies en seulement 12 jours. Et la majeure partie de cette pluie s'est produite lors de deux événements pluvieux 3 et 2 jours avant l'échantillonnage, avec 27,2 et 30,8 mm d'eau respectivement. D'après McGrath *et al.*, (2010), le seuil minimum pour un seul épisode pluvieux est de 19 mm. En dessous de ce seuil le risque de lessivage serait vraiment réduit. Donc les événements pluvieux survenus juste avant l'échantillonnage dans notre étude ont pu

vraiment augmenter la mobilité du glyphosate dans le sol. Ces auteurs ont aussi souligné que cela dépend aussi beaucoup des conditions spécifiques d'un site. Dans notre étude, la fonte de la neige au printemps et la fréquence assez élevée d'épisodes pluvieux a favorisé une saturation des sols en eau, aggravée par la présence d'une couche d'argile en profondeur. Cela a pu favoriser la lixiviation du glyphosate et de l'AMPA au cours des fortes pluies. L'hypothèse de la remontée de la nappe perchée est aussi probable, générant un écoulement latéral qui peut augmenter la possibilité de lessivage vers les fossés de drainage puis les cours d'eau, ainsi que vers les champs voisins.

Le sol de type sable loameux argileux de notre étude a favorisé la mobilité du glyphosate et de l'AMPA dans les sols, dû à la porosité totale de ce type de sol plus élevée que pour les autres types de sol. Cela est appuyé par Dejonge *et al.*, 2000 qui ont mesuré des concentrations dans le lixiviat en glyphosate 50 à 150 fois plus élevées dans le loam sableux que dans les autres types de sols en raison de la présence de macropores. Aronsson *et al.*, 2011 ont aussi conclu que la capacité de lixiviation du glyphosate dépendait fortement du type de sol.

Enfin, les périodes d'application des HBG sont aussi un facteur important dans la mobilité du glyphosate et de l'AMPA. Car le printemps est une période avec d'importants épisodes pluvieux au Québec, favorisant le lessivage de ces composés si appliqué trop proche d'une pluie. Les applications de glyphosate ont besoin d'être bien contrôlées surtout dans les régions avec fortes précipitations (Majewski *et al.*, 2014; Ramwell, 2014), période pendant laquelle les plus fortes concentrations de glyphosate et AMPA ont été observées dans les cours d'eau (Battaglin *et al.*, 2014; Giroux *et al.*, 2015). D'autres études ont démontré l'importance du moment de l'application par

rapport au prochain fort épisode pluvieux pour limiter la mobilité du glyphosate et de l'AMPA (Candela *et al.*, 2010; Kjaer *et al.*, 2005; Jarvis *et al.*, 2007).

Ainsi, notre étude a pu identifier deux facteurs augmentant le potentiel de mobilité du glyphosate et de l'AMPA dans les sols : un changement radical de la physicochimie du sol par l'application de fertilisants contenant des éléments solubles en grande quantités et la saturation en eau des sols par les facteurs climatiques tels que les épisodes pluvieux ou la fonte des neiges. Cela a pu affecter même les résidus fortement adsorbés non extractibles à l'eau par un processus de désorption dans les sols. De par leurs caractéristiques, les loams sableux sont particulièrement sensibles à ce phénomène et ce malgré les précautions que prennent les agriculteurs pendant ces périodes pour appliquer les HBG entre les épisodes pluvieux. Les pratiques qui augmentent les quantités labiles de glyphosate et d'AMPA sont donc à utiliser avec prudence car elles peuvent constituer un risque de toxicité accru pour les organismes non ciblés (Bott *et al.*, 2011). Dans cette étude la fertilisation au phosphore a augmenté les dommages significatifs faits aux plantes non résistantes par augmentation des quantités de glyphosate et AMPA dans les sols.

1.5 Conclusion

Malgré une application d'HBG à une dose recommandée par les manufacturiers en post-levée sur les cultures GR, le glyphosate est resté extractible à l'eau pendant plusieurs semaines après application dans un sol loameux de pH neutre toutes les années d'étude. À cause de sa grande solubilité, le risque est d'autant plus grand lorsque le sol est saturé en eau au printemps avec de forts épisodes pluvieux. Certaines pratiques de fertilisation peuvent augmenter les quantités de glyphosate et AMPA

extractibles à l'eau surtout lorsqu'elles contiennent de grandes quantités de phosphore et métaux solubles, par effet de compétition pour les mêmes sites d'adsorption. L'AMPA plus persistant que le glyphosate a été détecté à chaque campagne, indiquant une partie lessivable en cas de fortes pluies tout au long de la période culturale. Ainsi les pratiques agronomiques et les événements pluvieux peuvent augmenter la mobilité potentielle du glyphosate et de l'AMPA en champ dans des sols ayant une capacité moyenne d'adsorption, expliquant la détection très fréquente de ces composés dans les cours d'eau en début de période culturale. Les choix du type, de la dose et de la date d'application des intrants fertilisants doivent être planifiés avec attention en considérant les risques de diffusion et d'impact sur les cultures que cela peut avoir lorsqu'ils sont combinés avec des applications de HBG.

*L'article sera soumis dans sa version en anglais pour publication dans la revue
Geoderma.*

CHAPITRE II

IMPACT D'UN HERBICIDE À BASE DE GLYPHOSATE SUR LE RISQUE DE LIXIVIATION DES NUTRIMENTS ET SUR LA COMPOSITION DE LA COMMUNAUTÉ MICROBIENNE DANS LE SOL

Sophie Maccario¹, Marc Lucotte¹, Matthieu Moingt¹, Serge Paquet¹, Élise Smedbol¹,
Richard Hogue³, Thomas Jeanne³, Michel Labrecque²

¹ Université du Québec à Montréal, Institut des Sciences de l'environnement, Chaire de recherche du GEOTOP, CP 8888, Succ. Centre-Ville, Montréal, QC, Canada, H3C3P8

³ Institut de Recherche et Développement en Agro-Environnement (IRDA), 2700 Rue Einstein, Quebec City, Quebec G1P 3W8, Canada

² Université de Montréal, Institut de recherche en biologie végétale, 4101 Sherbrooke Est, Montréal, QC, Canada, H1X2B2

Résumé

L'herbicide à base de glyphosate (HBG), classe d'herbicide la plus utilisée au monde, peut diminuer la rétention des nutriments dans les sols à cause des propriétés chélatantes de son ingrédient actif (a.i.) le glyphosate. Il pourrait affecter aussi la microbiologie des sols, soit directement par son mode d'action herbicide impliqué dans l'inhibition de la 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), soit par les changements physicochimiques suivant l'application de HBG. Dans cette étude, le potentiel de lixiviation des cations dans des sols agricoles et l'impact sur la microbiologie des sols suite à l'application d'un HBG, le Factor540®, ont été étudiés dans des conditions de serre à deux doses d'application (0,90; 1,80 kg i.a ha⁻¹) par rapport à un témoin et à temps répété (1, 2, 4, 7, 14 et 28 jours). Cette expérience réalisée sur des sols nus (sans plante y croissant) non stérilisés et sans antécédent d'application de HBG. La diversité et la composition des bactéries, champignons et protistes ont, quant à elles, été évaluées quatre jours après application afin de mesurer le potentiel toxique à court terme (toxicité aigüe) du HBG. La proportion de calcium, magnésium, cuivre et phosphate échangeables a augmenté rapidement après application de l'herbicide, indiquant que le glyphosate peut changer le potentiel de lixiviation des nutriments essentiels lors de l'application par la formation de complexes solubles entre le glyphosate et les cations ou par réactivité sur la surface des oxydes. La diversité générale ou la structure des communautés d'aucun des trois groupes de micro-organismes (bactéries, champignons et protistes) n'ont été significativement affectées suivant les applications des diverses doses de HBG, montrant probablement une certaine résilience des micro-organismes des sols face au glyphosate dans un sol n'ayant pas d'historique d'application de HBG avant l'expérience.

Mots clés: herbicide, nutriments, fertilité, sol agricole, phosphore, bactéries, champignons

2.1 Introduction

Les herbicides à base de glyphosate (HBG) sont largement utilisés dans les grandes cultures, tout particulièrement celles utilisant des semences génétiquement modifiées pour résister à l'ingrédient actif (GR). Ils sont aussi utilisés en pré-semis dans les cultures utilisant des semences conventionnelles. Comme observé dans le chapitre 1 de cette thèse, le glyphosate et l'AMPA subissent des processus d'adsorption et de désorption qui impliquent les cations, éléments essentiels à la nutrition des plantes et des organismes du sol (Bernard *et al.*, 2005; Barrett *et al.*, 2006; Huber *et al.*, 2007; Cackmak *et al.*, 2009). Les nutriments présents dans la solution du sol, sous forme dissoute ou intégrés dans le complexe argilo humique, représentent la part de nutriments qui peut être facilement utilisable par les plantes et les micro-organismes et sont un indicateur important de fertilité des sols agricoles. La microbiologie des sols joue, elle aussi, un grand rôle dans les processus de solubilisation des nutriments essentiels pour les cultures (Avis *et al.*, 2008; Khan *et al.*, 2009; Alori *et al.*, 2017). Alors qu'une fraction des nutriments est présente sous forme inorganique dissoute dans la solution du sol et disponible immédiatement pour les plantes, une grande partie de ces nutriments est fixée sur des particules inorganiques du sol (Mertens *et al.*, 2018) ou sur des particules organiques issue des débris végétaux et animaux (Bronick et Lal, 2005). Les micro-organismes du sol participent majoritairement à la minéralisation des nutriments pour les rendre disponibles à travers, la production d'enzymes (tel que la phosphatase) qui hydrolyse les composés organiques, l'acidification du sol pour rendre les composés plus solubles et mobiles et la production d'exsudats acidifiants ou chélatants (Khan *et al.*, 2009; Scervino *et al.*, 2010, Mertens *et al.*, 2018), ou par l'utilisation de composés organiques comme substrats entraînant leur dégradation. Ces organismes sont essentiels aux procédés de minéralisation des nutriments et donc à la

fertilité des sols (Avis *et al.*, 2008). Les périodes d'application des herbicides correspondent le plus souvent à la reprise de l'activité microbienne après l'hiver et sont donc des périodes charnières pour maintenir un bon taux de minéralisation des sols. De par le mode d'action du glyphosate à travers la voie de l'acide shikimique (Funke *et al.*, 2006; Krüger *et al.*, 2013), un grand nombre de bactéries et champignons possédant l'enzyme EPSPS peuvent être affectés par les applications de HBG (Padgett *et al.*, 1995; Maeda et Dudareva, 2012; Lu *et al.*, 2013). Les HBG peuvent diminuer le statut nutritionnel des plantes, et impacter les micro-organismes bénéfiques du sol (Kremer, 2005; Johal et Huber, 2009; Zobiolo *et al.*, 2011) notamment ceux nécessaires à la croissance des plantes (par exemple mycorhizes, bactéries fixatrices d'azote, bêtaprotéobactéria) (Arango *et al.*, 2014; Druille *et al.*, 2015; Schafer *et al.*, 2014). Cela peut de ce fait favoriser le développement d'organismes pathogènes (Hammerschmidt, 2017), même à de faibles concentrations d'herbicide (Mertens *et al.*, 2018). La mort de plantes traitées au HBG a d'ailleurs été fréquemment observée suite à infection par des agents pathogènes du sol (Babiker *et al.*, 2011; Rosenbaum *et al.*, 2014, Bruggen *et al.*, 2018). Ces études ont utilisé des formulations commerciales de HBG, ce qui ne permet pas de différencier spécifiquement les effets liés au glyphosate par rapport à l'AMPA ou aux adjuvants.

En conditions de laboratoire, un certain nombre d'études ont mis de l'avant les effets de l'application de HBG sur l'activité microbienne, avec une réduction de la biomasse, de la respiration des micro-organismes du sol (Nguyen *et al.*, 2016) mais aussi de la viabilité et densité des spores de champignons mycorhizien (Druille *et al.*, 2016). Mais ces études ont souvent employé des concentrations largement supérieures aux doses utilisées par les agriculteurs et observé uniquement des effets de réduction de l'activité sur des bactéries cultivables en laboratoire. À ce jour, peu d'études en champ ont pu démontrer un impact de l'application de HBG à des doses couramment

utilisées par les producteurs sur la microbiologie des sols. En effet, la plupart des études qui montrent un effet ont utilisé des doses largement supérieures à celle en champs, jusqu'à 100 fois plus élevé en conditions de laboratoire (Busse *et al.*, 2001; Radcliff *et al.*, 2006; Weaver *et al.*, 2007). L'approche métagénomique permet d'évaluer la diversité des communautés microbiennes du sol, notamment des micro-organismes qui n'étaient jusqu'alors pas cultivables sur géloses en laboratoire (Janssen, 2006; Roesch *et al.*, 2007; Mbanaso *et al.*, 2014). Différentes classes de micro-organismes existent et ne sont pas impliquées dans les mêmes étapes de la dégradation de la matière organique et la minéralisation des nutriments : i) les protistes, eucaryotes impliqués dans la dégradation primaire et la régulation des populations de bactéries (Gao *et al.*, 2018), ii) les champignons, eucaryotes jouant un grand rôle dans la solubilisation du phosphore (Kucey, 1983) et iii) les bactéries, procaryotes, principaux responsables de la minéralisation des nutriments pour les transformer en une forme assimilable pour les plantes (Khan *et al.*, 2019).

D'autre part, la complexation des nutriments dans les sols avec le glyphosate et son principal produit de dégradation, l'acide aminométhylphosphonique (AMPA), pourrait les rendre moins disponibles (Eker *et al.*, 2006; Bott *et al.*, 2008; Zobiolo *et al.*, 2010); soit par formation de complexes insolubles qui s'adsorbent fortement aux sols (Glass *et al.*, 1984; Hensley *et al.*, 1978; Eker *et al.*, 2006), soit par formation de complexes solubles tel que pour le cuivre (Morillo *et al.*, 1997; Sundaram et Sundaram, 1997), contribuant au risque de lessivage de ces éléments dans les champs. Dans les deux cas, l'interaction du glyphosate avec les cations peut diminuer la possibilité pour les organismes du sol d'utiliser ces nutriments et provoquer des carences chez les plantes (Kennedy et Smith, 1995; Yao *et al.*, 2000; Schutter *et al.*, 2001). Le phosphore, un nutriment majeur essentiel dans les sols, est considéré comme l'un des principaux

facteurs limitant pour la croissance des plantes. Cet élément peu soluble partage une partie des mêmes sites d'adsorption que le glyphosate et l'AMPA dans les sols (Laitinen *et al.*, 2009). Les mécanismes d'adsorption du phosphate étant similaires à ceux du glyphosate et de l'AMPA (De Jonge *et al.*, 2001, ces composés peuvent entraîner un effet de compétition pour les sites d'adsorption qui impliquent des liaisons avec des cations du sol, favorisant leur immobilisation dans le sol (Eriksson *et al.*, 2016; Bünemann *et al.*, 2016). Il a été aussi montré que selon les types de sol, des applications de glyphosate pouvaient avoir des effets différents sur la rétention du phosphore, notamment selon le type d'argile et d'oxydes présents dans le sol (Gimsing et Borggaard, 2007; Càceres-Jensen *et al.*, 2009). Mais ce mécanisme a été peu étudié jusqu'à présent aussi bien au niveau l'ampleur possible de la désorption que sur les formes de phosphore qui pourraient être impactées. Or l'accès au phosphore pour les plantes dépend de sa forme et de sa capacité à être retenu dans un sol agricole. Une mobilisation des nutriments essentiels pourrait entraîner un risque accru de lessivage dans les sols des champs agricoles traités au HBG et une perte pour les cultures.

Cette étude présente les effets à court terme d'une seule application de Factor 540®, à deux doses, dans la gamme de celles utilisées (0,90 et 1,80 kg i.a. ha⁻¹) par les producteurs sur le potentiel de solubilisation des cations essentiels et du phosphore dans un sol agricole sans antécédent d'application de HBG afin de déterminer si l'herbicide pouvait être une cause de baisse de la rétention des nutriments, une mesure essentielle pour une bonne gestion agronomique du sol sur le long terme. Une analyse de la diversité et de la composition taxonomique a également été réalisée pour les trois grandes classes de micro-organismes afin de voir si les doses de HBG pouvaient impacter la microbiologie des sols.

2.2 Matériel et méthodes

2.2.1 Conditions expérimentales en milieu contrôlé

L'expérience a été menée dans une serre expérimentale en conditions contrôlées avec une température ambiante entre 20 et 25 °C et sur un sol agricole de la région de la plaine du Saint-Laurent non stérilisé, et jamais directement exposé à des HBG auparavant. Après homogénéisation, le sol a directement été placé dans des pots de 7,57 l. L'humidité du sol a été ajustée par arrosage afin de maintenir le taux d'humidité du sol constant. Le sol utilisé est issue de la série de sol Saint-Bernard, soit un loam sableux fin à loameux (IRDA, 2009), récolté dans un champ sans exposition préalable aux HBG (Boisbriand, Canada: latitude 45.626287°, longitude -73,890291°). Il correspond à l'horizon travaillé de sol de profondeur 20 cm. Ce sol minéral est un brunisol mélanique orthique (AAC, 2002) dont les caractéristiques chimiques ont été détaillées dans le Tableau 2.1.

Tableau 2.1. Caractéristiques chimiques du sol homogénéisé utilisé pour l'expérience^a

Proportion de sable (%) ^b	34
Proportion de limon (%) ^b	48
Proportion d'argile (%) ^b	18
Matière organique (%)	3
pH _{eau}	7,59 ± 0,35
P _{ex} (mg kg ⁻¹) ^c	0,213±0,004
P _{cdb} (mg kg ⁻¹) ^d	1,74±0,09
P _{org} (mg kg ⁻¹) ^e	4,77±0,37
P _{apa} (mg kg ⁻¹) ^f	10,98±0,82
K Mehlich (mg kg ⁻¹) ^g	97,0 ± 0,9
Ca Mehlich (mg kg ⁻¹) ^g	6264 ± 69
Mg Mehlich (mg kg ⁻¹) ^g	107,9 ± 1,4
Mn Mehlich (mg kg ⁻¹) ^g	111,8 ± 0,7
Cu Mehlich (mg kg ⁻¹) ^g	1,83 ± 0,06
Al Mehlich (mg kg ⁻¹) ^g	81 ± 8
Fe Mehlich (mg kg ⁻¹) ^g	193,6 ± 1,5
Zn Mehlich (mg kg ⁻¹) ^g	1,96 ± 0,06
MnCDB (mg kg ⁻¹) ^g	202,1±14,17
FeCDB (mg kg ⁻¹) ^g	4273±96
AlCDB (mg kg ⁻¹) ^g	1575±122
Indice de saturation en P (%) ^g	7,6

^a valeurs pour les différents paramètres chimiques correspondent à T0, avant le début de l'expérience.

^b la répartition en % des sables, limons et argiles provient des études pédologique effectuées par l'IRDA dans (IRDA, 2002).

^c ex : échangeable ; ^d cdb : fixé sur les oxydes ; ^e org : organique ; ^f apa : apatite. Cela correspond à une extraction séquentielle des différentes formes de phosphore réalisé selon la méthode Lucotte et d'Anglejan (1985).

^g les cations ont été analysés à l'aide d'une extraction Mehlich III, représentant la part disponible des cations du sol, selon la méthode du CEAEQ, 2010). 11,11g de fluorure d'ammonium et 8,5 g de EDTA sont ensuite mélangés avec 20,01g de nitrate d'ammonium, 11,5g d'acide acétique glacial et 0,8ml d'acide nitrique. Cette solution ajoutée au sol selon un ratio sol : solution de 1:3 est ensuite filtré après un temps de contact de 5 min. L'extrait est ensuite dosé par spectrométrie d'absorption atomique.

^h l'indice de saturation a été calculé par le ratio $P_{\text{MehlichIII}}/Al_{\text{MehlichIII}}*100$. Le seuil de saturation en P critique pour un sol agricole de type podzol est entre 10 et 20%. Le sol étudié est donc en dessous du seuil critique.

Les pots ont été placés dans la configuration déterminée par un modèle expérimental aléatoire, une semaine avant le début de l'expérience pour permettre à la microbiologie des sols de revenir à l'équilibre suivant le transfert dans chacun des pots. Le plan factoriel reposait sur trois pots répliques, eux même sous-échantillonnés en trois répliques, et cela pour chaque traitement (témoin sans application, 0,90 kg i.a. ha⁻¹ et 1,80 kg i.a. ha⁻¹). Les échantillons ont été prélevés six fois à 1, 2, 4, 7, 14 et 28 jours après l'application de HBG, représentant un nombre total de 162 échantillons. Les sols de chacun des pots ont été traités avec une des deux doses de glyphosate de formulation Factor 540® (Monsanto, St. Louis, États-Unis) contenant 540 g de glyphosate par litre de produit. Dix millilitres de solution d'herbicide ont été appliqués directement sur le sol à l'aide d'un micro-pulvérisateur manuel en prenant soin d'éviter la contamination des pots à proximité. Les sols témoins ont été pulvérisés de la même manière avec de l'eau distillée. Aucun engrais n'a été appliqué pendant l'expérience afin de limiter les biais liés à la stimulation de la microbiologie des sols. Après échantillonnage, les échantillons de sol réservés pour des mesures microbiologiques ont été figés dans de l'azote liquide et stockés à -80 °C, tandis que les échantillons de sol destinés aux analyses chimiques ont été congelés à -20 °C.

Cette expérience avec des sols sans plante a été complétée par une expérience en serre en conditions contrôlées avec des plants de soya (Smedbol et al, 2019).

2.2.2 Analyses chimiques

Les échantillons de sol ont été séchés à l'air dans une étuve à 55 °C et tamisés à deux millimètres avant analyse. Le pH du sol a été mesuré dans une solution aqueuse à l'aide d'un pH-mètre à électrode à un ratio sol solution de 1:3. La matière organique a été déterminée par perte au feu à 375 °C (CEAEQ, 2003). La texture du sol (argile, limon,

sable) a été calculée par hydrométrie. Les cations échangeables (potassium, fer, manganèse, magnésium, calcium, cuivre et zinc) ont été extraits à l'aide de la méthode de Mehlich III (CEAEQ, 2010), avec un rapport sol solution de 1:10. Les mesures des teneurs en aluminium dans les sols après application de HBG non pas été effectuées, alors que cet élément n'est pas considéré comme un cation bénéfique et utilisable par les plantes. Les cations ont été analysés par spectrophotométrie d'absorption atomique (ARL 906AA, GBC Scientific Equipment, Melbourne, Australie). La méthode Mehlich III est bien adaptée aux sols du Québec et permet l'extraction de la phase disponible des éléments minéraux présents dans les sols (CEAEQ, 2010). Cette méthode est utilisée pour faire un bilan de l'état de fertilité des sols pour les producteurs du Québec. En utilisant cette méthode, les nutriments majeurs K^+ , Ca^{2+} et Mg^{2+} sont extraits sous l'action du nitrate d'ammonium et de l'acide nitrique. Les teneurs obtenues avec cette extraction sont similaires à celles par extraction avec l'acétate d'ammonium (Hanlon et Johnson, 1984; Michaelson *et al.*, 1987). Une extraction séquentielle des différentes formes de phosphore a été réalisée selon la méthode de Lucotte *et al.* (1985). En premier lieu, le phosphore échangeable (P_{ex}) a été déterminé après dissolution de 0,125 g d'échantillon de sol sec dans 6,25 ml d'acétate d'ammonium 1M (pH 8,5) et agité pendant deux heures avant d'être centrifugé pendant 10 minutes à 3500 tr/min. Après récupération du surnageant, la phase solide a été séchée à 65 °C (solide A). L'orthophosphate fixé sur les oxydes (P_{cdb}) et les oxydes de fer, de manganèse et d'aluminium associés (Fe_{cdb} , Mn_{cdb} et Al_{cdb}) ont été obtenus en ajoutant 12,5 ml de citrate de bicarbonate au solide séché A et en chauffant à 85-90°C au bain-marie pendant 15 minutes. Après addition de 0,25 g de dithionite de sodium, le mélange a été agité pendant 30 min au bain-marie puis centrifugé pendant dix minutes. Le liquide a été transféré dans un flacon de 25 ml et stocké à 4 °C tandis que la phase solide a été rincée avec 7,50 ml de NaCl 1M, agitée, centrifugée et transférée dans un flacon dans

lequel le volume a été ajusté à 25 ml avec de l'eau nanopure. La phase solide a été séchée à 65 °C (solide B). Une partie de la solution extraite a été diluée cinq fois avec du HNO₃ 1 % pour déterminer la teneur en oxyde de métal par spectrométrie d'adsorption atomique. Le phosphore sous forme apatite (P_{apa}) a été déterminé après l'ajout de 12,5 ml de HCl 1M au solide B et agité toute la nuit. Le mélange a été centrifugé dix minutes avant la récupération du liquide dans un tube de 13 ml et stocké à 4 °C. Après avoir retiré le surnageant, le solide (solide C) a été séché à 65 °C et transféré dans un creuset en porcelaine avant d'être chauffé à 550 °C pendant 1 heure. Les cendres ont été récupérées avec 12,5 ml de HCl 1M, agitées et centrifugées pendant 10 minutes. Le liquide a été transféré dans un tube de 13 ml, stocké à 4 °C et analysé pour déterminer sa teneur en phosphore organique (P_{org}). Tous les extraits de phosphore ont été analysés par spectrophotométrie UV-VIS.

La phosphatase acide a été déterminée selon la méthode de Tabatabai et Bremner (1969). Cette méthode est basée sur le dosage du p-nitrophénol phosphate (PNP) par méthode colorimétrique en utilisant un spectromètre Varian Cary Bio UV-Vis (USA). Une solution tamponnée à pH 6,5 combinée à 0,25 ml de toluène et un millilitre de solution mère de PNP est ajouté à un gramme de sol. Après agitation, le mélange est placé à 37°C dans un incubateur pendant une heure. Par la suite, un millilitre de chlorure de calcium 0,5M et quatre millilitres de NaOH 0,5M sont ajoutés avant agitation quelques secondes. Le mélange jaune formé est ensuite filtré et passé au spectromètre, à la longueur d'onde 400 nm. Une courbe de calibration est effectuée en fonction de l'intervalle de valeurs trouvés pour le PNP. Des dilutions sont en général nécessaires.

Le glyphosate et l'AMPA extractibles à l'eau ont été extraits selon la méthode de Bergström *et al.* (2011) dans les sols de serre, avec une solution d'eau Milli-Q. Les détails sur la procédure analytique permettant de déterminer les teneurs en glyphosate et en AMPA dans les sols sont donnés au chapitre 1. Après les étapes d'extraction et de dérivation, les échantillons ont été évaporés à sec sous un courant d'azote gazeux et dissous pour injection dans 20 µl de 1,2,4-trichlorobenzène à 10^{-6} , 20 µl de 1-bromopentadécane à 10^{-4} (standard de quantification) et 960 µl d'isopropyl acétate.

2.2.3 Extraction de l'ADN, préparation de la bibliothèque et séquençage

L'ADN présent dans les échantillons prélevés quatre jours après application a été extrait à l'aide d'un kit commercial FastDNA™ SPIN pour sol (MP Biomedicals, Solon, OH) couplé à une étape d'homogénéisation FastPrep®-24 (MP Biomedicals, Solon, OH), conformément aux recommandations du fabricant. La qualité et la quantité des extraits d'ADN ont été évaluées par spectrophotométrie à l'aide d'un biophotomètre (Eppendorf, Mississauga, ON, Canada) avec une microcuvette G1.0 µCuvette® (Eppendorf, Mississauga, ON, Canada) avec des lectures à 260, 280, 230, et 320 nm. La qualité de l'ADN génomique a également été vérifiée par électrophorèse sur un gel d'agarose à 1,6 % (p/p) et visualisée sous UV avec un instrument Gel Doc XR+ (Biorad, Hercules, CA., USA).

La diversité des bactéries, champignons et protistes a été déterminée comme décrit par Brassard *et al.* (2018) et Leff *et al.* (2018), ciblant l'ADNr de la région 16S pour les bactéries et de la région 18S pour les champignons et protistes. L'étape de séquençage a été réalisée sur un instrument MiSeq selon une stratégie de 2×300 pb par la Plateforme d'analyses génomiques (IBIS, Université Laval, Québec, Canada). En bref, la séquence spécifique du gène a été fusionnée aux amorces de séquençage

Illumina TruSeq et la réaction en chaîne de la polymérase (PCR) a été réalisée dans un volume total de 50 µl contenant le tampon 1X Q5 (NEB, Whitby, ON, Canada), 0,25 µM de chaque amorce, 200 µM de chaque dNTP, 1U d'ADN polymérase haute fidélité Q5 (NEB, Whitby, ON, Canada) et 1 µl d'ADNc matrice. La PCR a débuté par une dénaturation initiale à 98 °C pendant 30 secondes suivie de 35 cycles de dénaturation à 98 °C pendant dix secondes, un annelage à 55 °C pendant dix secondes et une extension à 72 °C pendant 30 secondes avec une extension finale à 72 °C pendant deux minutes. La réaction PCR a été purifiée à l'aide du kit de nettoyage Axygen PCR® (Fisher Scientific, Nepean, ON, Canada). La qualité du produit de PCR purifié a été contrôlée par électrophorèse sur un gel d'agarose à 1 % (p/p). Des dilutions en série de cinquante à cent fois de ce produit purifié ont été utilisées comme matrices pour une deuxième étape de PCR dans le but d'ajouter des codes-barres (à double index) et d'effectuer les séquences manquantes requises pour le séquençage Illumina. Les paramètres de cycle pour la deuxième PCR étaient identiques à ceux de la première, mais seuls 12 cycles ont été complétés. Les produits de PCR ont été purifiés comme ci-dessus, en contrôlant leur qualité sur une puce de bioanalyseur DNA7500 (Agilent, Santa Clara, Californie, États-Unis), puis quantifiés par spectrophotométrie à l'aide d'un Biophotomètre avec une microcuvette µCuvette® G1.0. Les amplicons à code-barres ont été regroupés dans une concentration équimolaire pour le séquençage sur la plate-forme Illumina MiSeq en utilisant un kit de séquençage de 2 X 300 pb.

2.2.3 Analyse des données

Une analyse statistique MANOVA des paramètres physicochimiques a été réalisée avec le logiciel statistique JMP (SAS Institute, Cary, Caroline du Nord, États-Unis) en utilisant une analyse à mesures répétées de la variance pour les facteurs cations et phosphore séquentiel. La différence entre les concentrations, les durées et le

temps par rapport à l'effet de concentration a été déterminée avec le test F et le test de Greenhouse-Geisser suivi d'une analyse de contraste. Pour le premier temps, soit 24 heures après application de HBG, les différences significatives entre les traitements ont été déterminées à l'aide du test de Student, après vérification à l'aide d'un test sur la normalité de la distribution et de l'homoscédasticité de la variance. Si les conditions n'étaient pas respectées, une randomisation des rangs était utilisée avant le test Tuckey-Kramer.

Après vérification de la qualité de l'analyse sur l'instrument MiSeq, les séquences microbiologiques obtenues ont été démultiplexées en fonction de l'étiquette utilisée. Ensuite, le contrôle de la qualité de la séquence et la construction de la table des caractéristiques ont été réalisés à l'aide de QIIME 2 (Caporaso *et al.*, 2010) et du plugin dada2 (Callahan *et al.*, 2016). La base de données de référence Greengenes 13.8 (DeSantis *et al.*, 2006) et la base de données PR2 (Guillou *et al.*, 2013) ont été utilisées pour l'identification taxonomique des variants de séquence d'amplicon (ASV). Les mesures de la diversité alpha (Shannon et Chao1) et la comparaison de la composition microbienne ont été calculées et visualisées à l'aide de la version R 3.5.0 (R Core Team, 2018) et du logiciel Phyloseq (Mcmurdie, 2011). Les différences de composition entre les échantillons ont été visualisées avec une analyse en coordonnées principales (PCoA). Nous avons utilisé des comparaisons par paires, la méthode wilcox.test pour l'analyse statistique de la diversité alpha et une analyse des similitudes avec le test ANOSIM du progiciel Vegan (Oksanen *et al.*, 2018) afin de tester la présence d'une différence statistiquement significative entre les groupes.

La différence d'abondance moyenne des microbes a été détectée avec l'analyse statistique de la composition des microcosmes (ANCOM). Finalement, nous avons

effectué une analyse d'abondance différentielle, à l'aide du logiciel DESeq2 (Love *et al.*, 2014), sur des tables d'ASVs bactériennes, fongiques et protistes. L'analyse a été effectuée avec le témoin et la plus forte dose (1,80 kg i.a. ha⁻¹). Le niveau de signification a été fixé à 0,1 (plutôt que 0,05) afin d'augmenter les chances de voir si une espèce a été impactée par l'application de HBG.

En ce qui concerne l'indice de diversité globale du sol, il est minimal quand tous les individus du microcosme appartiennent à une seule et même espèce dans chaque classe de micro-organismes ou au contraire s'il y a beaucoup d'espèces mais toutes représentées par un individu sauf une espèce majoritaire. À l'opposé, l'indice de diversité globale du sol est maximal quand tous les individus sont répartis d'une façon égale pour toutes les espèces.

2.3 Résultats

2.3.1 Paramètres chimiques et teneurs en herbicide

Suite à l'application de HBG, le pH du sol n'a pas varié au cours des 28 jours de l'expérience en serre ($p = 0,7169$), avec une valeur moyenne de $7,71 \pm 0,1$ pour l'ensemble des pots ($n=81$). Le pourcentage d'humidité des sols n'a pas non plus présenté de changements dans le temps, avec une moyenne de $9,91 \pm 1,28$ mg kg⁻¹ ($n=81$) ($p > 0.05$ Student test), montrant un écart-type assez élevé. Les teneurs moyennes en glyphosate extractible à l'eau des sols, 24 heures après application, étaient de $0,29 \pm 0,010$ mg kg⁻¹ dans les échantillons traités avec la dose la plus faible, soit 52,7 % de la dose appliquée et de $0,48 \pm 0,007$ mg kg⁻¹ pour la dose la plus élevée, soit 44 % de la dose appliquée (Tableau 2.2). Pour le second temps, soit 48 heures après application de l'herbicide, les teneurs extractibles à l'eau ont diminué avec une teneur moyenne de

0,18±0,15 mg kg⁻¹ pour la dose de 0,90 kg i.a. ha⁻¹, soit 32 % de la dose appliquée au départ et 0,34±0,09 mg kg⁻¹ pour la dose de 1,80 kg i.a. ha⁻¹, correspondant à 31 % de la dose appliquée au départ. Les teneurs en glyphosate étaient indétectables dans les pots témoins, montrant qu'il n'y a pas eu de contamination des témoins.

Tableau 2.2. Teneurs en glyphosate et AMPA extractible à l'eau dans les sols après application de différentes doses de HBG (0, 0,90 et 1,80 kg i.a. ha⁻¹) en mg kg⁻¹

Dose mg kg ⁻¹	Glyphosate mg kg ⁻¹				AMPA mg kg ⁻¹	
	24 heures	% appl ^a	48 heures	% appl ^a	24 heures	48 heures
0	Nd	0	nd	-	0	0,08±0,07
0,90	0,29±0,10	52,7	0,18±0,15	32	0,34±0,10	0,42±0,17
1,80	0,48±0,10	44	0,34±0,09	31	0,48±0,10	0,47±0,14

^a Pourcentage mesuré par rapport à ce qui a été appliqué a été calculé dans un premier temps par la formule suivante ((taux d'application *aire)/poids de sol), avant de faire le ratio teneur mesurée/teneur attendue

Au niveau de l'AMPA, les teneurs mesurées étaient similaires à 24 heures et 48 heures après l'application, ne montrant d'augmentation évidente entre ces deux temps.

2.3.2 Évolution des teneurs en cations échangeables dans les sols

En ce qui concerne les teneurs en cations échangeables mesurées dans les sols, aucune différence significative n'a été observée pour le potassium, manganèse, zinc et le fer, quel que soit le traitement (Tableau 2.3), contrairement aux autres cations pour lesquels l'analyse à mesures répétées a permis d'identifier des différences entre le témoin et les sols traités.

Tableau 2.3 Moyennes \pm déviation standard de la teneur en cations échangeables du sol en mg kg⁻¹ pour les jours 1, 2 et 4 après l'application de HBG.

Élément	Dose g ha ⁻¹	1 jour	2 jours	4 jours ^a	Moyenne
		mg kg ⁻¹ ^b			
Ca ²⁺	0	4979 \pm 172	5635 \pm 270	5456 \pm 352	5357 B
	0.90	5105 \pm 139	5652 \pm 286	5622 \pm 709	5460 A
	1.80	5425 \pm 284 *	5537 \pm 383	5483 \pm 312	5482 A
Effet t vs.		a	B	B	
Mg ²⁺	0	89,83 \pm 4,40	104,65 \pm 8,33	85,59 \pm 7,54	93,35 A
	0,90	96,96 \pm 5,91 *	102,65 \pm 5,30	78,57 \pm 10,89	92,72 B
	1,80	97,37 \pm 8,53*	99,68 \pm 7,13	71,80 \pm 6,09	89,62 B
Effet t vs. dose		a	A	B	
K ⁺	0	75,10 \pm 2,57	76,37 \pm 3,74	74,59 \pm 5,54	75,35
	0,90	74,15 \pm 2,13	79,34 \pm 2,22	76,06 \pm 8,56	76,51
	1,80	74,82 \pm 3,34	77,5 \pm 6,04	75,82 \pm 5,57	76,05
Effet t vs. dose		ns	Ns	Ns	
Mn ²⁺	0	40,34 \pm 1,73	44,50 \pm 4,15	42,28 \pm 4,41	42,37
	0,90	41,90 \pm 3,04	43,80 \pm 1,70	42,16 \pm 3,38	42,62
	1,80	41,09 \pm 4,28	43,39 \pm 4,53	42,26 \pm 3,64	42,25
Effet t vs. dose		ns	Ns	Ns	
Zn ²⁺	0	1,378 \pm 0,235	1,650 \pm 0,232	1,321 \pm 0,154	1,450
	0,90	1,491 \pm 0,313	1,896 \pm 0,192	1,139 \pm 0,144	1,509
	1,80	1,298 \pm 0,400	1,578 \pm 0,533	1,247 \pm 0,248	1,374
Effet t vs. dose		ns	Ns	Ns	
Cu ²⁺	0	1,637 \pm 0,081	1,913 \pm 0,192	1,512 \pm 0,144	1,687 B
	0,90	1,749 \pm 0,167	1,980 \pm 0,180	1,734 \pm 0,302	1,821 A
	1,80	1,759 \pm 0,159	1,580 \pm 0,162	1,976 \pm 0,118	1,771 A
Effet t vs. dose		a	B	C	
Fe ²⁺	0	117,5 \pm 3,3	132,4 \pm 6,0	119,01 \pm 7,9	123,0
	0,90	117,7 \pm 2,7	135,7 \pm 4,3	126,76 \pm 13,8	126,7
	1,80	122,7 \pm 8,6	128,0 \pm 11,1	128,97 \pm 7,1	126,5
Effet t vs. dose		A	A	A	

^a ns : non significatif. Chaque moyenne présentée dans ce tableau correspond à 9 réplicas. Pour chaque colonne, la différence statistique a été identifiée par différentes lettres quand p<0,05 selon la nomenclature suivante : * pour l'effet dose au temps 1 (début de l'analyse à temps répété); a, b ou c pour l'effet temps vs. dose (issue de l'analyse à temps répétée, test de G-G); A, B ou C pour l'effet concentration indépendamment du temps pour l'ensemble de l'expérience (test G-G)

^b les cations ont été mesurés seulement pour les trois premiers temps à savoir 24, 48 et 96 heures afin de voir l'effet immédiat de l'application d'HBG sur les cations, et de faire le lien avec la microbiologie pour laquelle les impacts ont été mesurés 96 heures après application.

^c l'effet temps vs dose vérifie s'il y a une différence significative combinée du temps et de la dose appliqué, c'est à dire si il y a un effet entre chaque temps dépendamment de la dose appliquée. Lorsque la différence est significative, cela est illustré par une lettre différente (a,b ou c).

Pour le Ca^{2+} échangeable une différence significative a été observée pour la dose la plus haute, dès 24 heures après application de HBG par rapport aux autres traitements ($p < 0,0001$ pour le témoin vs. $1,80 \text{ kg i.a. ha}^{-1}$ et $p = 0,0033$ pour $0,90$ vs. $1,80 \text{ kg i.a. ha}^{-1}$), avec une teneur disponible plus élevée dans les sols traités avec la plus forte concentration d'ingrédient actif. L'analyse à mesures répétées sur 96 heures après application de HBG a révélé un effet temps vs. dose entre 24 et 48 heures après application pour la dose la plus élevée ($p = 0,0477$ pour le témoin vs. $1,80 \text{ kg i.a. ha}^{-1}$ et $p = 0,0153$ pour $0,90$ vs. $1,80 \text{ kg i.a. ha}^{-1}$). Une tendance similaire a été observée pour le Mg^{2+} , avec des teneurs supérieures, 24 heures après application, dans les sols traités par rapport au témoin ($p = 0,0290$ pour le témoin vs. $0,90 \text{ kg i.a. ha}^{-1}$ et $p = 0,0216$ pour le témoin vs. $1,80 \text{ kg i.a. ha}^{-1}$) (Tableau 2.3). Par contre aucune différence entre les sols traités et les témoins n'a pas été observée pour 48 et 96 heures, même à la plus faible dose d'ingrédient actif. L'analyse à mesures répétées a identifié un effet temps vs. dose ($p = 0,0049$) mais avec une baisse marquée pour les sols traités entre 48 et 96 heures, conduisant à des teneurs plus faibles pour les deux doses comparées au témoin à 96 heures ($p = 0,0022$ pour le témoin vs. $0,90 \text{ kg i.a. ha}^{-1}$ et $p = 0,0011$ pour le témoin vs. $1,80 \text{ kg i.a. ha}^{-1}$) (Tableau 2.3).

Enfin pour le Cu^{2+} échangeable, aucune différence entre les traitements n'a été observée 24 heures après application, mais l'analyse à mesures répétées a révélé un effet temps vs. dose hautement significatif ($p < 0,0001$). Les teneurs mesurées ont été supérieures pour la dose maximale par rapport au témoin et à la dose minimale 96

heures après application ($p = 0,0037$ pour le témoin vs. $0,90 \text{ kg i.a. ha}^{-1}$ et $p = 0,0393$ pour le témoin vs. $1,80 \text{ kg i.a. ha}^{-1}$), montrant une augmentation de Cu^{2+} échangeable dans le temps après application de HBG.

2.3.3 Évolution des teneurs en oxy-hydroxydes métalliques dans les sols

Un effet des différents traitements dans le temps a été observé sur les teneurs en oxydes d'aluminium (Al_{cdb}) et de manganèse (Mn_{cdb}) dans les sols (Tableau 2.4). Ces différences sont mesurables dès 24 heures après application de HBG pour les Mn_{cdb} , les teneurs des sols traités étant significativement plus faibles que celles des sols témoins. Pour Al_{cdb} , la différence n'est mesurable qu'entre 48 et 96 heures après application de HBG (Tableau 2.4). En effet, les teneurs augmentent significativement pour les sols traités à l'opposé du témoin qui ne montre pas de changement. Les teneurs en oxydes de fer (Fe_{cdb}) n'ont quant à elles pas varié entre les traitements.

Tableau 2.4. Valeurs des analyses à mesures répétées pour les différents oxydes et hydroxydes du sol pour 1, 2, 4, 7, 14 et 28 jours après l’application de HBG.

Effet	Dose ^b	24 heures ^c	Temps ^d	Dose	Temps vs dose
DF ^a		2	2	2	4
Al _{cdb} ^e	0	1339±74			
	0,90	1319±64	0,0029*	0,6635	0,0013*
	1,80	1252±115			
Fe _{cdb}	0	4289±123			
	0,90	4088±85	0,0004*	0,8859	0,1139
	1,80	4132±94			
Mn _{cdb}	0	231,0±49,2			
	0,90	211,4±184,5 *	0,2117	0,5287	0,0011 *
	1,80	206,0±69,2 *			

^aD.F : degré de liberté *significativement différent car hypothèse H0 est rejetée (p<0,05)

^bLes doses 0; 0,90 et 1,80 sont exprimées en kg i.a. ha⁻¹

^cPour T1, les résultats correspondent à la valeur des oxydes en mg kg⁻¹, alors que pour les autres paramètres il s’agit de la p-value, obtenue suite au test Greenhouse-Geisser dans les analyses à temps répété. Enfin ^ecdb: extraction au citrate-dithionite-bicarbonate

2.3.4 Évolution des différentes formes de phosphore dans les sols

Les différentes formes du phosphore ont été analysées sur 28 jours de l’expérience (Figure 2.1). Les deux formes de phosphore qui ont montré des différences suite à l’application de HBG sont le phosphore échangeable (P_{ex}) le phosphore fixé sur les oxydes (P_{cdb}). Le phosphore incorporé dans l’apatite (P_{apa}) et le phosphore organique (P_{org}) n’ont pas présenté de différences significatives entre le témoin et les sols traités tout au long de l’expérience (Tableau 2.5). Pour le P_{ex} qui représentait la fraction facilement lixiviable, il n’y avait pas de différence significative entre les traitements au début de l’expérience à 24 heures après application (Figure 2.1.a). Mais dès 48 heures, les teneurs dans le témoin étaient inférieures à celles dans les sols traités,

avec un effet dose significatif pour l'ensemble de l'expérience ($p = 0,0089$) et un effet temps vs. dose jusqu'à 28 jours après application ($p = 0,0101$), montrant une évolution différente des teneurs de phosphore échangeable selon les traitements (Tableau 2.5). Pour le P_{cdb} , les teneurs des sols traités étaient significativement plus faibles que celles des sols témoins dès 24 heures après application ($p = 0,0054$ pour le témoin vs. $0,80 \text{ kg i.a. ha}^{-1}$ et $p = 0,0112$ pour témoin vs. $1,80 \text{ kg i.a. ha}^{-1}$) (Figure 2.1.b). L'analyse à mesures répétées a ensuite mis en évidence un effet temps vs. dose entre 48h et 28 jours d'expérience ($p = 0,0139$) (Tableau 2.5).

Tableau 2.5. Valeurs des analyses à mesures répétées pour les différentes formes de phosphore du sol pour 1, 2, 4, 7, 14 et 28 jours après application de HBG.

Effets	D.F ^a	P_{ex}	P_{cdb}	P_{apa}	P_{org}	Phosphatase
Temps	5	<0,0001*	<0,0001*	0,3977	<0,0001*	0,0192*
Doses	2	0,0089*	0,1949	0,8045	0,1089	0,2852
Temps x Dose	10	0,0100*	0,0139*	0,3514	0,3661	0,0590

^aD.F : degré de liberté *significativement différent car hypothèse H_0 est rejetée ($p < 0,05$)
 Les résultats correspondent à la p value, obtenue suite au test Greenhouse-Geisser dans les analyses à mesures répétées. Ex : échangeable ; cdb : fixé sur les oxydes ; apa : fixé sur apatite ; org : organique

L'activité phosphatase acide présente une différence entre les sols témoins et les sols ayant reçu la plus forte dose de HBG, 24 heures après application ($p = 0,0343$). La probabilité n'est pas hautement significative et de plus l'analyse à mesures répétées n'a pas mis en évidence d'effet de la dose appliquée de façon globale ou dans le temps (Tableau 2.5). La grande variabilité dans les résultats de la phosphatase a pu masquer certains effets et rendre difficile l'observation des effets des traitements sur cet indicateur (Figure 2.1.e).

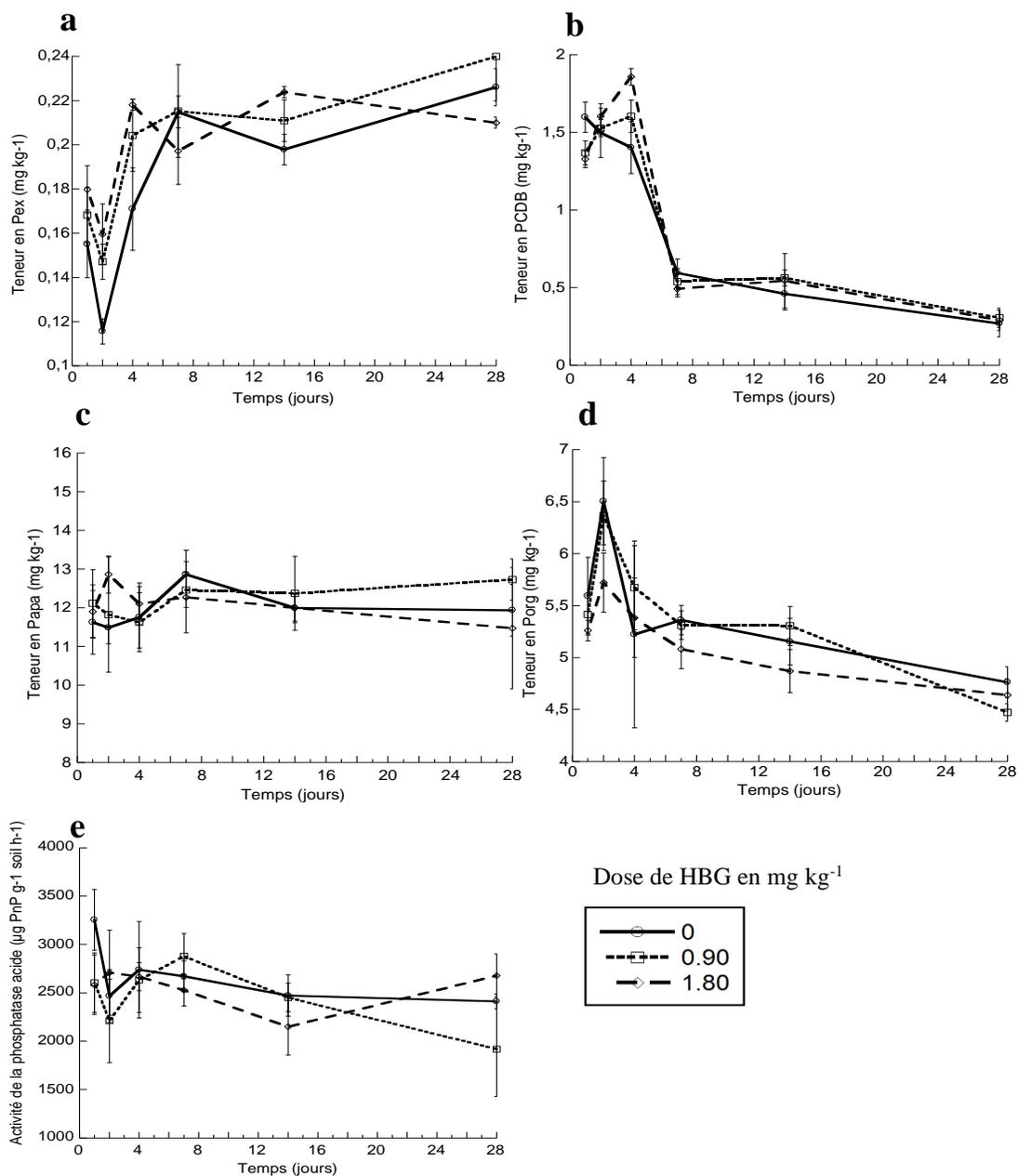


Figure 2.1. Analyses à mesures répétées de l'évolution du phosphore pendant 28 jours, en utilisant l'extraction séquentielle du phosphore a) P échangeable, b) P fixé sur les oxydes métalliques, c) P incorporé dans l'apatite, d) P organique et e) la phosphatase acide.

2.3.5 Évolution de la communauté microbienne dans les sols

Aucune différence significative entre les traitements n'a été identifiée quatre jours après l'application des doses de HBG pour le nombre total d'OTU (*operational taxonomic units*) par catégorie (Figure 2.2). L'indice de diversité globale du sol n'a pas montré de différence entre les traitements pour aucune des trois grandes classes de micro-organismes (bactéries, champignons, protistes) (Figure 2.2), signifiant que le nombre d'individus au sein de chaque espèce est équivalent. L'indice de diversité globale du sol est le plus haut pour les bactéries sans être toutefois significativement différent d'un traitement à l'autre (Figure 2.2).

Les analyses en coordonnées principales (PCoA) sont des analyses multivariées qui utilisent des matrices d'associations pour montrer la dissimilitude de la composition taxonomique des trois grandes classes de micro-organismes entre les trois doses d'application de HBG. Les deux axes identifiés par l'analyse permettent d'identifier 30,4 % des variations observées pour les bactéries (Figure 2.3.1), 46,1 % pour les champignons (Figure 2.3.2) et 37,2 % pour les protistes (Figure 2.3.3). Les réplicas du témoin apparaissent plus regroupés que ceux des sols traités avec des doses de HBG. Cela suggère une plus grande variabilité des communautés dans les sols ayant subi une application de HBG. Cependant, cette plus grande variabilité n'a pas permis de mettre en évidence une différence significative au niveau de l'abondance des espèces entre les sols traités et le témoin. La classe de micro-organismes qui semble présenter la plus grande différence entre les trois traitements est celle des protistes (Figure 2.3.3).

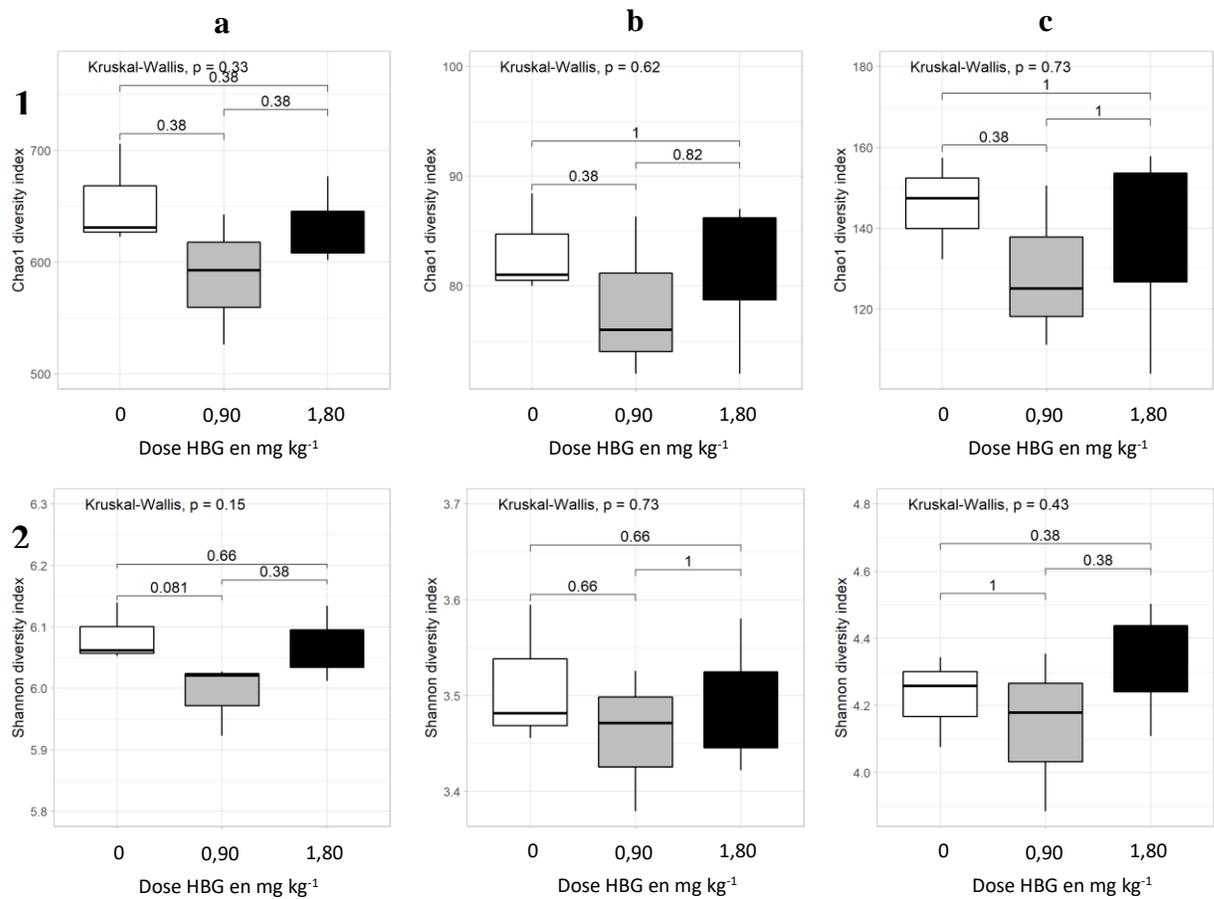


Figure 2.2. Diversité alpha microbienne 4 jours après l'application de HBG suivant les doses 0 ; 0,90 et 1,80 kg i.a. ha⁻¹ pour les différents groupes taxonomiques a) bactéries, b) champignons et c) protistes à l'aide des indices globaux Chao1 (1) et Shannon (2).

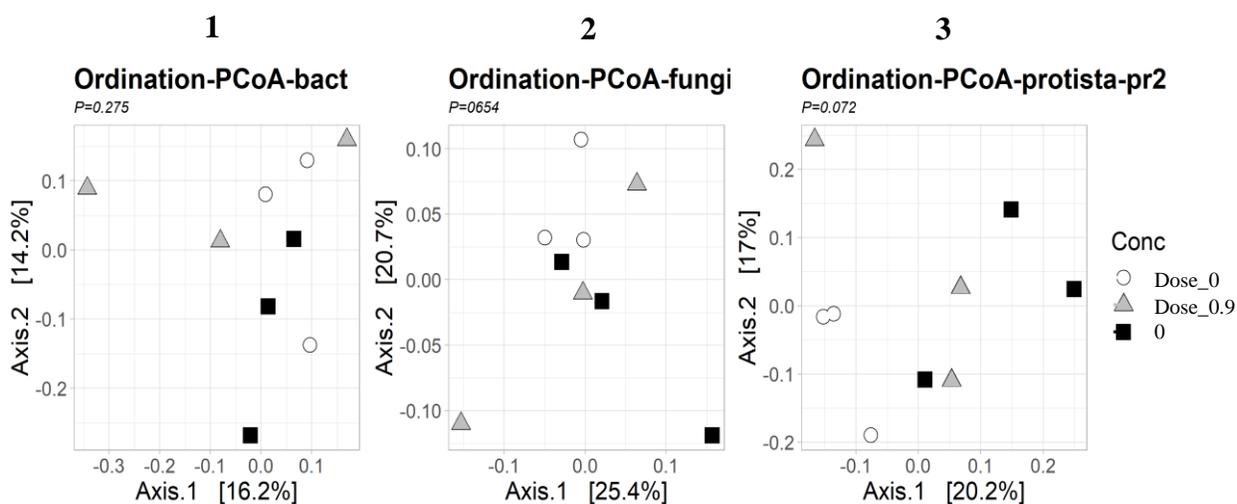
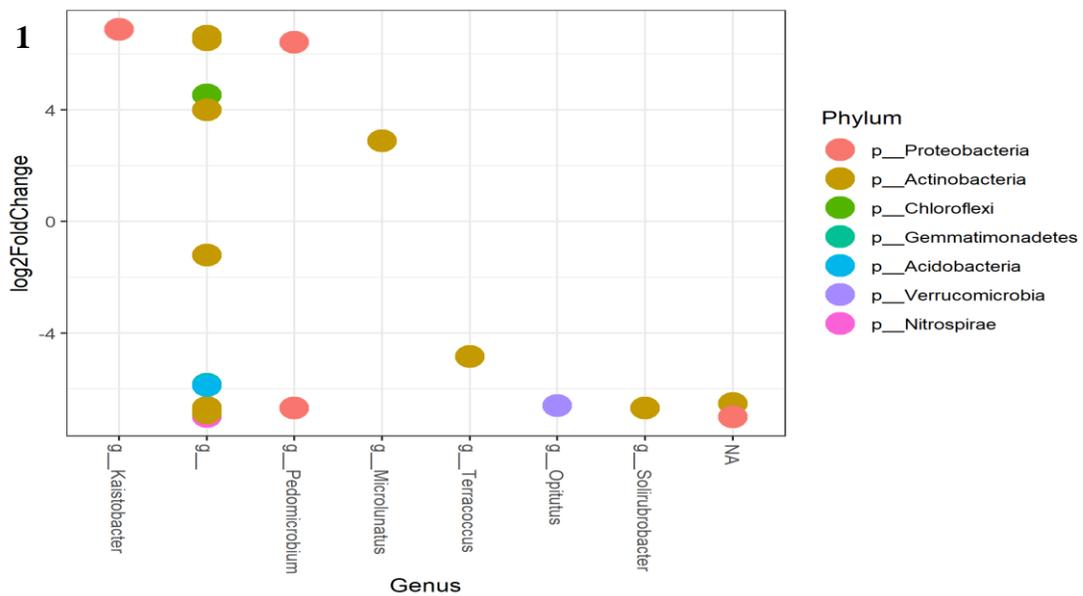


Figure 2.3. Analyse PCoA basée sur les distances pondérées pour 1) bactéries, 2) champignons et 3) protistes, en fonction des différents traitements 0 ; 0,90 et 1,80 kg i.a. ha⁻¹.

L'analyse de composition du microbiome a permis de pousser plus loin la sensibilité de l'analyse pour voir, de façon exploratoire, si le HBG a eu des effets sur les différentes variantes de séquences d'amplicon (ASV), qui prend en compte les dépendances entre les Unités taxonomiques opérationnelles (OTU) (Figure 2.4). Du fait de la présence en grande quantité de taxons 'rares' n'apparaissant pas dans tous les échantillons et ne représentant qu'une toute petite partie des fonctionnalités du sol, ce traitement de données n'a pas permis de mettre en évidence les espèces impactées dans les sols traités par rapport aux sols témoins. Le poids W (nombre de fois où on observe un rejet de l'hypothèse d'une différence significative entre le témoin et les sols traités pour chaque espèce) est donc faible, aussi bien pour les bactéries, que les champignons ou les protistes.

Les données ont aussi été traitées avec la méthode DESeq2, en utilisant une normalisation RLE (*Relative Log Expression*), basée sur l'hypothèse que la plupart des

gènes ne sont pas exprimés de manière différentielle. Ce facteur tient compte de la médiane des ratios de ses comptages par rapport à sa moyenne géométrique entre les différents échantillons. Les résultats ne montrent pas d'espèces significativement impactées pour aucun des trois grands groupes par les applications de HBG aux doses appliquées quatre jours après application, même en ayant augmenté le seuil de signification. Les résultats obtenus pour les bactéries montrent un petit nombre d'espèces proches du seuil significatif et une pour les champignons. Par contre pour les protistes, les valeurs de probabilité ajustées sont très éloignées du seuil significatif (Figure 2.4).



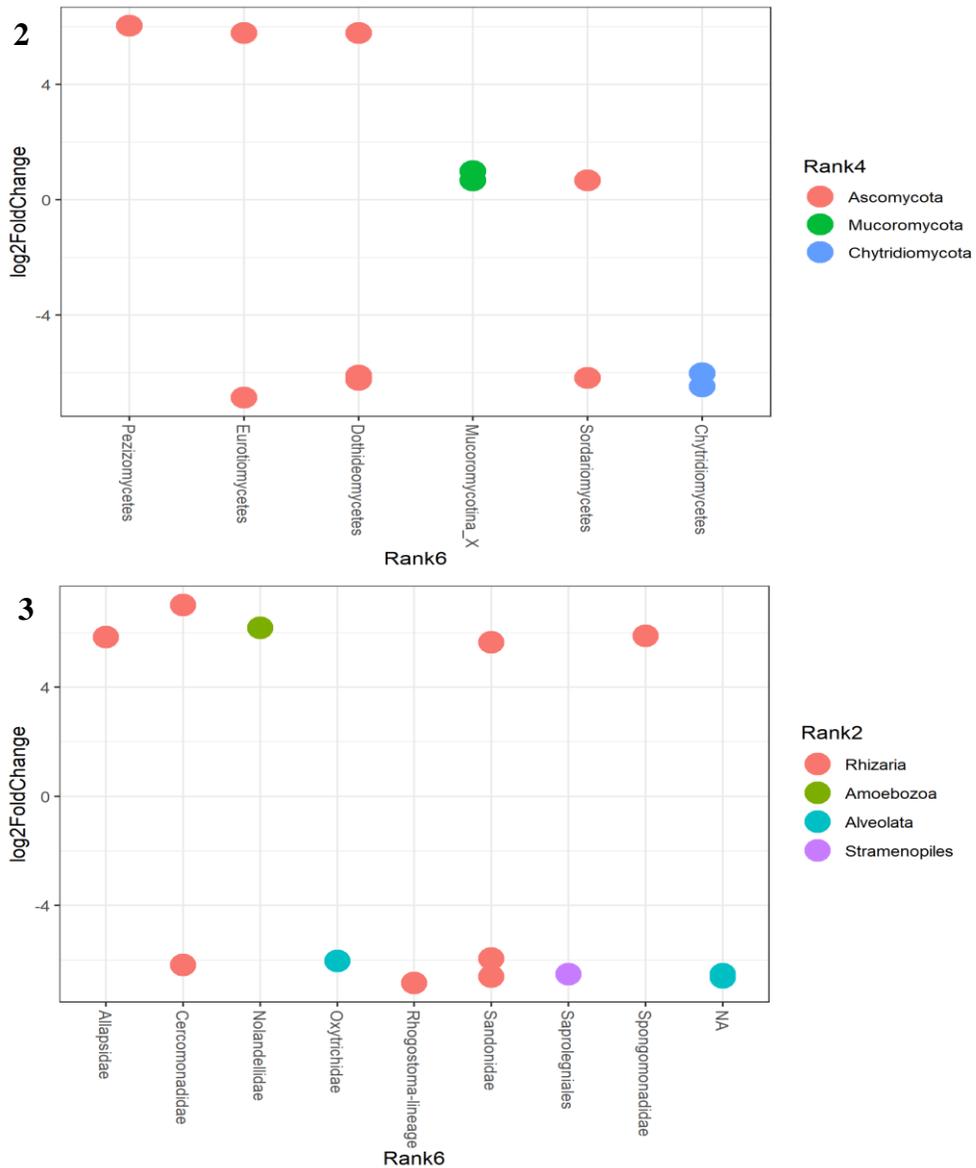


Figure 2.4. Effet de l'application de HBG sur 1) les bactéries, 2) les champignons et 3) protistes en utilisant l'analyse de composition de microcosme (ANCOM), par comparaison entre le témoin et la concentration maximale ($p < 0,1$). Plus les points représentant les différents phylums sont proches de 0, plus les changements dans la composition de la communauté sont significatifs.

2.4 Discussion

2.4.1 Risque de lixiviation des nutriments déclenché par l'application de HBG :

Les résultats de cette étude montrent une disponibilité du glyphosate immédiatement et pendant plusieurs jours après application de HBG. En effet, 52,7 % et 44 % de l'ingrédient actif glyphosate s'est retrouvé sous forme extractible à l'eau dans le sol pour les doses 0,90 et 1,80 kg i.a. ha⁻¹ respectivement. Malgré que les teneurs aient diminué d'un facteur 1,5 entre 24 heures et 48 heures après l'application de HBG, une part du glyphosate ne se fixe pas immédiatement dans les sols. C'est une observation confirmée par d'autres études en laboratoire qui ont défini plusieurs étapes dans la dynamique du composé juste après application: une phase relativement courte où le glyphosate est dans la fraction labile et peut être soit dégradé par les micro-organismes, soit interagir avec les différents éléments du sol (Borggaard and Gimsing, 2008). Dans les sols de notre étude, une part du glyphosate a commencé à se dégrader rapidement dans les sols, mis en lumière par la présence d'AMPA déjà 24 heures après l'application de HBG quelle que soit la dose appliquée. Cette dégradation rapide a été due aux conditions optimales de l'expérience, avec notamment une température ambiante comprise entre 20 et 25 °C, sur sol nu et non stérile, avec un pH de 7,5 et une humidité du sol constante permettant une bonne croissance et activité microbienne. L'AMPA est détecté aussi à 48 heures aux mêmes teneurs que 24 heures après l'application, montrant une teneur constante d'AMPA extractible à l'eau. Une partie de ce composé a pu se dégrader ou se fixer plus fortement aux particules de sol, tout en conservant des teneurs extractibles à l'eau constante tant qu'il y a des apports renouvelés par la dégradation du glyphosate. Une autre partie de ce composé a pu rester dans la fraction labile à plus long terme, tel qu'illustré dans le chapitre 1, où les résultats montraient des teneurs en AMPA extractibles à l'eau dans la majorité des échantillons

sur les trois années d'étude. Dans son étude menée en parallèle de la présente étude en serre, Smedbol *et al.*, (2019) ont observé une augmentation des teneurs d'AMPA dans les racines des plans de soya avec le temps dans les quelques jours ayant suivis l'application de HBG. Ils ont également mis en lumière les effets phytotoxiques de l'AMPA sur les plans de soya résistants aux HBG et les risques que cela peut avoir sur la productivité des cultures. La phase de disponibilité du glyphosate et de l'AMPA que l'on étudie dans cette étude jusqu'à 96 heures après l'application de HBG est donc primordiale pour comprendre la dynamique de ces composés dans le sol, car c'est à ce moment-là que ces composés peuvent être absorbés par les plantes ou organismes non cibles ou impacter la disponibilité des nutriments du sol.

Le fer, le manganèse, le zinc et le potassium n'ont pas été impactés par l'application de HBG ni au moment de l'application, ni dans les jours qui ont suivis. Cela peut s'expliquer par leur faible solubilité à pH neutre. Ces cations se retrouvent souvent plus immobiles sur les surfaces d'adsorption telles que les oxydes et les argiles et pourraient jouer un rôle plus important dans les mécanismes d'adsorption du glyphosate et de l'AMPA dans les sols, en augmentant l'adsorption de ces deux composés par formation de complexes peu solubles (Hensley *et al.*, 1978; Bailey *et al.*, 2002; Bernard *et al.*, 2005). Il a été observé que la formation de ces complexes glyphosate-cation est associée à une diminution de l'effet herbicide du glyphosate dans les plantes (Bernard *et al.*, 2005) qui, complexé avec ces éléments, devient moins soluble et peut être moins absorbé par les plantes (Eker *et al.*, 2006; Oztuck *et al.*, 2008; Zobiolo *et al.*, 2010). Ces éléments pourraient jouer un rôle plus important dans la fixation du glyphosate dans les sols.

À l'opposé, les applications de HBG de notre étude ont augmenté la fraction labile de certains cations essentiels. Les teneurs en magnésium et calcium ont significativement augmenté suite à l'application (Tableau 2.3), laissant supposer que l'application de HBG pourrait favoriser la formation de complexes solubles entre le glyphosate et ces cations majeurs. Trois mécanismes seraient possibles : une modification du pH, la formation de complexes et/ou des changements des conditions d'oxydo-réduction du sol. Les cations adsorbés plus fortement dans les sols sont disponibles à long terme pour les plantes et les micro-organismes grâce à des hydrolyses microbiennes ou des changements importants de la physico-chimie des sols. Dans nos sols, le pH n'a pas montré de différences significatives entre les traitements, démontrant que l'augmentation des teneurs en cations dans la fraction labile du sol traité ne provenait pas d'une modification de pH. Par contre à pH 7,5 comme observé dans les sols, le magnésium et le calcium sont généralement assez solubles, montrant que la baisse de rétention des cations pourrait venir majoritairement des mécanismes de complexation avec le glyphosate. Grâce à son pouvoir chélatant, le glyphosate peut former des complexes solubles avec le calcium et le magnésium dont le coefficient de solubilité est supérieur à celui des autres cations, confirmé par l'étude de Sundaram et Sundaram (1997). Ces auteurs ont aussi mis en avant un potentiel de lixiviation supérieur de ces complexes dans des sols de type loam sableux (comme dans la présente étude) comparativement aux sols de type loam argileux. Comme on peut le voir dans notre étude, les teneurs en calcium étaient élevées par rapport aux quantités de glyphosate appliquées, ceci pourrait limiter les pertes en calcium, qui pourraient avoir des impacts négatifs sur les cultures en cas de trop fort lessivage de calcium au cours d'un épisode pluvieux. Le magnésium par contre semble être l'élément le plus affecté par le glyphosate, en cohérence avec certaines études montrant une carence en magnésium dans les cultures suite à l'application de HBG (Cakmack *et al.*, 2009). Le

rôle primordial du magnésium dans les processus microbiens et aussi chez les plantes, peut rendre préoccupant une carence en cet élément en cas de trop grande proportion lessivée. De plus, le calcium et le magnésium jouent un rôle clé dans la neutralisation de l'acidité, le maintien de l'activité biologique générale et la structure du sol. Cette différence marquée entre les sols traités et le témoin n'a plus été observée 48 heures après application pour les deux cations, signe d'un effet immédiat et très court du HBG sur leur rétention. Le risque de lessivage de ces éléments est limité dans le temps et dépendrait des conditions climatiques juste au moment de l'application. Pour le magnésium, la tendance s'est même inversée puisque les teneurs dans les sols traités étaient plus basses que dans le témoin. Une adsorption du complexe dans les sols pourrait le rendre difficilement extractible et expliquer la différence de comportement avec le calcium. Cela met en lumière un des mécanismes de sorption du glyphosate dans les sols et le rôle que peuvent jouer les cations dans la rétention du glyphosate peu de temps après application de HBG.

Les HBG n'ont pas eu d'effet juste après application sur la rétention du cuivre dans le sol, comme pour le magnésium et le calcium. Par contre, les teneurs en Cu^{2+} échangeable ont augmenté significativement 96 heures après application, avec des teneurs supérieures dans les sols traités même à la plus faible dose par rapport au témoin. Cela pourrait être dû à la formation d'un complexe Cu-glyphosate (Glass, 1987; Motekaitis et Martell, 1985; McBride et Kung, 1989; McBride, 1991), assez soluble pour provoquer une baisse de la rétention du Cu^{2+} dans le sol et le rendant plus sensible au lessivage. Le Cu^{2+} pouvait être lié à des surfaces minérales (McBride, 1991) et organiques (Undabeytia *et al.*, 1996). Morillo *et al.*, (1997) ont observé une désorption du glyphosate avec une augmentation des concentrations en Cu^{2+} appliquées, démontrant l'implication de ce cation dans le processus de sorption du glyphosate. Ces

auteurs confirment que la complexation et la rétention des cations dépendent du pH et du type de sol principalement. Par contre, plusieurs auteurs ont observé une plus grande fixation dans les sols du glyphosate et du Cu^{2+} en conditions de laboratoire quand ces deux composés sont présents dans la solution, lorsque le cation sert de pont entre les surfaces du sol et le glyphosate (Hensley *et al.*, 1978; Morillo *et al.*, 2000). La formation de ces complexes modifie les charges électriques du glyphosate, favorisant la réaction avec les surfaces chargées négativement dans le sol (Morillo *et al.*, 2000). Le cuivre est également capable de réduire la réaction de dégradation du composé (Nowack et Stone, 2003) par adsorption dans les sols et de fait les soustraire à l'action des micro-organismes capables de le dégrader.

Ainsi la complexation des cations par le glyphosate grâce à ses groupes fonctionnels pourrait favoriser une plus grande quantité de cations dans la fraction labile dans la couche superficielle du sol, plus susceptibles d'être lessivés et donc perdus pour les plantes cultivées. Les ions de fer, de manganèse, de zinc et potassium peu solubles présentent peu de risques d'être lessivés dans un loam sableux comme celui utilisé dans la présente étude. Pour les ions magnésium et calcium, même complexés, au vu de leur solubilité, le risque de lessivage existe mais pendant seulement une très courte période de temps après l'application de HBG (moins de 48 heures). L'implication de ces deux cations dans les processus d'adsorption des différents composés du sol (notamment pour les composés avec des groupements phosphates) dans le maintien du pH du sol, les rend très dépendants des conditions physicochimiques du sol. Le Cu^{2+} est le cation qui présente le plus de risque d'être lessivé plusieurs jours après application. Cet élément-trace présent en faibles quantités dans les sols, comparé aux autres cations, n'en reste pas moins un des facteurs

déterminant dans la rétention du glyphosate dans les sols et peut participer au lessivage du glyphosate dans les sols.

Les phosphates dans le sol ont un processus d'adsorption semblable à celui du glyphosate, par la formation de complexes avec les cations favorisant la liaison avec les surfaces du sol tel que la matière organique (Levesque et Schnitzer, 1967) ou les surfaces minérales (Waiman *et al.*, 2016). Une compétition entre le glyphosate et le phosphore pour les mêmes sites d'adsorption pourrait favoriser le passage dans la fraction labile d'un des deux composés. Il a souvent été rapporté dans la littérature que l'adsorption du glyphosate dans les sols était réduite par l'ajout de phosphate (Gimsing *et al.*, 2007; Càceres-Jensen *et al.*, 2009). Mais à l'inverse la possibilité de désorption du phosphate avec application de glyphosate a été peu étudiée. Ainsi dans notre étude, les différentes formes de phosphore du sol ont été mesurées pendant 28 jours après application afin de voir si le HBG a eu un effet sur la rétention du phosphore dans le sol. Une augmentation du phosphore échangeable combinée à une diminution du phosphore incorporé dans les oxydes a été observée dès 24 heures après l'application, montrant une baisse de la rétention du phosphore. Le phosphore, pourtant très peu soluble, pourrait être désorbé par compétition avec le glyphosate pour des sites communs d'adsorption dans les loams sableux. Ces résultats sont confirmés par l'étude de Waiman *et al.*, (2016) qui ont montré que l'application de glyphosate à long terme peut affecter la rétention du phosphore inorganique et sa disponibilité dans les sols.

Dans le sol de notre étude, le phosphore organique n'a pas été affecté par les applications de glyphosate. Cette forme de phosphore peut jouer un rôle important dans la fertilité du sol lorsqu'elle devient assimilable après minéralisation (Turner et Engelbrecht, 2011). La transformation du phosphore d'une forme organique en une

forme inorganique est catalysée par l'enzyme de la phosphatase (Zimmermann, 2003; Reed *et al.*, 2011). L'activité de la phosphatase dépend directement de la teneur en orthophosphate dans le sol (Poirier et Bucher, 2002). Nos résultats sont en accord avec le fait qu'il n'y avait pas de carence en orthophosphate dans le sol pour les micro-organismes puisque l'activité de la phosphatase n'a pas augmenté au cours de l'expérience. Le glyphosate peut aussi inhiber directement l'activité de la phosphatase par blocage du site actif de l'enzyme en se substituant à la place du phosphore (Gianfreda et Sannino, 2001). Platkowski et Telesinski (2016) ont aussi observé un effet négatif de l'herbicide sur la phosphatase et de façon plus large sur l'activité enzymatique dans les sols loameux, mais à des doses largement supérieures (10 ou 100 fois plus) à celles utilisées dans notre étude, montrant une vulnérabilité des populations suite à l'exposition aux HBG. Cela confirme qu'aux doses appliquées dans notre étude, le HBG n'impacte pas l'activité de la phosphatase.

Les conditions d'oxydo-réduction sont importantes pour la biodisponibilité et la mobilité du glyphosate dans les sols (Kanissery *et al.*, 2015). Le glyphosate s'adsorbe fortement sur les argiles, les oxydes de fer et d'aluminium (Sheals *et al.*, 2002). Les surfaces à charges variables (dépendantes des conditions physico-chimiques du sol) tel que les oxydes contribueraient majoritairement à l'adsorption du glyphosate contrairement aux sites à charge permanentes (indépendantes des milieux) (Ololade *et al.*, 2014). Mais les argiles présentent aussi des surfaces à charge variables (aluminosilicates) qui sont l'intermédiaire entre les oxydes et les silicates au niveau des charges. Les oxydes présents dans le sol expliquent donc en grande partie la capacité d'adsorption du glyphosate dans les sols, notamment les oxydes de fer et d'aluminium (Nomura et Hilton, 1977; Piccolo *et al.*, 1994; Day *et al.*, 1997). Les substances organiques peuvent réagir avec les oxydes, par exemple pour la réduction des ions

ferriques Fe^{3+} immobiles en ions ferreux Fe^{2+} mobiles, impactant de ce fait les surfaces d'adsorption des oxydes. Des changements physicochimiques dans le sol suite à l'application de HBG ont pu modifier les charges variables à la surface des oxydes à cause de la baisse de rétention des cations dans le sol par exemple.

Ainsi, dans notre étude, ni le fer échangeable extrait avec la méthode Mehlich III, ni celui sous forme d'oxy-hydroxydes (Fe_{cdb}) ne semblent avoir été impactés par les applications de HBG aux différentes doses. Cela est en concordance avec les résultats pour le fer échangeable mesuré dans les sols, dont les teneurs étaient similaires dans le témoin et les sols traités quel que soit le temps (Tableau 2.2). Par contre le HBG a impacté la teneur totale en oxydes d'aluminium par une augmentation marquée des teneurs en oxyde dans le sol témoin 96 heures après application, même à la concentration la plus faible (0,80 mg i.a. kg^{-1}). Cela pourrait être dû à une oxydation des ions Al^{3+} de la solution du sol, à cause de changements sur les conditions redox du sol par le HBG. À l'opposé, les teneurs en oxydes de manganèse étaient supérieures dans le sol témoin par rapport aux sols traités 24 heures après application, illustrant une possible réduction des oxydes de manganèse au moment de l'application. L'impact du HBG a été très court puisque dès 48 heures après application, le témoin et les sols traités n'étaient plus significativement différents. Dans les sols, la plus grosse partie du manganèse est présente sous forme oxydée (trivalent ou tétravalent), majoritairement en birnessite (Potter et Rossman, 1979) qui possède une grande surface d'adsorption et une capacité d'échange cationique élevée. Ce minéral peut baisser la disponibilité des cations par piégeage à l'intérieur de la structure du minéral (Manceau et Charlet, 1992). Cette structure représente un site privilégié d'adsorption dans le sol pour le glyphosate (Ololade *et al.*, 2014; Borggaard and Gimsing, 2008). Une réduction du manganèse dans les sols traités a pu entraîner des changements dans la rétention des cations, car cela

diminue les surfaces d'adsorption pour les cations et le glyphosate. Quand le manganèse est réduit, il y a libération des ions manganèse dans la solution des sols. Mais cela n'augmente pas forcément la quantité de cet élément dans la fraction labile car les ions libérés sont en général réadsorbés par les argiles, comme le suggèrent nos résultats qui n'ont pas montré d'augmentation des teneurs de manganèse échangeable dans les sols traités. Les cations réduits peuvent aussi être réoxydés rapidement par l'air à la surface des oxydes (Barrett and McBride, 2005). De plus, la littérature a montré le potentiel d'oxydation chimique du glyphosate par la birnessite (Barrett et McBride, 2005). Cela peut entraîner une dégradation abiotique du glyphosate. Le glyphosate favoriserait la réduction du manganèse lors du processus de dégradation en sarcosine lorsqu'il est adsorbé en surface. Ce type de réaction entraîne une coupure de la liaison C-P de la molécule de glyphosate, libérant des phosphates, comme observé dans la présente étude. Ces changements, au niveau de la structure des oxydes dans les sols, survenus suite à l'application de HBG (Tableau 2.3), ont pu affecter la rétention des cations et du phosphore. Ces effets semblent avoir été temporaires et de très courte durée, mais mettent en évidence le risque potentiel lié à une seule application de HBG sur la rétention et le risque de passage dans la fraction labile favorable au lessivage de ces composés dans les sols et ce à des doses semblables à celles utilisées par les agriculteurs.

Nos résultats se différencient de la plupart des études qui sont effectuées en laboratoire où les conditions sont parfois éloignées de la réalité. Les autres études portant sur l'effet du glyphosate sur les nutriments se font à travers des analyses des carences dans les plantes ce qui ne permet pas d'expliquer les mécanismes dans le sol. Notre étude apporte des éléments clés pour mieux comprendre les effets du glyphosate sur la rétention des cations dans les sols, avec des conditions réalistes qui se rapprochent des conditions réelles. Ces changements chimiques importants après

application de HBG peuvent impacter la microbiologie des sols, positivement par la présence de substrat rapidement utilisable (glyphosate) et par le passage dans la fraction labile de certains éléments nutritifs, mais aussi négativement avec des risques de toxicité liée à une forte exposition au HBG et à la création d'AMPA ou à des carences à certains nutriments présents sous forme complexée disponible mais pas forcément assimilables par les micro-organismes.

2.4.2 Effets sur les communautés microbiennes des sols

Pour les bactéries, la diversité générale n'a pas été impactée par l'application d'HBG aussi bien pour l'indice de Shannon que l'indice de Chao1 aux doses d'application de HBG de 0,90 et 1,80 kg i.a. ha⁻¹ utilisées dans notre étude (Figure 2.2). Ces résultats sont en accord avec les études qui ont utilisé des doses similaires aux nôtres et n'ont pas vu de différence sur la diversité des bactéries (Allegrini *et al.*, 2015; Mijangos *et al.*, 2009). A l'opposé, Imparato *et al.*, (2015) ont observé un impact sur la diversité dans une étude avec des conditions très similaires aux nôtres, soit des sols dominés par un loam sablonneux de pH 7 avec des mesures effectuées 5 jours après application du HBG. Cependant le glyphosate a été appliqué à des concentrations largement supérieures aux nôtres, avec deux applications par jour pendant 3 jours sur les plantes cultivées en serre. La différence des résultats peut s'expliquer par les teneurs en glyphosate plus faibles retrouvées dans le sol de notre étude malgré une application directe sur le sol. Cela montre que la dose et la fréquence d'application peuvent être des facteurs importants pour la diversité des bactéries dans le sol. La plupart des effets ont été observés sur l'activité générale du sol tel que la respiration, l'activité enzymatique et la diversité métabolique et ce à des doses bien plus élevées que celles utilisées pour notre étude (Busse *et al.*, 2001; Araújo *et al.*, 2003; Mijangos *et al.*, 2009). D'autres études ont confirmé que les HBG n'avaient pas d'effets sur la biomasse

et l'activité enzymatique (Savin *et al.*, 2008; Lane *et al.*, 2012; Nakatini *et al.*, 2014). Les paramètres utilisés dans notre étude ne nous permettent pas de déterminer si l'activité des bactéries a changé au cours de l'expérience, puisque nous avons utilisé uniquement des analyses génétiques. L'écosystème est constitué d'une multitude de taxons qui pourraient avoir les mêmes fonctions, créant un effet de redondance pour assurer la pérennité d'un écosystème (Allison et Martigny, 2008), même lorsqu'il y a des perturbations transitoires. Cela peut expliquer pourquoi on voit souvent une stimulation de l'activité microbienne lors de l'application de HBG (Haney *et al.*, 2000; Busse *et al.*, 2001; Lane *et al.*, 2012; Arango *et al.*, 2014) mais cela ne signifie pas pour autant que certaines espèces sensibles n'ont pas été impactées. Ces changements peuvent être masqués dans les mesures de l'activité des bactéries, par la croissance d'autres espèces tolérantes plus abondantes qui compensent la baisse d'activité des espèces sensibles. Certaines bactéries sensibles au glyphosate pourraient entrer en état de repos et réduire leur activité après l'application de HBG lorsque les conditions environnementales ne sont pas favorables (Newman *et al.*, 2016b).

On retrouve dans les sols deux types de communautés : les espèces abondantes et les espèces rares (Sogin, 2006). Dans notre étude, on observe un nombre élevé d'espèces rares qui jouent probablement un rôle fondamental dans les fonctions du sol mais qu'il n'est pas facile de mettre en avant par des analyses de diversité générales. Quand on regarde la structure des communautés bactériennes, l'application de HBG n'a pas changé leur composition, indiquant que l'herbicide ne semble pas avoir favorisé à court terme certaines populations, tant les bénéfiques que les pathogènes. À l'opposé de notre étude, des changements adaptatifs de la composition des communautés bactériennes vers des espèces plus tolérantes au glyphosate au fil du temps ont été observés, montrant des réponses différentes des populations selon leur sensibilité

(Imfeld et Villeumier, 2012; Jacobsen et Hjelmsø, 2014). D'autres études ont mis en évidence des effets sur les communautés bactériennes (Kuklinsky-Sobral *et al.*, 2005; Barriuso *et al.*, 2011; Newman *et al.*, 2016). Ces études ont utilisé dans l'ensemble des concentrations plus élevées menées soit sur plusieurs années, soit avec plusieurs applications répétées. Ces études ont permis de voir les effets que peuvent avoir les HBG, qui sont difficilement observable en conditions de champ à des doses réalistes. Ils ont aussi mis en avant le fait que certains phylums ont été plus affectés par les applications. Dans les sols de notre étude, les phylums les plus abondants étaient les actinobactéries (43,9 %), les protéobactéries (22,3 %), les acidobactéries (11,6 %) et les chloroflexies (9,8 %) (Figure 2.5). Newman *et al.*, (2016a) ont confirmé la dominance de ces phylums dans la rhizosphère des cultures de maïs et de soya. Ils sont impliqués dans les processus biogéochimiques des sols et peuvent avoir des effets sur la santé des plantes, notamment dans les interactions bénéfiques ou pathogènes (Berendsen, 2012; Lee *et al.*, 2008; Philippot *et al.*, 2013). Les actinobactéries sont le phylum qui semble le plus touchés par les applications de HBG dans l'étude de Barriuso *et al.*, (2010). Ces bactéries jouent un grand rôle dans la dégradation de la matière organique. Les protéobactéries sont un phylum très large comprenant des espèces impliquées dans les réactions de nitrification et dénitrification, dans la réduction de certains éléments, et dans la symbiose avec les plantes. Ils comprennent certains pathogènes. Newman *et al.*, (2016a) ont observé une augmentation des protéobactéries après application du glyphosate, montrant une capacité de certains taxons à utiliser l'herbicide comme source de substrat. Les acidobactéries sont quant à elles très sensibles aux changements physico-chimiques comme le pH et les nutriments (Jones *et al.*, 2009; Kielak *et al.*, 2016). Elles sont omniprésentes dans les sols mais restent cependant très peu connues du fait qu'elles soient récalcitrantes à la culture en laboratoire (Kielak *et al.*, 2009; George *et al.*, 2011). Les acidobactéries ont un rôle

dominant dans les processus biochimiques de la rhizosphère (Nye *et al.*, 2014) et sont impliquées dans les processus de dégradation de la cellulose (Eichorst *et al.*, 2011; Lee *et al.*, 2008; Stursova *et al.*, 2012). Une baisse de l'abondance de ce phylum après application de HBG a été observée dans la rhizosphère (Newman *et al.*, 2016a). À l'opposé, une augmentation de l'activité après trois jours d'application a été mise en avant par Nye *et al.*, (2014) mais pas à 7 et 30 jours, montrant un effet à très court terme et sans doute dû à la présence d'espèces capables d'utiliser le glyphosate comme substrat. Les effets sur la composition des communautés bactériennes semblent dépendre des conditions initiales du sol et des espèces présentes avant l'application. Dans la figure 2.4 de notre étude, on peut voir les différents genres bactériens pour lesquels on a pu observer une différence entre la dose la plus élevée d'application de HBG (1,90 mg i.a. ha⁻¹) et le témoin. La majorité des différences a été observée pour des genres non connus, ne donnant pas d'informations sur les fonctions du sol potentiellement affectées. Les actinobactéries sont les plus nombreuses sur le graphique, probablement parce que c'est le phylum le plus représenté dans nos sols. Les analyses statistiques de l'ANCOM ont identifié plusieurs genres microbiens qui pourraient avoir été impactés par l'herbicide : le genre *Microtholunatus* des actinobactéries accumule les polyphosphates dans les sols (Nakamura *et al.*, 1995). Il a été mesuré à une abondance relative de 1,6 %, signe d'une présence assez importante dans notre sol ainsi que le genre *Solirubrobacter* aussi des actinobactéries avec une abondance relative de 1,8 %. Les autres genres beaucoup moins représentés dans le sol sont le *Terracoccus* (actinobactéries), le *Kaistobacter* (protéobactéries), *Opitutus* (Verrucomicrobia) et enfin *Pedomicrobium* (protéobactéries) et cela pourrait expliquer la difficulté de voir une différence de composition sur la population bien marquée. Le genre *Pedomicrobium* est capable d'oxyder ou de réduire la Mn selon les espèces et jouent un rôle important dans la mobilité et la disponibilité du Mn dans les sols. Mais

ces observations restent exploratoires et nous n'avons pas pu réellement révéler à l'aide des tests statistiques, une différence significative suffisante pour affirmer d'un réel effet des applications de HBG sur les genres bactériens cités précédemment. La complexité du microcosme et la faible représentation de certaines espèces rares rendent difficile l'identification des effets lorsqu'ils sont aussi faibles. C'est une des raisons pour lesquelles les changements observés sur les compositions microbiennes ont été mis de l'avant dans la littérature scientifique à des doses plus élevées ou dans des microcosmes avec des historiques d'applications répétées, où les effets sont plus marqués.

Pour ce qui est des protistes, aucun changement n'a été constaté dans les communautés que ce soit au niveau de la diversité ou de la composition. Ces résultats confirment les tendances observées pour les bactéries, puisque les protistes sont principalement des prédateurs de bactéries (Thirup *et al.*, 2000; Johansen *et al.*, 2005, Impataro *et al.*, 2016). On s'attend à ce que les effets soient plus lents sur les populations de protistes. Ils sont un bon indicateur pour mettre en lumière des impacts dans la chaîne trophique microbienne. De plus, ils ne semblent pas avoir été directement affectés par le glyphosate, du fait qu'il y a probablement peu de protistes qui possède la voie de l'acide shikimique. En opposition à ces résultats, Imparato *et al.* (2016) ont rapporté une augmentation de l'abondance totale des protistes, 5 jours après application foliaire de HBG, liée à l'augmentation de l'abondance accrue de proies disponibles telles que les bactéries et montrant la relation positive entre les bactéries à croissance rapide et les protistes (Thirup *et al.*, 2000; Johansen *et al.*, 2005). Mais comme pour les bactéries, les doses utilisées dans ces études étaient plus élevées que celles utilisées dans la présente étude et les auteurs avaient observé une stimulation de la population bactérienne, montrant la relation entre ces deux domaines microbiens.

Les champignons n'ont pas non plus subi de changements de composition significatifs suite à l'application. Ce groupe microbien possède une forte résilience et capacité de résistance au stress environnemental. Ils dominent en nombre et en masse dans la plupart des écosystèmes du sol. Ils prélèvent le carbone nécessaire à leur métabolisme par symbiose ou par absorption dans leur environnement. Cela confirme les résultats de l'étude de Hart *et al.* (2008). Il est important de faire un suivi de ce groupe de micro-organismes très communs, car ils jouent un rôle essentiel dans l'écosystème du sol, dissolvant un grand nombre de minéraux (Alori *et al.*, 2017). Les champignons saprophytes sont des décomposeurs majoritaires de la matière organique du sol et des symbiotes associés aux plantes, assurant ainsi un rôle important dans l'accès aux nutriments par la plante (Gyaneshwar *et al.*, 2002). La catégorie des organismes de style parasite donc ayant besoin d'un hôte pour se développer doit aussi être surveillée, car de nombreuses maladies des plantes sont liées à des champignons, tel que le genre *Fusarium*. D'ailleurs un certain nombre d'études a montré que le glyphosate a tendance à favoriser le développement du *Fusarium* dans les sols, augmentant le risque de nuire aux cultures (Lévesque et Rahe, 1992; Krzysko-Lupicka et Sudol, 2008). Cela a pu être dû à une sélectivité sur le long terme des espèces plus tolérantes à l'herbicide, dont certains pathogènes.

Les facteurs qui semblent avoir le plus d'impact sur la diversité et la composition des communautés de micro-organismes sont : i) le moment de l'application (Babiker *et al.*, 2011; Zobiolo *et al.*, 2011). Ces derniers auteurs ont mesuré des effets négatifs lorsque le HBG était appliqué plus tôt en saison, associé à une diminution du Mn disponible dans les sols pouvant entraîner une carence pour les micro-organismes et les cultures. ii) les doses d'application (taux et fréquence). Dans notre étude, une seule application aux doses recommandées n'a pas affecté la microbiologie des sols. En effet,

pour le moment les études montrent des effets à des doses largement supérieures aux doses réelles, sauf dans les sols avec un historique de culture, avec des accumulations potentielles de glyphosate et d'AMPA (Lane *et al.*, 2002; Araujo *et al.*, 2003; Zabaloy *et al.*, 2012); iii) La disponibilité du glyphosate dans les sols et la formation d'AMPA dès les premiers jours après application. Étant donné que l'AMPA a été lui aussi mesuré dès le premier temps de l'expérience et qu'il possède des propriétés similaires au glyphosate, il n'a pas été possible de différencier leur effet dans cette étude ; iv) les changements chimiques survenus après l'application de HBG, directement lié au comportement du glyphosate dans les sols ou par les pratiques associées telles que la fertilisation. Dans la présente étude, aucune fertilisation n'a été réalisée, c'est donc seulement le glyphosate et l'AMPA qui ont entraîné des changements dans la chimie du sol. Newman *et al.*, (2016a) ont observé des effets potentiels du glyphosate sur l'absorption des nutriments du sol au sein de la communauté bactérienne de la rhizosphère, par une baisse de l'expression des gènes impliqués dans le métabolisme des nutriments, notamment pour le fer. Cela suggère une baisse de l'abondance et de la disponibilité du fer dans la rhizosphère. Dans la présente étude, il n'y a pas eu de changements dans les teneurs en fer. Par contre une réduction du manganèse échangeable a été observée. Il n'est pas possible avec les résultats de cette étude de faire un lien direct avec les observations sur les communautés bactériennes. Mais l'analyse ANCOM (Figure 2.4) a mis en avant le genre *Pedomicrobium* impliqué dans la mobilité du Mn. Cela peut ouvrir des pistes de réflexions sur les effets du HBG sur le cycle du manganèse et de façon plus large sur le cycle des nutriments, et les retombées à long terme sur la fertilité des sols.

2.5 Conclusion

Cette étude est basée sur une approche encore peu étudiée dans la littérature scientifique, qui permet de faire des liens entre les facteurs chimiques et microbiologiques des sols, dépendant les uns des autres. Des changements chimiques ont été observés dans les sols sans plante jamais exposés à des HBG suite à une application de ce type d'herbicide. La formation de complexes solubles entre le glyphosate et les cations pourrait réduire la rétention des nutriments dans les sols et augmenter le risque de perte par lessivage. Bien que l'analyse de la composition des différents groupes microbiens n'ait pas détecté de changements, les résultats de cette étude exploratoire offrent des pistes intéressantes pour mieux cibler les éléments du sol susceptibles d'être impactés par des applications de HBG. C'est un point de départ pour mieux comprendre les effets du glyphosate sur le statut nutritif des sols et permettre de mener par la suite des expériences dans des sols avec plantes qui donneront des informations complémentaires sur les conséquences que cela pourrait avoir à long terme sur leur fertilité et la productivité des cultures.

L'interaction entre le glyphosate et l'AMPA avec les nutriments du sol après application de HBG pourrait donc avoir un impact sur la persistance des HBG. Selon les types de sol, les quantités de cations et de phosphore échangeable peuvent fortement varier et pourrait ouvrir des pistes sur la grande gamme de temps de séjour du glyphosate et de l'AMPA dans les sols, observés dans la littérature scientifique. Une approche à grande échelle dans la plaine du Saint-Laurent a été utilisée dans le chapitre 3 de cette thèse afin de s'intéresser à l'effet de la variabilité naturelle et agronomique des champs sur la persistance des HBG dans les sols cultivés.

L'article sera soumis dans sa version en anglais dans la revue Pest Management Science. Une version de l'article en anglais est accessible en annexe 2 de cette thèse.

CHAPITRE III

INFLUENCE DES PRATIQUES DE GESTION DES CULTURES DU SOYA ET DES CONDITIONS PEDOLOGIQUES SUR LA PERSISTANCE DU GLYPHOSATE ET DE L'AMPA DANS LES SOLS

Sophie Maccario¹, Marc Lucotte¹, Élise Smedbol¹, Matthieu Moingt¹, Émile Samson
Brais¹, Michel Labrecque²

¹ Université du Québec à Montréal, Institut des Sciences de l'environnement, Chaire de recherche du GEOTOP, CP 8888, Succ. Centre-Ville, Montréal, QC, Canada, H3C3P8

² Université de Montréal, Institut de recherche en biologie végétale, 4101 Sherbrooke Est, Montréal, QC, Canada, H1X2B2

Résumé

L'utilisation des herbicides à base de glyphosate (HBG), moyen de lutte contre les mauvaises herbes le plus utilisé dans les grandes cultures de par le monde, s'est accompagné d'une présence de plus en plus importante des sols agricoles au glyphosate et de son principal produit de dégradation, l'AMPA, suscitant des inquiétudes sur la persistance et l'accumulation de ces composés dans les systèmes de culture. Les teneurs en glyphosate et en AMPA ont été mesurées dans 45 sols agricoles de la plaine agricole du Saint-Laurent (Québec) récoltés en 2014 au printemps et à la récolte dans les différents systèmes de cultures de soya avec ou sans application d'HBG. En parallèle, l'historique des cultures et les conditions pédologiques ont été compilées pour chaque site. Ainsi 91 % des sites présentaient des teneurs détectables d'au moins un des deux composés, avec des teneurs maximales de 0,47 et 1,16 mg kg⁻¹ pour le glyphosate et l'AMPA respectivement. Certains champs non traités aux HBG en 2014 présentaient des teneurs détectables en AMPA, montrant le potentiel de persistance du produit de dégradation de l'herbicide. Les deux composés ont également été détectés dans les sols de champs de soya sous régie biologique, soulignant la problématique soit de persistance, soit de dérive dans les zones agricoles. Les teneurs en glyphosate étaient plus élevées dans les sols argileux riches en certains cations échangeables tels que le K⁺ et le Ca²⁺, favorisant la constitution de la réserve des sols en ce composé par la voie de la complexation. L'AMPA ne semblait pas dépendre de la texture du sol, montrant la possibilité que le glyphosate et l'AMPA aient majoritairement des sites d'adsorption différents, ce qui limite la compétition entre les deux composés. Ces résultats permettent de mieux cerner l'ampleur de la persistance du glyphosate et de l'AMPA dans les champs agricoles et aideront les acteurs du secteur agricole à comprendre la dynamique des HBG dans les grandes cultures.

Mots clés: herbicide, teneurs, soya, sol, pratiques, mode d'application, contamination, texture

3.1 Introduction

Les herbicides à base de glyphosate (HBG) ont connu un taux d'adoption rapide par les producteurs de grandes cultures depuis l'introduction du soya tolérant au glyphosate (GR) en 1996 (Duke, 2015), du fait de leur faible coût de production et de leur efficacité dans la lutte contre les mauvaises herbes (Duke *et al.*, 2018). Selon le marché ciblé pour la vente des grains de soya, certains exploitants agricoles peuvent avoir les deux types de cultures GR et non GR sur une même exploitation (Hategekimara, 2002). Dans les cultures non GR, les HBG sont utilisés couramment en pré-semis, pour palier à la croissance du nombre de plantes qui ont développé une résistance au glyphosate (Heap et Duke, 2018). Cela a pour conséquence une augmentation de la dose et du nombre d'applications des HBG dans les sols agricoles (Brenboock *et al.*, 2016). Bien que le glyphosate soit connu pour être assez rapidement dégradé dans les sols (Hove-Jensen *et al.*, 2014) ou encore immobilisé par adsorption (Borggaard et Gimsing, 2008; chapitre 1 de cette thèse), les HBG suscitent de nombreuses interrogations quant à leur impact sur la santé et les fonctions des sols agricoles traités à répétition (Simonsen *et al.*, 2008; Siridov *et al.*, 2015; Travaglia *et al.*, 2015). Dans la littérature, les temps de demi-vie rapportés pour le glyphosate sont assez faibles pour l'ensemble des sols variant de quelques jours à quelques semaines (Cheah *et al.*, 1998; Mamy *et al.*, 2005; Simonsen *et al.*, 2008; Al-Rajab *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2015), alors que son principal produit de dégradation, l'acide aminométhylphosphonique (AMPA) était persistant jusqu'à six fois plus longtemps (Simonsen *et al.*, 2008; Shushkova *et al.*, 2009; Bergström *et al.*, 2011; Singh et Singh, 2016). D'autres études ont aussi détecté des teneurs en glyphosate et en AMPA dans les sols plus d'une année après la dernière application d'HBG (Eberbach, 1998; Scribner *et al.*, 2007; Laitinen *et al.*, 2008; Bergström *et al.*, 2011; chapitre 1 de cette

thèse), mettant en lumière la persistance de ces composés dans les sols agricoles (Primost *et al.*, 2017). Cette persistance du glyphosate et de l'AMPA dans les sols a été observée au chapitre 1 même si ces composés peuvent être remobilisés selon certaines conditions, notamment lors d'apports importants de phosphore. Cela semble être lié au type de sol et à sa composition (Bergström *et al.*, 2011), notamment en argile, oxydes et matières organiques favorisant l'immobilisation du glyphosate et de l'AMPA dans les sols (Borggaard et Gimsing, 2008; Al-Rajab *et al.*, 2008; Albers *et al.*, 2009; Gjettermann *et al.*, 2011; Rampazzo *et al.*, 2013). La présence de cations disponibles semble aussi favoriser la persistance du glyphosate et de l'AMPA dans les sols par la formation de complexes tel qu'observé au chapitre 2, et qui peuvent se fixer sur les surfaces minérales (Glass *et al.*, 1987; Eker *et al.*, 2006).

La plupart des études montrant une persistance de glyphosate et d'AMPA dans les sols agricoles suite aux applications d'HBG ont été menées en Amérique du sud (Aparicio *et al.*, 2013; Primost *et al.*, 2017) et plus récemment en Europe (Silva *et al.*, 2018; Karanasios *et al.*, 2018). En Amérique du Nord, les principales études sur le sujet datent de quelques années et ont été réalisées dans des sols non agricoles (Roy *et al.*, 1989; Feng *et al.*, 1990). Cependant la contamination des différentes matrices environnementales et la dispersion du glyphosate et de l'AMPA dans les eaux de surface sont bien réelles (Scribner *et al.*, 2007; Glozier *et al.*, 2012; Battaglin *et al.*, 2014; Giroux *et al.*, 2015; Giroux *et al.*, 2019), soulignant le besoin de mieux comprendre les facteurs de persistance et de diffusion du glyphosate et de l'AMPA après application d'HBG dans les champs.

Cette étude a pour objectif d'établir un portrait de la distribution des teneurs en glyphosate et en AMPA de sols de surface dans les différents systèmes de cultures de

soya utilisés au Québec (Canada) et sur l'évaluation des facteurs de persistance de ces composés dans les sols. Les effets des pratiques agricoles, de la classe texturale et de la composition des sols en cations échangeable sur la persistance du glyphosate et de l'AMPA dans les sols ont également été déterminés.

3.2 Matériel et méthodes

3.2.1 Zone d'étude et échantillons de sol

Les échantillons de sol ont été prélevés en 2014 dans 45 sites cultivés sous culture de soya dans la zone géographique de la plaine agricole du Saint-Laurent (Québec, Canada), une première fois en mai et une seconde fois en octobre. Les sites ont été sélectionnés selon les facteurs décrits ci-dessous.

Le premier facteur circonscrivait les sites à cinq régions géographiques de la plaine agricole: Montérégie (1), Lanaudière (2), Mauricie (3), Centre-du-Québec (4), et Estrie (5) (Figure 3.1). Le second facteur était basé sur les systèmes de production, selon les trois régies de culture retrouvées dans ces régions, à savoir i) les variétés tolérantes au glyphosate (GR) avec une ou plusieurs applications de HBG (n = 21), ii) les variétés à identité protégée (IP) non GR, avec ou sans application d'HBG (n = 16) et iii) les variétés biologiques (BIO) sans application de HBG (n = 8).

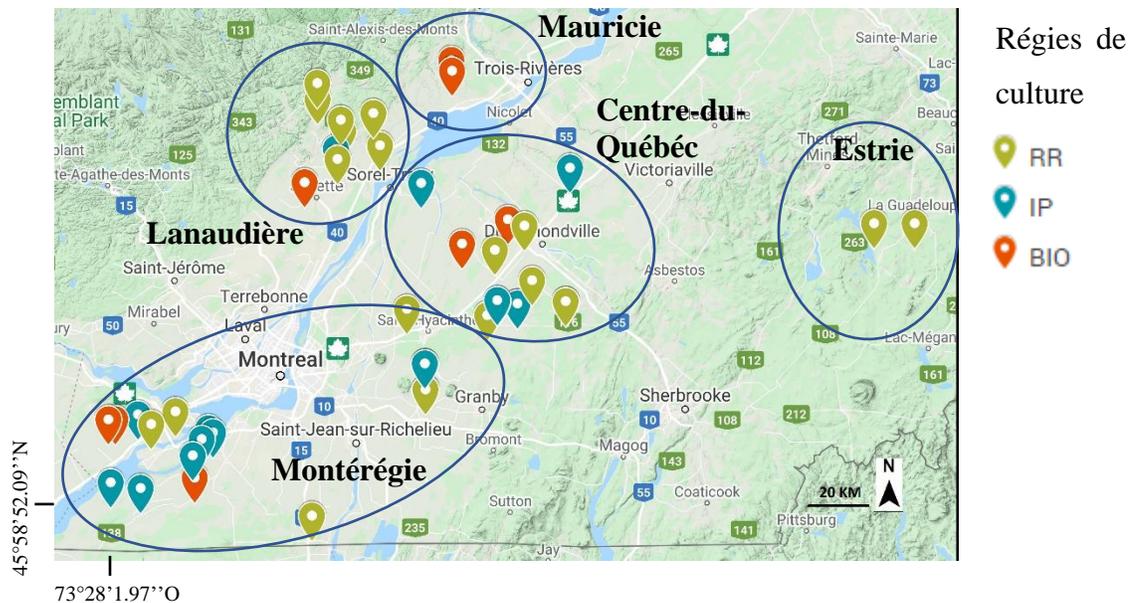


Figure 3.1. Emplacement des sites d'étude dans la plaine agricole du Saint-Laurent lors de la campagne d'échantillonnage en 2014 avant le semis et en octobre 2014, au moment de la récolte. Trois régions de culture ont été considérées : GR (Génétiquement Résistantes aux HBG); IP (variété à identité protégée non résistantes aux HBG) et BIO (biologiques sans application de HBG).

Les données sur les pratiques agricoles ont été récoltées auprès des agriculteurs suite à l'administration d'un court questionnaire écrit (Annexe 1). Cela nous a permis d'identifier les pratiques liées au travail du sol et le nombre d'applications de HBG pour chaque site, regroupées dans le tableau 3.1. Dans la présente étude, les doses appliquées n'ont pas été déterminées.

Tableau 3.1. Pratiques de désherbage et de préparation du sol sur les sites échantillonnés au cours du mois de mai 2014- Le nombre d'applications n'a pas pu être déterminé dans 7 sites.

Nombre d'applications de HBG	Travail du sol	
	Labour (L)	Semis direct (SD)
0	11	1
1	8	11
2	1	6

Le troisième et dernier facteur de sélection des sites se rapportait à la texture de surface des sols agricoles, déterminée dans les études pédologiques détaillées du Gouvernement du Canada et regroupée selon trois grandes classes dans la base de données Info-sols.ca (©Gouvernement du Québec), selon le système de classification des sols canadiens (SCWG, 1998), à savoir les sols argileux, sableux et limoneux (Tableau 3.2).

Chaque site a été échantillonné deux fois, avec une première campagne en mai 2014 avant les semis de soya et une seconde en octobre 2014, juste avant la récolte des grains. Sur chaque site, trois carottes de sols ont été prélevées à 100 mètres de distance les unes des autres afin de former un triangle, dont le centre correspondait au milieu du champ. La superficie des champs échantillonnés différait pour chaque agriculteur. Les coordonnées GPS ont été notées pour chaque point de prélèvement lors de la première campagne afin d'échantillonner au même endroit lors la seconde campagne. Trois réplicats différents de sol par champ ont été échantillonnés dans l'horizon 0 - 20 cm de profondeur. Une fois récoltés, chaque échantillon a été homogénéisé et conservés à - 20 °C jusqu'à leur analyse.

Tableau 3.2. Nombre de sites par classe texturale des sols échantillonnés dans les cinq régions de l'étude

Type de sol ^a	Texture % de poids sec ^a			Région d'étude ^b				
	Sable	Limon	Argile	1	2	3	4	5
Sols argileux								
Argile (TA)	0-40	0-40	45-100	8	3	-	-	-
Argile limoneuse (TALI)	0-20	40-60	40-60	3	-	-	-	-
Argile sableuse (TAS)	45-65	0-20	35-55	-	1	1	-	-
Sols loameux								
Loam argileux (TLA)	20-45	15-52	27-40	2	1	-	1	-
Loam limono-argileux (TLLIA)	0-20	40-73	27-40	1	1	-	-	-
Loam (TL)	23-42	28-50	7-27	6	4	2	1	2
Loam sableux très fin (TLSTF)	0-20	88-100	0-12	1	-	-	-	-
Sols sableux								
Loam sableux (TLS)	50-70	0-50	0-20	4	-	-	2	-
Sable (TS)	86-100	0-14	0-10	1	-	-	1	-

^a selon le système canadien de classification des sols (SCWG, 1998)

^b selon Info-sol.ca (©Gouvernement du Québec)

3.2.2 Analyse des teneurs en glyphosate et en AMPA

Les échantillons de sol ont été lyophilisés, broyés et tamisés à deux millimètres de diamètre, après avoir enlevé les plus gros débris. Cinq grammes de sol ont été pesés directement dans les tubes Falcon de 50 ml. Le glyphosate et l'AMPA ont été extraits selon la méthode Alferness *et al.* (1994) qui est une extraction basique forte permettant de récupérer le glyphosate et AMPA total du sol. Ainsi contrairement à l'extraction à l'eau utilisée dans les chapitres 1 et 2 de cette thèse qui récupérerait la fraction facilement disponible, cette extraction récupère également les fractions du glyphosate et de l'AMPA qui sont fortement adsorbées dans les sols. La méthode utilise une solution de 34,5 ml NH₄OH 28-30 % et 13,6 g KH₂PO₄, complétée à un litre avec de l'eau nanopure. Certaines améliorations ont été apportées à la procédure. Ainsi, 20 ml de la solution Alferness ont été ajoutés au sol avec 20 ml d'eau nanopure avant que celle-ci ne soit

agitée au vortex pendant 30 secondes puis agitée 30 minutes à 200 rpm sur une roue rotative. Les échantillons ont ensuite été centrifugés à 3500 rpm pendant 20 min. Cinq millilitres de la solution obtenue ont été filtrés à 0,2 μm et conservés dans un tube de deux millilitres. 40 μl de surnageant ont été transférés dans une fiole à injection de 1,5 ml et évaporés à sec sous un flux de N_2 . Par la suite, les échantillons ont été dérivatisés avec 500 μl de trifluoroéthanol (TFE) et un millilitre d'anhydride trifluoroacétique (TFAA), vortexés puis chauffés à 100 °C pendant une heure. Après refroidissement à température ambiante, les échantillons ont été évaporés à sec sous un courant d'azote. Juste avant l'injection, les échantillons et les standards ont été dissous dans un millilitre d'acétate d'isopropyle. La méthode d'injection a été préalablement décrite au chapitre 1 de la thèse.

La limite de détection (LD) obtenue pour les extractions avec la solution Alferness était de 0,02 mg kg^{-1} pour le glyphosate et de 0,03 mg kg^{-1} pour l'AMPA. La limite de quantification (LQ) était de 0,05 mg kg^{-1} pour le glyphosate et de 0,09 mg kg^{-1} pour l'AMPA.

3.2.3 Analyses chimiques du sol

Les échantillons de sol ont été séchés à l'air dans une étuve à 55 °C et tamisés à deux millimètres de diamètre avant analyse. Les cations échangeables (potassium, fer, manganèse, magnésium, calcium, cuivre et zinc), les ions aluminiums échangeables et le phosphore échangeable ont été extraits à l'aide de la méthode de Mehlich III (CEAEQ, 2010), avec un rapport sol : solution de 1:10. Les cations ont été analysés par spectrophotométrie d'absorption atomique (ARL 906AA, GBC Scientific Equipment, Melbourne, Australie). Le phosphore a été mesuré par spectrométrie UV-visible à la longueur d'onde λ 875 nm, selon la méthode d'Harwood et al., 1969 et adaptée par

Lucotte et d'Anglejan, 1985. Pour cela, 10 ml de solution à doser ont été ajoutés avec 10 ml réactif d'Harwood, puis complété à 50 ml avec de l'eau milli-Q. Le mélange a été agité vigoureusement et laissé reposer 30 minutes, avant analyse dans les 90 minutes qui suivent. Le réactif d'Harwood a été préparé de la manière suivante : dans un ballon de 500 ml, 250 ml d'acide sulfurique 4N ont été ajoutés avec 75 ml de molybdate d'ammonium, 25 ml de tartrate de potassium antimoine et 100 ml d'acide ascorbique 10 % (p/v), puis complété avec de l'eau milli-Q.

3.2.4 Traitement des données et analyses statistiques

Les teneurs en glyphosate et AMPA qui se situaient en dessous de la LD ont été remplacées par la valeur de LD divisée par deux, soit $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$ pour le glyphosate et $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$ pour l'AMPA. Les échantillons ont été comparés à l'aide d'un test de rang pour échantillons appariés de Wilcoxon, utilisé pour comparer les teneurs en glyphosate et AMPA des échantillons de sol prélevés au moment du semis (mai 2014) et ceux prélevés à la récolte (octobre 2014), avec un seuil de signification fixé à 0,05. Pour les autres paramètres étudiés, à savoir la régie de culture, le nombre d'applications de HBG, le travail du sol et la texture du sol, une analyse de variance à un facteur non paramétrique a été utilisée pour comparer les teneurs en glyphosate et AMPA, avec un test des rangs de Kruskal-Wallis, avec un seuil de signification fixé à 0,05. La distribution des teneurs a été représentée par des boîtes à moustaches et les fréquences de mesure par des histogrammes. Pour la comparaison des différentes textures de sol, seuls les sols de type TA, TL et TLS ont été analysés, car les autres classes ne possédaient pas un nombre d'analyse (n) assez grand pour assurer une bonne représentativité.

Les teneurs en glyphosate et AMPA et la présence de cations disponibles dans les sols pour la campagne en octobre 2014 (récolte) ont été associés à l'aide d'une analyse multivariée, soit une analyse en composantes principales (ACP), après avoir centré et réduit les données. Cinq axes ont été choisis, obtenant une inertie de 80,5 %. Les données ont été interprétées avec l'utilisation de la texture des sols comme variable supplémentaire dans l'analyse et l'utilisation de la matrice de corrélation et du tableau des cosinus carrés des variables. Tous les tests ont été réalisés avec le logiciel JMP Pro 14 de SAS Institute (Cary, NC, USA).

3.3 Résultats

3.3.1 Répartition des teneurs en glyphosate et en AMPA

Le glyphosate et l'AMPA ont été mesurés dans les trois types de cultures (GR, IP et BIO) avec des teneurs allant jusqu'à 0,47 mg kg⁻¹ pour le glyphosate et 1,16 mg kg⁻¹ pour l'AMPA (Tableau 3.3). 91 % des échantillons contenaient un des deux composés et 39 % contenaient du glyphosate et de l'AMPA simultanément. L'AMPA a été le plus fréquemment détecté dans les sols, soit dans 76 % des échantillons. Les cultures BIO non traitées aux HBG ont présenté des teneurs détectables de glyphosate et/ou d'AMPA dans la moitié des sites avec des valeurs maximales atteignant 0,15 mg kg⁻¹ pour le glyphosate et 0,24 mg kg⁻¹ pour l'AMPA. Les teneurs mesurées pour les cultures BIO y étaient tout de même significativement moins élevées que dans les cultures GR et IP (Tableau 3.3).

Tableau 3.3. Teneurs totales en glyphosate et AMPA dans les sols agricoles de l'ensemble de l'étude

Culture	n	Glyphosate mg kg ⁻¹			% de détection	AMPA mg kg ⁻¹			% de détection
		Moyenne	min	max		Moyenne	Min	max	
GR	42	0,07±0,10	0,01	0,47	45	0,30±0,23	0,02	1,09	82
IP	32	0,06±0,09	0,01	0,45	34	0,26±0,27	0,02	1,16	78
BIO	16	0,04±0,05	0,01	0,15	44	0,06±0,08	0,02	0,24	31

Dans les cultures GR, 90 % des sites contenaient soit du glyphosate, soit de l'AMPA, soit les deux (n = 21). Pour les cultures IP, le glyphosate et l'AMPA ont été détectés dans tous les sites exceptés deux, soit 88 % (n = 16). A l'opposé, pour les cultures BIO seul un site contenait les deux composés simultanément (n = 8). Aucune différence significative n'a été observée entre le printemps avant les semis et cinq mois plus tard au moment de la récolte quel que soit la régie de culture du soya ($p > 0,05$, test de Wilcoxon sur échantillons appariés) (Figure 3.2 : 1.a vs 1.b et 2.1 vs 2.b).

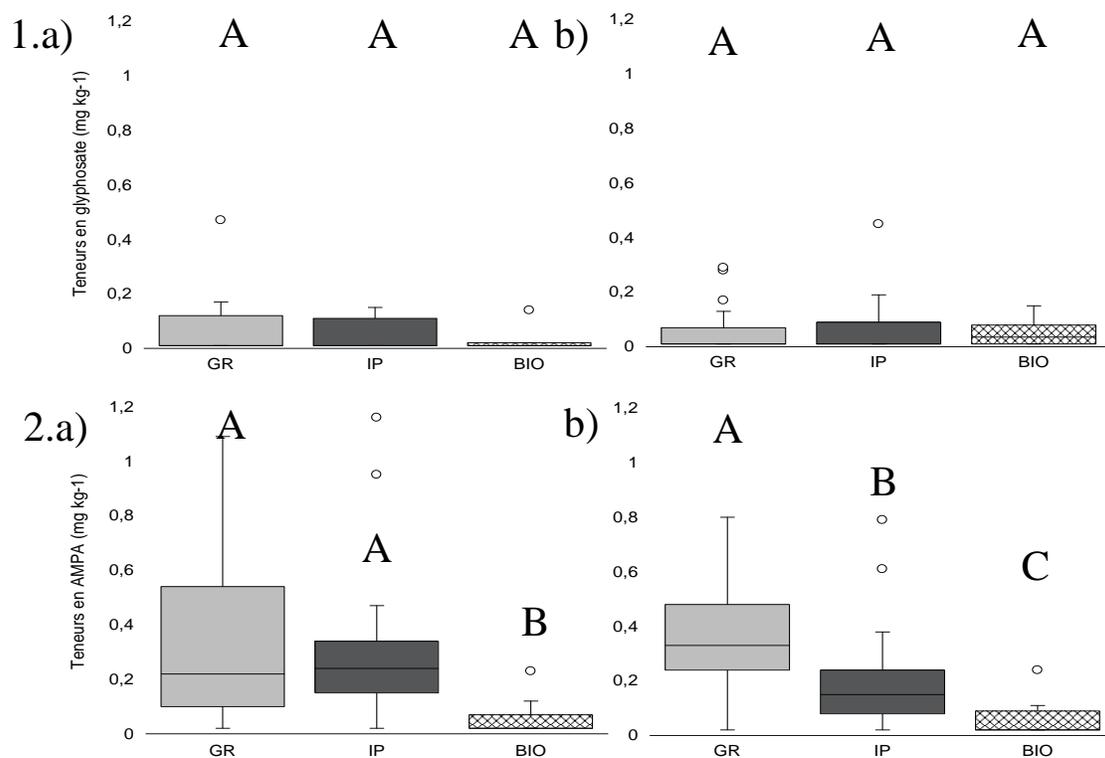


Figure 3.2. Distribution des concentrations de glyphosate 1) et d'AMPA 2) selon le type de culture dans les sols agricoles sous culture de soja au printemps 2014 avant le semis (a) et en octobre 2014, au moment de la récolte (b).

Pour GR, n=21 ; IP n=16 et BIO n=8. Les boîtes à moustaches représentent la médiane, et les quantiles 25 et 75%.

° représentent les données potentiellement aberrantes. Les différences significatives ont été testées à l'aide du test non paramétrique de Kruskal-Wallis, avec un seuil significatif fixé à 0.05 et annotés sur le graphique par des lettres A, B, C correspondant aux différents groupes significatifs. Lorsque qu'il n'y a pas de lettre, cela signifie qu'aucune différence significative n'a été observée entre les trois groupes.

Par contre, au sein d'une même campagne, des différences ont été observées entre les différentes régions de soja pour les teneurs totales en AMPA dans les sols (Figure 3.2.2). Au printemps avant le semis, le BIO était significativement différent (Figure 3.2.1.a), avec des teneurs bien inférieures aux deux autres types de culture IP

et GR. Les cultures GR et IP ne présentaient pas de différences de teneurs. Par contre, au moment de la récolte, toutes les cultures étaient différentes entre elles (Figure 3.2.1.b). Aucune différence n'a été observée pour le glyphosate aussi bien au printemps qu'à l'automne entre les différents types de culture.

3.3.2 Effet du nombre d'applications et du travail du sol

Les teneurs en glyphosate n'ont pas différencié significativement à l'automne entre les sites avec application et ceux sans application en 2014 (Figure 3.3.1). Cependant pour l'AMPA, une différence significative a été observée pour les teneurs entre les sites ayant reçu une ou deux applications de HBG par rapport à ceux qui n'en n'ont pas eu (0 vs 1 application $p=0,002$; 0 vs 2 applications $p=0,003$ - test de Kruskal-Wallis). Le nombre d'application (1 ou 2 applications) n'a pas impacté significativement les teneurs totales en AMPA dans les sols ($p>0,05$). Le glyphosate a été plus fréquemment détecté dans les sols pour les sites ayant reçu 2 applications par rapport à 0 ou 1 application (Figure 3.3.2). Pour l'AMPA, la fréquence de détection du composé a augmenté avec le nombre d'applications.

Les valeurs moyennes des teneurs en glyphosate ou en AMPA dans les sols n'ont pas montré de différences significatives ($p>0,05$ avec le test de Wilcoxon) entre les régies de culture en semis direct et avec labour.

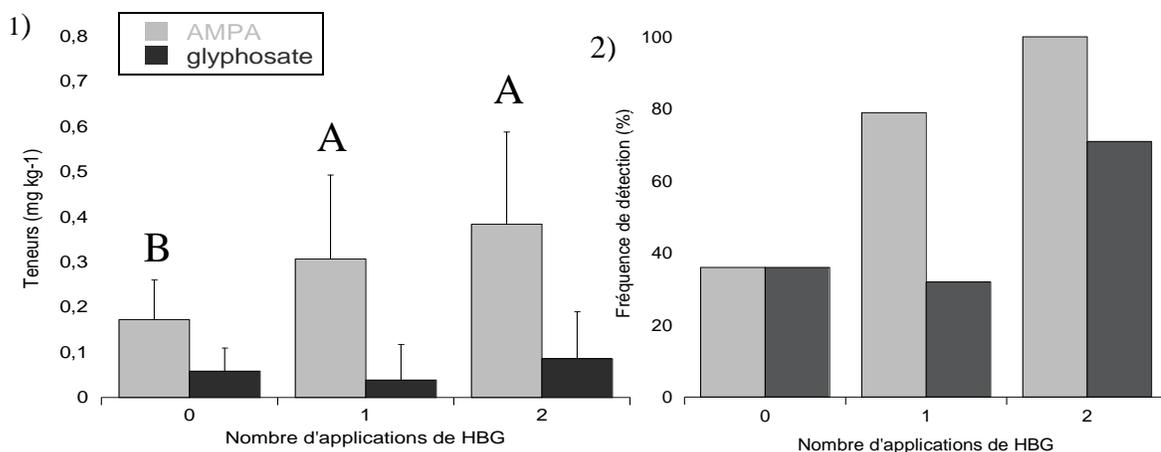


Figure 3.3. Histogrammes des teneurs en glyphosate et AMPA 1) et de leur fréquence de détection dans les sols 2) au moment de la récolte, selon le nombre d'applications. Les lettres A, B, C représentent les différents groupes significatifs.

Les différences significatives ont été annotées sur le graphique par des lettres A et B correspondant aux différents groupes significatifs. Lorsque qu'il n'y a pas de lettre, cela signifie qu'aucune différence significative n'a été observée entre les trois groupes.

3.3.3 Effet de la texture de surface du sol

Dans la Figure 3.4, les teneurs en glyphosate étaient significativement plus élevées dans les sols à texture argileuse (TA) que dans les sols loameux (TL) et les loam sableux (TLS), aussi bien au printemps 2014 avant semis (Figure 3.4.1.a. TA vs TL $p=0,0018$; TA vs TLS $p=0,0003$ – test de Kruskal-Wallis) qu'à la récolte 2014 (Figure 3.3.1.b. TA vs TL $p=0,0049$; TA vs TLS $p=0,0026$ – test de Kruskal-Wallis). Dans les sols TA, le glyphosate a été détecté dans 100 % des sites comparativement à 33 % pour les sols TL et 17 % pour les sols TLS (Figure 3.4.3). Pour l'AMPA, aucune différence des teneurs liée à un de ces types de sol n'a été démontrée. (Figure 3.4.2). Cependant le composé a été plus fréquemment détecté dans les sols argileux TA (91 %) par rapport aux sols loameux TL (67 %) et sableux TLS (50 %) (Figure 3.4.3).

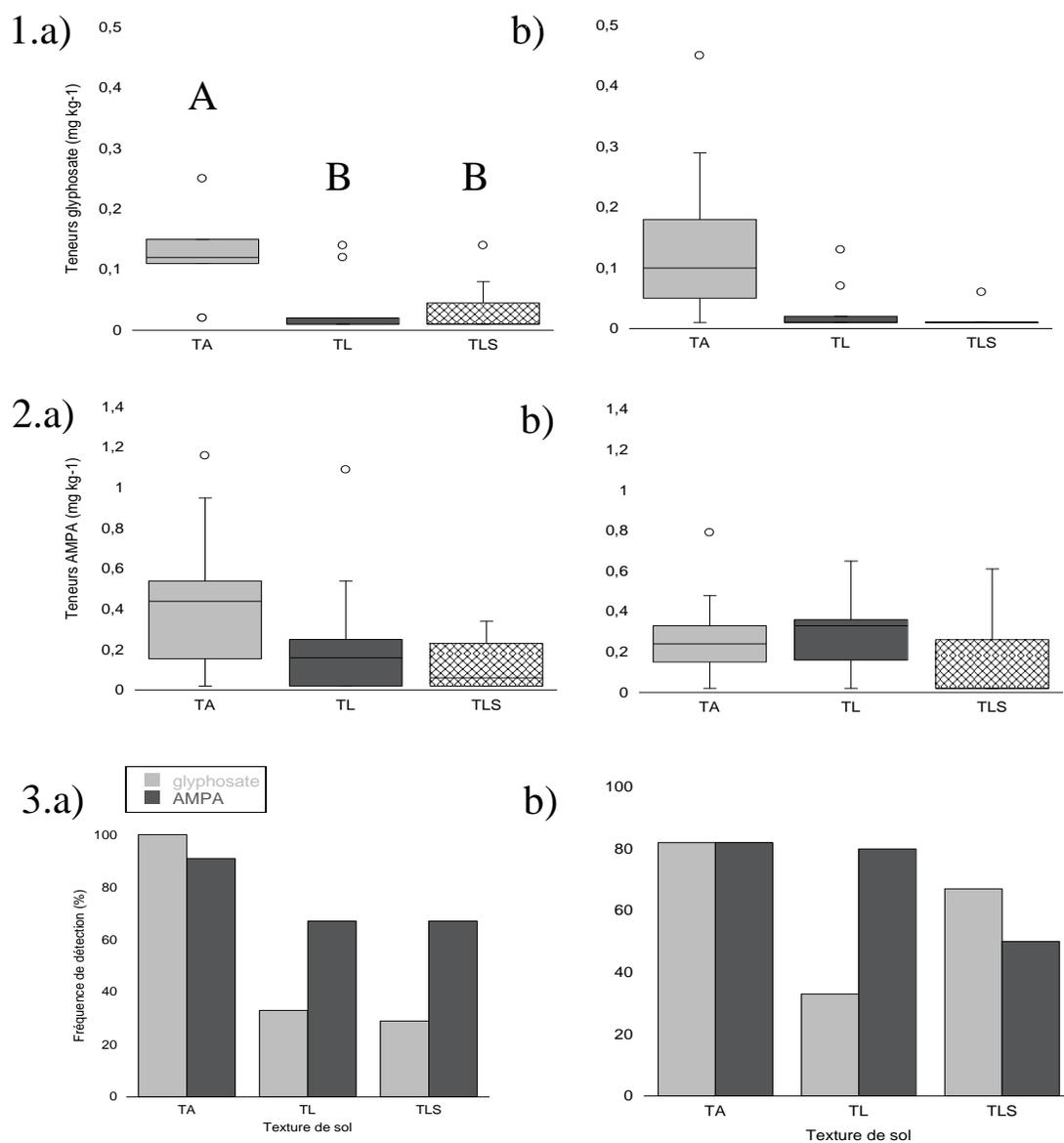


Figure 3.4. Distribution des teneurs de glyphosate 1) et d'AMPA 2) selon la texture du sol argileuse (TA), limoneuse (TL) ou limono-sableuse (TLS) au printemps 2014 avant le semis (a) et en octobre 2014, au moment de la récolte (b).

Les fréquences de détection des deux composés ont été représentées par des histogrammes en barre en 3) avant le semis (a) et au moment de la récolte (b). Les boîte à moustaches représentent la médiane, et les quantiles 25 et 75%. Les différences significatives ont été testées à l'aide du test non paramétrique de Kruskal-Wallis, avec un seuil significatif fixé à 0.05 et annotés sur le graphique par des lettres A, B, C correspondant aux différents groupes significatifs. Lorsque qu'il n'y a pas de lettre, cela signifie qu'aucune différence significative n'a été observée entre les trois groupes.

L'ACP utilisée pour voir le lien entre la présence de glyphosate et d'AMPA dans les sols et leur teneur en éléments minéraux échangeables du sol, s'est basée sur 22 échantillons et 10 variables présentées dans le tableau 3.5. De plus, les types de sol pour lesquels le nombre d'échantillons était insuffisant n'ont pas non plus été comptés dans cette analyse afin de ne pas biaiser les résultats.

Tableau 3.4. Contribution partielle des variables en % représentant la composition des sols issues de l'ACP.

Variables	Axe 1	Axe 2	Axe 3	Axe 4	Axe 5
Contribution	23.8	18.7	15.28	12.3	10.31
Glyphosate	19,5*	0,7	12.9	0,1	0,1
AMPA	7,9	13,9*	13.7	4,8	0,4
K ⁺ échangeable	18,3*	4,8	8.5	17,9	0,1
Cu ²⁺ échangeable	1,1	22,6*	11.1	8,0	10,5
Mn ²⁺ échangeable	1,7	7,9	12.0	24,7	22,6
Fe ^{2+/3+} échangeable	15,2*	0,8	20.6	0,4	5,4
Mg ²⁺ échangeable	22,0*	8,4	0.08	0,01	0,9
Al ³⁺ échangeable	0,02	20,1*	1.2	17,5	27,7
Ca ²⁺ échangeable	14,0*	2,9	10.4	11,8	8,3
P échangeable	0,2	17,8*	9.5	14,9	23,9

* variables influentes dans l'axe étudié à partir des résultats des cosinus carré des variables

Les facteurs expliquant le plus la composante 1 de l'ACP sont dans l'ordre le magnésium, le glyphosate, le potassium, le fer et le calcium (Tableau 3.5). L'axe 1 explique en grande partie la teneur en ces éléments dans les sols argileux et sableux (cosinus carré des variables de 0,83 pour les sols sableux et de 0,62 pour les sols argileux) (Figure 3.5). La composante 2 est expliquée par le cuivre, l'aluminium, le phosphore et dans une moindre mesure l'AMPA. Cet axe explique la teneur en ces éléments pour les sols loameux (cosinus carré de 0,46) (Figure 3.5).

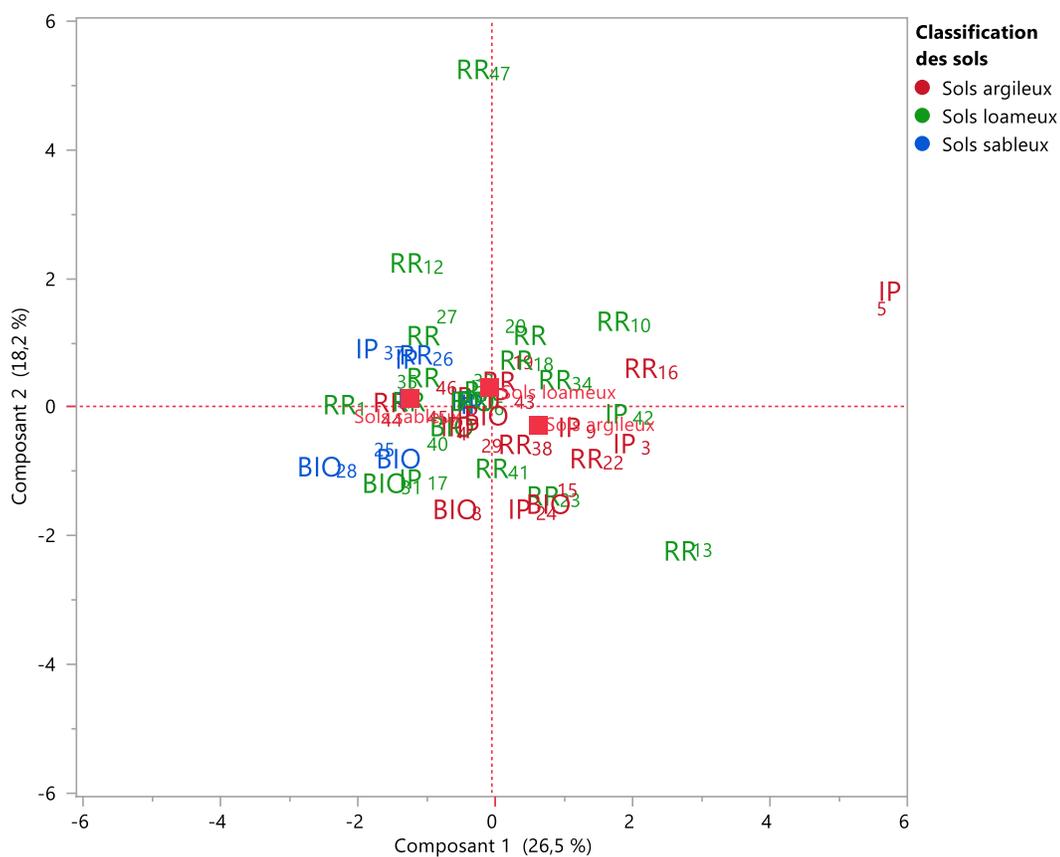


Figure 3.5. Représentation graphique de l'ACP basée selon les composantes 1 et 2, en intégrant la variable supplémentaire des trois grandes classes texturales (argileuses, loameuses et sableuses), et en fonction des trois régions de soya (BIO, IP et GR).

3.4 Discussion

3.4.1 Persistance et accumulation du glyphosate et de l'AMPA

Les résultats de notre étude ont montré une quasi-omniprésence du glyphosate et de l'AMPA dans les sols de grandes cultures de la plaine du Saint-Laurent avec 91 % des échantillons de sol qui contenaient au moins un des deux composés. L'AMPA a été la forme la plus retrouvée, mesurable dans 76 % des échantillons de l'étude. L'occurrence de ces composés est supérieure à la plupart des études effectuées avec des sols agricoles mais pas uniquement dans les grandes cultures, avec 62.5 % observée par Aparicio *et al.* (2013) en Argentine, entre 50 et 66 % par Scribner *et al.* (2007) en Amérique du Nord et 45 % dans une grande variété de cultures en Europe de l'Ouest par Silva *et al.* (2018). La présence plus élevée du glyphosate et de l'AMPA dans notre étude montre que les grandes cultures de soya en rotation avec le maïs favorisent la persistance des deux composés même lorsqu'il n'y a pas eu d'application l'année de l'échantillonnage, contrairement à d'autres types de culture. L'étude de Primost *et al.* (2017) a rapporté au moins un des deux composés dans tous les échantillons de sols issus de champs traités aux HBG de 17 fermes agricoles en Argentine. Ces auteurs justifient cette occurrence élevée par le fait que les échantillons ont été prélevés directement dans les champs traités aux HBG, contrairement à la plupart des analyses qui ont été réalisées dans différents compartiments à l'échelle des bassins versants et donc pas forcément dans des champs traités systématiquement aux HBG. En ce qui concerne les teneurs mesurées dans les sols, les valeurs de notre étude se situaient dans le même ordre de grandeur que celles des autres régions du monde pour les grandes cultures pour le glyphosate, mais étaient plus élevées pour l'AMPA (Battaglin *et al.*, 2014; Gunarathna *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2018), sauf en ce qui concerne les études menées en Argentine où les teneurs étaient largement supérieures pour les deux composés (Primost *et al.*,

2017). Les conditions hivernales froides du Québec pourraient être un des facteurs expliquant ces différences, avec un taux de dégradation du glyphosate plus bas à basses températures (Helander *et al.*, 2012). Les deux composés ont déjà été mesurés pendant plusieurs années après application dans des zones avec climats froids (Kjaer *et al.*, 2005; Simonsen *et al.*, 2008; Bento *et al.*, 2016), où le temps de demi-vie du glyphosate pouvait aller jusqu'à plus de 460 jours (Borggaard et Gimsing, 2008). Laitinen *et al.* (2009) ont mesuré 19 % de glyphosate et 48 % d'AMPA de la quantité appliquée 20 mois après application en Finlande. Le fait que les deux composés aient été mesurés aussi bien dans les champs traités en 2014 que ceux non traités cette année quelle que soit la région agricole de la plaine du Saint-Laurent montrent que cette persistance peut conduire à une accumulation progressive du glyphosate et de l'AMPA dans les sols. D'autres études ont démontré que le glyphosate pouvait s'accumuler dans les sols (Simonsen *et al.*, 2008; Banks *et al.*, 2014; Sviridov *et al.*, 2015; Travaglia *et al.*, 2015; Cassigneul *et al.*, 2016; Okada *et al.*, 2016; Sidoli *et al.*, 2016). Cela confirmerait également les observations de Primost *et al.* (2017) qui ont estimé une augmentation d'un milligramme de glyphosate par kilogramme de sol au bout de cinq applications, avec un taux d'application plus élevé que le taux de dissipation, favorisant une accumulation non linéaire des composés issus des HBG dans les sols. En effet, Andrea *et al.* (2003) ont suggéré que le taux de minéralisation dépendait de l'historique de culture, diminuait avec le nombre d'applications. Les teneurs en glyphosate et AMPA sont largement supérieures dans les sols de l'Argentine par rapport à celles de notre étude au Québec, soit deux fois plus élevées dans l'étude de Aparicio *et al.* (2013) et jusqu'à cinq fois plus élevées pour le glyphosate dans l'étude de Primost *et al.* (2017). Cela souligne l'importance de l'historique des cultures mais aussi des conditions climatiques dans la persistance et l'accumulation du glyphosate et de l'AMPA. En Argentine, les sols reçoivent en moyenne 3,3 applications par année sur des sols

majoritairement limoneux et argileux (Primost *et al.*, 2017) à des doses allant de 0,5 à 3,3 kg ha⁻¹ et ce malgré un climat plus chaud que celui du Québec qui devrait favoriser la dégradation des composés. Dans notre étude les cultures tolérantes au glyphosate sont traitées une à deux fois par année à des doses recommandées par les manufacturiers, soit inférieures à 0,90 kg ha⁻¹. Mais comme le soulignent ces auteurs, l'accumulation ne semble pas linéaire à la fréquence d'application, confirmée par les résultats de notre étude car i) aucune différence au niveau des teneurs ou de l'occurrence globale n'a été observée entre l'échantillonnage de printemps et celui de l'automne pour les deux composés, ii) le nombre d'application sur le site ne semble pas avoir impacté les teneurs ou la fréquence de détection du glyphosate dans les sols, et iii) l'intervalle des teneurs était le même dans les cultures tolérantes aux HBG et les non tolérantes IP plantées en 2014. Ainsi, d'autres facteurs semblent avoir un effet sur la persistance des deux composés dans les sols. Le fait que les teneurs et l'occurrence de l'AMPA soient significativement différentes selon le nombre d'application en 2014, pourraient venir du fait que sur les sites avec plus d'application en 2014 ont un historique d'application d'HBG plus élevé que d'autres sites, résultant en une plus grande persistance de l'AMPA. Mais ayant eu une majorité de sites avec une seule application par année et n'ayant pas pu obtenir l'historique d'application pour tous les sites, cette hypothèse n'a pas pu être confirmée dans notre étude.

Les différentes pratiques liées au travail du sol ne semblent pas non plus avoir constitué un facteur majeur dans la persistance du glyphosate et de l'AMPA dans les sols de notre étude car aucune différence n'a été observée entre les sites ayant été labourés et ceux cultivés avec un travail minimal du sol en semis direct, confirmant les observations d'un certain nombre d'études (Formsgaard *et al.*, 2003; Rampazzo *et al.*, 2013; Okada *et al.*, 2016). Soracco *et al.* (2018) ont aussi mis de l'avant une accumulation du

glyphosate et de l'AMPA dans les deux pratiques culturales avec et sans travail du sol. Cependant ils ont observé plus de variation des teneurs en glyphosate et AMPA au cours de la période culturale dans des sols travaillés. Peruzzo *et al.* (2008) ont observé quant à eux une augmentation des teneurs en glyphosate et en AMPA dans des sols non travaillés après application d'HBG, confirmé par Cassigneul *et al.* (2016), ce qu'ils ont expliqué par le fait que le labour aurait pu augmenter le lessivage des deux composés hors des sols (Gjettermann *et al.*, 2000). La taille et la connectivité des pores du sol pourraient être affectés et augmenter le transport des solutés (Lipiec *et al.*, 2006; Okada *et al.*, 2016). Mais les effets du travail du sol sont difficiles à évaluer en conditions réelles car les pratiques culturales dépendent d'autres facteurs tels que le mode d'application de l'herbicide, l'historique des cultures du site et le type de sol. Ainsi dans la plaine agricole du Saint-Laurent, la majeure partie des cultures tolérantes aux HBG étaient combinées à la pratique du semis direct dans une optique de conservation de la qualité des sols sur le long terme. Lorsque le labour traditionnel était utilisé c'était majoritairement lié à des contraintes de structure et texture du sol.

3.4.2 La texture des sols comme facteur clé de la dynamique des HBG

Les résultats de notre étude ont mis de l'avant que l'AMPA a une persistance supérieure au glyphosate dans les sols agricoles sous culture de soya et maïs. La présence de l'AMPA ne semblait pas dépendre du type de sol, et ce même sur les sites n'ayant pas reçu d'application l'année de l'échantillonnage. Du fait de sa configuration chimique et de son fort pouvoir d'adsorption, l'AMPA semble être moins sensible aux variables pédologiques et culturales, ce qui limiterait sa dégradation dans les sols et pourrait expliquer son occurrence et ses teneurs globalement supérieures au glyphosate. La voie majoritaire d'adsorption de l'AMPA serait par échange de ligands sur les minéraux à charge variable, ce qui entrainerait la formation de liens forts entre l'AMPA et les

particules du sol, ce qui semble confirmé par un certain nombre d'études (Borggaard et Gimsing, 2008; De Jonge *et al.*, 2001; Dideriksen et Stipp, 2003; Mamy et Barriuso, 2005; Morillo *et al.*, 1997). Cela a été observé dans notre étude par la détection quasi-permanente d'AMPA dans les sols et ce même au moment de la récolte, soit plusieurs mois après la dernière application de HBG (Tableau 3.3). Ce mécanisme intervient au niveau des protons des couches de silicates faiblement chargés ou sur les oxydes de fer et d'aluminium, eux-mêmes attachés aux feuillets d'argile. Étant donné le fort pouvoir d'adsorption de l'AMPA sur les oxydes d'aluminium (Rampazzo *et al.*, 2013 ; Sidoli *et al.*, 2016), cela expliquerait que la capacité du sol à retenir l'AMPA dépendrait majoritairement des teneurs en oxydes et des charges variables du sol plutôt que la texture du sol.

La présence moins marquée de glyphosate dans certains types de sols, notamment les sols de texture plus sableuse pourrait être expliquée par leur capacité plus faible à retenir le glyphosate, ce qui rend le composé plus disponible pour la dégradation, mais aussi plus enclin au lessivage. Ainsi cela pourrait expliquer la présence de glyphosate dans les sols jamais soumis à des applications de HBG, d'où le glyphosate et l'AMPA mesuré proviendrait de sites alentours qui eux ont des de traitements de HBG. L'AMPA et le glyphosate posséderaient une majeure partie de sites de fixation différents, mis de l'avant par Sidoli *et al.* (2016). Nos résultats peuvent laisser entrevoir que le glyphosate pourrait avoir une autre voie importante d'adsorption dans les sols, ce qui limiterait de ce fait la compétition entre les deux composés et aussi pourrait expliquer en partie cette différence de rétention dans les sols. Le glyphosate avait une présence bien plus marquée dans les sols à texture argileuse, observations appuyées par un grand nombre d'études (Gimsing et Borggaard, 2002 ; Sheals *et al.*, 2002 ; Barja *et al.*, 2005; Baez *et al.*, 2015; Paradelo *et al.*, 2015; Gros *et al.*, 2017; Gunarathna *et al.*, 2018). La présence

d'argile dans les sols favoriserait la constitution d'un stock persistant de glyphosate et ralentirait sa dégradation (Okada *et al.*, 2016; Sidoli *et al.*, 2016; Maqueda *et al.*, 2017). Ces observations vont dans le sens de celles de Bergström *et al.*, (2011) qui ont mesuré une persistance du glyphosate 6,5 fois supérieure pour les sols argileux par rapport aux sols sableux. Okada *et al.* (2016) ont mis en évidence que la forte capacité d'adsorption du glyphosate était influencée par la teneur en argile et la capacité d'échange cationique du sol (CEC). La CEC représente le stock de cations échangeables du sol qui peuvent se fixer sur la matière organique et les argiles, favorisant la complexation des cations et du glyphosate (Glass *et al.*, 1987; Dollinger *et al.*, 2015). Dans notre étude, l'analyse multivariée a fait ressortir que les éléments qui semblent le plus expliquer la persistance du glyphosate étaient la composition en magnésium, le potassium, le calcium et le fer échangeables aussi bien dans les sols sableux que argileux. Cela peut être expliqué par le fait que des quantités importantes de calcium, magnésium et potassium se situent à la surface des argiles et jouent un rôle au niveau des charges variables à l'origine des mécanismes d'adsorption du glyphosate et de l'AMPA dans les sols. Ces observations sont appuyées par l'étude de Dejonge et Dejonge (1999) et Okada *et al.* (2016). Certaines études ont déterminé en laboratoire que le glyphosate et les cations formaient des complexes non solubles sur le long terme (Glass *et al.*, 1987 ; Eker *et al.*, 2006; Tsui et Chu, 2018; Caetano *et al.*, 2012), soit directement à la surface des argiles, soit au niveau de la matière organique souvent elle-même liée à des particules d'argile (Borggaard et Gimsing, 2008; De Jonge *et al.*, 2001; De jonge et De jonge., 1999; Mamy et Barriuso *et al.*, 2005; McConnell et Hossnier, 1985; Vereecken, 2005). Dans le chapitre 2 de cette thèse, les résultats ont mis en évidence que la formation de complexes entre le glyphosate et les cations favorisait la solubilisation de certains de ces éléments et pourrait augmenter la disponibilité du glyphosate dans le sol. Cela met en lumière le rôle crucial que jouent certains cations dans la répartition entre les phases

labile et non labile du glyphosate et de l'AMPA. D'autres études appuient ces observations telles que Nguyen *et al.* (2018), pour qui la minéralisation variait de 7 à 71 % de la quantité appliquée initialement dans les 21 sols agricoles de textures différentes. Le plus haut taux de minéralisation a été observé à quatre jours, les facteurs clés de cette minéralisation étant le calcium et le magnésium échangeables. Cela peut aussi avoir des répercussions sur la fertilité du sol, puisque des carences ont déjà été observées dans les plantes en Ca^{2+} et Mg^{2+} suite à l'application de glyphosate (Cakmack *et al.*, 2009) et la création de complexes glyphosate-cations non assimilables par les plantes. Ce mécanisme d'adsorption du glyphosate par complexation a été beaucoup moins étudié que par ligand, ce qui rend les résultats de notre étude intéressants comme première base afin d'expliquer les différences de rétention observées entre les sols en milieu agricole. De plus ce mécanisme de sorption semble bien plus important pour le glyphosate que pour l'AMPA, pour lequel l'analyse multivariée n'a pas fait ressortir de liens avec les cations disponibles.

Les résultats de notre étude ont également mis en évidence une présence quasi-généralisée de glyphosate et d'AMPA dans la zone agricole de la plaine du Saint-Laurent, même dans des sols en régie biologique qui ne sont pas traités aux HBG. Cela confirme les observations de Aparicio *et al.* (2013) et de Lupi *et al.* (2015) qui ont mesuré les deux composés dans des sols témoins jamais exposés aux HBG. Pour que les cultures soient certifiées biologiques, au moins trois années sans application d'herbicides sont requises. Cette présence de traces de glyphosate et d'AMPA dans des sols de cultures certifiées biologiques peut soulever des inquiétudes. La présence de glyphosate et d'AMPA dans ces sols pourrait être expliquée par deux mécanismes : i) la persistance du glyphosate et de l'AMPA à très long terme dans les sols, avant que les cultures ne soient en régie biologique. Mais cette hypothèse reste peu probable étant

donné que seul deux échantillons avaient des teneurs plus élevées avant la période culturale qu'à la récolte. ii) la proximité de ces champs avec des superficies cultivées sous régies GR et/ou IP et une diffusion du glyphosate par le vent (Bento *et al.*, 2017; Farenhorst *et al.*, 2015) ou par les eaux de surface (Zheng *et al.*, 2018). En effet, le glyphosate et l'AMPA ont été détectés dans des échantillons d'air collectés dans des zones agricoles aux États-Unis provenant de la pulvérisation des HBG ou de l'érosion de particules de sol contaminées (Chang *et al.*, 2011). Les quantités de glyphosate observées dans la dérive par pulvérisation (6,9% de la quantité appliqué) ou par ruissellement (3,9 %) étaient similaires (Lupi *et al.*, 2019). En effet, comme vu dans le chapitre 1 de cette thèse, une part importante du glyphosate et de l'AMPA reste sous forme lixiviable au printemps pendant les premières semaines après application, rapporté aussi par Carles *et al.* 2018; Imfeld *et al.*, 2013 et Landry *et al.*, 2015. De plus une fraction du glyphosate et de l'AMPA qui persiste dans les sols peut aussi être lessivée, comme abordé dans le chapitre 1 de cette thèse et confirmé par Simonsen *et al.* (2008) qui ont montré que des résidus de glyphosate et d'AMPA pouvaient encore être désorbés 27 mois après application. Un long historique de culture et des applications répétées pourrait aussi augmenter le lessivage des composés dans le sol avec le nombre d'années d'application de HBG (Norgaard *et al.*, 2014).

3.5 Conclusion

Une fraction résiduelle du glyphosate des HBG ainsi que de son principal produit de dégradation, l'AMPA persistent dans les sols, ce qui peut soulever des inquiétudes pour la durabilité du système cultural. En outre, les deux composés ont aussi été détectés dans des sols sous régie biologique sans application récente de pesticides, montrant une diffusion de ces composés à grande échelle dans les zones agricoles. La persistance

semble plus importante dans les sols argileux avec une teneur plus importante en cations échangeables tels que le potassium et le calcium, qui jouent un grand rôle dans la fertilité des sols agricoles. La compétition et l'interaction des cations avec les autres molécules organiques, les anions et les exsudats et l'influence que cela peut avoir sur la persistance et la mobilité du glyphosate rendent essentiel la poursuite des études en champ en partenariat avec les agriculteurs. Ces résultats permettent de mettre en évidence l'importance de la présence de glyphosate et d'AMPA dans les sols de la plaine agricole du Saint-Laurent. Le suivi des cations disponibles et du glyphosate et de l'AMPA dans des sols et cultures différentes est une nouvelle approche qui permet de mieux comprendre les mécanismes de rétention de ces composés dans les sols et sert de base à l'avancement des connaissances en conditions de champ.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Le sujet de recherche de cette thèse fait écho aux problèmes de l'utilisation largement répandue dans le monde des herbicides à base de glyphosate (HBG) en grandes cultures, provoquant une inquiétude grandissante par rapport à leur toxicité dans l'environnement pour les organismes non ciblés et pour la santé humaine. Reconnus originalement comme présentant peu de risque pour les différentes matrices environnementales du fait de leur dégradation rapide et sa désactivation par fixation aux particules de sol, les HBG suscitent aujourd'hui des avis bien plus mitigés sur les impacts à long terme que peut représenter leur utilisation. Les organismes de surveillance des milieux aquatiques des régions agricoles en Amérique du Nord, mais également à travers le monde, ont tiré la sonnette d'alarme quant à la présence fréquente, voir quasi-systématique du glyphosate et de l'AMPA, dans les cours d'eau et les sédiments, montrant une large contamination de l'environnement. Si les propriétés et les impacts des HBG ont été souvent étudiés par la communauté scientifique en conditions contrôlées, les effets dans les champs en conditions réelles sont encore loin d'être compris, à cause de la complexité des milieux naturels. Le coût des analyses et la difficulté d'extraire le glyphosate et l'AMPA dans une grande diversité de textures de sol ont aussi longtemps limité les études en champ.

C'est dans ce contexte qu'on s'est intéressé dans ce projet à l'étude de la dynamique des HBG dans les sols pour mieux comprendre ce qui se passe au moment de l'application et quels sont les facteurs qui favorisent la mobilité et la persistance du glyphosate et de l'AMPA dans les sols agricoles en grandes cultures.

Démarche scientifique

Persistance et mobilité sont deux facteurs essentiels dans l'étude de la dynamique des pesticides dans les sols. Cette thèse s'est concentrée sur ces deux aspects en utilisant une approche exploratoire en conditions réelles, qui tient compte de la complexité du milieu et de la présence de facteurs non contrôlés, tels que la variabilité naturelle des sols, du climat et des pratiques culturales. En ce qui concerne le potentiel de mobilité des HBG, une extraction à l'eau du glyphosate et de l'AMPA a été utilisée pour illustrer le devenir de ces composés dans le sol et faire le lien avec les observations de plus en plus nombreuses de leur présence dans les différentes matrices environnementales. Une extraction plus énergique a été utilisée pour évaluer la persistance des HBG dans les sols. Le lien entre ces deux approches a permis d'enrichir les connaissances sur la dynamique des HBG dans les sols et de mettre en lumière certains facteurs clés pour mieux prévenir la persistance et la mobilité du glyphosate et de l'AMPA dans les sols agricoles après application.

Cette thèse a distingué la fraction labile du glyphosate et de l'AMPA par une extraction des sols à l'eau, de la fraction totale par une extraction basique. Ces techniques d'extraction ont été développées dans le laboratoire de recherche sur des sols agricoles fournis par les partenaires agricoles de la plaine du Saint-Laurent afin d'être capable de faire un suivi des teneurs en glyphosate et AMPA dans les sols agricoles. En parallèle à la constitution d'un outil de suivi des HBG pour le milieu

agricole, ce travail de recherche s'est aussi intéressé à l'interaction entre les HBG et les nutriments du sol, tels que les cations et le phosphore, qui de par les propriétés du glyphosate et de l'AMPA jouent un rôle majeur dans la dynamique de l'herbicide dans les sols. Cette approche a permis aussi de mieux comprendre la dynamique des HBG dans les sols agricoles liée aux propriétés spécifiques du glyphosate, à savoir sa biodégradabilité par l'activité microbienne, sa solubilité favorisant un transport dans les eaux, sa capacité de fixation sur les oxydes et les argiles du sol et son pouvoir chélateur avec les cations.

Le choix des sites et la récolte des données se sont faites en collaboration directe avec les acteurs agricoles de la région et plus particulièrement les producteurs, nous permettant une bonne compréhension de leurs stratégies de gestion de culture et du contexte local. Afin de faciliter la récolte de données et l'utilisation des résultats de ce projet dans le secteur agricole, nous avons utilisé les mêmes indicateurs physico-chimiques que ceux utilisés par les agronomes pour aider à la gestion des cultures (tels que les teneurs en cations et phosphore ainsi que la texture des sols). En effet, en milieu agricole l'indice de texture des sols est largement utilisé contrairement à la mesure détaillée de la composition en différentes argiles par exemple, plutôt utilisée dans les analyses sur les HBG dans la littérature scientifique. Cette approche originale est plus inclusive et comparable à ce qui est utilisé dans le milieu agricole, facilitant les suivis en champ.

Dans la première partie de l'étude, nous nous sommes intéressés exclusivement à la part de glyphosate et d'AMPA extractibles à l'eau dans les sols suite à l'application de HBG pour une période de trois ans, afin d'évaluer le potentiel de mobilité du glyphosate et de l'AMPA dans les sols. Dans la littérature, les études se basent

généralement sur le suivi des eaux de ruissellement ou d'infiltration qui représentent la part déjà lessivée et donc qui met de l'avant des quantités généralement faibles et ponctuelles. Du fait de la faible quantité de glyphosate et AMPA détectés dans les eaux, le potentiel de mobilité par les HBG a été longtemps peu considéré. Or grâce à notre approche, nous avons pu faire un suivi dans le temps des risques que ces deux composés soient lessivés et se dispersent dans l'environnement, en particulier dans les systèmes aquatiques environnants. Cela a mis en évidence des fractions du glyphosate et de l'AMPA potentiellement lessivables largement supérieures aux observations jusqu'alors. Cette étude a permis aussi de déterminer quelles étaient les pratiques de fertilisation les plus à risque en termes de mobilité du glyphosate et de l'AMPA. Différents types de fertilisations ont été testées, et notamment les organiques plus chargées en phosphore soluble et métaux. Ces observations ont soulevé la question de l'impact que peut avoir la part de HBG extractible à l'eau sur la dynamique des nutriments dans les sols et donc à plus long terme sur la fertilité des sols agricoles.

Dans la seconde partie de la thèse, une étude en serre sur un sol agricole qui n'avait pas reçu d'application d'HBG auparavant a permis d'observer plus précisément les changements qui surviennent dans les sols après application, en ayant éliminé une majeure partie de facteurs non contrôlés. Cette étude exploratoire tire son originalité du choix des indicateurs qui combine le suivi des cations et du phosphore de la phase labile avec la caractérisation génétique de la population microbienne, permettant de voir les effets potentiels au moment de l'application des HBG sur la chimie des sols et si cela affecte à très court terme la structure des trois grands groupes microbiens, bactéries, champignons et protistes. La diversité et la structure microbiennes ont été mesurées à partir des ASV, approche précise et innovante, dont le seuil d'identité des séquences est de 99% par rapport aux approches par OTU dont le seuil est de seulement

97 %. Cela a permis d'avoir un portrait complet et précis de la diversité génétique du sol agricole et de mettre en avant les genres bactériens les plus sensibles. L'étude a montré que les HBG n'avaient pas d'effets visibles sur la composition et la diversité des communautés microbiennes du sol à une dose recommandée dans un sol jamais exposé aux HBG auparavant et dans des conditions optimales de croissance. Mais les conditions peuvent vraiment varier d'un site à l'autre, surtout lorsque l'on tient compte de l'historique d'application des HBG. Ainsi des suivis dans les sols agricoles de certains de ces genres pourraient aider à mieux voir les impacts sur le long terme que peuvent entraîner les HBG dans les champs.

Dans la dernière partie de ce projet, l'étude a porté sur un suivi à l'échelle de la plaine agricole du Saint-Laurent des teneurs en glyphosate et AMPA dans les sols, et a permis de faire un premier état des lieux des risques de persistance des deux composés dans les sols de grandes cultures et de mieux comprendre la dynamique du glyphosate et de l'AMPA après application d'HBG. Nous nous sommes plus particulièrement intéressés à la texture du sol et à la présence de cations disponibles afin de faire le lien avec les mécanismes d'interaction cation-glyphosate explorés lors de l'expérience en serre, et comment cela peut influencer la persistance du glyphosate dans les sols.

Cette approche a d'ailleurs été peu abordée dans la littérature scientifique, qui a privilégié jusqu'alors l'étude des interactions cations-glyphosate soit directement en laboratoire en conditions contrôlées, soit indirectement par l'intermédiaire des plantes et des potentielles carences en cations induites par l'application de HBG dans les sols. Cette étude à grande échelle est une première au Québec et était très attendue dans le monde agricole. Elle a permis de dresser un premier portrait de la situation dans les différentes régions de culture de soya et de donner des pistes de solutions pour que les

acteurs du monde agricole intègrent le suivi du glyphosate et de l'AMPA dans leurs champs.

Avancés scientifiques

Plusieurs contributions à l'avancement des connaissances se dégagent de cette thèse :

1- Le potentiel de mobilité des HBG dans les sols après application

Cette thèse a mis en évidence la présence du glyphosate et d'AMPA dans la fraction labile des sols après application de HBG sur les cultures de soya et maïs, aussi bien en champs qu'en conditions contrôlées. Les résultats des suivis des teneurs en glyphosate extractibles à l'eau ont montré que 10 % ou plus de ce qui a été appliqué se retrouve sous cette forme extractible à l'eau pendant quelques semaines après application tout au long des différentes études de cette thèse. Cela implique un risque de mobilité des deux composés après application qui peuvent se déplacer par ruissellement ou infiltration en fonction de la nature des sols, des conditions climatiques et des pratiques agricoles. Les résultats de notre étude concordent avec les observations de Battaglin *et al.* (2014) et Giroux *et al.* (2015 ; 2019) qui ont observé les teneurs maximales de concentrations en glyphosate et AMPA dans les cours d'eau au printemps, pendant les quelques semaines d'application des herbicides en champs. Mais les résultats de cette thèse apportent aussi de nouvelles informations sur la dynamique des HBG dans les sols et notamment sur le fait que les quantités potentiellement mobiles de glyphosate et d'AMPA sont largement supérieures à celles rapportées par la littérature dans les eaux de lessivage ou de ruissellement, qui en général rapportaient des pourcentages de détection largement inférieurs à 1% dans les eaux par rapport à ce qui a été appliqué

(Rajab *et al.*, 2010 ; Bergström *et al.*, 2011; Norgaard *et al.*, 2014). C'est donc une piste intéressante qui montre qu'un suivi des teneurs en glyphosate et AMPA extractibles à l'eau dans les sols agricole à grande échelle, apporterait plus d'information sur la dynamique des deux composés dans les sols et les risques pour les milieux aquatiques plutôt que l'analyse directement dans les cours d'eau.

2- Persistance et accumulation des HBG dans les sols

La présence de glyphosate plus fortement adsorbé dans le sol a été mise en évidence dans la majorité des sites agricoles étudiés dans cette thèse, aussi bien au moment de l'application d'HBG qu'à la fin de la période culturale à l'automne ou un an plus tard avant la nouvelle application. Une partie du glyphosate a aussi été dégradée en AMPA, présent dans la quasi-totalité des échantillons analysés dans cette thèse que ce soit sous forme extractible à l'eau ou sous forme plus fortement adsorbée, et quelle que soit la période ou l'année d'étude ou le type de sol. Cela montre une présence quasi-permanente de ces composés dans les sols traités aux HBG avec de forts risques d'accumulation année après année, qui reste encore sous-estimée dans la littérature scientifique.

Le réservoir de glyphosate et d'AMPA dans les sols agricoles a été confirmé par les résultats de l'étude du chapitre 3 qui a mis en avant des quantités adsorbées notables quel que soit le type de sol ou de culture de soya dans les sols, aussi bien au printemps qu'à la récolte du soya. En effet, 91 % des sites agricoles sous culture de maïs et soya, échantillonnés dans la plaine agricole du Saint-Laurent, contenaient du glyphosate et de l'AMPA. L'AMPA était le composé le plus présent, quel que soit le type de sol ou les pratiques associées. La persistance tout au long de la période culturale de ces deux composés dans les sols agricoles confirme d'autres études récentes dans d'autres

régions du monde (Silva *et al.*, 2016 ; Primost *et al.*, 2017). Les risques de mobilité du glyphosate et de l'AMPA dans les sols mis en avant dans le chapitre 1 ont été aussi confirmés par l'étude du chapitre 3 pour laquelle une contamination des champs certifiés biologiques aux HBG a été observée. Ces cultures n'ont reçu aucune application d'HBG depuis plusieurs années, confirmant une mobilité potentielle des deux composés entre les champs agricoles dans une même plaine. Ainsi l'augmentation des doses et des fréquences d'application des HBG pourraient ne pas seulement impacter les sols traités mais aussi l'ensemble des sites avoisinants.

L'analyse des teneurs totales en glyphosate et AMPA dans la plaine du Saint-Laurent effectuée dans cette thèse n'avait jamais été fait auparavant et constitue une première base de résultats qui vont permettre au secteur agricole de mieux comprendre les impacts que peuvent avoir une utilisation trop importante et répétée des HBG pour les sols agricoles. Ces résultats montrent la nécessité que le secteur agricole mette en place des suivis des teneurs totales en glyphosate et AMPA dans les sols, constituant un risque non négligeable pour l'exploitation durable des sols agricoles.

Dans cette étude à l'échelle de la plaine agricole du Saint-Laurent, il n'a pas été possible d'avoir une bonne représentativité pour les pratiques associées telles que la fertilisation, malgré que nous ayons eu accès à l'information à travers les questionnaires soumis aux agriculteurs. Nous nous sommes donc surtout focalisés sur le type de culture et la texture du sol. Avec un plus grand nombre de sites, il pourrait être intéressant d'y introduire les pratiques de fertilisation qui, comme vu précédemment, impactent fortement la chimie du sol et donc la rétention et la persistance des HBG. De plus, il n'a pas été possible dans notre étude d'évaluer si le glyphosate était présent sous forme de complexe ou libre lors de l'analyse. Cela

nécessiterait de développer la méthode analytique avec par exemple un passage sur colonne sélective avant analyse, pour séparer les formes complexées et les formes libres.

3- Adsorption réversible des HBG dans les sols

Le stock de glyphosate et d'AMPA dans les sols pourrait être réversible puisque cette thèse a pu mettre en évidence que certaines pratiques pouvaient rendre à nouveau lessivables ces composés. On a pu voir notamment le rôle joué par l'épandage de boues d'épuration avec des teneurs élevées en phosphore et en divers métaux. Des changements chimiques liés à certaines pratiques agricoles pourraient jouer sur la dynamique de l'herbicide, notamment quand elles sont fortement chargées en phosphore soluble qui, comme observé dans la littérature peut rentrer en compétition avec le glyphosate et l'AMPA. En effet, le glyphosate et l'AMPA ont été détectés dans 56 % des échantillons après une fertilisation des sols par l'agriculteur avec des boues d'épuration, un an après l'application de HBG. Certaines études dans la littérature avaient mis en avant la possible mobilité du glyphosate après des applications de phosphore soluble par effet de compétition (Piccolo *et al.*, 1994 ; Simonsen *et al.*, 2008 ; Kjaer *et al.*, 2011 ; Laitinen *et al.*, 2009). Mais la particularité des résultats de cette thèse est la comparaison entre différents types de fertilisants organiques couramment utilisés par les agriculteurs. Et malgré que le lisier soit également fortement chargé en phosphore soluble, il a eu des effets mineurs sur la remobilisation du glyphosate et de l'AMPA, contrairement aux boues de station d'épuration. Cela constitue des résultats précieux et concrets pour les acteurs agricoles qui pourraient des aider dans leur choix de pratiques pour diminuer les risques de dégradation de leur sol. En plus de voir un fort impact des ajouts de fertilisants sur la dynamique des HBG dans les sols, l'étude

en conditions contrôlées dans le chapitre 2 a permis de voir que l'ajout d'herbicides à base de glyphosate a également un impact sur la dynamique du phosphore dans les sols, alors qu'il est un élément essentiel pour la bonne croissance des plantes et le maintien de la fertilité des sols. Une fois remobilisé, le phosphore peut être rapidement lessivé et ne plus être disponible pour les plantes. Cet effet n'a été que très peu étudié dans la littérature et constitue une piste très intéressante pour mieux comprendre l'impact que les HBG pourraient avoir sur la fertilité des sols sur le long terme.

Ces résultats mettent en lumière une réserve de glyphosate et d'AMPA fixée dans les sols de manière réversible qui, si remobilisée par un changement de la physico-chimie du sol, peut présenter un risque de contamination pour les milieux environnants. Les périodes de fertilisation présentent d'autant plus un risque de lessivage car elles se pratiquent au printemps, au moment du dégel des sols et des forts épisodes pluvieux.

4- Rôle des nutriments dans la dynamique des HBG dans les sols

L'expérience en serre a montré que les applications de glyphosate peuvent aussi jouer un rôle sur la dynamique du phosphore dans les sols et le rendre plus soluble après application de HBG. C'est une approche assez nouvelle puisqu'en général dans la littérature c'est plutôt l'effet des applications de phosphore sur la dynamique du glyphosate qui sont étudiés. D'ailleurs les applications de HBG aux doses recommandées par les manufacturiers et dans un sol jamais exposé auparavant ont aussi eu un effet sur la dynamique de certains cations, tel que le magnésium, le calcium et le cuivre par la formation de complexes issus de la propriété chélatante du glyphosate. Des effets sur les oxydes métalliques ont aussi été observés, mettant en lumière leur implication dans le processus de sorption-désorption.

Des changements courts et transitoires dans la chimie du sol ont été observés directement suite à l'application de la formulation commerciale d'HBG Factor 540® aux doses recommandées par le fabricant, mis en lumière par une augmentation des teneurs en magnésium et calcium extraits dans la fraction échangeable et des changements dans les oxydes métalliques. Fortement impliqués dans les processus de rétention des sols et moteurs principaux de la CEC, les effets sur le magnésium et le calcium donnent des pistes sur les modifications chimiques que peuvent engendrer des apports répétés de HBG dans les sols agricoles sur le long terme. Le cuivre reconnu pour son implication dans les processus de sorption du glyphosate, a vu ses teneurs augmenter dans la phase échangeable quatre jours après application de l'herbicide. L'ensemble de ces résultats constitue les premières bases pour montrer l'implication des mécanismes de rétention du glyphosate par complexation avec les cations et le rôle qu'ils peuvent jouer dans le passage du glyphosate de la phase labile à non labile, et inversement. Ce travail complète les études actuelles qui ont mis surtout de l'avant la réaction de complexation cation-glyphosate en laboratoire (Glass *et al.*, 1984; Hensley *et al.*, 1978; Eker *et al.*, 2006 ; Morillo *et al.*, 1997; Sundaram et Sundaram, 1997), ou mis en évidence des carences dans les plantes liées à la plus forte rétention des cations dans les sols par le glyphosate (Eker *et al.*, 2006; Bott *et al.*, 2008; Cakmack *et al.*, 2009 ; Zobiolo *et al.*, 2010). La mesure directe des interactions cations et glyphosate suite à l'application dans un sol vivant reste donc encore peu étudiée du fait de la complexité de l'interprétation. Cette interaction entre cation et glyphosate a d'ailleurs été confirmée dans le chapitre 3, où on a pu voir qu'il existait une corrélation entre la présence du glyphosate et certains cations dans les sols, différents selon les types de sols. En effet, la persistance du glyphosate dans les sols, était corrélée à une présence plus importante des cations majeurs (magnésium, potassium, calcium et fer) et à des sols de texture argileuse. Ces sols avec une grande surface d'adsorption pour le

glyphosate favorisent son immobilisation et sa persistance dans le sol, confirmant les observations de Bergström *et al.* (2011); Okada *et al.* (2016); Sidoli *et al.* (2016) et enfin Maqueda *et al.* (2017). Ainsi la composition cationique des sols, et notamment liés aux argiles seraient un facteur crucial qui jouerait sur la persistance du glyphosate dans les sols. Autre point intéressant, les résultats différaient pour l'AMPA, ce qui semble présumer que les mécanismes de fixation du glyphosate et de l'AMPA pourraient être en partie différents et donc faire varier leur dynamique dans les sols.

5- Effet des HBG sur la communauté microbienne des sols

Des teneurs quantifiables de glyphosate et d'AMPA ont été observées dans les champs non exposés aux HBG, c'est-à-dire les cultures biologiques, et montrent que les deux composés peuvent en effet diffuser et persister même à l'extérieur des zones traitées. Les analyses des effets à court terme des HBG sur la diversité et la structure des communautés microbiennes observées dans le chapitre 2 n'ont pas montré de réels impacts significatifs. Mais cela a été fait avec une application aux doses recommandées sur un sol agricole jamais exposé. Au vu de toutes les autres observations de cette thèse, le glyphosate et l'AMPA peuvent se fixer et s'accumuler dans les sols et constituer un réservoir dont les teneurs pourraient être plus élevées après applications répétées. Ce réservoir pourrait être remobilisé par changement physico-chimique du sol et constitue donc une menace potentielle pour les micro-organismes du sol. Il serait intéressant pour la suite de refaire ces analyses à des teneurs représentatives de l'accumulation des composés dans le sol, et aux pratiques effectuées en parallèle qui ont un effet sur la dynamique de l'herbicide dans le sol.

Ces changements physico-chimiques n'ont pas eu d'effet dans les jours suivant l'application d'HBG sur la composition des communautés microbiennes, même pour

les bactéries qui sont un groupe à croissance très rapide. Dans la littérature, des effets ont été vus à très court terme mais souvent de manière transitoire et ciblée sur les activités générales telles que la respiration ou l'activité enzymatique (Busse *et al.*, 2001; Radcliff *et al.*, 2006; Weaver *et al.*, 2007). C'est d'ailleurs principalement suite à des doses très élevées ou des applications répétées que des impacts ont été observés sur les communautés microbiennes des sols (Kuklinsky-Sobral *et al.*, 2005; Barriuso *et al.*, 2011; Newman *et al.*, 2016).

Ainsi, cette thèse a mis en évidence que les HBG persistent dans les sols agricoles après application, une partie sous forme de glyphosate et une autre partie plus importante sous forme d'AMPA, plus persistante. La composition en cations et phosphore des sols semble fortement impacter la dynamique de rétention des HBG. Contrairement à ce que la plupart des études suggèrent, cette thèse montre qu'il serait plus pertinent de s'intéresser directement à la composition en cations et phosphore du sol plutôt qu'à la teneur en argile et oxydes, qui donnent finalement peu d'informations. Cet indicateur est facilement utilisable par le milieu agricole car il est déjà suivi lors des analyses de sol routinières. L'autre aspect mis en avant est qu'il serait primordial d'étudier la dynamique de l'AMPA de manière plus indépendante de celle du glyphosate. La composition du sol favorisant la persistance de l'un ou l'autre composé ne semble pas être exactement la même. Par ailleurs, l'application de HBG peut entraîner des changements chimiques dans les sols, qui peut impacter la rétention des nutriments dans le sol. Ces éléments sont fortement impliqués dans le maintien des fonctions du sol, que ce soit pour combler les besoins des cultures ou ceux des organismes impliqués dans la dégradation de la matière organique et de la structure du sol. L'utilisation des HBG pourrait ainsi affecter le maintien des fonctions du sol à plus long terme et représenter un risque pour la durabilité de la production agricole. Malgré

que les sols de la plaine agricole du Saint-Laurent soient de manière générale fertiles, ces sols ont aussi une forte capacité d'accumulation du glyphosate et de l'AMPA et ce depuis la première application de HBG. Les périodes où ils subissent d'importantes saturations en eau les rendent plus susceptibles de libérer de fortes quantités de glyphosate et AMPA accumulés. Ce phénomène est amplifié par toute pratique d'apports en phosphore ou cations solubles tels que les fertilisations. Ce risque de mobilité des HBG est fortement appuyé par les rapports annuels de suivi des taux de pesticides dans les eaux du Québec. La problématique est d'autant plus importante que le glyphosate est un produit potentiellement cancérigène, soulevant déjà des inquiétudes au niveau de la santé publique.

Une réduction drastique de l'utilisation de cette catégorie d'herbicide serait donc à envisager rapidement dans le milieu agricole. Avec le panel de pratiques agricoles utilisées en grandes cultures, il serait difficile de limiter le risque de lessivage du glyphosate et de l'AMPA par des pratiques de fertilisations alternatives. Tant qu'il y a des apports de phosphore soluble et de cations, cela pourrait représenter un risque de mobilité des HBG stockés dans les sols.

Sachant que seule une faible partie des HBG qui sont appliqués pénètre dans les plantes cibles, ces herbicides sont appliqués en excès année après année. Les études réalisées dans des pays comme l'Argentine où les cultures subissent plus d'une application par année présentent d'ailleurs des teneurs en glyphosate et AMPA dans les sols bien plus élevées malgré que le type de sol et la température favoriserait davantage la dégradation des HBG qu'au Québec.

Pour diminuer les doses de HBG appliquées, favoriser les systèmes de jachères laisserait au sol le temps de dégrader les pesticides et éviter des remobilisations trop

importantes de fractions résiduelles de glyphosate et d'AMPA. Dans le cas où cette technique n'est pas envisageable économiquement, des pratiques culturales alternatives avec entre autres les couvre-sols ou les faux semis, pourraient aider à appliquer moins de HBG. La technique du faux semis consiste à effectuer un travail du sol fin qui entrainera la levée des mauvaises herbes. Une fois les mauvaises herbes sorties, un second travail du sol est effectué avant de les détruire avant le semis de culture de l'année. Il pourrait être pertinent de continuer à compléter le référentiel sur les communautés microbiennes des sols agricoles de la région afin de voir quelles sont les conditions les plus favorables pour une bonne dégradation des fractions résiduelles de HBG.

De plus, un suivi des teneurs en glyphosate et AMPA dans les sols agricoles paraît essentiel pour que les producteurs puissent ajuster leur stratégie de gestion des cultures afin de diminuer les risques et de mettre en place des pratiques plus durables. Ces suivis pourraient être intégrés dans les analyses obligatoires des sols tous les cinq ans et permettraient de constater l'évolution des teneurs en glyphosate et AMPA des sols agricoles. Cela permettrait aux producteurs d'envisager de limiter par eux-mêmes l'utilisation des HBG dans leurs champs.

Du côté de la recherche, le développement d'outils de suivi des pesticides et des pratiques à risques pourrait aider les acteurs du domaine agricoles dans le processus de décision en les incitant à agir concrètement pour limiter les effets de la forte utilisation d'HBG. Ceci pourrait être fait notamment en intégrant les analyses de routine des pesticides en champs, et ayant une bonne connaissance des pratiques associées qui peuvent agir sur la mobilité du glyphosate et de l'AMPA dans le sol. Un indice de risque de mobilité et de persistance au glyphosate et AMPA adapté aux sols agricoles

du Québec pourrait aussi aider, avec les bonnes pratiques à adopter pour limiter les risques de dispersion des composés dans l'environnement selon le type de sol cultivé. Mais pour cela, il reste encore beaucoup de connaissances à acquérir, soulignant la nécessité de continuer les études en conditions réelles dans les champs et en partenariat avec les producteurs.

Développer l'aspect complexation avec les cations permettrait de mieux comprendre quels sont les mécanismes exacts de rétention du glyphosate dans le sol, alors que de nombreux chélatants naturels peuvent interférer dans ce mécanisme. Développer des analyses sur colonne qui nous permettrait de déterminer la forme (complexée ou libre) des cations nous permettrait de mieux comprendre leur interaction avec le glyphosate et l'AMPA. De plus les changements chimiques, comme la disponibilité des cations que peut engendrer les applications de HBG pour les cultures est un volet essentiel pour maintenir une bonne productivité en champ, mais a été seulement abordé dans la littérature scientifique sans pour autant pour le moment pouvoir bien l'expliquer.

Un autre volet intéressant à développer serait d'étudier les possibilités d'éliminer les fractions résiduelles de HBG dans les sols agricoles, afin de limiter les risques sur le long terme surtout pour les sols avec un long historique d'exposition aux HBG. Cela pourrait s'appuyer soit sur un volet physico-chimie du sol, en jouant sur la rétention et les méthodes d'extraction du glyphosate grâce à son pouvoir chélatant, ou alors sur le volet microbiologie pour accélérer la dégradation de l'herbicide dans le champ directement, à l'aide d'espèces microbiennes indigènes par exemple.

RÉFÉRENCES

AAC. 2002. Le système canadien de classification des sols- 3ème édition. Groupe de travail sur la classification des sols, Direction générale de la recherche. *Publication 1646*. Ottawa (ON) p. 196.

ALBERS, C. N., BANTA, Gary T., HANSEN, P. E., et al. 2009. The influence of organic matter on sorption and fate of glyphosate in soil—Comparing different soils and humic substances. *Environmental pollution*, vol. 157, no 10, p. 2865-2870.

ALFERNESS, P. L. et IWATA, Y. 1994. Determination of glyphosate and (aminomethyl) phosphonic acid in soil, plant and animal matrixes, and water by capillary gas chromatography with mass-selective detection. *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 42, no 12, p. 2751-2759.

ALLEGRINI, M., ZABALOY, M. C., et GÓMEZ, E. D. V. 2015. Ecotoxicological assessment of soil microbial community tolerance to glyphosate. *Science of the Total Environment*, vol. 533, p. 60-68

ALLISON, S. D., et MARTINY, J. B. 2008. Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol 105(Supplement 1), p. 11512-11519.

ALONSO, L. L., DEMETRIO, P. M., ETCHEGOYEN, M. A., et al. 2018. Glyphosate and atrazine in rainfall and soils in agroproductive areas of the pampas region in Argentina. *Science of the Total Environment*, vol. 645, p. 89-96.

ALORI, E. T., GLICK, B. R., et BABALOLA, O. O. 2017. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Frontiers in microbiology*, vol 8, p. 971.

AL-RAJAB, A. J., AMELLAL, S., et SCHIAVON, M. 2008. Sorption and leaching of ¹⁴C-glyphosate in agricultural soils. *Agronomy for sustainable development*, vol. 28, no 3, p. 419-428.

AL-RAJAB, A. J. et SCHIAVON, M. 2010. Degradation of ¹⁴C-glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in three agricultural soils. *Journal of Environmental Sciences*, vol. 22, no 9, p. 1374-1380.

ANDRÉA, M. M. D., PERES, T. B., LUCHINI, L. C., BAZARIN, S., PAPINI, S., MATALLO, M. B. et SAVOY, V. L. T. 2003. Influence of repeated applications of glyphosate on its persistence and soil bioactivity. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, vol 38, p. 1329-1335.

APARICIO, V. C., DE GERÓNIMO, E., MARINO, D., et al. 2013. Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins. *Chemosphere*, vol. 93, no 9, p. 1866-1873.

ARANGO, L., BUDDRUS-SCHIEMANN, K., OPELT, K., et al. 2014. Effects of glyphosate on the bacterial community associated with roots of transgenic Roundup Ready® soybean. *European journal of soil biology*, vol. 63, p. 41-48.

ARAÚJO, A. D., MONTEIRO, R. T. R., et ABARKELI, R. B. 2003. Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils. *Chemosphere*, vol. 52, no 5, p. 799-804.

ARONSSON, H., STENBERG, M. et ULÉN, B. 2011. Leaching of N, P and glyphosate from two soils after herbicide treatment and incorporation of a ryegrass catch crop. *Soil Use and management*, vol 27, p. 54-68.

AVIS, T. J., GRAVEL, V., ANTOUN, H., ET TWEDDELL, R. J. 2008. Multifaceted beneficial effects of rhizosphere microorganisms on plant health and productivity. *Soil biology and biochemistry*, vol 40, no 7, p. 1733-1740.

BABIKER, E. M., HULBERT, S. H., SCHROEDER, K. L., et PAULITZ, T. C. 2011. Optimum timing of preplant applications of glyphosate to manage *Rhizoctonia* root rot in barley. *Plant disease*, vol 95, no 3, p. 304-310.

BÁEZ, M. E., FUENTES, E., et al. 2014. Determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in aqueous soil matrices: A critical analysis of the 9-

fluorenylmethyl chloroformate derivatization reaction and application to adsorption studies. *Journal of separation science*, vol. 37, no 21.

BÁEZ, M. E., ESPINOZA, J., SILVA, R., et al. 2015. Sorption-desorption behavior of pesticides and their degradation products in volcanic and nonvolcanic soils: interpretation of interactions through two-way principal component analysis. *Environmental science and pollution research*, vol. 22, no 11, p. 8576-8585.

BAILEY, W. A., POSTON, D. H., WILSON, H. P., et HINES, T. E. 2002. Glyphosate interactions with manganese. *Weed Technology*, vol 16, no 4, p. 792-799.

BANKS, M. L., KENNEDY, A. C., KREMER, R. J., et al. 2014. Soil microbial community response to surfactants and herbicides in two soils. *Applied Soil Ecology*, vol. 74, p. 12-20.

BARIUAN, J. V., REDDY, K. N., et WILLS, G. D. 1999. Glyphosate injury, rainfastness, absorption, and translocation in purple nutsedge (*Cyperus rotundus*). *Weed Technology* p. 112-119.

BARJA, B. C. et DOS SANTOS AFONSO, M. 2005. Aminomethylphosphonic acid and glyphosate adsorption onto goethite: a comparative study. *Environmental science & technology*, vol. 39, no 2, p. 585-592.

BARRETT, K. A., et MCBRIDE, M. 2005. Oxidative degradation of glyphosate and aminomethylphosphonate by manganese oxide. *Environmental science & technology*, vol 39, no 23, p. 9223-9228.

BARRETT, K. A., et MCBRIDE, M. B. 2006. Trace element mobilization in soils by glyphosate. *Soil Science Society of America Journal*, vol 70, no 6, p. 1882-1888.

BARRIUSO, J., MARIN, S., et MELLADO, R. P. 2010. Effect of the herbicide glyphosate on glyphosate-tolerant maize rhizobacterial communities: a comparison with pre-emergence applied herbicide consisting of a combination of acetochlor and terbuthylazine. *Environmental microbiology*, vol 12, no 4, p. 1021-1030.

BATTAGLIN, W., MEYER, M., KUIVILA, K. et DIETZE, J. 2014. Glyphosate and its degradation product AMPA occur frequently and widely in US soils, surface water, groundwater, and precipitation. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association*, 50, 275-290.

BEAUDIN, I., GIROUX, M., MICHAUD, A., BEAUDET, P. 2008. Les sources les formes et la gestion du phosphore en milieu agricole, Fiche technique n°2. *CRAAQ, IRDA et MAPAQ*. [Disponible en ligne]. Récupéré de <https://www.craaq.qc.ca/Publications-du-CRAAQ/les-sources-les-formes-et-la-gestion-du-phosphore-en-milieu-agricole/p/PAUT0045>

BENBROOK, C. M. 2012. Impacts of genetically engineered crops on pesticide use in the US--the first sixteen years. *Environmental Sciences Europe*, vol. 24, no 1, p. 24.

BENBROOK, C. M. 2016. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environmental Sciences Europe*, vol 28, no 1, p. 3.

BENTO, C. PM, YANG, X., GORT, G., et al. Persistence of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in loess soil under different combinations of temperature,

soil moisture and light/darkness. *Science of the Total Environment*, 2016, vol. 572, p. 301-311.

BENTO, C. PM, GOOSSENS, D., REZAEI, M., et al. 2017. Glyphosate and AMPA distribution in wind-eroded sediment derived from loess soil. *Environmental pollution*, vol. 220, p. 1079-1089.

BENTO, C. PM, VAN DER HOEVEN, S., YANG, X., et al. 2019. Dynamics of glyphosate and AMPA in the soil surface layer of glyphosate-resistant crop cultivations in the loess Pampas of Argentina. *Environmental Pollution*, vol. 244, p. 323-331.

BENTO, C. P., YANG, X., GORT, G., XUE, S., VAN DAM, R., ZOMER, P., MOL, H. G., RITSEMA, C. J. et GEISSEN, V. 2016. Persistence of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in loess soil under different combinations of temperature, soil moisture and light/darkness. *Science of the Total Environment*, vol 572, p. 301-311.

BERENDSEN, R. L., PIETERSE, C. MJ, et BAKKER, P. AHM. 2012. The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in plant science*, vol. 17, no 8, p. 478-486.

BERGSTRÖM, L., BÖRJESSON, E. et STENSTRÖM, J. 2011. Laboratory and Lysimeter Studies of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid in a Sand and a Clay Soil. *Journal of Environmental Quality*, 40, 98-108.

BERNARDS, M. L., THELEN, K. D., PENNER, D., MUTHUKUMARAN, R. B., et MCCRACKEN, J. L. 2005. Glyphosate interaction with manganese in tank mixtures

and its effect on glyphosate absorption and translocation. *Weed Science*, vol 53, no 6, p. 787-794.

BORGGGAARD, O. K., RABEN-LANGE, B., GIMSING, A. L., et al. 2005. Influence of humic substances on phosphate adsorption by aluminium and iron oxides. *Geoderma*, vol. 127, no 3-4, p. 270-279.

BORGGGAARD, O. K. et GIMSING, A. L. 2008. Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review. *Pest management science*, vol 64, p. 441-456.

BOTT, S., TEFAMARIAM, T., CANDAN, H., CAKMAK, I., RÖMHELD, V., et NEUMANN, G. 2008. Glyphosate-induced impairment of plant growth and micronutrient status in glyphosate-resistant soybean (*Glycine max L.*). *Plant and soil*, vol 312, no 1-2, p. 185.

BOTT, S., TEFAMARIAM, T., KANIA, A., EMAN, B., ASLAN, N., RÖMHELD, V. et NEUMANN, G. 2011. Phytotoxicity of glyphosate soil residues re-mobilised by phosphate fertilisation. *Plant and soil*, vol 342, p. 249-263.

BOTTA, F., LAVISON, G., COUTURIER, G., et al. 2009. Transfer of glyphosate and its degradate AMPA to surface waters through urban sewerage systems. *Chemosphere*, vol 77, p. 133-139.

BRASSARD, P., GODBOUT, S., PALACIOS, J. H., et al. 2018. Effect of six engineered biochars on GHG emissions from two agricultural soils: A short-term incubation study. *Geoderma*, vol. 327, p. 73-84.

BRONICK, C. J., et LAL, R. 2005. Soil structure and management: a review. *Geoderma*, vol 124, no 1-2, p. 3-22.

VAN BRUGGEN, A. H. C., HE, M. M., SHIN, K., et al. 2018. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Science of The Total Environment*, vol 616, p. 255-268.

BÜNEMANN, E. K., SMERNIK, R. J., MARSCHNER, P., et al. 2008. Microbial synthesis of organic and condensed forms of phosphorus in acid and calcareous soils. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 40, no 4, p. 932-946..

BÜNEMANN, E. K., AUGSTBURGER, S., et FROSSARD, E. 2016. Dominance of either physicochemical or biological phosphorus cycling processes in temperate forest soils of contrasting phosphate availability. *Soil Biology and Biochemistry*, vol 101, p. 85-95.

BUSSE, M. D., RATCLIFF, A. W., SHESTAK, C. J., et POWERS, R. F. 2001. Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial communities. *Soil biology and biochemistry*, vol 33, no 12-13, p. 1777-1789.

CÁCERES-JENSEN, L., GAN, J., BAEZ, M., FUENTES, R., et ESCUDEY, M. 2009. Adsorption of glyphosate on variable-charge, volcanic ash-derived soils. *Journal of environmental quality*, vol 38, no 4, p. 1449-1457.

CAETANO, M. S., RAMALHO, Tca. C., BOTREL, D. F., et al. 2012. Understanding the inactivation process of organophosphorus herbicides: A DFT study of glyphosate

metallic complexes with Zn²⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Cu²⁺, Co³⁺, Fe³⁺, Cr³⁺, and Al³⁺. *International Journal of Quantum Chemistry*, vol. 112, no 15, p. 2752-2762.

CAKMAK, I., YAZICI, A., TUTUS, Y., et OZTURK, L. 2009. Glyphosate reduced seed and leaf concentrations of calcium, manganese, magnesium, and iron in non-glyphosate resistant soybean. *European Journal of Agronomy*, vol 31, no 3, p. 114-119.

CALLAHAN, B. J., MCMURDIE, P. J., ROSEN, M. J., HAN, A. W., JOHNSON, A. J. A., et HOLMES, S. P. 2016. DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature methods*, vol 13, no 7, p. 581.

CANDELA, L., CABALLERO, J., et RONEN, D. 2010. Glyphosate transport through weathered granite soils under irrigated and non-irrigated conditions—Barcelona, Spain. *Science of the total environment* vol. 408, no 12, p. 2509-2516.

CAPORASO, J. G., KUCZYNSKI, J., STOMBAUGH, J., et al. 2010. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature methods*, vol 7, no 5, p. 335.

CARLES, L., GARDON, H., JOSEPH, L., et al. 2019. Meta-analysis of glyphosate contamination in surface waters and dissipation by biofilms. *Environment international*, vol. 124, p. 284-293.

CARLISLE, S. M. et TREVORS, J. T. 1988. Glyphosate in the environment. *Water, Air, and Soil Pollution*, vol. 39, no 3-4, p. 409-420.

CASSIGNEUL, A., BENOIT, P., BERGHEAUD, V., et al. 2016. Fate of glyphosate and degradates in cover crop residues and underlying soil: A laboratory study. *Science of the Total Environment*, vol. 545, p. 582-590.

CASTRO FRANCO, M., DOMENECH, M. B., BORDA, M. R., et al. 2018. A spatial dataset of topsoil texture for the southern Argentine Pampas. Vol. 12, p. 18-27.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC et MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DES PÊCHERIES ET DE L'ALIMENTATION DU QUÉBEC. 2003. Détermination de la matière organique par incinération : méthode de perte de feu (PAF), MA. 1010 – PAF 1.0, *Ministère de l'Environnement du Québec*, p. 9

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC et MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DES PÊCHERIES ET DE L'ALIMENTATION DU QUÉBEC. 2003. Détermination des métaux extractibles dans les sols agricoles : méthode par spectrométrie d'émission au plasma d'argon ou par spectrométrie d'absorption atomique après extraction avec la méthode Mehlich III, MA. 1010 – Mét. ass. 1.0, *Ministère de l'Environnement du Québec*, p. 12

CERDEIRA A. L., et DUKE S.O. 2006. The current status and environmental impacts of glyphosate-resistant crops: a review. *J. Environ. Qual.*, vol 35, p. 1633-1658

CHEAH, U. B., KIRKWOOD, R. C. et LUM, K. Y. 1997. Adsorption, desorption and mobility of four commonly used pesticides in Malaysian agricultural soils. *Pest Management Science*, vol 50, p. 53-63.

CHEAH, U-B., KIRKWOOD, R. C., et LUM, K-Y. 1998. Degradation of four commonly used pesticides in Malaysian agricultural soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 46, no 3, p. 1217-1223.

CHEN, Z., HE, W., et BEER, M. 2009. Speciation of glyphosate, phosphate and aminomethylphosphonic acid in soil extracts by ion chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry with an octopole reaction system. *Talanta*, vol 78, no 3, p. 852-856.

CORREA, E. A.; DAYAN, F. E.; OWENS, D. K. et al. 2016. Glyphosate-Resistant and Conventional Canola (*Brassica napus* L.) Responses to Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid (AMPA) Treatment. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 64, p. 3508–3513.

COUPE, R. H., KALKHOFF, S. J., CAPEL, P. D., et al. 2012. Fate and transport of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters of agricultural basins. *Pest management science*, vol. 68, no 1, p. 16-30.

DEGENHARDT, D., HUMPHRIES, D., CESSNA, A. J., MESSING, P., BADIOU, P. H., RAINA, R., FARENHORST, A. et PENNOCK, D. J. 2012. Dissipation of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in water and sediment of two Canadian prairie wetlands. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, vol 47, p. 631-639.

DE JONGE, H. et DE JONGE, L. W. 1999. Influence of pH and solution composition on the sorption of glyphosate and prochloraz to a sandy loam soil. *Chemosphere*, vol. 39, no 5, p. 753-763.

DE JONGE, H., DE JONGE, L. W. et JACOBSEN, O. H. 2000. [14C] Glyphosate transport in undisturbed topsoil columns. *Pest Management Science*, vol 56, p. 909-915.

DE JONGE, H., DE JONGE, L. W., JACOBSEN, O. H., YAMAGUCHI, T., et MOLDRUP, P. 2001. Glyphosate sorption in soils of different pH and phosphorus content. *Soil Science*, vol 166, no 4, p. 230-238.

DELORENZO, M. E., SCOTT, G. I. et ROSS, P. E. 2001. Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms: a review. *Environmental toxicology and chemistry*, vol 20, p. 84-98.

DESANTIS, T. Z., HUGENHOLTZ, P., LARSEN, N., ROJAS, M., BRODIE, E. L., KELLER, K., et al. 2006. Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Appl. Environ. Microbiol.*, vol 72, no 7, p. 5069-5072.

DIDERIKSEN, K. et STIPP, S. L. S. 2003. The adsorption of glyphosate and phosphate to goethite: a molecular-scale atomic force microscopy study. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, vol. 67, no 18, p. 3313-3327.

DION, H.M., HARSH, J.B., et HILL, H.H. 2001. Competitive sorption between glyphosate and inorganic phosphate on clay minerals and low organic matter soils. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, Vol 249, p. 385-390

DOLLINGER, J., DAGÈS, C., et VOLTZ, M. 2015. Glyphosate sorption to soils and sediments predicted by pedotransfer functions. *Environmental chemistry letters*, vol. 13, no 3, p. 293-307.

DONALD, W. W. 2002. Glyphosate effects on ground cover of tall fescue waterways and estimated soil erosion. *Journal of soil and water conservation*, vol. 57, no 5, p. 237-243.

DRUILLE, M., CABELLO, M. N., PARISI, PA G., et al. 2015. Glyphosate vulnerability explains changes in root-symbionts propagules viability in pampean grasslands. *Agriculture, ecosystems & environment*, vol. 202, p. 48-55.

DRUILLE, M., GARCIA-PARISI, P. A., GOLLUSCIO, R. A., CAVAGNARO, F. P., et OMACINI, M. 2016. Repeated annual glyphosate applications may impair beneficial soil microorganisms in temperate grassland. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, vol 230, p. 184-190.

DUKE, S. O. et POWLES, S. B. 2008. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. *Pest management science*, vol 64, p. 319-325.

DUKE, S. O. 2015. Perspectives on transgenic, herbicide - resistant crops in the United States almost 20 years after introduction. *Pest management science*, vol. 71, no 5, p. 652-657.

DUKE, S. O., POWLES, S. B., et SAMMONS, R. D. 2018. Glyphosate—How It Became a Once in a Hundred Year Herbicide and Its Future. *Outlooks on Pest Management*, vol. 29, no 6, p. 247-251.

EBERBACH, P. 1998. Applying non - steady - state compartmental analysis to investigate the simultaneous degradation of soluble and sorbed glyphosate (N - (phosphonomethyl) glycine) in four soils. *Pesticide Science*, vol. 52, no 3, p. 229-240.

EKER, S., OZTURK, L., YAZICI, A., ERENOGLU, B., ROMHELD, V., et CAKMAK, I. 2006. Foliar-applied glyphosate substantially reduced uptake and transport of iron and manganese in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. *Journal of agricultural and food chemistry*, vol 54, no 26, p. 10019-10025.

ERIKSSON, A. K., HESTERBERG, D., KLYSUBUN, W., et al. 2016. Phosphorus dynamics in Swedish agricultural soils as influenced by fertilization and mineralogical properties: Insights gained from batch experiments and XANES spectroscopy. *Science of the Total Environment*, vol. 566, p. 1410-1419.

FARENHORST, A., ANDRONAK, L. A., et MCQUEEN, R. D. A. 2015. Bulk deposition of pesticides in a Canadian city: Part 1. Glyphosate and other agricultural pesticides. *Water, Air, & Soil Pollution*, vol. 226, no 3, p. 47.

FENG, J. C. et THOMPSON, D. G. 1990. Fate of glyphosate in a Canadian forest watershed. 2. Persistence in foliage and soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol 38, p. 1118-1125.

FLORES, F. M., TORRES SÁNCHEZ, R. M., et DOS SANTOS AFONSO, M. Some aspects of the adsorption of glyphosate and its degradation products on montmorillonite. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, vol. 25, p. 18138-18146.

FOMSGAARD, I. S., SPLIID, N. H. H., et FELDING, G. 2003. Leaching of pesticides through normal-tillage and low-tillage soil—a lysimeter study. II. Glyphosate. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, vol. 38, no 1, p. 19-35.

FUNKE, T., HAN, H., HEALY-FRIED, M. L., FISCHER, M., et SCHÖNBRUNN, E. 2006. Molecular basis for the herbicide resistance of Roundup Ready crops. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol 103, no 35, p. 13010-13015.

GAO, Z., KARLSSON, I., GEISEN, S., KOWALCHUK, G., et JOUSSET, A. 2018. Protists: Puppet Masters of the Rhizosphere Microbiome. *Trends in plant science*.

GERRITSE, R.G., BELTRAN, J., HERNANDEZ, F., 1996. Adsorption of atrazine, simazine, and glyphosate in soils of the Gnangara Mound, Western Australia. *Aust. J. Soil Res.* Vol 34, p. 599-607.

GETENGA, Z. M. et KENGARA, F. O. 2004. Mineralization of glyphosate in compost-amended soil under controlled conditions. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, vol. 72, no 2, p. 266-275.

GIESY, J. P., DOBSON, S. et SOLOMON, K. R. 2000. Ecotoxicological risk assessment for Roundup® herbicide. *Reviews of environmental contamination and toxicology*. Springer.

GIMSING, A.L., BORGGAARD, O.K., 2001. Effect of KCl and CaCl₂ as background electrolytes on the competitive adsorption of glyphosate and phosphate on goethite. *Clays Clay Miner*, vol 49, p. 270-275.

GIMSING, A.L., BORGGAARD, O.K., 2002. Competitive adsorption of glyphosate and phosphate on clay minerals and oxides. *Clay Miner*, vol 37, p. 509-515

GIMSING, A. L., SZILAS, C., et BORGGAARD, O. K. 2007. Sorption of glyphosate and phosphate by variable-charge tropical soils from Tanzania. *Geoderma*, vol 138, no 1-2, p. 127-132.

GIROUX, I., PELLETIER, L. et D'AUTEUIL-POTVIN, F. 2015. Présence de pesticides dans l'eau au Québec: portrait et tendances dans les zones de maïs et de soya 2011 à 2014, *Direction du suivi de l'état de l'environnement, Ministère du développement durable, de l'environnement et de la lutte contre les changements climatiques, Direction du suivi de l'état de l'environnement, ISBN. 978-2-550-73603-5, 47 p. + 5 ann.* [En ligne] <http://www.mddelcc.gouv.qc.ca/eau/flrivlac/pesticides.htm>

GIROUX, I. 2018. État de situation sur la présence de pesticides au lac Saint-Pierre, Québec, ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques, *Direction de l'information sur les milieux aquatiques.* [En ligne] www.mddelcc.gouv.qc.ca/eau/lac-st-pierre/etatpresence-pesticides.pdf

GIROUX, I. 2019. Présence de pesticides dans l'eau au Québec : Portrait et tendances dans les zones de maïs et de soya – 2015 à 2017, Québec, ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques, *Direction générale du suivi de l'état de l'environnement.* [En ligne] http://www.environnement.gouv.qc.ca/pesticides/mais_soya/portrait2015-2017/rapport-2015-2017.pdf

GJETTERMANN, B., PETERSEN, C. T., HANSEN, S., et al. 2011. Kinetics of glyphosate desorption from mobilized soil particles. *Soil Science Society of America Journal*, vol. 75, no 2, p. 434-443.

GLASS, R. L. 1987. Adsorption of glyphosate by soils and clay minerals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol 35, no 4, p. 497-500.

GLOZIER, Nancy E., STRUGER, John, CESSNA, Allan J., et al. 2012. Occurrence of glyphosate and acidic herbicides in select urban rivers and streams in Canada, 2007. *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 19, no 3, p. 821-834.

GOMES, M. P., MACCARIO, S., LUCOTTE, M., et al. 2015. Consequences of phosphate application on glyphosate uptake by roots: impacts for environmental management practices. *Science of the Total Environment*, vol. 537, p. 115-119.

GOUVERNEMENT DU QUEBEC. (2011-). *Info-sols.ca* [Base de donnée]. Récupéré de <http://www.info-sols.ca/>

GREEN, Jerry M. 2016. The rise and future of glyphosate and glyphosate - resistant crops. *Pest management science*, vol. 74, no 5, p. 1035-1039.

GROS, P., AHMED, A., KÜHN, O. et LEINWEBER, P. 2017. Glyphosate binding in soil as revealed by sorption experiments and quantum-chemical modeling. *Science of The Total Environment*, vol 586, p. 527-535.

GUILLOU, L., BACHAR, D., AUDIC, S., BASS, D., BERNEY, C., BITTNER, L., et al. 2012. The Protist Ribosomal Reference database (PR2): a catalog of unicellular

eukaryote small sub-unit rRNA sequences with curated taxonomy. *Nucleic acids research*, vol 41, no D1, p. D597-D604.

GUNARATHNA, S., GUNAWARDANA, B., JAYAWEERA, M., et al. 2018. Glyphosate and AMPA of agricultural soil, surface water, groundwater and sediments in areas prevalent with chronic kidney disease of unknown etiology, Sri Lanka. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, vol. 53, no 11, p. 729-737.

GYANESHWAR, P., KUMAR, G. N., PAREKH, L. J., et POOLE, P. S. 2002. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant and soil*, vol 245, no 1, p. 83-93.

HAMMERSCHMIDT, R. 2018. How glyphosate affects plant disease development: it is more than enhanced susceptibility. *Pest management science*, vol 74, no 5, p. 1054-1063.

HANKE, I., WITTMER, I., BISCHOFBERGER, S., et al. 2010. Relevance of urban glyphosate use for surface water quality. *Chemosphere*, vol. 81, no 3, p. 422-429.

HANLON, E. A., et JOHNSON, G. V. 1984. Bray/Kurtz, Mehlich III, AB/D and ammonium acetate extractions of P, K and Mg in four Oklahoma soils. *Communications in soil science and plant analysis*, vol 15, no 3, p. 277-294.

HART, M. M., POWELL, J. R., GULDEN, R. H., DUNFIELD, K. E., PAULS, K. P., SWANTON, C. J., et al. 2009. Separating the effect of crop from herbicide on soil microbial communities in glyphosate-resistant corn. *Pedobiologia*, vol 52, no 4, p. 253-262.

HARWOOD, J. E., VAN STEENDEREN, R. A., et KÜHN, A. L. 1969. A rapid method for orthophosphate analysis at high concentrations in water. *Water Research Pergamon Press*, vol. 3, p. 417-423.

HATEGEKIMANA, B. et TRANT, M. 2002. Adoption and diffusion of new technology in agriculture: genetically modified corn and soybeans. *Canadian Journal of Agricultural Economics/Revue canadienne d'agroeconomie*, vol. 50, no 4, p. 357-371.

HEAP, I. et DUKE, S. O. 2018. Overview of glyphosate - resistant weeds worldwide. *Pest management science*, vol. 74, no 5, p. 1040-1049.

HELANDER, M., SALONIEMI, I., et SAIKKONEN, K. 2012. Glyphosate in northern ecosystems. *Trends in plant science*, vol. 17, no 10, p. 569-574.

HANEY, R. L., SENSEMAN, S. A., HONS, F. M., et al. 2000. Effect of glyphosate on soil microbial activity and biomass. *Weed Science*, vol. 48, no 1, p. 89-93.

HANEY, R., SENSEMAN, S., KRUTZ, L. et HONS, F. 2002. Soil carbon and nitrogen mineralization as affected by atrazine and glyphosate. *Biology and Fertility of Soils*, vol 35, p. 35-40.

HEMWALL, John B. 1957. The role of soil clay minerals in phosphorus fixation. *Soil Science*, vol. 83, no 2, p. 101-108.

HÉNAULT-ETHIER, L., LUCOTTE, M., MOINGT, M., PAQUET, S., MACCARIO, S., SMEDBOL, É., GOMES, M. P., LEPAGE, L., JUNEAU, P. et LABRECQUE, M.

2017. Herbaceous or Salix miyabeana 'SX64' narrow buffer strips as a means to minimize glyphosate and aminomethylphosphonic acid leaching from row crop fields. *Science of the Total Environment*, vol 598, p. 1177-1186.

HENSLEY, D. L., BEUERMAN, D. S. N., et CARPENTER, P. L. 1978. The inactivation of glyphosate by various soils and metal salts. *Weed Research*, vol. 18, no 5, p. 287-291.

HERRMANN, K. M. et WEAVER, L. M. 1999. The shikimate pathway. *Annual review of plant biology*, vol. 50, no 1, p. 473-503.

HOVE-JENSEN, B., ZECHEL, D. L. et JOCHIMSEN, B. 2014. Utilization of glyphosate as phosphate source: biochemistry and genetics of bacterial carbon-phosphorus lyase. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, vol 78, p. 176-197.

HUBER, D.M., LEUCK, J.D., SMITH, W.C., et CHRISTMAS, E.P., 2004. Induced manganese deficiency in GM soybeans. In: *Northcentral Fert. Extension Conf.*, Des Moines, IA, November 2004

HUBER, D. M. 2007. What about glyphosate-induced manganese deficiency. *Fluid J*, vol 15, no 4, p. 20-22.

IMPARATO, V., SANTOS, S. S., JOHANSEN, A., GEISEN, S., et WINDING, A. 2016. Stimulation of bacteria and protists in rhizosphere of glyphosate-treated barley. *Applied soil ecology*, vol 98, p. 47-55.

IMFELD, G. et VUILLEUMIER, S. 2012. Measuring the effects of pesticides on bacterial communities in soil: a critical review. *European Journal of Soil Biology*, vol. 49, p. 22-30.

IMFELD, G., LEFRANCQ, M., MAILLARD, E., et al. 2013. Transport and attenuation of dissolved glyphosate and AMPA in a stormwater wetland. *Chemosphere*, vol. 90, no 4, p. 1333-1339.

IMFELD, G., LEFRANCQ, M., MAILLARD, É., et al. 2013. Transport and attenuation of dissolved glyphosate and AMPA in a stormwater wetland. *Chemosphere*, vol. 90, no 4, p. 1333-1339.

JACOBSEN, C. S. et HJELMSØ, M. H. 2014. Agricultural soils, pesticides and microbial diversity. *Current opinion in biotechnology*, vol. 27, p. 15-20.

JANSSEN, P. H. 2006. Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. *Appl. Environ. Microbiol.*, vol 72, no 3, p. 1719-1728.

JARVIS, N. J. 2007. A review of non-equilibrium water flow and solute transport in soil macropores: Principles, controlling factors and consequences for water quality. *European Journal of Soil Science*, vol. 58, no 3, p. 523-546.

JOHAL, G. S., et HUBER, D. M. 2009. Glyphosate effects on diseases of plants. *European Journal of agronomy*, vol 31, no 3, p. 144-152.

JOHANSEN, A., KNUDSEN, I. M., BINNERUP, S. J., WINDING, A., JOHANSEN, J. E., JENSEN, L. E., et al.. 2005. Non-target effects of the microbial control agents

Pseudomonas fluorescens DR54 and *Clonostachys rosea* IK726 in soils cropped with barley followed by sugar beet: a greenhouse assessment. *Soil Biology and Biochemistry*, vol 37, no 12, p. 2225-2239.

JOLLEY, V. D., HANSEN, N. C., et SHIFFLER, A. K. 2004. Nutritional and management related interactions with iron-deficiency stress response mechanisms. *Soil Science and Plant Nutrition*, vol. 50, no 7, p. 973-981.

JONES, R. T., ROBESON, M. S., LAUBER, C. L., et al. 2009. A comprehensive survey of soil acidobacterial diversity using pyrosequencing and clone library analyses. *The ISME journal*, vol. 3, no 4, p. 442.

KANISSERY, R. G., WELSH, A., et SIMS, G. K. Effect of soil aeration and phosphate addition on the microbial bioavailability of carbon-14-glyphosate. *Journal of environmental quality*, 2015, vol. 44, no 1, p. 137-144.

KANISSERY, R. G., WELSH, A., et SIMS, G. K. 2015. Effect of soil aeration and phosphate addition on the microbial bioavailability of carbon-14-glyphosate. *Journal of environmental quality*, vol 44, no 1, p. 137-144.

KARANASIOS, E., KARASALI, H., MAROUSOPOULOU, A., et al. 2018. Monitoring of glyphosate and AMPA in soil samples from two olive cultivation areas in Greece: aspects related to spray operators activities. *Environmental monitoring and assessment*, vol. 190, no 6, p. 361.

KENNEDY, A. C., et SMITH, K. L. 1995. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. *Plant and soil*, vol 170, no 1, p. 75-86.

KHAN, A. A., JILANI, G., AKHTAR, M. S., et al. 2009. Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. *J AGRIC BIOL SCI*, vol. 1, no 1, p. 48-58.

KHAN, A. A., JILANI, G., AKHTAR, M. S., NAQVI, S. M. S., et RASHEED, M. 2009. Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. *J agric biol sci*, vol 1, no 1, p. 48-58.

KIELAK, A. M., BARRETO, C. C., KOWALCHUK, G. A., et al. 2016. The ecology of Acidobacteria: moving beyond genes and genomes. *Frontiers in microbiology*, vol. 7, p. 744.

KJÆR, J., OLSEN, P., ULLUM, M., et al. 2005. Leaching of glyphosate and aminomethylphosphonic acid from Danish agricultural field sites. *Journal of Environmental Quality*, vol. 34, no 2, p. 608-620.

KJÆR, J., ERNSTSEN, V., JACOBSEN, O. H., HANSEN, N., DE JONGE, L. W. et OLSEN, P. 2011. Transport modes and pathways of the strongly sorbing pesticides glyphosate and pendimethalin through structured drained soils. *Chemosphere*, vol 84, p. 471-479.

KOLPIN, D. W., THURMAN, E. M., LEE, E. A., MEYER, M. T., FURLONG, E. T. et GLASSMEYER, S. T. 2006. Urban contributions of glyphosate and its degradate AMPA to streams in the United States. *Science of the Total Environment*, vol 354, p. 191-197.

KOSKINEN, W. C., MAREK, L. J. et HALL, K. E. 2016. Analysis of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in water, plant materials and soil. *Pest management science*, vol 72, p. 423-432.

KREMER, R., MEANS, N., et KIM, S. 2005. Glyphosate affects soybean root exudation and rhizosphere micro-organisms. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, vol 85, no 15, p. 1165-1174.

KRÜGER, M., SHEHATA, A. A., SCHRÖDL, W., et RODLOFF, A. 2013. Glyphosate suppresses the antagonistic effect of *Enterococcus* spp. on *Clostridium botulinum*. *Anaerobe*, vol 20, p. 74-78.

KRZYSKO-LUPICKA, T., et SUDOL, T. 2008. Interactions between glyphosate and autochthonous soil fungi surviving in aqueous solution of glyphosate. *Chemosphere*, vo. 71, no 7, p. 1386-1391.

KUCEY, R. M. N. 1983. Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. *Canadian Journal of Soil Science*, vol 63, no 4, p. 671-678.

KUKLINSKY-SOBRAL, J., ARAUJO, W. L., MENDES, R., et al. 2005. Isolation and characterization of endophytic bacteria from soybean (*Glycine max*) grown in soil treated with glyphosate herbicide. *Plant and soil*, vol. 273, no 1-2, p. 91-99.

LANE, M., LORENZ, N., SAXENA, J., et al. 2012. The effect of glyphosate on soil microbial activity, microbial community structure, and soil potassium. *Pedobiologia*, vol. 55, no 6, p. 335-342.

LAITINEN, P., RÄMÖ, S., NIKUNEN, U., JAUHAINEN, L., SIIMES, K. et TURTOLA, E. 2009. Glyphosate and phosphorus leaching and residues in boreal sandy soil. *Plant and soil*, vol 323, p. 267-283.

LAITINEN, P., SIIMES, K., ERONEN, L., RÄMÖ, S., WELLING, L., OINONEN, S., MATTSOFF, L. et RUOHONEN-LEHTO, M. 2006. Fate of the herbicides glyphosate, glufosinate-ammonium, phenmedipham, ethofumesate and metamitron in two Finnish arable soils. *Pest management science*, vol 62, p. 473-491.

LANDRY, D., DOUSSET, S., FOURNIER, J-C., et al. 2005. Leaching of glyphosate and AMPA under two soil management practices in Burgundy vineyards (Vosne-Romanée, 21-France). *Environmental Pollution*, vol. 138, no 2, p. 191-200.

LEE, S-H., KA, J-O., et CHO, J-C.. 2008. Members of the phylum Acidobacteria are dominant and metabolically active in rhizosphere soil. *FEMS microbiology letters*, vol. 285, no 2, p. 263-269.

LEFF, J. W., BARDGETT, R. D., WILKINSON, A., et al. 2018. Predicting the structure of soil communities from plant community taxonomy, phylogeny, and traits. *The ISME journal*, p. 1.

LEVESQUE, M., et SCHNITZER, M. 1967. Organo-metallic interactions in soils: 6. Preparation and properties of fulvic acid-metal phosphates. *Soil Science*, vol 103, no 3, p. 183-190.

LEVESQUE CA et RAHE JE, 1992. Herbicide interactions with fungal root pathogens, with special reference to glyphosate. *Annu Rev Phytopathol* vol 30, p. 579–602.

LI, H., JOSHI, S. R. et JAISI, D. P. 2016. Degradation and isotope source tracking of glyphosate and aminomethylphosphonic acid. *Journal of agricultural and food chemistry*, vol 64, p. 529-538.

LIPIEC, J., KUS, J., NOSALEWICZ, A., et al. 2006. Tillage system effects on stability and sorptivity of soil aggregates. *International Agrophysics*, vol. 20, no 3, p. 189.

LOCKE, M. A., ZABLOTOWICZ, R. M., et REDDY, K. N. 2008. Integrating soil conservation practices and glyphosate - resistant crops: impacts on soil. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, vol. 64, no 4, p. 457-469.

LOVE, M. I., HUBER, W., et ANDERS, S. 2014. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome biology*, vol 15, no 2, p. 550.

LU, W., LI, L., CHEN, M., ZHOU, Z., ZHANG, W., PING, S., et al.. 2013. Genome-wide transcriptional responses of Escherichia coli to glyphosate, a potent inhibitor of the shikimate pathway enzyme 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase. *Molecular BioSystems*, vol 9, no 3, p. 522-530.

LUCOTTE, M. et D'ANGLEJAN, B. 1985. A comparison of several methods for the determination of iron hydroxides and associated orthophosphates in estuarine particulate matter. *Chemical Geology*, vol. 48, no 1-4, p. 257-264.

LUPI, L., MIGLIORANZA, K. S., APARICIO, V. C., MARINO, D., BEDMAR, F. et WUNDERLIN, D. A. 2015. Occurrence of glyphosate and AMPA in an agricultural watershed from the southeastern region of Argentina. *Science of the Total Environment*, vol 536, p. 687-694.

LUPI, L., BEDMAR, F., et PURICELLI, M., et al. 2019. Glyphosate runoff and its occurrence in rainwater and subsurface soil in the nearby area of agricultural fields in Argentina. *Chemosphere*, vol. 225, p. 906-914

MAEDA, H., et DUDAREVA, N. 2012. The shikimate pathway and aromatic amino acid biosynthesis in plants. *Annual review of plant biology*, 63, 73-105.

MAJEWSKI, Michael S., COUPE, Richard H., FOREMAN, William T., et al. 2014. Pesticides in Mississippi air and rain: a comparison between 1995 and 2007. *Environmental toxicology and chemistry*, vol. 33, no 6, p. 1283-1293.

MAMY, L., BARRIUSO, E., et GABRIELLE, B. 2005. Environmental fate of herbicides trifluralin, metazachlor, metamitron and sulcotrione compared with that of glyphosate, a substitute broad spectrum herbicide for different glyphosate-resistant crops. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, vol. 61, no 9, p. 905-916.

MANCEAU, A., CHARLET, L., BOISSET, M. C., et al. 1992. Sorption and speciation of heavy metals on hydrous Fe and Mn oxides. From microscopic to macroscopic. *Applied Clay Science*, vol. 7, no 1-3, p. 201-223.

MAPAQ et IRDA. 2008. Carte pédologique 31H12201. Échelle 1:20000. Repéré à l'URL <http://sis.agr.gc.ca/siscan/publications/pq/index.html> [Disponible en ligne]

MAPAQ et IRDA. 2009. Carte pédologique 31H13102. Échelle 1:20000. Repéré à l'URL <http://sis.agr.gc.ca/siscan/publications/pq/index.html> [Disponible en ligne]

MAQUEDA, C., UNDABEYTIA, T., VILLAVERDE, J. et MORILLO, E. 2017. Behaviour of glyphosate in a reservoir and the surrounding agricultural soils. *Science of The Total Environment*, vol 593, p. 787-795.

MARTINEZ, D. A., LOENING, U. E., et GRAHAM, M. C. 2018. Impacts of glyphosate-based herbicides on disease resistance and health of crops: a review. *Environmental Sciences Europe*, vol. 30, no 1, p. 2.

MBANASO, F. U., COUPE, S. J., CHARLESWORTH, S. M., NNADI, E. O., et IFELEBUEGU, A. O. 2014. Potential microbial toxicity and non-target impact of different concentrations of glyphosate-containing herbicide (GCH) in a model pervious paving system. *Chemosphere*, vol 100, p. 34-41.

MCBRIDE, M., et KUNG, K. H. 1989. Complexation of glyphosate and related ligands with iron (III). *Soil Science Society of America Journal*, vol 53, no 6, p. 1668-1673.

MCBRIDE, M. B. 1991. Electron spin resonance study of copper ion complexation by glyphosate and related ligands. *Soil Science Society of America Journal*, vol 55, no 4, p. 979-985.

MCCONNELL, J.S., et HOSSNER, L.R. 1985. pH-dependent adsorption isotherms of glyphosate. *J. Agric. Food Chem.* Vol 33, no 6, p. 1075-1078.

MCMURDIE, P. J. et HOLMES, S. 2013. phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PloS one*, vol. 8, no 4, p. -61217.

MCGRATH, G. S., HINZ, C., SIVAPALAN, M., et al. 2010. Identifying a rainfall event threshold triggering herbicide leaching by preferential flow. *Water Resources Research*, vol. 46, no 2.

MDDELCC. 2020. Bilan des ventes de pesticides au Québec - Année 2018 : p. 81. Repéré à URL <http://www.environnement.gouv.qc.ca/pesticides/bilan/index.htm> [Disponible en ligne]

MERTENS, M., HÖSS, S., NEUMANN, G., et al. 2018. Glyphosate, a chelating agent—relevant for ecological risk assessment?. *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 25, no 6, p. 5298-5317.

MIJANGOS, I., BECERRIL, J. M., ALBIZU, I., EPELDE, L., et GARBISU, C. 2009. Effects of glyphosate on rhizosphere soil microbial communities under two different plant compositions by cultivation-dependent and-independent methodologies. *Soil Biology and Biochemistry*, vol 41, no 3, p. 505-513.

MORILLO, E., UNDABEYTIA, T., et MAQUEDA, C. 1997. Adsorption of glyphosate on the clay mineral montmorillonite: effect of Cu (II) in solution and adsorbed on the mineral. *Environmental science & technology*, vol. 31, no 12, p. 3588-3592.

MORILLO, E., UNDABEYTIA, T., MAQUEDA, C., et al. 2000. Glyphosate adsorption on soils of different characteristics.: Influence of copper addition. *Chemosphere*, vol. 40, no 1, p. 103-107.

MOTEKAITIS, R. J., et MARTELL, A. E. 1985. Metal chelate formation by N-phosphonomethylglycine and related ligands. *Journal of Coordination Chemistry*, vol 14, no 2, p. 139-149.

NAKAMURA, K., ISHIKAWA, S., et KAWAHARASAKI, M., 1995. Phosphate uptake and release activity in immobilized polyphosphate accumulating bacterium *Microlunatus phosphovorus* strain NM-1. *J. Ferment. Bioeng.* Vol 80, p. 377–382

NAKATANI, A. S., FERNANDES, M. F., DE SOUZA, R. A., DA SILVA, A. P., DOS REIS-JUNIOR, F. B., MENDES, I. C., et HUNGRIA, M. 2014. Effects of the glyphosate-resistance gene and of herbicides applied to the soybean crop on soil microbial biomass and enzymes. *Field Crops Research*, vol 162, p. 20-29.

NAPOLI, M., CECCHI, S., ZANCHI, C. A. et ORLANDINI, S. 2015. Leaching of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid through Silty Clay Soil Columns under Outdoor Conditions. *Journal of environmental quality*, vol 44, p. 1667-1673.

NGUYEN, D. B., ROSE, M. T., ROSE, T. J., MORRIS, S. G., et VAN ZWIETEN, L. 2016. Impact of glyphosate on soil microbial biomass and respiration: a meta-analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, vol 92, p. 50-57.

NGUYEN, N. K., DÖRFLER, U., WELZL, G., et al. 2018. Large variation in glyphosate mineralization in 21 different agricultural soils explained by soil properties. *Science of the total environment*, vol. 627, p. 544-552.

NEWMAN, M. M., HOILETT, N., LORENZ, N., DICK, R. P., LILES, M. R., RAMSIER, C., et KLOEPPER, J. W. 2016a. Glyphosate effects on soil rhizosphere-

associated bacterial communities. *Science of the Total Environment*, vol 543, p. 155-160.

NEWMAN, M. M., LORENZ, N., HOILETT, N., et al. 2016b. Changes in rhizosphere bacterial gene expression following glyphosate treatment. *Science of the Total Environment*, , vol. 553, p. 32-41.

NOMURA, N. S. et HILTON, H. W. 1977. The adsorption and degradation of glyphosate in five Hawaiian sugarcane soils. *Weed Research*, vol. 17, no 2, p. 113-121.

NORGAARD, T., MOLDRUP, P., FERRÉ, T., OLSEN, P., ROSENBOM, A. E. et DE JONGE, L. W. 2014. Leaching of glyphosate and aminomethylphosphonic acid from an agricultural field over a twelve-year period. *Vadose Zone Journal*, 13.

NOWACK, B., et STONE, A. T. 2003a. Manganese-catalyzed degradation of phosphonic acids. *Environmental Chemistry Letters*, vol 1, no 1, p. 24-31.

NOWACK, B. 2003b. Environmental chemistry of phosphonates. *Water research*, vol 37, p. 2533-2546.

NYE, M., HOILETT, N., RAMSIER, C., RENZ, P., et DICK, R.P.. 2014. Microbial community structure in soils amended with glyphosate-tolerant soybean residue. *Appl. Ecol. Environ. Sci.*, vol 2 , p. 74-81

OKADA, E., COSTA, J. L. et BEDMAR, F. 2016. Adsorption and mobility of glyphosate in different soils under no-till and conventional tillage. *Geoderma*, vol 263, p. 78-85.

OKADA, E., COSTA, J. L. et FRANCISCO, B. 2017. Glyphosate Dissipation in Different Soils Under No-Till and Conventional Till. *EGU General Assembly Conference Abstracts*, 1945.

OKADA, E., PÉREZ, D., DE GERÓNIMO, E., et al. 2018. Non-point source pollution of glyphosate and AMPA in a rural basin from the southeast Pampas, Argentina. *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 25, no 15, p. 15120-15132.

OKSANEN, J., KINDT, R., SIMPSON, G. L., et OKSANEN, M. J. 2018. Package 'vegan3d'.

LOLADE, I. A., OLADOJA, N. A., OLOYE, F. F., ALOMAJA, F., AKERELE, D. D., IWAYE, J., et AIKPOKPODION, P. 2014. Sorption of glyphosate on soil components: the roles of metal oxides and organic materials. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, vol 23, no 5, p. 571-585.

OZTURK, L., YAZICI, A., EKER, S., GOKMEN, O., RÖMHELD, V., et CAKMAK, I. 2008. Glyphosate inhibition of ferric reductase activity in iron deficient sunflower roots. *New Phytologist*, vol 177, no 4, p. 899-906.

PADGETTE, S. R., KOLACZ, K. H., DELANNAY, X., RE, D. B., LAVALLEE, B. J., TINIUS, C. N., et al. 1995. Development, identification, and characterization of a glyphosate-tolerant soybean line. *Crop science*, vol 35, no 5, p. 1451-1461.

PARADELO, M., NORGAARD, T., MOLDRUP, P., et al. 2015. Prediction of the glyphosate sorption coefficient across two loamy agricultural fields. *Geoderma*, vol. 259, p. 224-232.

PARFITT, R. L., ATKINSON, R. J., et SMART, R. St C. 1975. The Mechanism of Phosphate Fixation by Iron Oxides 1. *Soil Science Society of America Journal*, vol. 39, no 5, p. 837-841.

PASSEPORT, E., RICHARD, B., CHAUMONT, C., et al. 2014. Dynamics and mitigation of six pesticides in a “Wet” forest buffer zone. *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 21, no 7, p. 4883-4894.

PERUZZO, P. J., PORTA, A. A., et RONCO, A. E. 2008. Levels of glyphosate in surface waters, sediments and soils associated with direct sowing soybean cultivation in north pampasic region of Argentina. *Environmental Pollution*, vol. 156, no 1, p. 61-66.

PHILIPPOT, L., RAAIJMAKERS, J.M., LEMANCEAU, P., et VAN DER PUTTEN, W.H.. 2013. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nat. Rev. Microbiol.*, vol 11, pp. 789-799

PICCOLO, A., CELANO, G., ARIENZO, M. et MIRABELLA, A. 1994. Adsorption and desorption of glyphosate in some European soils. *Journal of Environmental Science & Health Part B*, vol 29, p. 1105-1115.

PICCOLO, A., CELANO, G. et CONTE, P. 1996. Adsorption of glyphosate by humic substances. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol 44, p. 2442-2446.

PLĄTKOWSKI, M., et TELESIŃSKI, A. 2016. Response of soil phosphatases to glyphosate and its formulations–Roundup (laboratory conditions). *Plant, Soil and Environment*, vol 62, no 6, p. 286-292.

POIRIER, Y. et BUCHER, M. 2002. Phosphate transport and homeostasis in Arabidopsis. *The Arabidopsis book/American Society of Plant Biologists*, vol.1.

POTTER, R. M., et ROSSMAN, G. R. 1979. The tetravalent manganese oxides: identification, hydration, and structural relationships by infrared spectroscopy. *American mineralogist*, vol 64, no 11-12, p. 1199-1218.

PRIMOST, J. E., MARINO, D. JG, APARICIO, V. C., et al. 2017. Glyphosate and AMPA, "pseudo-persistent" pollutants under real-world agricultural management practices in the Mesopotamic Pampas agroecosystem, Argentina. *Environmental Pollution*, vol. 229, p. 771-779.

RAMPAZZO, N., RAMPAZZO TODOROVIC, G., MENTLER, A. et BLUM, W. 2013. Adsorption of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in soils. *International Agrophysics*, vol 27, p. 203-209.

RAMWELL, C. T., KAH, M., et JOHNSON, P. D. 2014. Contribution of household herbicide usage to glyphosate and its degradate aminomethylphosphonic acid in surface water drains. *Pest management science*, vol. 70, no 12, p. 1823-1830.

RATCLIFF, A. W., BUSSE, M. D., et SHESTAK, C. J. 2006. Changes in microbial community structure following herbicide (glyphosate) additions to forest soils. *Applied Soil Ecology*, vol 34, no 2-3, p. 114-124.

ROY, D. N., KONAR, S. K., BANERJEE, S., et al. 1989. Persistence, movement, and degradation of glyphosate in selected Canadian boreal forest soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1989, vol. 37, no 2, p. 437-440.

REED, S. C., TOWNSEND, A. R., TAYLOR, P. G., et al. 2011. Phosphorus cycling in tropical forests growing on highly weathered soils. In : *Phosphorus in action*. Springer, Berlin, Heidelberg, p. 339-369.

REIMER, M., FARENHORST, A. et GAULTIER, J. 2005. Effect of manure on glyphosate and trifluralin mineralization in soil. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, vol 40, p. 605-617.

RICHARDSON, Alan E. et SIMPSON, Richard J. 2011. Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus. *Plant physiology*, vol. 156, no 3, p. 989-996.

ROESCH, L. F., FULTHORPE, R. R., RIVA, A., CASELLA, G., HADWIN, A. K., KENT, A. D., et al.. 2007. Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity. *The ISME journal*, vol 1, no 4, p. 283.

RONCO, A. E., MARINO, D. J. G., ABELANDO, M., et al. 2016. Water quality of the main tributaries of the Paraná Basin: glyphosate and AMPA in surface water and bottom sediments. *Environmental monitoring and assessment*, vol. 188, no 8, p. 458.

ROSE, T. J., VAN ZWIETEN, L., CLAASSENS, A., et al. 2018. Phytotoxicity of soilborne glyphosate residues is influenced by the method of phosphorus fertiliser application. *Plant and soil*, vol. 422, no 1-2, p. 455-465.

ROSENBAUM, K. K., MILLER, G. L., KREMER, R. J., et BRADLEY, K. W. 2014. Interactions between glyphosate, Fusarium infection of common waterhemp

(*Amaranthus rudis*), and soil microbial abundance and diversity in soil collections from Missouri. *WEED SCIENCE*, vol 62, no 1, p. 71-82.

RUEPPEL, M. L., BRIGHTWELL, B. B., SCHAEFER, J. et MARVEL, J. T. 1977. Metabolism and degradation of glyphosate in soil and water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol 25, p. 517-528.

SANNINO, F. et GIANFREDA, L. 2001. Pesticide influence on soil enzymatic activities. *Chemosphere*, vol. 45, no 4-5, p. 417-425.

SAUNDERS, L. E. et PEZESHKI, R. 2015. Glyphosate in Runoff Waters and in the Root-Zone: A Review. *Toxics*, vol 3, p. 462-480.

SAVIN, Mary C., PURCELL, Larry C., DAIGH, Aaron, et al. 2009. Response of mycorrhizal infection to glyphosate applications and P fertilization in glyphosate-tolerant soybean, maize, and cotton. *Journal of plant nutrition*, vol. 32, no 10, p. 1702-1717.

SCERVINO, J. M., MESA, M. P., DELLA MÓNICA, I., RECCHI, M., MORENO, N. S., et GODEAS, A. 2010. Soil fungal isolates produce different organic acid patterns involved in phosphate salts solubilization. *Biology and fertility of soils*, vol 46, no 7, p. 755-763.

SCHAFER, J. R., HALLETT, S. G., et JOHNSON, W. G. 2014. Rhizosphere microbial community dynamics in glyphosate-treated susceptible and resistant biotypes of giant ragweed (*Ambrosia trifida*). *Weed science*, vol. 62, no 2, p. 370-381.

SCHLATTER, D. C., YIN, C., HULBERT, S., BURKE, I., et PAULITZ, T. 2017. Impacts of repeated glyphosate use on wheat-associated bacteria are small and depend on glyphosate use history. *Appl. Environ. Microbiol.*, vol 83, no 22, p. 01354-17.

SCHNÜRER, Y., PERSSON, P., NILSSON, M., et al. 2006. Effects of surface sorption on microbial degradation of glyphosate. *Environmental science & technology*, vol. 40, no 13, p. 4145-4150.

SCHUTTER, M., SANDENO, J., et DICK, R. 2001. Seasonal, soil type, and alternative management influences on microbial communities of vegetable cropping systems. *Biology and Fertility of Soils*, vol 34, no 6, p. 397-410.

SCRIBNER, E. A., BATTAGLIN, W. A., GILLIOM, R. J. et MEYER, M. T. 2007. Concentrations of glyphosate, its degradation product, aminomethylphosphonic acid, and glufosinate in ground-and surface-water, rainfall, and soil samples collected in the United States, 2001-06. *Geological Survey (US)*.

SHEALS, J., SJÖBERG, S., et PERSSON, P. 2002. Adsorption of glyphosate on goethite: molecular characterization of surface complexes. *Environmental science & technology*, vol 36, no 14, p. 3090-3095.

SIDOLI, P., BARAN, N. et ANGULO-JARAMILLO, R. 2016. Glyphosate and AMPA adsorption in soils: laboratory experiments and pedotransfer rules. *Environmental Science and Pollution Research*, vol 23, p. 5733-5742.

SIEHL, D. L. et ROE, R. M. 1997. Inhibitors of EPSP synthase, glutamine synthetase and histidine synthesis. *Reviews in Toxicology*, vol. 1, p. 37-68.

SILVA, V., MONTANARELLA, L., JONES, A., et al. 2018. Distribution of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in agricultural topsoils of the European Union. *Science of the Total Environment*, vol. 621, p. 1352-1359.

SIMONSEN, L., FOMSGAARD, I. S., SVENSMARK, B. et SPLIID, N. H. 2008. Fate and availability of glyphosate and AMPA in agricultural soil. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, vol 43, p. 365-375.

SINGH, B. et SINGH, K.. 2016. Microbial degradation of herbicides. *Critical reviews in microbiology*, vol. 42, no 2, p. 245-261.

SHUSHKOVA, T., ERMAKOVA, I., et LEONTIEVSKY, A. 2010. Glyphosate bioavailability in soil. *Biodegradation*, vol. 21, no 3, p. 403-410.

SVIRIDOV, A. V., SHUSHKOVA, T. V., ERMAKOVA, I. T., et al. 2015. Microbial degradation of glyphosate herbicides. *Applied Biochemistry and Microbiology*, vol. 51, no 2, p. 188-195.

SMEDBOL, E., LUCOTTE, M., LABRECQUE, M., et al. 2017. Phytoplankton growth and PSII efficiency sensitivity to a glyphosate-based herbicide (Factor 540®). *Aquatic Toxicology*, vol. 192, p. 265-273.

SMEDBOL, E., GOMES, M. P., PAQUET, S., et al. 2018. Effects of low concentrations of glyphosate-based herbicide factor 540® on an agricultural stream freshwater phytoplankton community. *Chemosphere*, vol. 192, p. 133-141.

SMEDBOL, E., LUCOTTE, M., MACCARIO, S., et al. 2019. Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid Content in Glyphosate-Resistant Soybean Leaves, Stems, and Roots and Associated Phytotoxicity Following a Single Glyphosate-Based Herbicide Application. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , vol 67, no 22, p. 6133-6142.

SMITH, A. E. et AUBIN, A. J. 1993. Degradation of 14 C-glyphosate in Saskatchewan soils. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, vol 50, p. 499-505.

SOIL CLASSIFICATION WORKING GROUP, 1998. The Canadian System of Soil Classification. Agric. and Agri-Food Can. Publ. 1646 (Revised). 187 pp.

SORACCO, C. G., VILLARREAL, R., LOZANO, L. A., et al. 2018. Glyphosate dynamics in a soil under conventional and no-till systems during a soybean growing season. *Geoderma*, vol. 323, p. 13-21.

SØRENSEN, S. R., SCHULTZ, A., JACOBSEN, O. S., et al. 2006. Sorption, desorption and mineralisation of the herbicides glyphosate and MCPA in samples from two Danish soil and subsurface profiles. *Environmental Pollution*, vol. 141, no 1, p. 184-194.

SPRANKLE, P., MEGGITT, W.F., et PENNER, D., 1975. Rapid inactivation of glyphosate in the soil. *Weed Sci.* Vol 23, p. 224-228.

STALIKAS, C. D. et KONIDARI, C. N. 2001. Analytical methods to determine phosphonic and amino acid group-containing pesticides. *Journal of Chromatography A*, vol 907, p. 1-19.

STENRØD, M., EKLO, O. M., CHARNAY, M. P. et BENOIT, P. 2005. Effect of freezing and thawing on microbial activity and glyphosate degradation in two Norwegian soils. *Pest management science*, vol 61, p. 887-898.

STRUGER, J., VAN STEMPTVOORT, D. et BROWN, S. 2015. Sources of aminomethylphosphonic acid (AMPA) in urban and rural catchments in Ontario, Canada: Glyphosate or phosphonates in wastewater? *Environmental Pollution*, vol 204, p. 289-297.

ŠTURSOVÁ, M., ŽIFČÁKOVÁ, L., LEIGH, M. B., et al. 2012. Cellulose utilization in forest litter and soil: identification of bacterial and fungal decomposers. *FEMS microbiology ecology*, vol. 80, no 3, p. 735-746.

SUBRAMANIAM, V. et HOGGARD, P. E. 1988. Metal complexes of glyphosate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 36, no 6, p. 1326-1329.

SUHADOLC, M., SCHROLL, R., HAGN, A., DÖRFLER, U., SCHLOTTER, M. et LOBNIK, F. 2010. Single application of sewage sludge—Impact on the quality of an alluvial agricultural soil. *Chemosphere*, vol 81, p. 1536-1543.

SUNDARAM, A., et SUNDARAM, K. M. S. 1997. Solubility products of six metal-glyphosate complexes in water and forestry soils, and their influence on glyphosate toxicity to plants. *Journal of Environmental Science & Health Part B*, vol 32, no 4, p. 583-598.

SVIRIDOV, A., SHUSHKOVA, T., ERMAKOVA, I., IVANOVA, E., EPIKTETOV, D. et LEONTIEVSKY, A. 2015. Microbial degradation of glyphosate herbicides. *Applied biochemistry and microbiology*, vol 51, p. 188.

SYAN, H. S., PRASHER, S. O., PAGEAU, D. et SINGH, J. 2014. Dissipation and persistence of major herbicides applied in transgenic and non-transgenic canola production in Quebec. *European journal of soil biology*, vol 63, p. 21-27.

SZEKACS, A. et DARVAS, B.. 2012. Forty years with glyphosate. In : Herbicides-properties, synthesis and control of weeds. *IntechOpen*.

TABATABAI, M. A., et BREMNER, J. M. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *SOIL BIOLOGY AND BIOCHEMISTRY*, vol 1, no 4, p. 301-307.

THIRUP, L., EKELUND, F., JOHNSEN, K., et JACOBSEN, C. S. 2000. Population dynamics of the fast-growing sub-populations of *Pseudomonas* and total bacteria, and their protozoan grazers, revealed by fenpropimorph treatment. *Soil biology and biochemistry*, vol 32, no 11-12, p. 1615-1623.

TISDALE, S.L. et WERNER, W.L., 1968. "Soil Fertility and Fertilizers," *The MacMillan Company*, New York, USA, p. 694.

TODOROVIC, G. R., RAMPAZZO, N., MENTLER, A., BLUM, W. E., EDER, A. et STRAUSS, P. 2014. Influence of soil tillage and erosion on the dispersion of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in agricultural soils. *International Agrophysics*, vol 28, p. 93-100.

TRAVAGLIA, C., MASCIARELLI, O., FORTUNA, J., et al. 2015. Towards sustainable maize production: Glyphosate detoxification by *Azospirillum* sp. and *Pseudomonas* sp. *Crop Protection*, vol. 77, p. 102-109.

TSUI, M. T. K. et CHU, L. M. Environmental fate and non-target impact of glyphosate-based herbicide (Roundup®) in a subtropical wetland. *Chemosphere*, 2008, vol. 71, no 3, p. 439-446.

TSUI, M. T. et CHU, L. 2003. Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors. *Chemosphere*, vol 52, p. 1189-1197.

TURNER, B. L. et ENGELBRECHT, B. MJ. 2011. Soil organic phosphorus in lowland tropical rain forests. *Biogeochemistry*, vol. 103, no 1-3, p. 297-315.

TUSH, D., MAKSIMOWICZ, M. M., et MEYER, M. T. 2018. Dissipation of polyoxyethylene tallow amine (POEA) and glyphosate in an agricultural field and their co-occurrence on streambed sediments. *Science of The Total Environment*, vol. 636, p. 212-219.

UNDABEYTIA, T., CHESHIRE, M. V., et MEPHAIL, D. 1996. Interaction of the herbicide glyphosate with copper in humic complexes. *Chemosphere*, vol 32, no 7, p. 1245-1250.

VERECKEN, H. 2005. Mobility and leaching of glyphosate: a review. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, vol. 61, no 12, p. 1139-1151.

VIRGINIA, A., ZAMORA, M., BARBERA, A., et al. 2018. Industrial agriculture and agroecological transition systems: A comparative analysis of productivity results, organic matter and glyphosate in soil. *Agricultural Systems*, vol. 167, p. 103-112.

WAIMAN, C. V., ARROYAVE, J. M., CHEN, H., TAN, W., AVENA, M. J., et ZANINI, G. P. 2016. The simultaneous presence of glyphosate and phosphate at the goethite surface as seen by XPS, ATR-FTIR and competitive adsorption isotherms. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol 498, p. 121-127.

LI, F., WANG, Y., YANG, Q., et al. 2005. Study on adsorption of glyphosate (N-phosphonomethyl glycine) pesticide on MgAl-layered double hydroxides in aqueous solution. *Journal of hazardous materials*, vol. 125, no 1-3, p. 89-95.

WANG, S., SEIWERT, B., KÄSTNER, M., et al. 2016. (Bio) degradation of glyphosate in water-sediment microcosms—A stable isotope co-labeling approach. *Water research*, vol. 99, p. 91-100.

WEAVER, M. A., KRUTZ, L. J., ZABLOTOWICZ, R. M., et REDDY, K. N. 2007. Effects of glyphosate on soil microbial communities and its mineralization in a Mississippi soil. *Pest management science*, vol 63, no 4, p. 388-393.

YANG, X., WANG et F., BENTO, C. P., XUE, S., GAI, L., VAN DAM, R., MOL, H., RITSEMA, C. J. & GEISSEN, V. 2015. Short-term transport of glyphosate with erosion in Chinese loess soil—a flume experiment. *Science of the Total Environment*, vol 512, p. 406-414.

YAO, H., HE, Z. L., WILSON, M., et CAMPBELL, C. D. 2000. Microbial biomass and community structure in a sequence of soils with increasing fertility and changing land use. *Microbial Ecology*, vol 40, no 3, p. 223-237.

ZABALOY, M. C., GÓMEZ, E., GARLAND, J. L., et GÓMEZ, M. A. 2012. Assessment of microbial community function and structure in soil microcosms exposed to glyphosate. *Applied Soil Ecology*, vol 61, p. 333-339.

ZHENG, W., SCOTT, J. W., HOLM, N., et al. 2018. Occurrence and Fate of the Herbicide Glyphosate in Tile Drainage and Receiving Rivers in East Central Illinois. Champaign, IL: Illinois Sustainable Technology Center.

ZHAO, B., ZHANG, J., GONG, J., ZHANG, H. et ZHANG, C. 2009. Glyphosate mobility in soils by phosphate application: Laboratory column experiments. *Geoderma*, vol 149, p. 290-297.

ZIMMERMANN, B., LANTZSCH, H.-J., MOSENTHIN, R., et al. 2003. Additivity of the effect of cereal and microbial phytases on apparent phosphorus absorption in growing pigs fed diets with marginal P supply. *Animal Feed Science and Technology*, vol. 104, no 1-4, p. 143-152.

ZOBIOLE, L. H. S., DE OLIVEIRA, R. S., HUBER, D. M., CONSTANTIN, J., DE CASTRO, C., DE OLIVEIRA, F. A., et DE OLIVEIRA, A. 2010. Glyphosate reduces shoot concentrations of mineral nutrients in glyphosate-resistant soybeans. *Plant and Soil*, vol 328, no 1-2, p. 57-69.

ZOBIOLE, L. H. S., KREMER, R. J., OLIVEIRA JR, R. S., et CONSTANTIN, J. 2011.
Glyphosate affects micro-organisms in rhizospheres of glyphosate-resistant soybeans.
Journal of Applied Microbiology, vol 110, no 1, p. 118-127.

ANNEXES 1

Projet Glyphosate et Grandes Cultures
Enquête sur les pratiques culturelles dans la grande culture du
soya

Questionnaire

Numéro de questionnaire : __

Numéro d'identification : __

Profil de producteur de soya

Cette première section du questionnaire vise à établir votre profil de producteur de soya.

1. Veuillez indiquer la superficie totale de vos terres cultivables. Inscrivez la réponse.

2. Veuillez indiquer la superficie de vos cultures de soya pour l'année 2014. Inscrivez la réponse.

3. Quelle est la superficie de vos autres cultures pour l'année 2014? Inscrivez pour chaque culture la superficie.

Cultures	Superficie

4. Depuis combien d'années cultivez-vous du soya? Cochez la réponse.

C'est la première année	Entre 2 et 4 ans	Entre 5 et 8 ans	Entre 9 et 12 ans	Entre 13 et 17 ans	18 ans et plus
<input type="checkbox"/>					

5. Est-ce que le choix de planter du soya cette année a été fait en fonction des prix sur le marché? Cochez la réponse. Si la réponse est NON veuillez préciser en fonction de quoi avez-vous fait votre choix.

Oui	<input type="checkbox"/>	Non	Précisez :
-----	--------------------------	-----	------------

6. Veuillez cocher pour chacune des caractéristiques physiques suivantes celle qui décrit le mieux votre sol depuis les 3 dernières années.

Richesse du sol (richesse en matière organique, en vie microbienne, etc.)

Excellente	Bonne	Moyenne	Certaines carences
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Précisez :

Drainage

Bon	Idéal	Insuffisant
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Précisez :

Texture

Sable	Limon	Argile	Loam
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Topographie

Pente prononcée	Pente douce	Plane
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Compacté

Oui	<input type="checkbox"/>	Non	<input type="checkbox"/>
-----	--------------------------	-----	--------------------------

Aéré

Oui	<input type="checkbox"/>	Non	<input type="checkbox"/>
-----	--------------------------	-----	--------------------------

pH

pH bas (acide)	pH neutre	pH élevé (alcalin)
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

7. Veuillez remplir le tableau suivant en indiquant pour chacune des variétés de soya cultivées cette année le type de soya, le traitement des semences et le procédé d'inoculation utilisé s'il y a lieu.

Variété	Type	Traitement des semences				Inoculation				Forme			
	OGM	Non OGM	Aucun traitement	Oui Nom commercial	Ingrédients actifs Si connus	Aucune inoculation	Oui Nom commercial	Produits					
								Rhizobium	Mycorhize	Liquide	Solide	Enrobage	
Exemple : Théo R2	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Cruiser Maxx Vibrance	Thiaméthoxame, métalaxyl-M, fludioxonil, sedaxane	<input type="checkbox"/>		Turbo-N2	<input type="checkbox"/>				
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>				
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>				
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>				
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>				
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>				
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>				
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>				
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>				

8. Veuillez remplir le tableau suivant en indiquant pour chacune des variétés de soya cultivées cette année, la superficie cultivée, le marché auquel est destiné le soya, si vous êtes engagé par contrat pour la vente, ainsi que l'utilisation commerciale auquel est destiné le soya en cochant la case appropriée.

Variété	Superficie	Marché			Contrat		Utilisations commerciales					
		Canadien	Exportation internationale	Pour usages à la ferme	Ne sais pas	Oui	Non	Alimentation animale	Alimentation humaine	Usages industriels	Semences	Je ne sais pas
Exemple : OAC	2 hectares	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Profil entrepreneurial

Dans cette section vous devrez répondre à des questions sur votre entreprise agricole dans le but d'établir votre profil entrepreneurial.

9. Faites-vous partie des propriétaires de l'entreprise agricole? Si la réponse est oui, indiquez l'année d'acquisition. Si la réponse est non quel est votre rôle au sein de l'exploitation agricole.

Oui	Non
Année :	Rôle :

10. Combien de propriétaires compte votre entreprise agricole? Inscire la réponse.

11. Combien d'employés compte votre entreprise agricole ? Inscire la réponse.

12. Est-ce que vous êtes locataire des terres que vous cultivez en 2014? Cochez la réponse. Si la réponse est Oui indiquez la superficie.

Non	Oui en totalité	Oui en partie	J'ai fait un échange
<input type="checkbox"/>	Superficie :	Superficie :	<input type="checkbox"/>

13. Est-ce que comme propriétaire vous avez loué vos terres à une autre personne en 2014? Cochez la réponse. Si la réponse est oui indiquez la superficie.

Non	Oui en totalité	Oui en partie	Je suis sous contrat avec un intégrateur	J'ai fait un échange
<input type="checkbox"/>	Superficie :	Superficie :	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

14. Dans quelle tranche se situent les revenus annuels bruts totaux de votre entreprise agricole? Cochez la réponse.

Moins de 24 999 \$	25 000 à 49 999 \$	50 000 à 99 999 \$	100 000 à 249 999 \$	250 000 à 499 999 \$	500 000 à 999 999 \$	1 000 000 \$ et plus
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

15. Pour quelle fraction de votre revenu annuel brut a compté votre production de soya en 2013. Si vous n'avez pas semé de soya en 2013, veuillez vous référer à l'année de votre dernière récolte. Inscrivez l'année de référence si autre que 2013 et cochez la réponse.

Année : __

Entre 100% et 75% de mes revenus	Entre 50% et 74% de mes revenus	Entre 30% et 49% de mes revenus	Entre 15% et 29% de mes revenus	Moins de 14% de mes revenus
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

16. Si le soya compte pour moins que 50% de vos revenus annuels bruts totaux, quel est le premier secteur d'activité de votre entreprise agricole. Inscrivez la réponse.

17. Quel a été votre rendement pour l'année 2013 pour votre production de soya? Si vous n'avez pas semé de soya en 2013, veuillez vous référer à l'année de votre dernière récolte. Inscrire le nom des variétés, le rendement, le prix obtenu, ainsi que la prime obtenue s'il y a lieu, dans la case appropriée.

Variétés de soya	Rendement	Prix obtenu à la vente (incluant les primes)	Prime obtenue (pour soya IP)
Exemple :OAC Champion	2,5 t/ha	445,50 \$/t	80\$/t

18. Quels ont été environ vos coûts annuels de production de soya en 2013 pour les intrants suivants? Si vous n'avez pas semé de soya en 2013, veuillez vous référer à l'année de votre dernière récolte. Cochez la réponse.

Semences de soya

0 \$ / ha	Entre 1 et 49\$ /ha	Entre 50 et 99\$/ha	Entre 100 et 149\$/ha	Entre 150 et 199\$/ha	200\$/ha et plus
<input type="checkbox"/>					

Fertilisant

0 \$ / ha	Entre 1 et 19\$ /ha	Entre 20 et 39\$/ha	Entre 40 et 59\$/ha	Entre 60 et 79\$/ha	80\$/ha et plus
<input type="checkbox"/>					

Pesticides

0 \$ / ha	Entre 1 et 44\$ /ha	Entre 45 et 89\$/ha	Entre 90 et 134\$/ha	Entre 134 et 179\$/ha	180\$/ha et plus
<input type="checkbox"/>					

19. Est-ce que vous avez contribué, cette année, à l'assurance stabilisation pour votre production de soya? Si la réponse est Oui, indiquez depuis quand vous le faite.

Oui	Année :	Non	<input type="checkbox"/>
-----	---------	-----	--------------------------

Pratiques agricoles

Dans cette section, des questions vous seront posées afin de connaître l'étendue de vos pratiques agricoles pour la culture du soya.

20. Veuillez indiquer quelles étaient les cultures que vous semiez sur les terres là où le soya est actuellement cultivé depuis les 10 dernières années en commençant par les plus récentes. Si vous ne vous en souvenez pas, indiquez-le.

Année	Espèces semées
2013	
2012	
2011	
2009	
2008	
2007	
2006	
2005	
2004	
2003	

Herbicides

21. Pour la culture du soya, quels herbicides chimiques ou biologiques utilisez-vous? Remplir le tableau en fonction de chacun des herbicides utilisés. Si vous n'utilisez pas d'herbicides, cochez la case **Aucun**.

Aucun	<input type="checkbox"/>
--------------	--------------------------

Formulation commerciale	Solide ou liquide	ingrédients actifs, si connus	Taux d' application	Nombre d' application durant une année	Période d' application
Exemple : Factor 540	Liquide	Glyphosate	2,33 litre/hect are	2	Post-levée

Autres pesticides

22. Pour la culture du soya quels pesticides chimiques, biologiques utilisez-vous autres que des herbicides (ex. fongicides, insecticides)? Remplir le tableau en fonction de chacun des produits utilisés. Si vous n'utilisez pas ce genre de produits, cochez la case Aucun.

Aucun	<input type="checkbox"/>
--------------	--------------------------

Formulation commerciale	Solide ou liquide	Ingrédients actifs, si connus	Taux d'application	Nombre d'application	Période d'application
Exemple : Matador®120 EC	Liquide	Lambda-cyhalothrine	104ml/hectare	1	Juillet

Lutte biologique et désherbage mécanique

23. Pour la culture du soya utilisez-vous des moyens de lutte biologique? Remplir le tableau en fonction des moyens utilisés. Si vous n'utilisez pas des moyens de lutte biologique, cochez la case Aucun.

Aucun	<input type="checkbox"/>
--------------	--------------------------

Insectes	Fournisseur	Quantité de lâcher	Périodes de lâchers	Nombres de lâcher par saison
Exemple : <i>coccinelles Hippodamia convergens</i>	Plant Products	50 000/hectares	150 pucerons du soya/plant	3

24. Pour la culture du soya, est-ce que vous faites du désherbage mécanique? Veuillez indiquer la machinerie utilisée, le nombre de fois par année et la période à laquelle vous le faites. Si vous ne faites pas de désherbage mécanique, cochez la case Aucun.

Aucun	<input type="checkbox"/>
--------------	--------------------------

Machinerie	Nombre de désherbage par année	Période de désherbage

Fertilisants

25. Pour la culture du soya, quels types de fertilisant (minéral et organique) utilisez-vous? Remplir le tableau en fonction des types de fertilisant utilisés. Si vous n'utilisez pas des fertilisants, cochez la case **Aucun**.

Aucun	<input type="checkbox"/>
--------------	--------------------------

Formulation commerciale	Solide ou liquide	Fertilisant	Taux d'application	Nombre d'application	Période d'application
Exemple : Ammonium Nitrate Pure	Solide	Nitrate d'ammonium	50kg/hectare (34-0-0)	1	Apparition de la première fleur

Source d'information

Dans cette section du questionnaire, nous vous posons des questions sur les différentes sources d'information auxquelles vous avez recours dans votre pratique agricole.

26. À quelle fréquence, durant la dernière année avez-vous rencontré des représentants des organismes suivants ? Cochez la réponse et indiquez la ou les raisons.

MAPAQ, raisons :

Jamais	Une fois	2 à 3 fois	4 à 5 fois	6 à 7 fois	Plus de 8 fois
<input type="checkbox"/>					

UPA, raisons :

Jamais	Une fois	2 à 3 fois	4 à 5 fois	6 à 7 fois	Plus de 8 fois
<input type="checkbox"/>					

Autre regroupement syndical, précisez :

Raisons :

Jamais	Une fois	2 à 3 fois	4 à 5 fois	6 à 7 fois	Plus de 8 fois
<input type="checkbox"/>					

Ministère de l'Environnement, raisons :

Jamais	Une fois	2 à 3 fois	4 à 5 fois	6 à 7 fois	Plus de 8 fois
<input type="checkbox"/>					

Groupes d'agronome-conseil non liés, raisons :

Jamais	Une fois	2 à 3 fois	4 à 5 fois	6 à 7 fois	Plus de 8 fois
<input type="checkbox"/>					

Club agroenvironnemental, raisons :

Jamais	Une fois	2 à 3 fois	4 à 5 fois	6 à 7 fois	Plus de 8 fois
<input type="checkbox"/>					

Fournisseurs de semences, raisons :

Jamais	Une fois, juste pour l'achat des semences	2 à 3 fois	4 à 5 fois	6 à 7 fois	Plus de 8 fois
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Firmes de fertilisants, raisons :

Jamais	Une fois	2 à 3 fois	4 à 5 fois	6 à 7 fois	Plus de 8 fois
<input type="checkbox"/>					

Firmes de pesticides, raisons :

Jamais	Une fois	2 à 3 fois	4 à 5 fois	6 à 7 fois	Plus de 8 fois
<input type="checkbox"/>					

Acheteurs, raisons :

Jamais	Une fois	2 à 3 fois	4 à 5 fois	6 à 7 fois	Plus de 8 fois
<input type="checkbox"/>					

27. Êtes-vous membre d'un Club-conseil? Si la réponse est OUI, indiquez depuis quand.

Oui	Non
Année :	<input type="checkbox"/>

28. De quelles manières vous renseignez-vous sur les prévisions de prix du soya? Cochez la ou les réponses.

Aucune source d'information	<input type="checkbox"/>
Prévisions de la Fédération des producteurs de cultures commerciales du Québec (FPCCQ)	<input type="checkbox"/>
Prévisions de la Financière agricole (ou de son bulletin, <i>L'Agroindicateur</i>)	<input type="checkbox"/>
Prix des contrats à terme en bourse, précisez la source (ex. Bourse de Chicago, Grainwiz, MAPAQ, etc.) :	<input type="checkbox"/>
Autres producteurs de soya	<input type="checkbox"/>
Famille, amis	<input type="checkbox"/>
Autre, précisez :	<input type="checkbox"/>

Profil sociodémographique

Cette dernière section du questionnaire vise à établir votre profil sociodémographique.

29. Quel est votre sexe? Cochez la réponse.

Masculin	<input type="checkbox"/>	Féminin	<input type="checkbox"/>
----------	--------------------------	---------	--------------------------

30. À quel groupe d'âge appartenez-vous? Cochez la réponse.

24 ans ou moins	25 à 34 ans	35 à 44 ans	45 à 54 ans	55 à 64 ans	65 ans ou plus
<input type="checkbox"/>					

31. Quel est votre état matrimonial? Cochez la réponse.

Célibataire	Marié	Divorcé	Séparé	Veuf
<input type="checkbox"/>				

32. Quel est votre plus haut niveau de scolarisation complété? Cochez la réponse.

Primaire	<input type="checkbox"/>	Secondaire	<input type="checkbox"/>	Collégiale	<input type="checkbox"/>	Universitaire	<input type="checkbox"/>
----------	--------------------------	------------	--------------------------	------------	--------------------------	---------------	--------------------------

Si vous avez coché Collégial ou Universitaire, veuillez cocher dans quel domaine vous êtes diplômé.

<input type="checkbox"/>	Agronomie, agroalimentaire
<input type="checkbox"/>	Entrepreneuriat/Gestion des entreprises
<input type="checkbox"/>	Sciences sociales/humaines
<input type="checkbox"/>	Autre, précisez:

33. Dans quelle tranche se situe votre revenu familial? Cochez la réponse.

Moins de 24 999 \$	25 000 à 49 999 \$	50 000 à 99 999 \$	100 000 à 249 999 \$	250 000 à 499 999 \$	500 000 à 999 999 \$	1 000 000 \$ et plus
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Nous vous remercions de bien avoir voulu répondre aux questions.

ANNEXES 2

Glyphosate and AMPA persistence in field crops soils from the St. Lawrence Lowlands (Quebec, Canada) influenced by soil characteristics and weed management practices

Sophie Maccario¹, Marc Lucotte¹, Elise Smedbol¹, Matthieu Moingt^{1*}, Émile Samson Brais¹,
Michel Labrecque²

¹ Université du Québec à Montréal, Institut des Sciences de l'environnement, Chaire de recherche du GEOTOP, CP 8888, Succ. Centre-Ville, Montréal, QC, Canada, H3C3P8

² Université de Montréal, Institut de recherche en biologie végétale, 4101 Sherbrooke Est, Montréal, QC, Canada, H1X2B2.

*Corresponding author: moingt.matthieu@uqam.ca

Abstract

The use of glyphosate-based herbicides (GBH) in industrial agriculture has intensified in the past decades causing a growing concern about the occurrence and spatial distribution in the environment of glyphosate and its principal degradation product aminomethylphosphonic acid (AMPA). In 2014, glyphosate and AMPA contents were measured in 46 field crop soils from the St. Lawrence Lowlands (Quebec, Canada) in the early spring and at harvest time in soybean fields cultivated along with various weed management practices with or without GBH applications. At the same time, recent history of agricultural practices and soil conditions were compiled for the sampled sites. The results of the study show that 91% of the samples contained detectable amount of either glyphosate or AMPA with maximum values of 0.47 mg.kg^{-1} and 1.16 mg.kg^{-1} for glyphosate and AMPA respectively. Surprisingly, detectable amounts of AMPA were measured in fields not treated with GBH in 2014, whereas traces of both glyphosate and AMPA were detected in organic field crops highlighting the potential spreading and/or persistence of both compounds in the agricultural environment. Glyphosate contents were significantly higher in clay soils rich in exchangeable cations such as Mg^{2+} , K^{+} and Ca^{2+} , which contribute to retain glyphosate in soil via complexation processes.

Keywords: herbicide survey, glyphosate, AMPA, persistence, agricultural soil, soya field crops, St. Lawrence agricultural plain

Introduction

The use of herbicides and in particular glyphosate-based ones (GBH) in agricultural weed management practices has intensified over the past decades. GBH were rapidly adopted in field crops agricultural practices since the emergence of Roundup Ready (RR) soybean cultivar in 1996 (Duke, 2015) based on their affordability and their efficiency to control weeds (Duke et al., 2018).

Most agricultural farms use RR and non-RR crops rotation to maintain high yields and stay competitive on the grain market in comparison with a solely non-RR field crops system (Hategekimana and Trant, 2002). In order to control the rise of glyphosate-resistant weeds worldwide (Heap and Duke, 2018), both the number of GBH applications and the doses of active ingredients increased over the last decades (Benbrook, 2016). While glyphosate is either relatively quickly degraded (Hove-Jensen et al., 2014) or adsorbed in soils (Borggaard and Gimsing, 2008), not much is known about the impact of repeated GBH applications regarding agricultural soil health and functions (Simonsen et al., 2008; Sviridov et al., 2015a; Travaglia et al., 2015). Glyphosate half-life in soils is generally short, ranging from a few days to a few weeks (Al-Rajab and Schiavon, 2010; Cheah et al., 1998; Mamy et al., 2005; Simonsen et al., 2008; Yang et al., 2015) whereas the half-life of its main degradation product,

aminomethylphosphonic acid (AMPA), is estimated up to six times longer (Bergström et al., 2011; Shushkova et al., 2010; Simonsen et al., 2008; Singh and Singh, 2014; Yang et al., 2015). However, numerous studies report much longer residence time for glyphosate and AMPA in soils, with amounts of both compounds measured more than a year after the last GBH application (Bergström et al., 2011; Eberbach, 1998; Laitinen et al., 2009; Scribner et al., 2007), highlighting the pluriannual persistence of glyphosate and AMPA in agricultural soils (Primost et al., 2017). Longer residence time seems to be linked to the type of soil and its composition (Bergström et al., 2011). Indeed, clay, oxides and organic matter seem to promote glyphosate and AMPA retention in soil (Al-Rajab et al., 2008; Albers et al., 2009; Borggaard and Gimsing, 2008; Gjettermann et al., 2011; Rampazzo et al., 2013). The presence of exchangeable cations also seems to affect the dynamics of glyphosate and AMPA in soil by the formation of complexes, which are able to be adsorb onto minerals surfaces (Eker et al., 2006; Glass, 1987). Most studies reporting a persistence of glyphosate and AMPA in agricultural soils following GBH applications have been conducted in South America (Aparicio et al., 2013; Primost et al., 2017) and more recently in Europe (Karanasios et al., 2018; Silva et al., 2017). In North America, studies are scarce, somewhat outdated and have been performed in non-agricultural soils (Feng et al., 1990; Roy et al., 1989). However, recent glyphosate surveys in water bodies report the dispersion of both glyphosate and AMPA in the environment (Battaglin et al., 2014; Glozier et al., 2012; Scribner et al., 2007; Giroux et al, 2015) emphasizing the need for a better knowledge of the variables influencing the persistence and the dispersion of these compounds in the environment following GBH applications. In this study, we aim to determine the levels of glyphosate and AMPA in the surface horizon of field crops soils cultivated with soybean at

the year of sampling under three distinct cropping systems: RR, Identity Preserved (IP) and organic farming (OF) in the St. Lawrence Lowlands (Quebec, Canada). The study also aims at evaluating the variables influencing the persistence of glyphosate and AMPA in agricultural soils. The ultimate goal is to determine the effects of agricultural practices using GBH and the role of soil texture and exchangeable cations on glyphosate and AMPA persistence in soils. In the soil conservation context, this study provides much needed data, which should help to better understand glyphosate and AMPA dynamics in agricultural ecosystems, to identify risk areas and to optimize agricultural practices.

Material and methods

Study sites and soil sampling

Soil samples were collected in 45 field crops soils cultivated with soybean at the year of sampling in the St. Lawrence Lowlands (Quebec, Canada) (Figure 1). Sites were subdivided regarding the type of cropping systems: i) RR with one or more GBH application (n=21), ii) IP which are not genetically modified to resist glyphosate but where GBH applications can be used pre-sowing (n=16) and OF where GBH applications are prohibited (n=8).

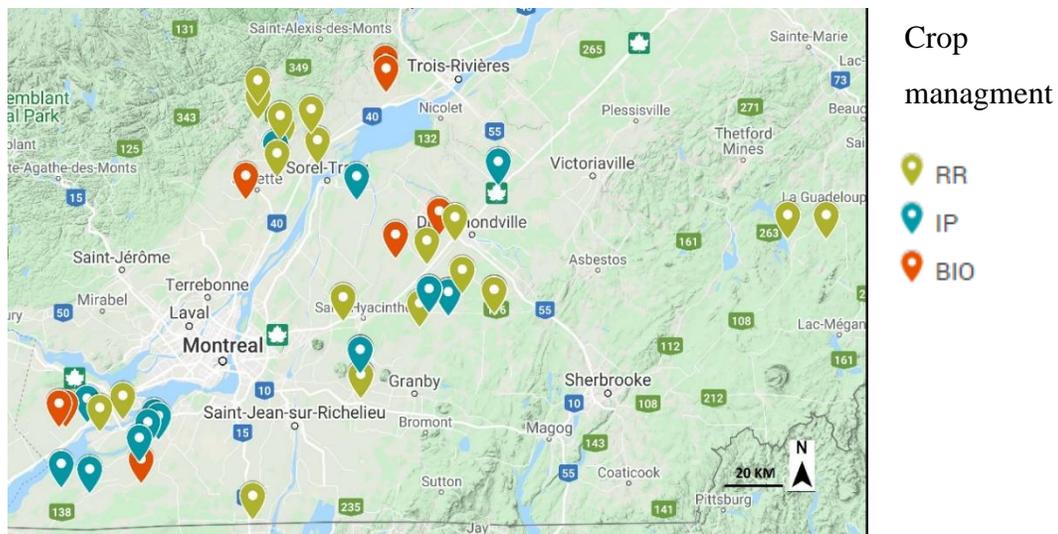


Figure 3.1. Location of the study sites in the agricultural plain of the St. Lawrence during the sampling campaign in 2014 before sowing and in October 2014, at the harvest time. For GR (Genetically Resistant to HBG) $n=21$; IP (variety with protected identity not resistant to HBG) $n=16$ et BIO (organic without the application of HBG) $n=8$.

Farmer's self-administered questionnaires were used to collect data about the agricultural practices specific to each site (i.e. soil tillage, number of GBH applications) (Table 1). It is important to note that only GBH usage was reported by each farmer but not the exact doses that were applied at the year of sampling.

Environmental variables (soil texture, principal soil limitations, total precipitations, field area) for each sampled field were gathered using the Info-Sols database (www.info-sols.ca), a geographic information system for agricultural landscape in Quebec (Canada) and data from Environment and climate change Canada (www.canada.ca/en/environment-climate-change). Based on these data, each sampling site was assigned to a specific texture class (Table 2).

Each site was sampled twice. The first sampling mission took place in May 2014 before soybean seeding, whereas the second one was performed in October 2014 before harvest. On each site, three soil cores (0-20 cm) spaced 100 meters apart were collected and georeferenced in order to accurately sample the same spots during the second campaign. Soil samples were frozen and stored at -20°C upon analyses.

Exchangeable cations and phosphorus analyses

Soil samples were dried in an oven at 55°C and sieved using a two millimeters sieve prior analysis. The Mehlich III method with a soil/solution ratio of 1:10 was used to extract the exchangeable phosphorus, exchangeable aluminium and the following exchangeable cations: K^+ , $Fe^{2+/3+}$, Mn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Al^{3+} (CEAEQ, 2010). Exchangeable cations were measured by atomic absorption spectrometry (ARL 906AA, GBC Scientific Equipment, Melbourne, Australia). Phosphorus was analyzed by UV-visible spectrometry at the 875 nm wavelength, according to the method of Harwood et al., 1969 and adapted by Lucotte and Anglejan, 1985. 10 ml of solution to assay were added with 10 ml of Harwood's reagent, then completed with 50 ml of milliQ water. The mixture was stirred vigorously and allowed for 30 minutes, before analyzing within the remaining 90 minutes. Harwood's reagent was prepared as follows: in a 500 ml flask, 250 ml of 4N sulfuric acid was added with 75 ml of ammonium molybdate, 25 ml of antimony potassium tartrate and 100 ml of 10% (w/w) ascorbic acid, then topped up with milli-Q water.

Glyphosate and AMPA content measurements

Soil samples were freeze-dried, crushed, sieved using a two millimeters sieve and 5 g of soil were directly weighted into a 50 mL falcon. Then, glyphosate and AMPA were extracted using

a slightly modified version of the method described by Alferness and Iwata (1994). Briefly, an extraction solution was prepared by mixing 34.5 ml of NH_4OH (28-30%) with 13.6 g of KH_2PO_4 and adjusting the final volume to 1 liter. The extraction solution was diluted 1:2 and a volume of 40 ml was transferred to the falcon containing the soil sample. The falcon was mixed using a vortex mixer for 30 sec before being placed on a rotating wheel at 200 rpm for 30 mn. Afterwards, samples were centrifuged at 3500 rpm for 20 mn before being filtered at $0.2\ \mu\text{m}$ (InnoSepTM SF25 nylon filter). 40 μl of the extract were transferred in an injection vial and evaporated to dryness under stream of nitrogen. Then, the extract was derivatized following the protocol described by Deyrup et al. (1985) by adding 500 μl of trifluoroethanol (TFE) and 1000 μl of trifluoroacetic anhydride (TFAA) and heated at $100\ ^\circ\text{C}$ for one hour. After cooling down to room temperature, the extract was once again evaporated to dryness under stream of nitrogen. Prior to GC-ECD injection, samples were dissolved in 1000 μL of isopropyl acetate whereas a 1 μL of 1-bromopentadecane was finally added in order to monitor injection reproducibility. A Varian GC 3800 gas chromatograph equipped with a Restek RXI-5SIL MS capillary column (30 m x 0.25 mm ID, $0.25\ \mu\text{m}$) was used to analyze samples. The chromatographic conditions used for glyphosate detection were as follows: injector temperature, 250°C ; detector temperature, 300°C ; oven temperature program, 60°C , hold for 0.50 min, $6^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ to 170, $60^\circ\text{C}\cdot\text{mn}^{-1}$ to 250°C , hold 10.0 min, for a total run of 30.17 min. High purity hydrogen was used as carrier gas (at a flow of $1.4\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$), and the injection volume was 1 μL .

To minimize uncertainty of chromatographic measurements, GC-ECD performance parameters were checked on a daily basis to verify their suitability for the purpose of glyphosate/AMPA

analysis. LOD and LOQ were determined based on the method described in Mocak et al. (1997). The calculated LOD and LOQ were 0.02 mg.kg⁻¹ and 0.05 mg.kg⁻¹ and 0.03 mg.kg⁻¹ and 0.09 mg.kg⁻¹ for glyphosate and AMPA, respectively. Calibration curves of six points showed good linearity for both analytes ($r^2 = 0.96$; $p < 0.0001$ and $r^2 = 0.99$; $p < 0.0001$ for glyphosate and AMPA, respectively) in the domain of expected samples concentration.

Regarding samples quantification, each samples batch included a standard curve made of five standards (0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mg.kg⁻¹ for AMPA and 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 mg.kg⁻¹ for glyphosate) run in the same matrix as the unknown sample.

Statistical analyses

In order to use samples with glyphosate or AMPA contents below the LOD or between the LOD and the LOQ in the statistical analyses, we arbitrary assigned values. Specifically, contents below the LOD were assigned with a value of LOD/2 (i.e 0.01 mg.kg⁻¹ and 0.02 mg.kg⁻¹ for glyphosate and AMPA, respectively) whereas samples with content comprised between LOD and LOQ were given a value of LOQ/2 (i.e. 0.03 mg.kg⁻¹ and 0.05 mg.kg⁻¹ for glyphosate and AMPA, respectively). Only one core per field was used for glyphosate and AMPA analysis.

Samples were compared using a Wilcoxon matched samples rank test was used to measure the significant difference between samples taken at planting (May 2014) and those collected at harvest (October 2014) for glyphosate and AMPA, with a significance level set at 0.05. For the other parameters studied, an analysis of variance with a nonparametric factor was used to compare the levels of glyphosate and AMPA, with a test of the ranks of Kruskal-Wallis, with a significance level fixed at 0.05. The content distribution was represented by box plots and the

measurement frequencies by histograms. For the comparison of the different soil textures, only TA, TL and TLS type soils were analyzed, because the other classes did not have a number of analyzes (n) large enough to ensure good representativeness.

The levels of glyphosate and AMPA and the presence of available cations in the soils for the campaign of October 2014 (harvest) were associated using a multivariate analysis, namely a principal component analysis (PCA), after having centred and reduces the data. Five axes were chosen, obtaining the inertia of 80.5%. The data was interpreted using the texture of soils as an additional variable in the analysis and use of the correlation matrix and the table of the square cosines of the variables. All tests were performed with JMP Pro 14 software from SAS Institute (Cary, NC, USA).

Results

Glyphosate and AMPA contents in surface soils

In the soils of the present study, glyphosate contents ranged from below the LOD to 0.47 mg.kg^{-1} and AMPA contents from below the LOD to 1.16 mg.kg^{-1} (Table 3). At least one of the two compounds was detected in 91 % of the samples whereas both glyphosate and AMPA were measured in 39 % of the samples. However, AMPA was more widespread with 76 % of the samples containing AMPA in comparison to 41 % for the glyphosate. Surprisingly, both glyphosate and AMPA were detected in some OF soil samples with maximum values of 0.15 mg.kg^{-1} and 0.24 mg.kg^{-1} , respectively. However, the amounts measured were significantly lower in comparison with RR and IP soil samples ($p < 0.05$). In RR systems, 90 % of the sites presented detectable amounts of glyphosate or AMPA or both ($n=21$) whereas, in IP systems,

glyphosate and AMPA were measured at every sample site to the exception of two (88 %, n = 17). On the other hand, only one OF site showed measurable amounts of AMPA and glyphosate simultaneously (n = 8).

No significant difference was observed between glyphosate or AMPA contents measured during spring or at harvest time ($p > 0.05$) considering either the whole data set or subdividing the data set by agrosystem type (Figure 2). However, within a single sample campaign, significant differences were observed for AMPA contents in soil (Figure 2). Indeed, in spring before seeding, AMPA contents in OF systems were inferior to the ones measured in RR and IP systems. RR and IP systems displayed similar AMPA contents at the same period (Figure 21a). On the other hand, at harvest time, AMPA contents were significantly different between agrosystems with higher contents measured in RR samples and lower ones in OF samples (Figure 2). Regarding glyphosate, no difference was observed at either spring or harvest between the three agrosystems (Figure 2.1b).

Impact of the number of GBH applications

Glyphosate contents were not significantly different between sample sites without or with one or with two GBH application (Figure 3.1). However, glyphosate detection frequency was higher in soil samples that received two GBH applications in comparison with the ones with one or no GBH application (Figure 3.2).

AMPA contents were significantly different between sites without and with two GBH applications ($p = 0.003$) as well as between sites without or with one GBH application ($p = 0.002$) (Figure 3.1). In the present study, the number of GBH applications (one or two) did not

seem to affect the total AMPA content measured in soil samples ($p > 0.05$) but AMPA detection frequency in soil samples was higher along with the number of GBH applications (Figure 3.2).

Impact of tillage

Regarding tillage, a comparison between glyphosate and AMPA contents measured in soils with direct seeding and soils with tillage did not show significant difference ($p > 0.05$).

Impact of soil texture and composition

Glyphosate contents were significantly higher in clay soils (CS) in comparison with loam (LS) and sandy loam (SLS) soils, either during spring (CS vs. LS $p = 0.0018$; CS vs. SLS $p = 0.0003$; Figure 4.1.a) or at harvest time (CS vs. LS $p = 0.0049$; CS vs. SLS $p = 0.0026$; Figure 4.1.b). Glyphosate was detected in all clay soil samples of the present study whereas it was present in 13 % and 17 % of loam soils and sandy loams soils, respectively (Figure 4.3). Regarding AMPA contents, no significant difference was observed depending on soil texture but the compound was more often detected in clay soils (91 %) in comparison with loams soils (67 %) and sandy loams soils (50 %) (Figure 4.3).

A principal component analysis based on 22 samples and 10 variables was run in order to evaluate a potential link between glyphosate and AMPA contents and the exchangeable cations contents in soils (Figure 5, Table 4). The PC1 was best explained with the following gradient: Mg^{2+} content $>$ glyphosate content $>$ K^+ content $>$ $Fe^{2+/3+}$ content $>$ Ca^{2+} content (Table 4). The multivariate analysis also highlighted a positive correlation between glyphosate contents and Ca^{2+} contents ($r^2 = 0.59$). The first axis largely explained the content of these elements in sandy loams soils and clay soils ($\cos^2 = 0.83$ and 0.62 , respectively) (Figure 5). The PC2 was best explained by with the following gradient: Cu^{2+} content $>$ Al^{3+} content $>$ phosphorus content $>$

AMPA content (Table 4). The PC2 explained the content of these elements in loam soils ($\cos^2 = 0.46$) (Figure 4).

Discussion

Persistence and accumulation of glyphosate and AMPA in soil

The results of the present study highlight the ubiquity of glyphosate and AMPA in field crops soils cultivated with soybean at the year of sampling under three distinct cropping systems (i.e. RR, IP and OF) with 91 % of the samples containing detectable amounts of at least one of these compounds. AMPA is present more often than glyphosate with 76 % of the samples displaying detectable amounts. In the literature, lower percentage of detection are generally reported with values ranging from 45 to 66 % in studies performed in Argentina (62.5 %) (Aparicio et al., 2013), U.S.A. (50-66 %) (Scribner et al., 2007) and Europe (45-66 %) (Ibáñez et al., 2005; Silva et al., 2017). However, these studies were not exclusively related to field crops soils. A higher frequency of glyphosate and AMPA detection in the studied soils seems to indicate that field crops systems with soybean and maize rotation could potentially promote the persistence of these compounds in agricultural soil. Primost et al. (2017) report the presence of at least one these two compounds in all the soil samples from 17 fields in Argentina where farmers were applying GBH. Authors explain the ubiquity of glyphosate and AMPA in their study by the fact that they sampled soils directly in fields treated with GBH applications in opposition to others studies in which analyses have been made in various compartments at the watershed scale and thus not necessarily fields systematically exposed to GBH applications.

The glyphosate contents measured in soils of the present study are in agreement with the ones reported in the literature worldwide for field crops whereas the AMPA contents are higher (Battaglin et al., 2014; Gunarathna et al., 2018; Silva et al., 2017). However, Primost et al. (2017) report much more higher glyphosate and AMPA contents than the ones measured in this study. Considering that glyphosate degradation rate is slower at lower temperatures (Helander *et al.*, 2012), the cold winter experienced in the Quebec region could in part explain these differences. Indeed, in cold climate, both compounds were detected several years after the last GBH applications (Bento et al., 2016; Kjær et al., 2005; Simonsen et al., 2008) and glyphosate half-life can be as long as 460 days (Borggaard and Gimsing, 2008). Laitinen (2009) et al. measured that 19 % and 48 % of the initially applied quantities of glyphosate and AMPA remained 20 months after application in climate similar to what is encountered in the Quebec region. The fact that, in the present study, glyphosate and AMPA are detectable in fields crops soils treated with GBH as well as fields crops soils which did not receive any GBH application in 2014 seems to indicate that these compounds can be persistent more than one year in soils and have the potential to accumulate through time. This observation is in agreement with others studies reporting an accumulation of glyphosate in soils through time (Banks et al., 2014; Cassigneul et al., 2016; Okada et al., 2016; Sidoli et al., 2016; Simonsen et al., 2008; Sviridov et al., 2015b; Travaglia et al., 2015). Andrea et al. (2003) suggested that glyphosate mineralization depended of the crop history and decrease with repeated applications. A more recent stud seems to validate this hypothesis since Primost et al. (2017) estimated an increase of 1 mg of glyphosate per kg of soil after five GBH applications with an application rate superior to the dissipation one contributing to a non linear accumulation of glyphosate and

AMPA in soils. Glyphosate and AMPA contents in Argentina soils being 2 to 5 times higher than those measured in Quebec soils (Aparicio et al., 2013; Primost et al., 2017) highlight the impact of crop history in glyphosate and AMPA persistence and accumulation in soils. In Argentina, soils receive an average of 3.3 GBH applications per year (Primost et al., 2017) whereas in Quebec glyphosate-resistant fields crops generally do not receive more than two GBH applications. However, as previously mentioned, the relation between glyphosate accumulation in soil and the number of GBH applications does not seem linear. This is in agreement with our results since: i) regarding glyphosate and AMPA content in soil, no difference is observed between spring and harvest for both compounds, ii) the number of GBH applications (0, 1 or 2) does not seem to impact glyphosate content in soils and/or its detection frequency and iii) the ranges of glyphosate and AMPA contents in soils are the same for RR and IP agrosystems. Thus, other factors seem to be involved in the persistence of glyphosate and AMPA in Quebec soils. The increase in AMPA contents and detection frequency with the number of GBH applications in 2014 could be due to the history of each site regarding the number of GBH applications they received the previous years.

Soil tillage does not seem to be a major factor influencing glyphosate and AMPA persistence in Quebec soils since no difference is observed between sites with soil tillage vs. direct seeding crop systems sites This observation is in agreement with previous studies (Fomsgaard et al., 2003; Okada et al., 2016; Rampazzo et al., 2013). Soracco et al. (2018) also reported an accumulation of glyphosate and AMPA in soils under conventional and no-till systems during a soybean growing season. However, they observed higher variation in glyphosate and AMPA contents in soils under tillage. Other studies noticed an increase of glyphosate and AMPA

contents in no-till soils after GBH applications (Cassigneul et al., 2016; Peruzzo et al., 2008). It seems that tillage could potentially increase glyphosate and AMPA leaching (Gjettermann et al., 2010) since both pores size and connectivity could be affected and increase solute transport (Lipiec et al., 2006; Okada et al., 2016). Nevertheless, the effects of soil tillage are difficult to evaluate in field conditions because agricultural practices depend on other factors such as GBH application method, crop history or soil type. Hence, in the St. Lawrence Lowlands, most of the glyphosate-resistant crops are combined with direct seeding systems for a better soil conservation on the long term.

Impact of soil texture on glyphosate and AMPA dynamics

Based on our results, glyphosate seems to be more persistent in clay soils than in loams and sandy loams soils (Figure 4) but AMPA contents in soils are similar whatever soil type (Figure 4). AMPA is known to have a superior retention capacity in comparison with glyphosate likely due to a different type of fixation sites (Sidoli et al., 2016). Indeed, due to its chemical configuration, soils have a higher adsorption capacity for AMPA than for glyphosate (Borggaard and Gimsing, 2008), which could explain AMPA lesser sensitivity to crops and soil variable and thus its ubiquity and generally higher contents in soils. Since aluminum oxides have a strong adsorption capacity for AMPA (Rampazzo et al., 2013; Sidoli et al., 2016), the principal way for AMPA adsorption could be via ligand exchange and thus would be dependent on oxides contents rather than soil texture.

Numerous studies highlighted glyphosate adsorption on clay silicates and oxides (Barja and Dos Santos Afonso, 2005; Gimsing and Borggaard, 2002; Sheals et al., 2002). Clay soils seems to promote glyphosate accumulation by delaying its degradation. Indeed, Bergström et al.

(2011) showed a 6.5 higher glyphosate persistence in clay soils than in sandy soils whereas the fact that glyphosate is more persistent in soils with a higher clay content seems to be a consensus (Maqueda et al., 2017; Okada et al., 2016; Sidoli et al., 2016). It seems to be due to a stronger glyphosate adsorption on clay (Báez et al., 2015; Gros et al., 2017; Gunarathna et al., 2018; Paradelo et al., 2015). Contrary to AMPA, glyphosate adsorption could be achieved via complexation mechanisms thus explaining the link between glyphosate contents and soil texture in the present study (Figure 5). Glyphosate adsorption in soils is influenced by clay contents and the soil cations exchange capacity (CEC) (Okada et al., 2016). CEC is the amount of exchangeable cations in soil that can attach itself to the soil organic matter and clays, promoting cations-glyphosate complexation (Dollinger et al., 2015; Glass, 1987). A decrease in glyphosate availability can be observed following the formation of these chemical complexes (Tsui and Chu, 2008) and thus potentially affect glyphosate degradation in soils. In a study by Nguyen et al. (2018), glyphosate mineralization ranged from 7 to 71 % of the initially applied amount in 21 agricultural soils with various textures. In this case, calcium and potassium exchangeable cations seemed to largely influence glyphosate mineralization (i.e. positive correlation). However, the formation of calcium-glyphosate complexes have been also linked to a decrease in glyphosate bioavailability for degradation (Caetano et al., 2012). In the clay soils of our study, the multivariate analysis seems to indicate that the exchangeable cations promoting most glyphosate persistence in soils are Mg^{2+} , K^+ , Ca^{2+} and $Fe^{2+/3+}$. Major cations such as Mg^{2+} , K^+ , Ca^{2+} are known to increase glyphosate sorption coefficient in sandy loam soils (Jonge and de Jonge, 1999). Moreover, soils with higher clay, calcium and magnesium contents and a stronger CEC were also linked to a greater glyphosate adsorption (Okada et al.,

2016). These cations can form insoluble complexes with glyphosate over a long period of time (Eker et al., 2006; Glass, 1987) thus stabilizing glyphosate in agricultural soils.

Glyphosate and AMPA diffusion potential in the environment

Our results highlight the ubiquity of both glyphosate and AMPA in agricultural soils of the St. Lawrence Lowlands. It is of concern to detect these compounds in sites where GBH applications are not performed (i.e. organic farming systems) but not surprising since studies reported the presence of both glyphosate and AMPA in soils never exposed to GBH (Aparicio et al., 2013; Lupi et al., 2015). In Quebec, certified organic field crops farmers are required not to apply herbicides for at least three years in a row.

The presence of glyphosate and AMPA in these soils could be explained by two mechanisms: i) the long-term persistence in soils of glyphosate and AMPA originated from GBH applications before the process of application for the organic certification. It is unlikely since only two samples have contents superior in spring in comparison with harvest; ii) the proximity of the OF sites with fields crops using GBH applications and the diffusion of glyphosate with the wind (Bento et al., 2017; Chang et al., 2011; Farenhorst et al., 2015; Lamprea and Ruban, 2011), with surface waters (Zheng et al., 2018). Indeed, glyphosate and AMPA originated from GBH applications or from wind eroded sediment were detected in air samples from agricultural areas in the United States (Chang et al., 2011). The amount of glyphosate measured during diffusion by pulverization and by run-off can be similar with 6.9 % and 3.9 % of the applied quantity, respectively (Lupi et al., 2019). An important part of glyphosate is leachable for a few weeks after GBH. Glyphosate is generally detected more often in spring during GBH applications period (Carles et al., 2019) and up to 47 % of the applied glyphosate can be washed

away with run-off (Rampazzo Todorovic et al., 2014; Yang et al., 2015) whereas AMPA is also leachable (Imfeld et al., 2013; Landry et al., 2005). Moreover, a fraction of both glyphosate and AMPA adsorbed in soil can also be leached long after the last GBH application (Simonsen et al., 2008). A history of repeated GBH applications over years could also increase glyphosate and AMPA leaching from agricultural soils with a positive correlation between the number of years a site has been exposed to GBH and the degree of leaching (Norgaard et al., 2014). This information highlights the issue of GBH extensive use and how glyphosate and AMPA have the potential to impact agricultural soils for years due to their persistence. Glyphosate and AMPA are not to be only considered as a problem in glyphosate-resistant crops since their diffusion in the environment can be non-negligible (Battaglin et al., 2014; Glozier et al., 2012; Scribner et al., 2007). This persistence and diffusion of both compounds also raise concerns on soil health and sustainability on the long term and on impact of non glyphosate-resistant crops.

Conclusion

A residual fraction of HBG's glyphosate as well as its main degradation product AMPA persist in soils, which may raise concerns for the sustainability of the cultural system. In addition, the two compounds were also detected in soils under biological control without application of pesticides, show a diffusion of these compounds on a large scale in agricultural areas. The persistence appears to be greater in clay soils with a higher content of exchangeable cations such as potassium and calcium, which play a large role in the fertility of agricultural soils. The competition and interaction of cations with other organic molecules, anions and exudates and the influence this can have on the persistence and mobility of

glyphosate are essential for the pursuit of field studies in partnership with farmers. These results allow us to highlight the state of contamination of Quebec soils. Monitoring of available cations and of glyphosate and AMPA in different soils and crops is a new approach that provides a better understanding of the mechanism of retention of these compounds in soils and serves as a basis for advancing knowledge in conditions. of field.

References

- Al-Rajab, A. J., Amellal, S., and Schiavon, M. (2008). Sorption and leaching of ¹⁴C-glyphosate in agricultural soils. *Agronomy for Sustainable Development - AGRON SUSTAIN DEV* **28**, 419-428.
- Al-Rajab, A. J., and Schiavon, M. (2010). Degradation of ¹⁴C-glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in three agricultural soils. *Journal of Environmental Sciences* **22**, 1374-1380.
- Albers, C. N., Banta, G. T., Hansen, P. E., and Jacobsen, O. S. (2009). The influence of organic matter on sorption and fate of glyphosate in soil – Comparing different soils and humic substances. *Environmental Pollution* **157**, 2865-2870.
- Alferness, P. L., and Iwata, Y. (1994). Determination of Glyphosate and (Aminomethyl)phosphonic Acid in Soil, Plant and Animal Matrixes, and Water by Capillary Gas Chromatography with Mass-Selective Detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **42**, 2751-2759.
- Andréa, M. M. d., Peres, T. B., Luchini, L. C., Bazarin, S., Papini, S., Matallo, M. B., and Savoy, V. L. T. (2003). Influence of repeated applications of glyphosate on its persistence and soil bioactivity. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* **38**, 1329-1335.
- Aparicio, V. C., De Gerónimo, E., Marino, D., Primost, J., Carriquiriborde, P., and Costa, J. L. (2013). Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins. *Chemosphere* **93**, 1866-1873.
- Báez, M. E., Espinoza, J., Silva, R., and Fuentes, E. (2015). Sorption-desorption behavior of pesticides and their degradation products in volcanic and nonvolcanic soils: interpretation of interactions through two-way principal component analysis. *Environmental Science and Pollution Research* **22**, 8576-8585.
- Banks, M. L., Kennedy, A. C., Kremer, R. J., and Eivazi, F. (2014). Soil microbial community response to surfactants and herbicides in two soils. *Applied Soil Ecology* **74**, 12-20.

- Barja, B., and Dos Santos Afonso, M. (2005). Aminomethylphosphonic Acid and Glyphosate Adsorption onto Goethite: A Comparative Study. *Environmental science & technology* **39**, 585-92.
- Battaglin, W. A., Meyer, M. T., Kuivila, K. M., and Dietze, J. E. (2014). Glyphosate and Its Degradation Product AMPA Occur Frequently and Widely in U.S. Soils, Surface Water, Groundwater, and Precipitation. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association* **50**, 275-290.
- Benbrook, C. M. (2016). Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environmental sciences Europe* **28**, 3-3.
- Bento, C., Goossens, D., Rezaei, M., Riksen, M., Mol, H., Ritsema, C., and Geissen, V. (2017). Glyphosate and AMPA distribution in wind-eroded sediment derived from loess soil. *Environmental Pollution* **220**, 1079-1089.
- Bento, C. P. M., Yang, X., Gort, G., Xue, S., van Dam, R., Zomer, P., Mol, H. G. J., Ritsema, C. J., and Geissen, V. (2016). Persistence of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in loess soil under different combinations of temperature, soil moisture and light/darkness. *Science of The Total Environment* **572**, 301-311.
- Bergström, L., Börjesson, E., and Stenström, J. (2011). Laboratory and Lysimeter Studies of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid in a Sand and a Clay Soil. *Journal of environmental quality* **40**, 98-108.
- Borggaard, O., and Gimsing, A. (2008). Fate of Glyphosate in Soil and the Possibility of Leaching to Ground and Surface Waters: A Review. *Pest management science* **64**, 441-56.
- Caetano, M., Ramalho, T., Botrel, D., Cunha, E., and Mello, W. (2012). Understanding the inactivation process of organophosphorus herbicides: A DFT study of glyphosate metallic complexes with Zn²⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Cu²⁺, Co³⁺, Fe³⁺, Cr³⁺, and Al³⁺. *International Journal of Quantum Chemistry* **112**.
- Carles, L., Gardon, H., Joseph, L., Sanchís, J., Farré, M., and Artigas, J. (2019). Meta-analysis of glyphosate contamination in surface waters and dissipation by biofilms. *Environment International* **124**, 284-293.
- Cassigneul, A., Benoit, P., Bergheaud, V., Dumeny, V., Etiévant, V., Goubard, Y., Maylin, A., Justes, E., and Alletto, L. (2016). Fate of glyphosate and degradates in cover crop residues and underlying soil: A laboratory study. *Science of The Total Environment* **545-546**, 582-590.
- Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec et Ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation du Québec. 2003. Détermination des métaux extractibles dans les sols agricoles : méthode par spectrométrie d'émission au plasma d'argon ou par spectrométrie d'absorption atomique après extraction par la méthode Mehlich III, MA. 1010 - Mét. ass., *Ministère de l'Environnement du Québec*, p12.
- Chang, F.-c., Simcik, M., and Capel, P. (2011). Occurrence and Fate of the Herbicide Glyphosate and Its Degradate Aminomethylphosphonic Acid in the Atmosphere. *Environmental toxicology and chemistry / SETAC* **30**, 548-55.

- Cheah, U.-B., Kirkwood, R. C., and Lum, K.-Y. (1998). Degradation of Four Commonly Used Pesticides in Malaysian Agricultural Soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **46**, 1217-1223.
- Deyrup, C. L., Chang, S. M., Weintraub, R. A., and Moye, H. A. (1985). Simultaneous esterification and acylation of pesticides for analysis by gas chromatography. 1. Derivatization of glyphosate and (aminomethyl) phosphonic acid with fluorinated alcohols-perfluorinated anhydrides. *Journal of agricultural and food chemistry* **33**, 944-947.
- Dollinger, J., Dagès, C., and Voltz, M. (2015). Glyphosate sorption to soils and sediments predicted by pedotransfer functions. *Environmental Chemistry Letters* **13**, 1-15.
- Duke, S., Powles, S., and Sammons, D. (2018). Glyphosate – How it Became a Once in a Hundred Year Herbicide and Its Future. *Outlooks on Pest Management* **29**, 247-251.
- Duke, S. O. (2015). Perspectives on transgenic, herbicide-resistant crops in the United States almost 20 years after introduction. *Pest Management Science* **71**, 652-657.
- Eberbach, P. (1998). Applying non-steady-state compartmental analysis to investigate the simultaneous degradation of soluble and sorbed glyphosate (N-(phosphonomethyl)glycine) in four soils. *Pesticide Science* **52**, 229-240.
- Eker, S., Ozturk, L., Yazici, A., Erenoglu, B., Romheld, V., and Cakmak, I. (2006). Foliar-Applied Glyphosate Substantially Reduced Uptake and Transport of Iron and Manganese in Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**, 10019-10025.
- Farenhorst, A., Andronak, L., and McQueen, R. (2015). Bulk Deposition of Pesticides in a Canadian City: Part 1. Glyphosate and Other Agricultural Pesticides. *Water Air and Soil Pollution* **226**.
- Feng, J. C., Thompson, D. G., and Reynolds, P. E. (1990). Fate of glyphosate in a Canadian forest watershed. 1. Aquatic residues and off-target deposit assessment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **38**, 1110-1118.
- Fomsgaard, I. S., Spliid, N. H. H., and Felding, G. (2003). Leaching of Pesticides Through Normal-Tillage and Low-Tillage Soil—A Lysimeter Study. II. Glyphosate. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* **38**, 19-35.
- Gimsing, A., and Borggaard, O. (2002). Competitive adsorption and desorption of glyphosate on clay silicates and oxides. *Clay Minerals - CLAY MINER* **37**, 509-515.
- Giroux, I. 2015. Présence de pesticides dans l'eau au Québec : Portrait et tendances dans les zones de maïs et de soya de 2011 à 2014, Québec, *ministère du Développement durable, de l'environnement et de la lutte contre les changements climatiques. Direction du suivi de l'état de l'environnement* ISBN 978 é-550-73603-5, p. 47 p. 5 ann. <http://www.mddelcc.gouv.qc.ca/eau/flrivlac/pesticide.htm>
- Gjettermann, B., Petersen, C. T., Hansen, S., Bender Koch, C., and Styczen, M. (2010). Kinetics of Glyphosate Desorption from Mobilized Soil Particles. *Soil Science Society of America Journal* **75**, 434.
- Gjettermann, B., Styczen, M., Bender Koch, C., Hansen, S., and Petersen, C. (2011). Evaluation of Sampling Strategies for Pesticides in a Macroporous Sandy Loam Soil. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal* **20**, 986-994.

- Glass, R. L. (1987). Adsorption of glyphosate by soils and clay minerals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **35**, 497-500.
- Glozier, N. E., Struger, J., Cessna, A. J., Gledhill, M., Rondeau, M., Ernst, W. R., Sekela, M. A., Cagampan, S. J., Sverko, E., Murphy, C., Murray, J. L., and Donald, D. B. (2012). Occurrence of glyphosate and acidic herbicides in select urban rivers and streams in Canada, 2007. *Environmental Science and Pollution Research* **19**, 821-834.
- Gros, P., Ahmed, A., Kühn, O., and Leinweber, P. (2017). Glyphosate binding in soil as revealed by sorption experiments and quantum-chemical modeling. *Science of The Total Environment* **586**, 527-535.
- Gunarathna, S., Gunawardana, B., Jayaweera, M., Manatunge, J., and Zoysa, E. K. (2018). Glyphosate and AMPA of agricultural soil, surface water, groundwater and sediments in areas prevalent with chronic kidney disease of unknown etiology, Sri Lanka. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 1-9.
- Hategekimana, B., and Trant, M. (2002). Adoption and Diffusion of New Technology in Agriculture: Genetically Modified Corn and Soybeans. *Canadian Journal of Agricultural Economics-revue Canadienne D Agroeconomie - CAN J AGR ECON-REV CAN AGROEC* **50**, 357-371.
- Heap, I., and Duke, S. O. (2018). Overview of glyphosate-resistant weeds worldwide. *Pest Management Science* **74**, 1040-1049.
- Helander, M., Saloniemi, I., and Saikkonen, K. (2012). Glyphosate in northern ecosystems. *Trends in plant science* **17**, 569-74.
- Hove-Jensen, B., Zechel, D., and Jochimsen, B. (2014). Utilization of Glyphosate as Phosphate Source: Biochemistry and Genetics of Bacterial Carbon-Phosphorus Lyase. *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR* **78**, 176-97.
- Ibáñez, M., Pozo, O., Sancho, J., López, F., and Hernandez, F. (2005). Residue determination of glyphosate, glufosinate and aminomethylphosphonic acid in water and soil samples by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of chromatography. A* **1081**, 145-55.
- Imfeld, G., Lefrancq, M., Maillard, E., and Payraudeau, S. (2013). Transport and attenuation of dissolved glyphosate and AMPA in a stormwater wetland. *Chemosphere* **90**, 1333-1339.
- Jonge, H., and de Jonge, L. (1999). Influence of pH and solution composition on the sorption of Glyphosate and Proch-loraz to a sandy loam soil. *Chemosphere* **39**, 753-763.
- Karanasios, E., Karasali, H., Marousopoulou, A., Akrivou, A., and Markellou, E. (2018). Monitoring of glyphosate and AMPA in soil samples from two olive cultivation areas in Greece: aspects related to spray operators activities. *Environmental Monitoring and Assessment* **190**, 361.
- Kjær, J., Olsen, P., Ullum, M., and Grant, R. (2005). Leaching of Glyphosate and Amino-Methylphosphonic Acid from Danish Agricultural Field Sites. *Journal of Environmental Quality* **34**, 608-620.
- Laitinen, P., Rämö, S., Nikunen, U., Jauhiainen, L., Siimes, K., and Turtola, E. (2009). Glyphosate and phosphorus leaching and residues in boreal sandy soil. *Plant and Soil* **323**, 267-283.

- Lamprea, K., and Ruban, V. (2011). Pollutant concentrations and fluxes in both stormwater and wastewater at the outlet of two urban watersheds in Nantes (France). *Urban Water Journal* **8**, 219-231.
- Landry, D., Dousset, S., Fournier, J.-C., and Andreux, F. (2005). Leaching of glyphosate and AMPA under two soil management practices in Burgundy vineyards (Vosne-Romanée, 21-France). *Environmental Pollution* **138**, 191-200.
- Lipiec, J., J. K. Â., Nosalewicz, A., and Turski, M. (2006). Tillage system effects on stability and sorptivity of soil aggregates. *International Agrophysics* **20**.
- Lupi, L., Bedmar, F., Puricelli, M., Marino, D., Aparicio, V. C., Wunderlin, D., and Miglioranza, K. S. B. (2019). Glyphosate runoff and its occurrence in rainwater and subsurface soil in the nearby area of agricultural fields in Argentina. *Chemosphere* **225**, 906-914.
- Lupi, L., Miglioranza, K. S. B., Aparicio, V. C., Marino, D., Bedmar, F., and Wunderlin, D. A. (2015). Occurrence of glyphosate and AMPA in an agricultural watershed from the southeastern region of Argentina. *Science of The Total Environment* **536**, 687-694.
- Mamy, L., Barriuso, E., and Gabrielle, B. (2005). Environmental fate of herbicides trifluralin, metazachlor, metamiltron and sulcotrione compared to that of glyphosate, a substitute broad spectrum herbicide for different glyphosate-resistant crops. *Pest management science* **61**, 905-16.
- Maqueda, C., Undabeytia, T., Villaverde, J., and Morillo, E. (2017). Behaviour of glyphosate in a reservoir and the surrounding agricultural soils. *The Science of the total environment* **593-594**, 787-795.
- Mocak, J., Bond, A., Mitchell, S., and Scollary, G. (1997). A statistical overview of standard (IUPAC and ACS) and new procedures for determining the limits of detection and quantification: application to voltammetric and stripping techniques (technical report). *Pure and Applied Chemistry* **69**, 297-328.
- Nguyen, N. K., Dörfler, U., Welzl, G., Munch, J. C., Schroll, R., and Suhadolc, M. (2018). Large variation in glyphosate mineralization in 21 different agricultural soils explained by soil properties. *Science of The Total Environment* **627**, 544-552.
- Norgaard, T., Moldrup, P., Ferré, T., Olsen, P., Rosenbom, A., and de Jonge, L. (2014). Leaching of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid from an Agricultural Field over a Twelve-Year Period. *Vadose Zone Journal* **13**.
- Okada, E., Costa, J. L., and Bedmar, F. (2016). Adsorption and mobility of glyphosate in different soils under no-till and conventional tillage. *Geoderma* **263**, 78-85.
- Paradelo, M., Norgaard, T., Moldrup, P., Ferré, T. P. A., Kumari, K. G. I. D., Arthur, E., and de Jonge, L. W. (2015). Prediction of the glyphosate sorption coefficient across two loamy agricultural fields. *Geoderma* **259-260**, 224-232.
- Peruzzo, P. J., Porta, A. A., and Ronco, A. E. (2008). Levels of glyphosate in surface waters, sediments and soils associated with direct sowing soybean cultivation in north pampasic region of Argentina. *Environmental Pollution* **156**, 61-66.
- Primost, J., Aparicio, V., Costa, J., and Carriquiriborde, P. (2017). Glyphosate and AMPA, “pseudo-persistent” pollutants under real-world agricultural management practices in the Mesopotamic Pampas agroecosystem, Argentina. *Environmental Pollution* **229**.

- Rampazzo, N., Rampazzo Todorovic, G., Mentler, A., and Blum, W. (2013). Adsorption of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in soils. *International Agrophysics, Volume 27, Issue 2, pp.203-209* **27**, 203-209.
- Rampazzo Todorovic, G., Rampazzo, N., Mentler, A., Blum, W., Eder, A., and Strauss, P. (2014). Influence of soil tillage and erosion on the dispersion of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in agricultural soils. *International Agrophysics* **28**.
- Roy, D. N., Konar, S. K., Banerjee, S., Charles, D. A., Thompson, D. G., and Prasad, R. (1989). Persistence, movement, and degradation of glyphosate in selected Canadian boreal forest soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **37**, 437-440.
- Scribner, E. A., Battaglin, W. A., Gilliom, R. J., and Meyer, M. T. (2007). "Concentrations of glyphosate, its degradation product, aminomethylphosphonic acid, and glufosinate in ground- and surface-water, rainfall, and soil samples collected in the United States, 2001-06," Rep. No. 2007-5122, Reston, VA.
- Sheals, J., Sjöberg, S., and Persson, P. (2002). Adsorption of Glyphosate on Goethite: Molecular Characterization of Surface Complexes. *Environmental Science & Technology* **36**, 3090-3095.
- Shushkova, T., Ermakova, I., and Leontievsky, A. (2010). Glyphosate bioavailability in soil. *Biodegradation* **21**, 403-410.
- Sidoli, P., Baran, N., and Angulo-Jaramillo, R. (2016). Glyphosate and AMPA adsorption in soils: laboratory experiments and pedotransfer rules. *Environmental Science and Pollution Research* **23**, 5733-5742.
- Silva, V., Montanarella, L., Jones, A., Fernández-Ugalde, O., Mol, H., Ritsema, C., and Geissen, V. (2017). Distribution of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in Agricultural topsoils of the European Union. *Science of The Total Environment* **621**.
- Simonsen, L., Fomsgaard, I., Svensmark, B., and Spliid, N. (2008). Fate and availability of glyphosate and AMPA in agricultural soil. *Journal of environmental science and health. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes* **43**, 365-75.
- Singh, B., and Singh, K. (2014). Microbial degradation of herbicides. *Critical Reviews in Microbiology*.
- Soracco, C. G., Villarreal, R., Lozano, L. A., Vittori, S., Melani, E. M., and Marino, D. J. G. (2018). Glyphosate dynamics in a soil under conventional and no-till systems during a soybean growing season. *Geoderma* **323**, 13-21.
- Sviridov, A., Shushkova, T., Ermakova, I., Ivanova, E., Epiktetov, D., and Leont'evskii, A. (2015a). Microbial Degradation of Glyphosate Herbicides (Review). *Прикладная биохимия и микробиология* **51**, 183-190.
- Sviridov, A. V., Shushkova, T. V., Ermakova, I. T., Ivanova, E. V., Epiktetov, D. O., and Leontievsky, A. A. (2015b). Microbial degradation of glyphosate herbicides (Review). *Applied Biochemistry and Microbiology* **51**, 188-195.
- Travaglia, C., Masciarelli, O., Fortuna, J., Marchetti, G., Cardozo, P., Lucero, M., Zorza, E., Luna, V., and Reinoso, H. (2015). Towards sustainable maize production: Glyphosate detoxification by *Azospirillum* sp. and *Pseudomonas* sp. *Crop Protection* **77**, 102-109.

- Tsui, M., and Chu, L. M. (2008). Environmental fate and non-target impact of glyphosate-based herbicide (Roundup®) in a subtropical wetland. *Chemosphere* **71**, 439-46.
- Yang, X., Wang, F., Bento, C. P. M., Meng, L., van Dam, R., Mol, H., Liu, G., Ritsema, C. J., and Geissen, V. (2015). Decay characteristics and erosion-related transport of glyphosate in Chinese loess soil under field conditions. *Science of The Total Environment* **530-531**, 87-95.

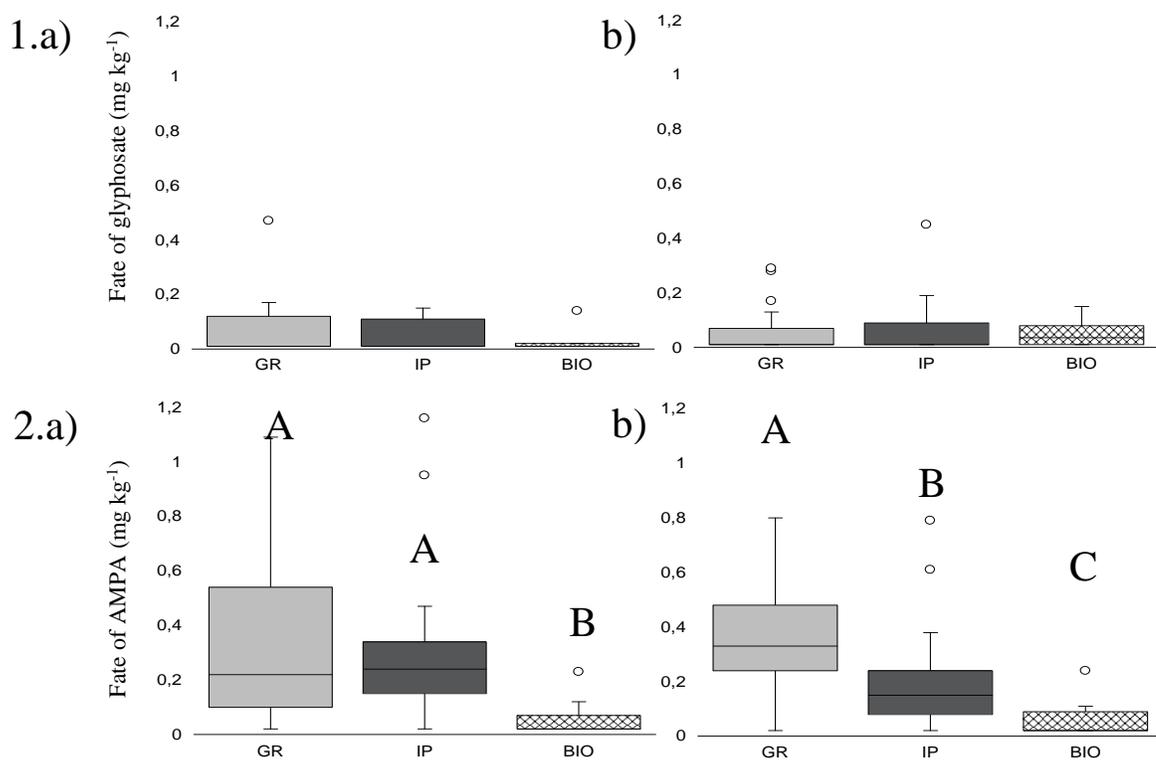


Figure 2. Distribution of glyphosate 1) and AMPA 2) content according to the type of crop in agricultural soils under soybean cultivation in spring 2014 before sowing (a) and in October 2014, at harvest time (b).

For GR, n = 21; IP n = 16 and BIO n = 8. Boxplots represent the median, and the 25 and 75% quantiles.

° represent potentially outliers. Significant differences were tested using the non-parametric Kruskal-Wallis test, with a significant threshold set at 0.05 and annotated on the graph by letters A, B, C corresponding to the different significant groups.

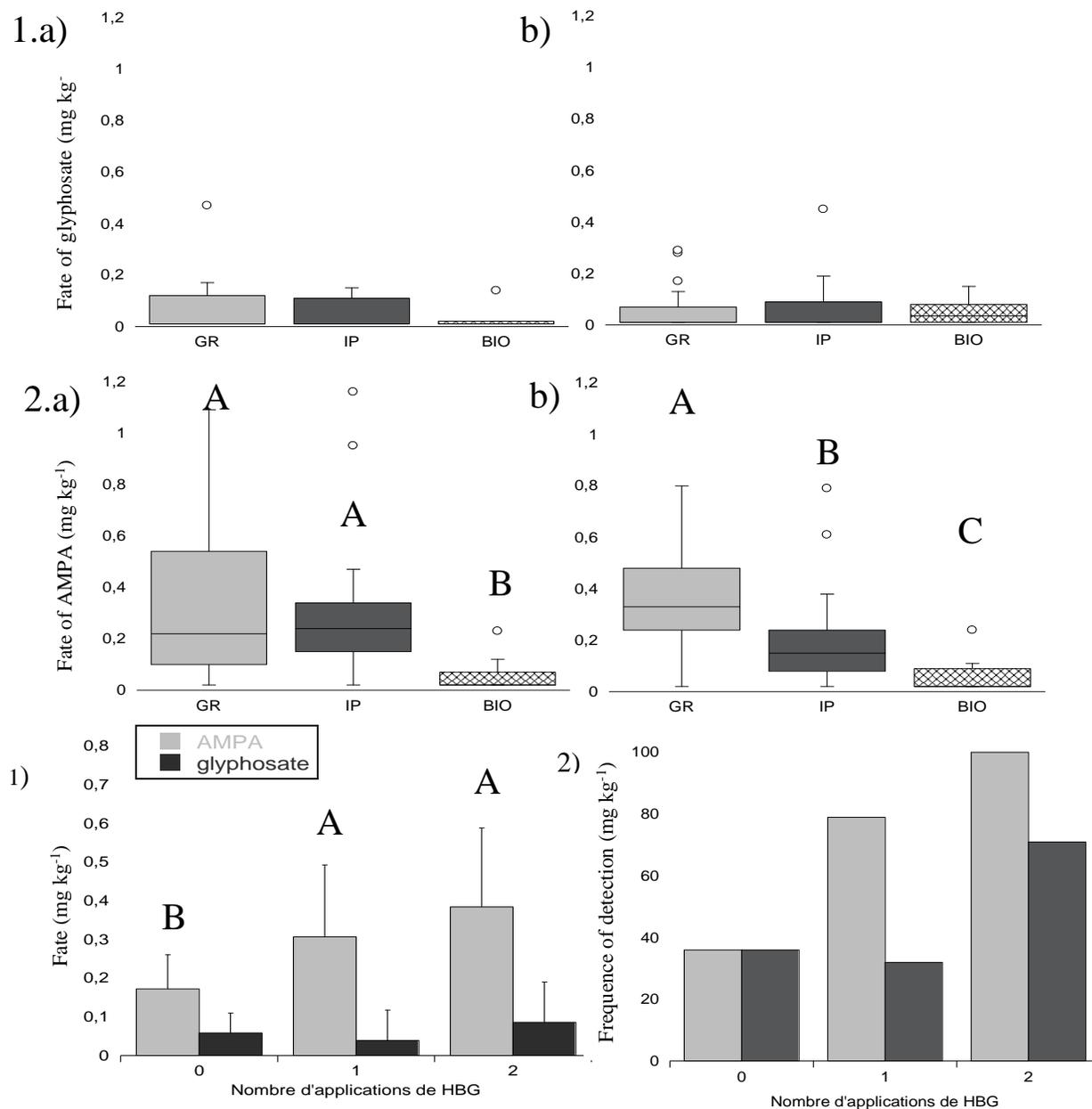


Figure 3. Histograms of glyphosate and AMPA levels 1) and their frequency of detection in soils 2) at harvest time, according to the number of applications. The letters A, B, C represent the different significant groups.

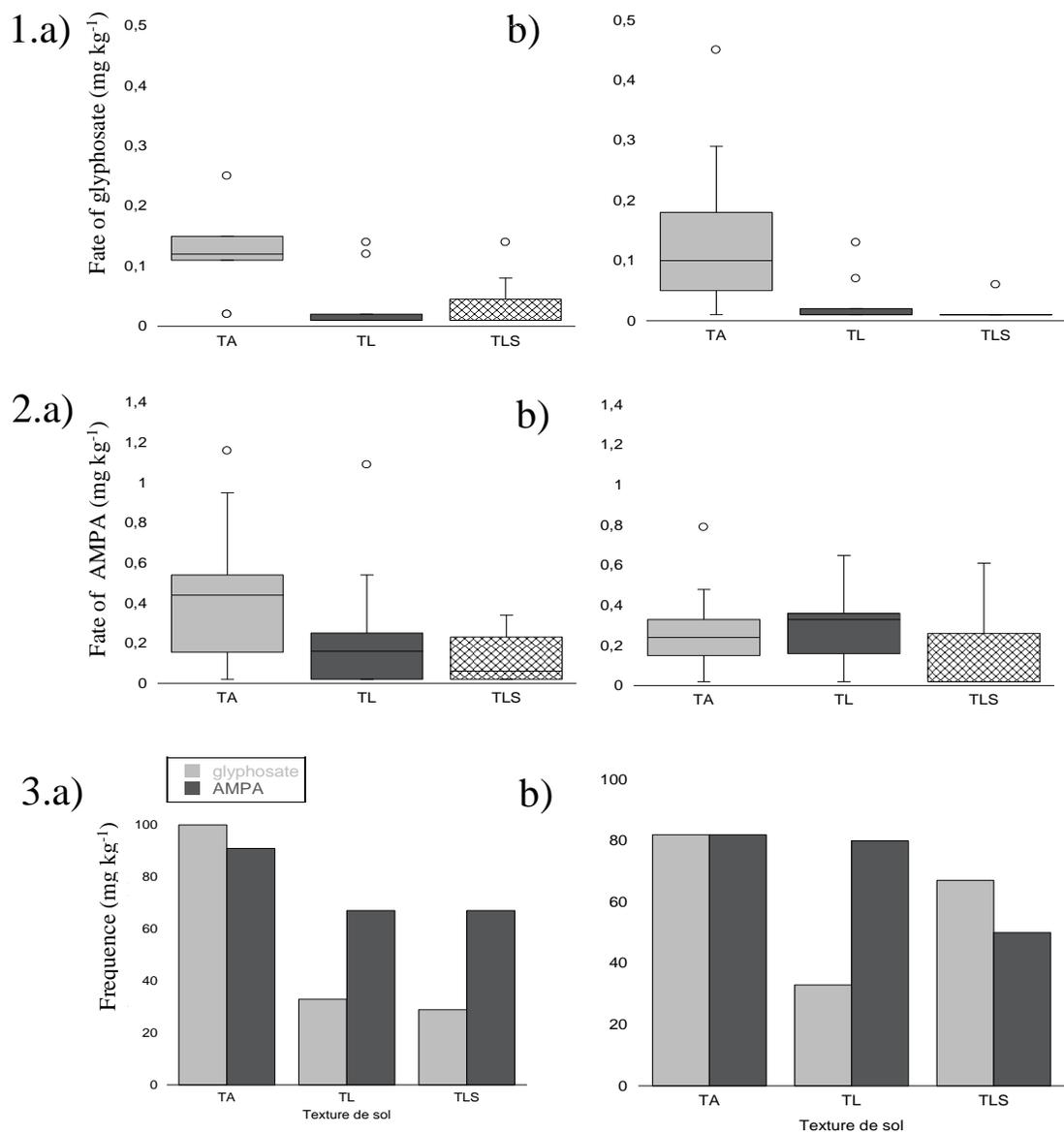


Figure 3. Distribution of glyphosate 1) and AMPA 2) content according to the texture of the clay soil (TA), loamy (TL) or silty-sandy (TLS) in spring 2014 before sowing (a) and in October 2014, at the time of the harvest (b). The detection frequencies of the two compounds were represented by bar histograms in 3) before sowing (a) and at harvest time (b).

