

PROGRAMME DE RECHERCHE ET D'ADAPTATION TECHNOLOGIQUES SUR
LE TRAITEMENT DES FUMIERS

RAPPORT FINAL

LES PRODUITS CHITINEUX DANS LE TRAITEMENT DES LISIERS ET DES
FUMIERS : VERS UNE TECHNOLOGIE POUR DES FERTILISANTS
ORGANIQUES À VALEUR AJOUTÉE

PROJET NO 603055

CHERCHEUSE PRINCIPALE
CAROLE BEAULIEU, PHD
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE
UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE
21 DÉCEMBRE 2005
MODIFICATIONS APPORTÉES LE 15 MARS 2006

RESPONSABLE SCIENTIFIQUE : Carole Beaulieu

RESPONSABLE DE L'ORGANISME : Edwin Bourget

PARTENAIRE DU PROJET : Rock Chabot

AUTRE CHERCHEUSE IMPLIQUÉE : Anne-Marie Simao Beaunoir

INTRODUCTION

Mise en contexte :

Depuis 20 ans, nos élevages porcins ont connu un développement considérable en passant d'une structure extensive et mixte vers une structure intensive et spécialisée. La spécialisation de la production porcine et sa concentration sur des territoires limités entraînent des excédents de lisiers et de fumiers par rapport à la capacité du milieu (sols et plantes) à les recycler. Il semble donc approprié d'intégrer une exportation des boues issues du traitement des lisiers vers des zones hors surplus où il y a demande pour les biosolides générés (les biofertilisants). Actuellement, les engrais organiques ne représentent qu'une petite fraction du marché des fertilisants. Toutefois, leur utilisation connaît une forte croissance. Les avantages d'obtenir des biosolides séchés agissant à titre d'engrais organiques sont très nombreux mais le coût de ces produits demeure élevé d'où l'importance de produire des fertilisants ayant une valeur ajoutée (par exemple : des propriétés biopesticides). Le chitosane, un composé naturel extrait des carapaces de crustacés, est reconnu pour ses capacités à inhiber plusieurs agents phytopathogènes et à induire les mécanismes de défense des plantes. Ce produit a aussi la capacité de flocculer les matières en suspension et pourrait ainsi être utile non seulement dans le traitement des lisiers mais sa présence pourrait conférer des capacités antiparasitaires aux biosolides issus du traitement des lisiers.

Les buts :

Les buts du présent projet sont de 1) remplacer le polyacrylamide utilisé comme produit flocculant dans les systèmes de traitement de lisiers et fumier par un produit naturel, le chitosane; 2) valoriser les biosolides issus du traitement des lisiers et des fumiers par la production de granulés ayant des propriétés fertilisantes et anti-parasitaires et 3) vérifier la compatibilité des fertilisants organiques issus du traitement des lisiers et fumiers et d'agents microbiens utiles tels les agents de lutte biologique et les agents symbiotiques.

Les hypothèses :

Ces buts avaient comme prémices les hypothèses suivantes : 1) Le chitosane peut agir comme agent flocculant dans le traitement des lisiers et des fumiers, 2) Le chitosane peut agir comme agent flocculant dans le traitement des lisiers et des fumiers et la microflore des biosolides issus du traitement en sera modifiée, 3) L'addition de chitosane lors de l'étape de traitement des lisiers ou lors de l'étape de la granulation permettra d'obtenir des fertilisants organiques ayant des propriétés anti-parasitaires, 4) Les biofertilisants issus du traitement des lisiers et fumiers peuvent servir de support pour l'introduction de microorganismes utiles dans les sols agricoles (agents symbiotiques, agents de lutte biologique).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le chitosane comme agent flocculant dans le procédé de traitement des lisiers et des fumiers

Le procédé de traitement des lisiers et fumiers développé par Envirogain menant à la production de biofertilisants organiques comporte quatre phases principales : 1) la séparation des phases, 2) le traitement biologique en bioréacteur, 3) la déshydratation des biosolides et 4) la granulation de la biomasse obtenue. En parallèle, le liquide obtenu est purifié de telle sorte qu'il peut être rejeté au cours d'eau. C'est entre les étapes 2 et 3 que les matières solides en suspension sont précipitées à l'aide d'un agent flocculant. Présentement, le polyacrylamide est l'agent flocculant utilisé par l'entreprise à raison de 20 à 50 mg/m³ de lisier. Des essais ont été faits pour évaluer la concentration en chitosane la plus efficace dans la flocculation de boues biologiques.

La caractérisation de la flore microbienne associée aux biosolides

Le dénombrement des bactéries, champignons et actinomycètes se fait sur Nutrient Agar, Potato Dextrose Agar et Actinomycètes Isolation Agar, respectivement. La diversité fonctionnelle des sols et des biosolides a été analysée à l'aide des EcoPlates du système Biolog selon le protocole décrit par Prévost et al. (sous presse).

Puisque les biosolides semblent avoir des communautés microbiennes variant quantitativement (dénombrement) et qualitativement (Biolog), nous avons effectué une expérience supplémentaire, non prévue à l'origine, pour déterminer si un amendement avec des biosolides pouvait modifier la structure de la population d'un sol. Pour ce faire, deux grammes de chacun des biosolides ont été mélangés à des pots contenant un mélange de terreau-vermiculite-sable et des échantillons de sol ont été prélevés après 0 jour, 1 jour, 1 semaine et 2 semaines. Pour chacun de ces échantillons, le dénombrement des principaux groupes microbiens a été fait ainsi que l'analyse de la diversité fonctionnelle.

Finalement, nous avons effectué une autre expérience initialement non prévue. L'identité taxonomique des bactéries colonisant les biosolides les plus intéressants d'un point de vue antiparasitaire a été déterminée par une approche moléculaire. Les cellules des biosolides ont été extraites selon Prévost et al. (sous presse). L'ADN des communautés microbiennes a été isolé et une amplification de l'ADNr 16S a été effectuée en utilisant des amorces universelles (Desjardins et Beaulieu 2003). Les amplicons ont été clonés dans le vecteur pCR 2.1. Les inserts des plasmides ont alors été séquencés. Les séquences des ADNr 16S ont été comparées à celles continues dans la banque de données GenBank afin d'identifier les microorganismes présents dans les biosolides.

L'efficacité des fertilisants organiques en tant que produits anti-parasitaires (essais en chambre de croissance).

Comme les biosolides issus de la floculation au chitosane et au polyacrylamide ont des microflores différentes et comme celles-ci peuvent modifier la microflore d'un sol, il devenait pertinent d'analyser l'effet de ces produits sur des agents phytopathogènes. Des essais ont eu lieu pour tester les capacités anti-parasitaires des différents biosolides contre la gale commune (*Streptomyces scabies*) et contre le mildiou (*Phytophthora infestans*) de la pomme de terre. Ces essais se sont faits en chambre de croissance et les biosolides ont été ajoutés à raison de 2 g par pot. Chaque pot contenait un mélange de terreau-vermiculite-sable inoculé avec l'agent pathogène ainsi qu'un tubercule de semence. Les tubercules ont été examinés visuellement et l'incidence des maladies et la sévérité des symptômes ont été déterminées selon Goyer et Beaulieu (1997) et Beaulieu et al. (1993).

Essais en champs.

Comme les essais en chambre de croissance n'ont pas donné de résultats concluants (données non présentés). Les essais en champs ont été faits sur deux saisons au lieu d'une seule (2004 et 2005). Les essais ont été faits avec différents biosolides : biosolides floculés au polyacrylamide (biosolide P), biosolides floculés au chitosane (biosolide C), biosolides floculés au polyacrylamide et supplémentés de chitosane (P+C), biosolides floculés au chitosane et supplémentés de chitosane (C+C), biosolides floculés au polyacrylamide et inoculés avec l'agent de lutte biologique *Streptomyces* sp. EF-14 (P-EF14) et biosolides floculés au polyacrylamide et inoculés avec l'agent symbiotique *Rhizobium* sp. H31 (P-H31).

Le dispositif expérimental consistait en un bloc aléatoire avec 4 répétitions. Une parcelle est constituée de 4 rangs de 25' 10'' par 14' 4''. Le tout consistait en 2 rangs de garde extérieurs et de 2 rangs centraux dans lesquels les traitements ont été appliqués. Chacun des 4 rangs contenait 26 tubercules. La distance séparant chacun des rangs était de 3'4''. Les biosolides ont été appliqués de deux façons : en tant que fertilisant ou en tant que produits antiparasitaires. Dans le premier cas, les biosolides ont été appliqués uniformément dans les rangs à raison de 4.15 kg/parcelle. La quantité de biosolides appliquée a été calculée afin que les parcelles contiennent une concentration en azote équivalente à celle des parcelles ayant reçu le fertilisant chimique. Dans le second cas, une fertilisation traditionnelle a été effectuée (13-18-19 à raison de 750g/10 m à la plantation et 27,5-0-0 à raison de 225g/10 m au renchaussage) mais les tubercules de semence ont été recouverts de 2 g de biosolides au moment de la plantation. À la récolte, les tubercules ont été examinés pour la présence de gale commune conformément à Beauséjour et al. (2003).

RÉSULTATS

Le chitosane comme agent flocculant dans le procédé de traitement des lisiers et des fumiers.

Nous sommes partis de la dose de chitosane suggérée par le fabricant, soit de 30 g de chitosane par m³ de liqueur mixte. En considérant la liqueur mixte à 2,2% de matière sèche, cette quantité correspond à 1,36 kg de chitosane/tonne de matière sèche. À partir de ce rapport, nous avons pu déterminer que la concentration suggérée par le fabricant de la solution à 0,5% en chitosane à ajouter aux boues était de 1% donc 10 mL de solution pour 1000 ml de boues. Nous avons donc fait des essais en variant le pourcentage de la solution ajoutée aux boues pour évaluer l'effet sur la floculation. Nous avons essayé 0,5%, 1,0 %, 1,5% et 2,0 % de solution 0,5 % en chitosane. Le pourcentage qui s'est révélé le meilleur est l'ajout de 1,5 % de la solution de chitosane. Cette proportion correspond à un ajout de 2,04 kg de chitosane /tonne de matière sèche.

Dans le cas du polyacrylamide, la proportion que nous utilisons est de 5 kg de polyacrylamide/tonne de matière sèche. La solution est de 0,2% en polyacrylamide et correspond à un ajout de 10% de la solution par rapport au volume de boues.

Le floc obtenu avec le polyacrylamide est plus gros et solide que celui obtenu avec le chitosane. De plus, le floc colle moins aux parois du filtre que celui obtenu avec chitosane et il facilite la récupération des boues filtrées. Entre les deux composés, la vitesse de floculation est sensiblement la même. Une fois filtrés les deux produits sont comparables (couleur, odeur, texture) et après le séchage nous ne constatons aucune différence. Le tableau 1 présente les caractéristiques des produits.

Tableau 1 : Caractéristiques des biosolides obtenus suite à une floculation avec le chitosane ou le polyacrylamide.

Paramètres	unité	Échantillons	
		Polyacrylamide	chitosane
matière sèche	%	93	>93
carbone	g/kg	417	423
Matière organique	g/kg	720	730
NTK	g/kg	30.2	30.1
P	g/kg	37.7	33.9
K	g/kg	8.9	9
carbone	g/kg	48.7	44.6
Mg	g/kg	10.9	9.69
Mn	g/kg	0.52	0.47
Cu	g/kg	0.65	0.6
Zn	g/kg	4.7	4.26
Al	g/kg	0.5	0.7
Fe	g/kg	3.1	4.9
Mo	g/kg	<0.02	<0.02

La caractérisation de la flore microbienne associée aux biosolides

Le Tableau 2 présente le résultat des dénombrements microbiens. Les biosolides obtenus en présence de la plus faible quantité de chitosane contenaient moins d'actinomycètes que ceux ayant été traités avec des quantités supérieures de chitosane. En ce qui concerne les bactéries totales, leurs populations variaient peu en fonction de la concentration de chitosane utilisée. C'était à la concentration intermédiaire de chitosane que le nombre de champignons était le plus faible.

Tableau 2 : Dénombrement des principaux groupes microbiens dans les biosolides floculés au chitosane ou au polyacrylamide

BIOSOLIDES	GROUPES	MOYENNE	ECARTYPE
CHITOSANE (g/tonne de matière sèche) 1,09	Actinomycètes	609 600	254 600
	Bactéries totales	8 289 400	7 790 400
	Champignons	15000	4700
CHITOSANE 1,36	Actinomycètes	3 122 249	2 013 200
	Bactéries totales	21 781 200	19 537 900
	Champignons	3 800	1 200
CHITOSANE 1,63	Actinomycètes	4 114 200	2 952 700
	Bactéries totales	6 049 900	4 193 900
	Champignons	68 800	36 000
POLYACRYLAMIDE (g/tonne de matière sèche) 1,60	Actinomycètes	407 900	161 600
	Bactéries totales	15 217 500	17 869 800
	Champignons	293 700	551 700
POLYACRYLAMIDE 2,00	Actinomycètes	200 304 200	156 911 000
	Bactéries totales	756 169 500	647 811 693
	Champignons	3 851 143	842 200
POLYACRYLAMIDE 2,40	Actinomycètes	466 914 000	386 349 300
	Bactéries totales	2 533 353 800	4 486 912 400
	Champignons	40 700	27 300

Pour ce qui est du polyacrylamide, le nombre d'actinomycètes, de bactéries et de champignons avait tendance à augmenter en fonction de la concentration de polyacrylamide utilisée. Une seule exception a été notée, le nombre de champignons était inférieur avec la plus haute concentration de polyacrylamide.

La quantité de bactéries dénombrées dans les biosolides traitées avec la plus faible quantité de chitosane ou de polyacrylamide est comparable. À plus fortes concentrations, les biosolides issus d'un traitement au polyacrylamide contenaient au moins 10 fois plus d'actinomycètes et de bactéries que ceux issus d'un traitement au chitosane. De façon générale, les biosolides issus d'un traitement au chitosane contenaient beaucoup moins de champignons.

La diversité fonctionnelle des différents produits a été analysée à l'aide de plaques ECO de la compagnie Biolog. Les plaques ECO sont constituées de 96 puits (Figure 1). Chacun des puits contient une source de carbone. Pour comparer l'activité métabolique de deux communautés microbiennes, les microorganismes ont été extraits des biosolides et des quantités fixes de cellules ont été appliquées dans chaque puits. Lorsqu'une communauté contient des microorganismes capables d'utiliser les sources nutritives des puits, une réaction colorimétrique se produit; le puits à l'origine incolore vire au rose. La densité optique de chaque puits a été déterminée. Plus celle-ci est élevée, plus la communauté est active.

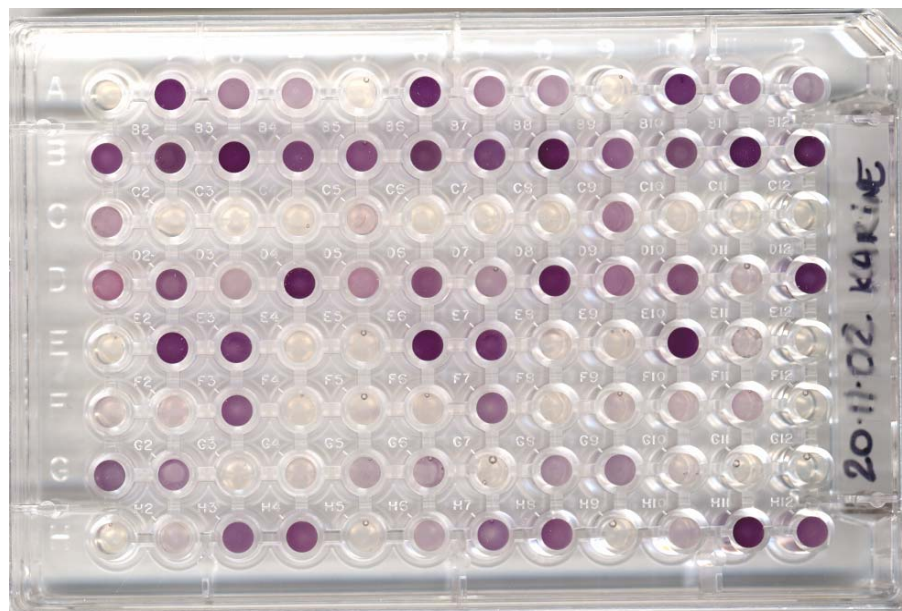


Figure 1. Exemple d'une plaque ECO de Biolog qui a été inoculée avec des bactéries extraites de matière organique.

La différence dans la diversité fonctionnelle entre les différents biosolides a été analysée par un test statistique appelé Analyse en principales composantes (APC). La figure 2 illustre les résultats obtenus. Chacun des points sur le graphique situe la capacité fonctionnelle d'une population face à l'autre. Plus les points sont éloignés l'un de l'autre, plus les populations respectives divergent. Les traits horizontaux et verticaux autour des points représentent l'écart-type. Les résultats présentés à la Figure 2 démontrent que l'utilisation de concentrations différentes de polyacrylamide et de chitosane a un effet marqué sur la diversité fonctionnelle des biosolides. Cet effet semble cependant plus marqué lorsque l'on fait varier la concentration de polyacrylamide que lorsque l'on fait varier la concentration de chitosane.

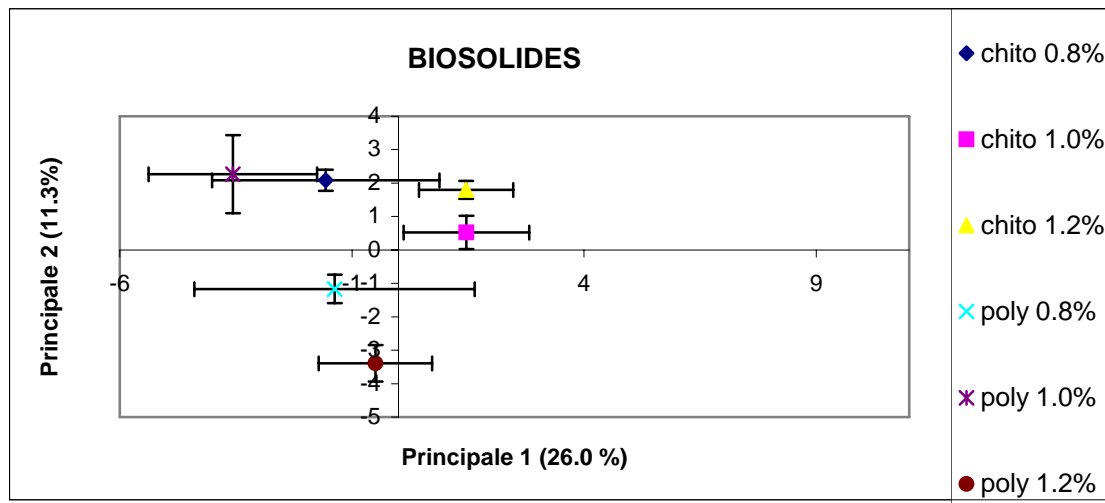


Figure 2. Analyse en principales composantes du profil métabolique des communautés microbiennes extraites des biosolides traités avec du chitosane ou du polyacrylamide. Chito : Chitosane; Poly : Polyacrylamide.

L'utilisation de plaques ECO de Biolog, nous a permis de suivre l'évolution des communautés microbiennes d'un sol suite à l'amendement avec des biosolides flocculés au polyacrylamide ou au chitosane. La figure 3 montre qu'au temps 0 (immédiatement après l'application de biosolides), la communauté du sol non amendé ne se distinguait pas de celle des sols amendés. Ceci est normal puisqu'au départ, l'inoculum amené par les biosolides est minime comparativement à la biomasse microbienne contenue dans les sols. La même situation est observée une journée après l'application des biosolides (figure 4). Par contre, une semaine après l'amendement, on constate que les amendements ont influencé les communautés terricoles puisque les points se distancent les uns des autres (figure 5). Deux semaines après l'amendement, les communautés du sol se stabilisent (Figure 6).

Cette expérience est déterminante car elle démontre que les biosolides peuvent modifier les microflores d'un sol donc qu'elles peuvent avoir des effets sur la population de certains agents pathogènes. Le fait qu'après un certain laps de temps, les communautés microbiennes des sols témoins et traités redeviennent semblables montre la capacité du sol à se stabiliser. La crainte que les biosolides pourraient modifier de façon substantielle et permanente la microflore des sols semble peu vraisemblable.

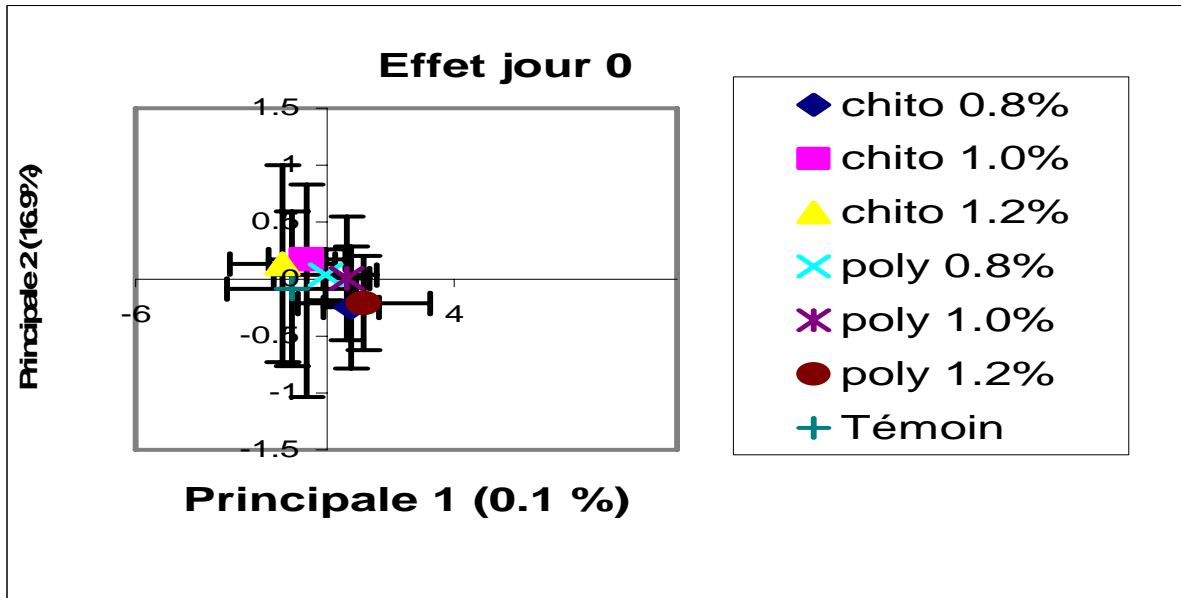


Figure 3. Analyse en principales composantes du profil métabolique des communautés microbiennes de sol amendé et non amendé avec des biosolides. Aucune différence n'est observée entre les traitements. Chito : chitosane; Poly : Polyacrylamide.

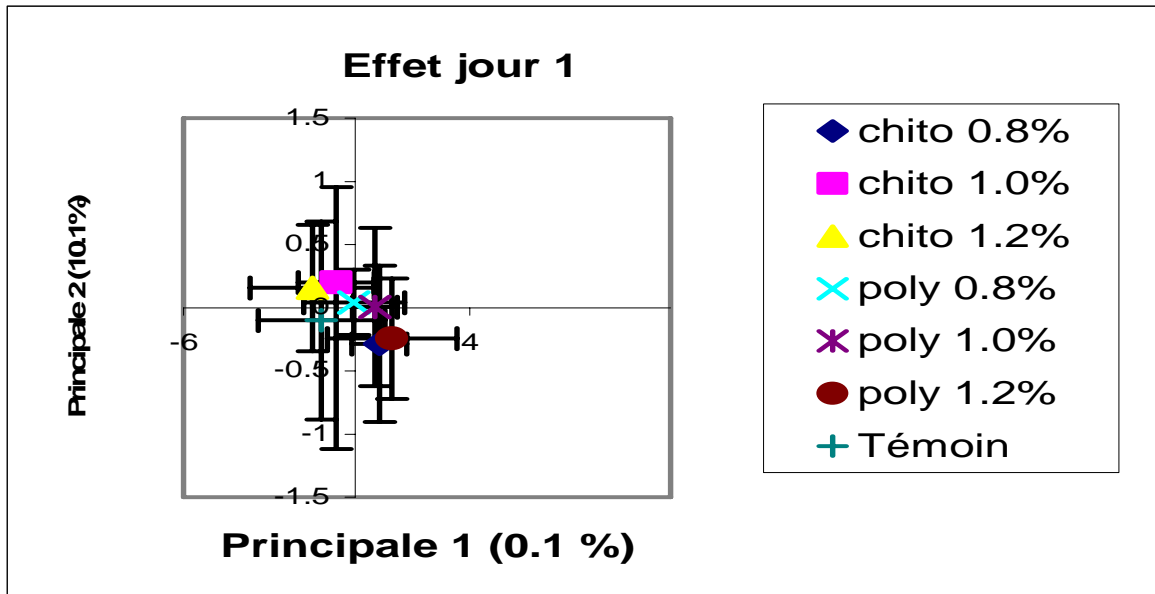


Figure 4. Analyse en principales composantes du profil métabolique des communautés microbiennes de sol une journée après l’amendement avec des biosolides. Aucune différence n’est observée entre les traitements. Chito : Chitosane; Poly ; Polyacrylamide.

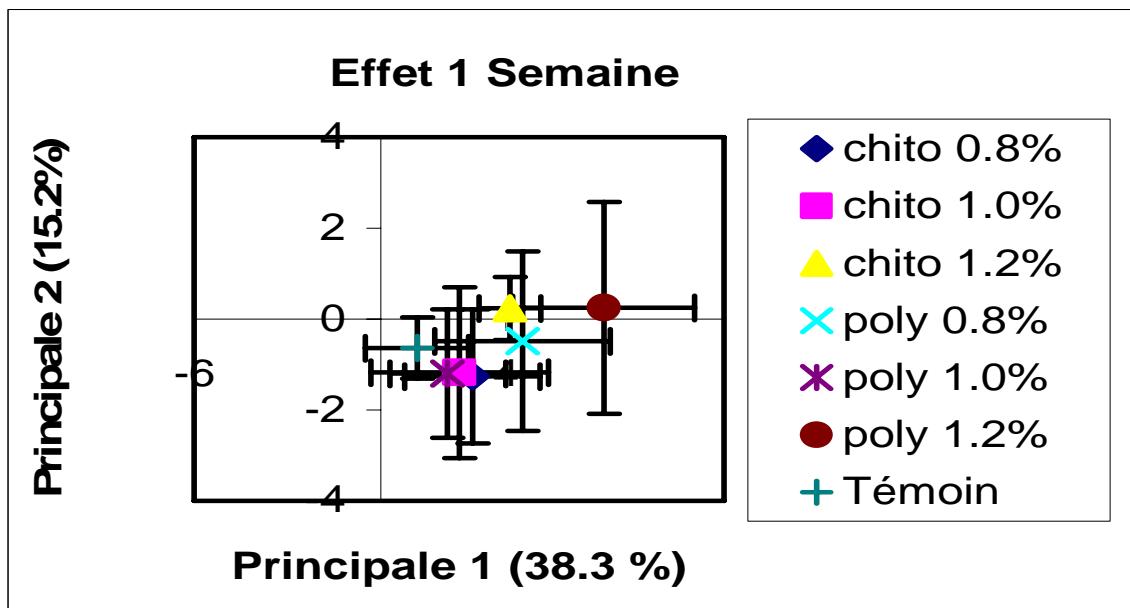


Figure 5. Analyse en principales composantes du profil métabolique des communautés microbiennes de sol une semaine après l’amendement avec des biosolides. Plusieurs des sols amendés se distinguent du témoin. Chito : Chitosane; Poly ; Polyacrylamide.

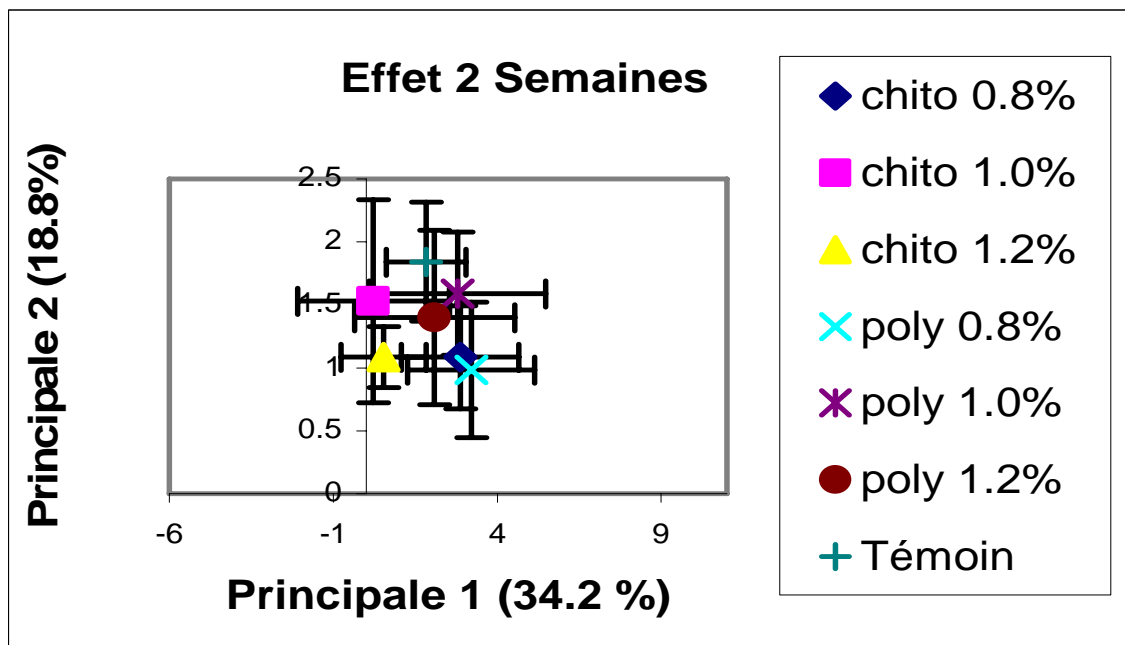


Figure 6. Analyse en principales composantes du profil métabolique des communautés microbiennes de sol deux semaines après l'amendement avec des biosolides. Les communautés se stabilisent. Chito : Chitosane; Poly ; Polyacrylamide.

Comme les résultats des essais phytoprotecteurs montraient que les biosolides P (floculation au polyacrylamide) et les biosolides P+C (floculation au polyacrylamide et ajout de chitosane à la fin du traitement) étaient les plus intéressants, nous avons décidé de nous attarder davantage sur le profil microbiologique de ces produits. Le tableau 3 présente les résultats des dénombrements des grands groupes microbiens. L'ajout de polyacrylamide à la fin du traitement fait diminuer significativement le nombre de bactéries anaérobies ainsi que le nombre de champignons.

Tableau 3. Nombre de bactéries totales (aérobies, anaérobies), d'actinomycètes et de champignons retrouvés dans les biosolides P et P+C

Biosolides	CFU/ g de biosolides			
	Bactéries totales		Actinomycètes	Champignons
	Aérobies	Anaérobies		
P	$4.1 \times 10^5 a^1$	$2.0 \times 10^4 a^1$	$7.5 \times 10^2 a^1$	$1.0 \times 10^3 a^1$
P+C	$3.3 \times 10^5 a$	$1.1 \times 10^4 b$	$7.0 \times 10^2 a$	$7.5 \times 10^2 b$

¹Les résultats de la colonne portant une même lettre ne sont pas significativement différents.

L'analyse moléculaire a également permis de montrer que même si la composition de la microflore des biosolides P et des biosolides P+C se ressemblait à certains égards, la proportion de certains genres était grandement modifiée (Figure 7). Le Tableau 4 présente les mêmes résultats sous une autre forme.

Il faut noter particulièrement l'augmentation des bactéries des genres *Bacillus* et *Conomonas* suite à l'addition de chitosane. Il y a aussi plus de bactéries inconnues dans les biosolides P que dans les biosolides P+C.

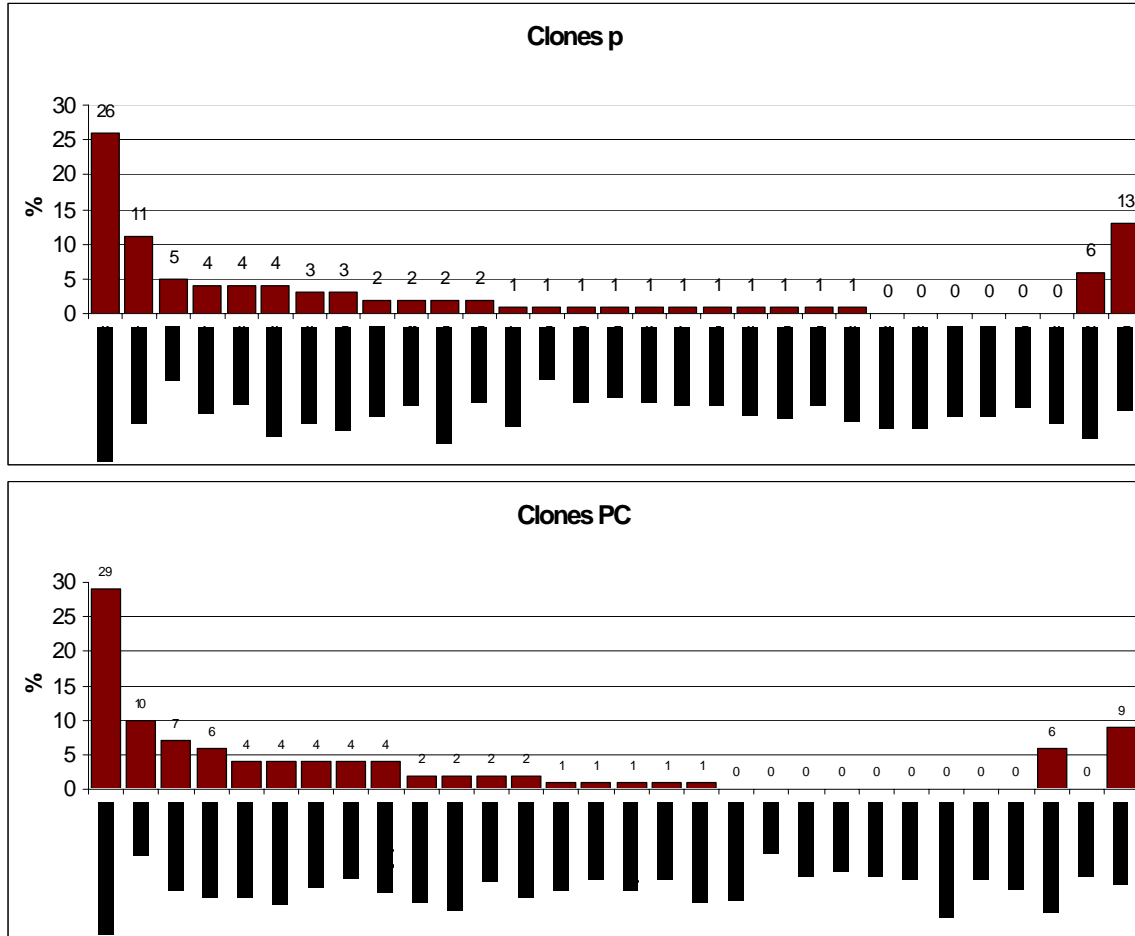


Figure 7. Distribution des différents genres bactériens identifiés dans les biosolides P (haut du graphique) et les biosolides P+C (bas du graphique).

Tableau 4. Distribution des clones selon la séquence de l'ADNr 16S

Ordre	Genre	Proportion des clones (%)	
		Biosolides P	Biosolides P+C
<i>Xanthomonadales</i>	<i>Stenotrophomonas</i>	26	29
	<i>Xanthomonas</i>	3	4
	<i>Thermomonas</i>	0	1
<i>Pseudomonadales</i>	<i>Acinetobacter</i>	11	6
	<i>Pseudomonas</i>	0	2
	<i>Psychrobacter</i>	1	0
<i>Enterobacteriales</i>	<i>Shigella</i>	1	0
	<i>Photobacterium</i>	0	1
	<i>Salmonella</i>	1	0
<i>Burkholderiales</i>	<i>Comamonas</i>	2	7
	<i>Bordetella</i>	1	0
	<i>Acidovorax</i>	2	1
	<i>Alcaligenes</i>	1	0
<i>Actinomycetales</i>	<i>Brevibacterium</i>	3	4
	<i>Arthrobacter</i>	4	4
	<i>Terrabacter</i>	1	0
	<i>Corynebacterium</i>	2	0
	<i>Nocardioides</i>	1	0
<i>Bacillales</i>	<i>Ureibacillus</i>	4	4
	<i>Bacillus</i>	5	10
	<i>Caryophanon</i>	1	4
	<i>Sporosarcina</i>	0	1
	<i>Staphylococcus</i>	4	2
<i>Clostridiales</i>	<i>Clostridium</i>	1	1
<i>Lactobacillales</i>	<i>Globicatella</i>	0	2
	<i>Tricochococcus</i>	1	0
	<i>Enterococcus</i>	0	2
Non identifié		22	15

Effet antiparasitaire des biosolides

Le tableau 5 présente les résultats des essais en champs. Dans cette étude, le traitement des semences a été fait une fois les pommes de terre déposées dans les sillons mais il serait également possible, d'ajouter ces produits sous forme de poudre, au talc qui sert à recouvrir les plantons avant la mise au champ. Ceci éviterait aux producteurs de modifier de façon importante leur régie. En 2004, nous constatons que les biosolides flocculés au chitosane ou au polyacrylamide et appliqués en traitement de semence augmentaient de façon significative le taux de gale commune. Toutefois, le biosolide P supplémenté de chitosane à la fin du processus de transformation des lisiers et des fumiers de porcs

réduisait de façon significative l'incidence de la maladie. Les biosolides P et les biosolides C inoculés avec l'agent de lutte biologique EF-14 n'offrent pas de protection contre la gale mais l'inoculation a au moins pour effet de maintenir l'incidence de la gale à un niveau comparable aux témoins non traités.

Tableau 5 : Proportion de tubercules sains (%)^a

Année	Témoin	Biosolides/fertilisant ^b			Biosolides/traitement de semences ^c						
		P	C	P+C	P	C	P+C	C+C	P-EF14 ^d	C-EF14 ^d	P-H31 ^d
2004	43	69*	52*	ND	24 §	24 §	52*	21 §	38	44	ND
2005	81	66	ND	60	37 §	ND	76	ND	ND	ND	60

a) Un tubercule est considéré sain quand moins de 10% de sa surface est couverte de lésions de gale commune.

b) Les biosolides ont servi de fertilisant à raison de X.

c) Les biosolides ont été appliqués sur les tubercules à la plantation à raison de 2 g/tubercule. Les champs ont été fertilisés avec un engrais minéral. La concentration d'azote a été ajustée pour correspondre à la teneur en azote du fertilisant organique.

d) Les biosolides ont été inoculés avec *Streptomyces* sp. EF14 ou *Rhizobium* sp. H31.

* Ces données sont significativement supérieures au témoin (χ^2 , $p > 0,05$).

§ Ces données sont significativement inférieures au témoin (χ^2 , $p > 0,05$).

ND : Non déterminé.

Alors que les biosolides P et les biosolides C augmentent la gale commune lorsqu'ils sont employés à faible dose (traitement de semence), l'effet des biosolides est tout autre lorsqu'ils sont utilisés en tant que fertilisants. En 2004, ces biosolides ont tous deux réduit significativement le taux de gale commune. En 2005, aucun effet protecteur n'a été observé mais le taux de gale était très faible (80% des tubercules étaient sains chez les témoins). Les fertilisants P et P+C ne se distinguent donc pas des témoins, tout comme le biosolide P+C utilisé en tant que traitement de semence. Malgré cela, l'emploi d'un biosolide P non amendé de chitosane et utilisé comme traitement de semence fait tout de même doubler le taux de gale commune ! Encore une fois, l'ajout au biosolide d'un agent mycorhizoteur H31 ne confère pas d'effet protecteur au traitement de semence mais le produit inoculé a un effet comparable au témoin.

DISCUSSION

Même s'il est possible d'utiliser le chitosane comme produit flocculant dans le processus de traitement des lisiers et des fumiers de porc, il cause certains problèmes techniques notamment le colmatage des filtres. De plus, les produits flocculés au polyacrylamide semblent plus intéressants en regard des propriétés antiparasitaires. Par contre, l'addition de chitosane à la fin du processus de traitement s'avère efficace pour conférer aux biosolides des propriétés antiparasitaires.

L'addition de chitosane en fin de processus à un biosolide P semble donc une avenue fort intéressante à explorer. En effet, alors que qu'un traitement de semence avec le biosolide

P augmente de façon substantielle le taux de gale (même en 2005 où l'inoculum apparaissait faible), l'ajout de chitosane confère au produit une action antiparasitaire contre la gale commune (en 2004, année où l'incidence de la maladie était élevée). Cet effet pourrait s'expliquer par une modification de la microflore, on remarque en particulier une augmentation considérable de la proportion de *Bacillus* dans ces produits. Ceci est très intéressant car ce genre microbien est reconnu comme étant un antagoniste efficace contre *S. scabies*, l'agent causal de la gale commune (Hans et al. 2005). L'amendement de biosolides P avec *Streptomyces* sp. EF-14 ou *Rhizobium* sp. H31 a eu un certain effet mais pas aussi notable que celui observé avec le chitosane. En effet, l'inoculation a eu pour effet de ramener le taux de gale à celui du témoin. Ceci suggère tout de même que l'inoculation des biosolides en fin de traitement est une solution envisageable pour conférer une action antiparasitaire au produit. Il faudrait toutefois trouver des espèces mieux adaptées aux biosolides que celles que nous avons utilisés. Aucun *Streptomyces* ni aucun *Rhizobium* n'a été détecté dans les biosolides par notre approche moléculaire. L'inoculation des biosolides avec des *Bacillus* antagonistes est une avenue qui devrait être explorée.

Le résultat le plus intéressant du projet est certes le fait que le biosolide P a eu en effet protecteur en 2004 lorsqu'il a été appliqué en tant que fertilisant. Il y a certaines craintes d'utiliser des lisiers et des fumiers dans les productions de pommes de terres puisque des résultats contradictoires ont été présentés dans la littérature et certaines études suggèrent que ces produits peuvent augmenter considérablement la gale commune (Conn et al. 1999). Le processus de traitement des lisiers et des fumiers de porc développé par Envirogain permet l'utilisation des produits transformés comme fertilisant dans la culture de pomme de terre. Le traitement semble modifier la microflore des lisiers et des fumiers. En effet, la composition de la microflore des biosolides d'Envirogain obtenue dans cette étude se distingue passablement de celle des fumiers non traités (Snell-Castro et al. 2005).

Une question scientifique est toutefois soulevée par ce projet. Comment expliquer qu'un même produit (biosolide P) ait un effet phytoprotecteur lorsqu'il est appliqué à l'échelle du champ (fertilisant) et qu'il ait un effet stimulant sur la maladie lorsqu'il est appliqué au niveau des tubercules de semence. À ce stade-ci, nous ne pouvons faire que des spéculations. Il se pourrait toutefois que *S. scabies* ait plus de mal à compétitionner avec les autres composantes de la microflore lorsque l'azote disponible est sous forme organique (d'où l'efficacité du biosolide P utilisé comme fertilisant). Par contre, il serait un très bon compétiteur pour l'assimilation de l'azote inorganique alors que la microflore retrouvée dans les biosolides pourrait compétitionner efficacement avec les organismes indigènes antagonistes à *S. scabies*. L'addition de chitosane modifierait la microflore de façon à favoriser les organismes antagonistes retrouvés dans les biosolides ou dans le sol. Le fait que le chitosane favoriserait le développement d'une microflore antagoniste à *S. scabies* a d'ailleurs été suggéré par Beauséjour et al. (2003).

RÉFÉRENCES CITÉS

Beaulieu, C., Boccara, M., et VanGijsegem, F. 1993. Pathogenic behavior of pectinase defective *Erwinia chrysanthemi* mutants on different plants : possible involment of pectic enzymes in host specificity. Mol. Plant Microbe Inter. 6 : 197-202.

Beauséjour, J., Clermont, N. et Beaulieu, C. 2003. Effect of *Streptomyces melanosporofaciens* strain EF-76 and of chitosan on common scab of potato. Plant & Soil 256 :463-468.

Conn, K. L., et Lazarovits, G. 1999. Impact of anure on verticillum wilt, potato scab and soil microbial populations. Can. J. Plant Pathol. 21 : 81-92.

Desjardins, É. et Beaulieu, C. 2003. Identification of bacteria contaminating pulp and machines in a Canadian paper mill. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 30 :141-145.

Goyer, C. et Beaulieu, C. 1997. Host range of *Streptomyces* causing common scab. Plant Dis. 81 : 901-904.

Snell-Castro, R., Gordon, J. J., Delgenes, J. P., et Dabert, P. 2005. Characterization of the microbial diversity in pig manure storage pit using small subunit rDNA sequence analysis. FEMS Microbiol. Ecol. 52: 229-242.

Hans, J. S., Cheng, J. H., Song, J., Rajkanikar, A., Kim, W. G., Yoo, I. D., Yang, Y. Y., et Suh, J. W. 2005. Biological control agent of common scab disease by antagonistic *Bacillus* sp. Sunhua. J. Appl. Microbiol. 99 : 213-221.

Prévost, K., Couture, G., Shipley, J. W., Brzezinski, R., et Beaulieu, C. 2006. Effect of chitosan and a biocontrol streptomycete on field and potato tuber bacterial communities. BioControl (sous presse).

TRANSFERT DES RÉSULTATS

Un des éléments concrets de ces travaux est que l'étude démontre que les biosolides issus de la transformation des lisiers et des fumiers peuvent être utilisés sans crainte dans la culture de la pomme de terre. Ceci devient un élément important pour la distribution des fertilisants organiques. De plus, il devient pensable d'améliorer l'intérêt pour ces biosolides en les amendant soit avec des produits chitineux soit avec des microorganismes utiles. Le premier aspect ne demande pas de technologies particulières donc peut être exploité directement par l'entreprise.

Le contact entre Envirogain et le laboratoire a toujours été très étroit. Des démarches sont en cours pour permettre la continuation de ce projet de recherche.

Des rencontres ont eu lieu entre des collaborateurs français (J. Bonnin) de l'entreprise Envirogain et notre groupe à l'Université de Sherbrooke (en France et au Québec) pour discuter des possibilités de transfert.

DIFFUSION DES RÉSULTATS

Roy, J., et Beaulieu, C. 2005. Microbiological characterization of biofertilizers and their effect on common scab of potato. International conference on environmental, applied and industrial microbiology. Badajoz, Espagne.

Roy, J. Valorisation des lisiers et des fumiers de porc : production de biofertilisants à valeur ajoutée. Thèse de maîtrise en rédaction (en rédaction).

Roy, J., Lapointe, M., Gendron, J. et Beaulieu C. Microbiological characterization of dry biosolids obtained from the transformation of pork manure (en préparation).

Roy, J., Simao-Beauvoir, A.-M., Lafontaine, P., Chabot, R., et Beaulieu, C. Effect of the solid components of pork manure on common scab of potato (en préparation).

ÉTUDIANTE GRADUÉE

Julie Roy, étudiante MSc (janvier 2004 à maintenant) : Expérimentation terminée, rédaction en cours. Dépôt final prévu en février 2006.

REMERCIEMENTS

Nous remercions A.-M. Simao-Beauvoir, J. Gendron et M. Lapointe pour leur apport technique et scientifique au projet. Nous remercions le MAPAQ et Envirogain pour leur appui financier.