

# DIGESTATS DE METHANISATION ET QUALITE BIOLOGIQUE DES SOLS AGRICOLES

---

Metha-BioSol (APR GRAINE) : Impact des  
digestats de méthanisation sur la qualité  
biologique des sols

---

**RAPPORT final**

Mai  
2024

EXPERTISES



# REMERCIEMENTS

Le projet Metha-BioSol « Impact des digestats de méthanisation sur la qualité biologique des sols » soutenu par l'ADEME dans le cadre de la 3<sup>ème</sup> édition 2019 de l'appel à projets de recherche GRAINE.

Les principaux partenaires du projet Metha-BioSol sont :

- Insitut Agro Dijon (anciennement AgroSup Dijon) / INSTITUT NATIONAL SUPERIEUR DES SCIENCES AGRONOMIQUES DE L'ALIMENTATION ET DE L'ENVIRONNEMENT
- INRAE / INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHE POUR L'AGRICULTURE L'ALIMENTATION ET L'ENVIRONNEMENT (INRAE de Dijon, UMR Agroécologie et INRAE de Rennes, UR OPAALE) ;
- ELISOL ENVIRONNEMENT
- ESA d'Angers / ASS GROUPE ECOLE SUPERIEURE AGRICULTURE
- UNIVERSITE DE RENNES I

L'ensemble des membres du comité de pilotage du projet Metha-BioSol sont remerciés (par ordre alphabétique) :

- Sadet-Bourgeteau Sophie (AgroSup Dijon / INRAE Dijon, UMR Agroécologie) ;
- Cannavacciuolo Mario (ESA d'Angers)
- Chauvin Camille et Cécile Villenave (ELISOL Environnement)
- Cluzeau Daniel (Université Rennes I)
- Dequiedt Samuel (INRAE Dijon, UMR Agroécologie)
- Eglin Thomas (ADEME)
- Hoeffner Kevin (Université Rennes I)
- Gilles Manon (INRAE Colmar)
- Johnson Margaret (EPLEFPA Obernai)
- Maron Pierre-Alain (INRAE Dijon, UMR Agroécologie)
- Mora-Salguero Daniela (INRAE Dijon, UMR Agroécologie)
- Morvan Thierry (INRAE Rennes)
- Muller Fabienne (ADEME)
- Piveteau Pascal (INRAE Rennes, UR OPAALE)
- Ranjard Lionel (INRAE Dijon, UMR Agroécologie)
- Vautrin Florian (INRAE Dijon, UMR Agroécologie)
- Villenave Cécile (ELISOL Environnement)

Nous remercierons également les équipes techniques des différents laboratoires partenaires pour le travail fourni.

## CITATION DE CE RAPPORT

Sadet-Bourgeteau S., Cannavacciuolo M., Chauvin C., Mora-Salguero D., Cluzeau D., Eglin T., Hoeffner K., Johnson M., Gilles M., Morvan T., Vautrin F., Villenave C., Piveteau P., Dequiedt S., Maron PA. et Ranjard L. 2024. Impact des digestats de méthanisation sur la qualité biologique des sols. Metha-BioSol (APR GRAINE). Rapport final, 75 pages.

Cet ouvrage est disponible en ligne [www.librairie.ademe.fr](http://www.librairie.ademe.fr)

Toute représentation ou reproduction intégrale ou partielle faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause est illicite selon le Code de la propriété intellectuelle (art. L 122-4) et constitue une contrefaçon réprimée par le Code pénal. Seules sont autorisées (art. 122-5) les copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé de copiste et non destinées à une utilisation collective, ainsi que les analyses et courtes citations justifiées par le caractère critique, pédagogique ou d'information de l'oeuvre à laquelle elles sont incorporées, sous réserve, toutefois, du respect des dispositions des articles L 122-10 à L 122-12 du même Code, relatives à la reproduction par reprographie.

**Ce document est diffusé par l'ADEME**

**ADEME**

20, avenue du Grésillé

BP 90 406 | 49004 Angers Cedex 01

Numéro de contrat : 2003C0076

Étude réalisée par Sadet Bourgeteau, Piveteau, Cannavacciuolo, Chauvin, Cluzeau, Hoeffner, Villenave, Maron et Ranjard pour ce projet cofinancé par l'ADEME

Projet de recherche coordonné par : Sophie Sadet Bourgeteau

Appel à projet de recherche : GRAINE 2021

Coordination technique - ADEME : EGLIN Thomas / MULLER Fabienne

Direction Bioéconomie et Energies Renouvelables / Service Planification Energétique, Prospective, Impacts et Territoires

# SOMMAIRE

<b>RÉSUMÉ .....</b>	<b>6</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>7</b>
<b>1. Contexte .....</b>	<b>8</b>
<b>2. Méthodologie .....</b>	<b>8</b>
<b>2.1. Définition d'un tableau de bord d'indicateurs de la qualité biologique des sols (Lot 2) .....</b>	<b>8</b>
<b>2.2. Evaluation de l'impact de différents types de digestats sur la qualité biologique des sols à court terme (Lot 3) .....</b>	<b>10</b>
<b>2.2.1. Expérimentation en mésocosmes .....</b>	<b>12</b>
2.2.1.1. Description du dispositif expérimental .....	12
2.2.1.2. Impact de différents types de digestats sur la physico-chimie des sols à court terme .....	15
2.2.1.1. Impact de différents types de digestats sur le litterbag (dégradation de la matière organique fraîche) à court terme .....	16
2.2.1.1.1. Effet du type de digestat .....	17
2.2.1.1.2. Effet de la fraction .....	18
2.2.1.1.3. Synthèse des résultats « litterbag » .....	18
2.2.1.2. Impact de différents types de digestats sur les lombriciens à court terme .....	19
2.2.1.2.1. Effet du type de digestat .....	19
2.2.1.2.2. Effet de la fraction .....	19
2.2.1.2.3. Synthèse des résultats Lombriciens .....	20
2.2.1.3. Impact à court termes de différents types de digestats sur les communautés de nématodes .....	21
2.2.1.3.1. Informations préliminaires à l'analyse des résultats de l'expérience .....	21
La caractérisation de la nématofaune du sol .....	21
Apport de nématodes avec les matières organiques .....	22
Caractérisation de la nématofaune des 3 sols avant l'apport des produits résiduels organiques (Digestats et fumier non digéré) et évaluation de l'évolution du témoin Eau au cours de l'expérience .....	24
2.2.1.3.1. Effet des digestats .....	26
2.2.1.3.2. Effet des fractions .....	28
2.2.1.3.3. Synthèse des résultats nématodes .....	31
<b>2.2.2. Expérimentation en microcosmes .....</b>	<b>32</b>
2.2.2.1. Description du dispositif expérimental .....	32
2.2.2.2. Impact de différents types de digestats sur la physico-chimie des sols à court termes .....	32
2.2.2.3. Impact de différents types de digestats sur la qualité microbiologique des sols à court terme .....	33
2.2.2.3.1. Effet du type de digestat .....	33
.....	33
2.2.2.3.2. Effet de la fraction .....	35
2.2.2.3.3. Synthèse des résultats sur la qualité microbiologique .....	37
2.2.2.4. Impact à court terme de l'apport de différents types de digestats sur la présence de bactéries pathogènes dans les sols .....	37
2.2.2.4.1. Analyse initiale des sols et des intrants .....	37
2.2.2.4.2. Recherche des indicateurs après 42 jours d'incubation des microcosmes .....	38
2.2.2.4.3. Effet de la concentration initiale du pathogène dans le digestat sur sa détection dans le sol au cours du temps 42	42
2.2.2.4.4. Synthèse des résultats obtenus sur les indicateurs sanitaires .....	44
<b>2.3. Evaluation de l'impact de différents types de digestats sur la qualité biologique des sols à moyen terme (Lot 3) .....</b>	<b>45</b>
<b>2.3.1. Impact des digestats sur la physico-chimie des sols agricoles à moyens termes .....</b>	<b>46</b>
<b>2.3.2. Impact des digestats sur les Litterbag à moyens termes .....</b>	<b>49</b>
2.3.2.1. Site expérimental EFELE .....	49

2.3.2.2.	Site experimental PROspective .....	49
2.3.2.3.	Site experimental DIGE'O .....	49
<b>2.3.3.</b>	<b>Impact des digestats sur les lombriciens à moyens termes .....</b>	<b>50</b>
2.3.3.1.	Site expérimental EFELE .....	50
2.3.3.2.	Site expérimental PROspective .....	50
2.3.3.3.	Site expérimental DIGE'O .....	51
<b>2.3.4.</b>	<b>Impact des digestats sur les communautés de nématodes à moyens termes .....</b>	<b>52</b>
2.3.4.1.	Site experimental EFELE .....	52
2.3.4.2.	Site experimental PROspective .....	54
2.3.4.3.	Site experimental Obernai .....	57
	<small>Post Hoc test: Tukey, p.adj: BH</small>	
	.....	57
<b>2.3.5.</b>	<b>Impact des digestats sur la qualité microbienne des sols à moyens termes .....</b>	<b>60</b>
2.3.5.1.	Site experimental EFELE .....	60
2.3.5.2.	Site experimental PROspective .....	60
2.3.5.3.	Site experimental DIGE'O .....	62
<b>2.3.6.</b>	<b>Impact des digestats sur les pathogènes des sols à moyens termes .....</b>	<b>63</b>
2.3.6.1.	Site experimental EFELE .....	63
2.3.6.2.	Site experimental PROspective .....	64
	<b>64</b>	
2.3.6.3.	Site experimental DIGE'O .....	65
	<sup>a</sup> détection du complexe Kp dans une des trois parcelles échantillonnées .....	65
	<sup>b</sup> absence de détection.....	65
<b>2.3.7.</b>	<b>Synthèse de l'impact des digestats sur la qualité biologique des sols agricoles à moyens termes .....</b>	<b>66</b>
<b>3.</b>	<b>Conclusions .....</b>	<b>67</b>
	<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>69</b>
	<b>Index des tableaux et figures .....</b>	<b>70</b>
	<b>SIGLES ET ACRONYMES .....</b>	<b>73</b>

## RÉSUMÉ

Dans un contexte d'amélioration de la gestion agroécologique des sols afin d'optimiser leur capacité de production pour une agriculture plus écoefficiente, le projet Metha-BioSol a cherché à évaluer l'impact des digestats de méthanisation sur la qualité biologique et écologique des sols en utilisant des bio-indicateurs opérationnels, c'est-à-dire des outils permettant d'appréhender la diversité des macro et micro-organismes, la dynamique du carbone (C) et l'état sanitaire (pathogènes) des sols. Ce projet répond à des interrogations de plus en plus nombreuses d'agriculteurs engagés dans une valorisation des déchets organiques par une démarche de méthanisation de leurs effluents d'élevage ou résidus de culture. Il a permis de générer des données quant à l'impact des digestats de méthanisation sur la qualité biologique et écologique des sols agricoles.

Le projet Metha-BioSol s'articule en deux étapes successives :

1. **au laboratoire**, en milieu contrôlé (incubation de méso-microcosmes de sol). Il s'agissait de tester différents types de digestats (composition différente) sur différents types de sols. L'objectif était d'évaluer l'impact des digestats de méthanisation sur la qualité biologique des sols, sur le court terme (un seul apport, pas de récurrence des apports). Les résultats obtenus ont permis de montrer que la réponse des bio-indicateurs à un digestat était dépendante du type de digestat apporté et du contexte pédoclimatique.
2. **sur le terrain**, via des prélèvements de sols effectués sur des sites expérimentaux de longue durée. Les sites retenus étaient ceux du SOERE-PRO (EFELE et PROspective) et du lycée Agricole d'Obernai (DIGE'O). Ces sites présentent des contextes pédoclimatiques différents (océanique (Bretagne) vs continental (Alsace)) et épandent de façon récurrente, depuis plusieurs années déjà, des types de digestat variés et caractéristiques des activités de leur territoire d'appartenance. Les résultats obtenus ont montré que la réponse des bio-indicateurs de la qualité biologique des sols aux apports de digestats de méthanisation dépendait de la récurrence des apports. En effet, au bout de 8 à 10 campagnes d'apports de digestat, la biologie des sols s'avérait être différente de celle ayant reçu un fumier classique ou une fertilisation minérale.

La combinaison de ces deux approches a permis :

1. de mieux renseigner l'impact des digestats de méthanisation sur la qualité biologique des sols sur le court et le moyen terme
2. d'évaluer l'importance du type de digestat et du contexte pédoclimatique dans cet impact.

In fine, ce projet a permis de générer des données permettant d'évaluer de façon plus objective et robuste l'impact des digestats de méthanisation sur la qualité biologique et écologique des sols.

## ABSTRACT

Methanisation is a process based on the degradation of organic matter by microorganisms under anaerobic conditions (without oxygen). This degradation results in the production of 1) a biogas used as renewable energy and 2) a product rich in organic matter called digestate. This digestate is returned to the soil as a fertilizer and / or organic amendment. The properties of the digestate differ according to its form: raw digestate, liquid or solid after separation phase, or even as compost in some cases. The type of carbon (stable, labile) brought to the field by the digestates raises some questions. Indeed, their future (storage, and / or emission of greenhouse gases, etc.) is highly dependent on decomposing organisms in the soil. In addition, it is also important to evaluate the impact of these agricultural practices on the diversity of these organisms in order to guarantee an optimal soil functioning (dynamics of organic matter, carbon and nitrogen cycles, bioavailability of nutrients, degradation of organic pollutants, retention of metallic pollutants, action on soil structure, etc.).

The Metha-BioSol project consists of two successive stages:

- The first stage took place in the **laboratory**, under controlled conditions (incubation of meso-microcosms of soil). The aim was to test different types of digestates (with different compositions) on different types of soils. The objective was to evaluate the impact of methanization digestates on the biological quality of soils in the short term (a single application, no recurrence of applications). The results showed that the response of bio-indicators to a digestate depended on the type of digestate applied and the pedoclimatic context.
- The second stage of the project took place in the **field**, through soil sampling conducted at long-term experimental sites. The selected sites were those of SOERE-PRO (EFELE and PROspective) and the Obernai Agricultural High School (DIGE'O). These sites have different pedoclimatic contexts (oceanic in Brittany vs continental in Alsace) and have been recurrently applying various types of digestate characteristic of their respective territories' activities for several years. The results showed that the response of soil biological quality bio-indicators to methanization digestate applications depended on the recurrence of applications. Indeed, after 8 to 10 digestate application campaigns, the biology of the tested soils was found to be different from that which received conventional manure or mineral fertilization.

The combination of these two approaches has allowed:

- 1) a better understanding of the impact of methanization digestates on the biological quality of soils in the short and medium term,
- 2) an evaluation of the importance of the type of digestate and pedoclimatic context in this impact.

Ultimately, this project has generated data that enable a more objective and robust evaluation of the impact of methanization digestates on the biological and ecological quality of soils.

# 1. Contexte

---

Le développement exponentiel de la méthanisation, dans le cadre du Plan Energie Méthanisation Autonomie Azote (Plan EMAA) qui avait notamment pour objectif de réduire la fertilisation minérale via une meilleure valorisation de l'azote organique des effluents d'élevage, a conduit à la mise en place d'environ 500 méthaniseurs agricoles en fonctionnement en France en 2017. Dans les années à venir le nombre d'agriculteurs méthaniseurs augmentera et avec lui, le nombre d'utilisateurs de digestats et de surface agricole utile (SAU) épandus avec ces déchets. Ce développement rapide s'accompagne de nombreux questionnements légitimes, en particulier sur les impacts du retour au sol de digestats en lieu et place des effluents d'élevage produits sur les exploitations. D'autre part, la valorisation agronomique des digestats de méthanisation représente un bras de levier important pour la transition agroécologique basée sur un effort de réduction des engrais de synthèse.

La conscience écologique autant que les contraintes économiques et de santé publique, poussent les agriculteurs à rechercher des outils de mesure et de pilotage des systèmes de culture. Ceci est particulièrement vrai dans le cadre des épandages de digestats de méthanisation pour lesquels peu de données scientifiques évaluant l'impact de ces pratiques sur la qualité biologique des sols ont été publiées. Dans ce contexte, il devient urgent de produire des connaissances sur ce sujet.

Le présent projet émerge d'un groupe de réflexion Metha-REV piloté par INRAE. Ce groupe de réflexion, portant sur la question de la méthanisation, est constitué de diverses parties prenantes, telles que des chambres d'Agriculture, des associations, des sociétés publiques et privées (Gaz réseau Distribution France (GRDF), ENGIE), des instituts de recherche publique... Courant 2019, face au manque de données de la littérature scientifique et aux informations contradictoires émanant du terrain, Metha-REV a fait le constat qu'il devenait essentiel d'objectiver l'impact des digestats de méthanisation sur la qualité des sols agricoles, et notamment sur leur qualité écologique, sanitaire et en termes de dynamique du Carbone. C'est dans ce cadre qu'est né le projet Metha-BioSol.

Plus concrètement, le projet Metha-BioSol avait pour objectif scientifique l'évaluation de l'impact de digestats de méthanisation sur la qualité biologique des sols en prenant en compte plusieurs indicateurs représentatifs de diverses composantes biologiques des sols. Il s'agissait d'appréhender l'impact de ces digestats sur la diversité des macro- et micro-organismes, leur activité, la dynamique du carbone et l'état sanitaire (pathogènes) des sols. Cette évaluation s'est faite sur le court terme (sans d'historique d'apport, effet observé après un seul apport), mais également sur le moyen terme (répétition des apports sur au moins 3 années consécutives) afin d'évaluer l'effet de la récurrence des apports de digestats sur la qualité biologique des sols.

## 2. Méthodologie

---

Le projet Metha-BioSol a évalué de l'impact de digestats de méthanisation sur la qualité biologique des sols en prenant en compte plusieurs indicateurs représentatifs de diverses composantes biologiques des sols. Le projet se découpe en trois séquences :

1. Définition d'un tableau de bord d'indicateurs biologiques adaptés à la problématique de l'impact des digestats sur la qualité biologique des sols (Lot 2).
2. Evaluation de l'impact des digestats à court terme (sans récurrence des apports) sur la qualité biologique des sols. Pour cela, les indicateurs définis dans la première séquence seront déployés sur des expérimentations en conditions contrôlées de type micro et mésocosmes (Lot 3).
3. Evaluation de l'impact des digestats sur le moyen terme (récurrence des apports depuis 3 à 8 ans) sur la qualité biologique des sols. Pour cela, les indicateurs définis dans la première séquence seront déployés sur des sites expérimentaux de longue durée (Lot 4).

### **2.1. Définition d'un tableau de bord d'indicateurs de la qualité biologique des sols (Lot 2)**

La définition de ce tableau de bord d'indicateur s'est largement inspirée de ce qui avait été auparavant effectué dans le cadre du projet AgrInnov (CASDAR IP 2012-2015). Dans AgrInnov, les indicateurs retenus se basaient sur des mesures de la faune (nématodes et lombriciens) et de flore microbienne du sol (bactéries et champignons). En effet, le rôle essentiel que joue ces organismes dans le bon fonctionnement biologique des sols et la durabilité des agrosystèmes explique largement ce choix. Par la suite, au sein de chacun de ces deux groupes d'indicateurs, un autre critère de choix a été apposé, reposant sur la base de

l'expertise des unités de recherche impliquées dans le projet (AgrInnov). Parmi ces critères d'évaluation des indicateurs, les principaux étaient :

1. D'être validés scientifiquement via des programmes de recherche (ADEME Bioindicateur I et II, ANR ECOMIC-RMQS, ADEME RMQS-BIODIV...);
2. De disposer d'un référentiel d'interprétation pour les grandes cultures afin de permettre la réalisation d'un diagnostic de l'impact des pratiques agricoles sur la biologie des sols ;
3. D'être mesurables à un coût économique abordable, facilement opérationnels sur le terrain et au laboratoire.

L'ensemble des indicateurs retenus dans le cadre du projet AgrInnov est précisé dans le Tableau 1 :

Item	Indicateurs
<b>Lombriciens</b>	Abondance et biomasse totale
	Abondance et biomasse des 4 groupes fonctionnels (épigé, épi-anécique, anécique, endogé)
	Diversité et structure taxonomiques des communautés
<b>Microorganismes</b>	Biomasse moléculaire
	Rapport densité champignons/densité des bactéries
	Diversité taxonomique des bactéries et des champignons
<b>Nématodes</b>	Abondance
	Diversité taxonomique
	Abondance des nématodes phytoparasites
	Indice de structure
	Indice d'enrichissement
<b>Sol</b>	Structure (test bêche)
	Caractéristique physico-chimiques
	Teneurs en polluants métalliques
	Dégradation de la matière organique (LevaBag)

*Tableau 1 :* Tableau de bord des bioindicateurs de la qualité biologique des sols proposés dans le cadre du projet AgrInnov (CASDAR IP 2012-2015)

Au regard des problématiques environnementales et sanitaires liées au retour sol des digestats de méthanisation, deux autres types d'indicateurs ont été ajoutés : ceux relatif aux pathogènes des sols et ceux en lien avec les formes et quantités de carbone présentes dans les sols. Au démarrage du projet Metha-BioSol, le tableau de bord d'indicateurs proposés était le suivant (Tableau 2) :

Item	Indicateurs
<b>Lombriciens</b>	Abondance et biomasse totale
	Abondance et biomasse des 4 groupes fonctionnels (épigé, épi-anécique, anécique, endogé)
	Diversité et structure taxonomiques des communautés
<b>Microorganismes</b>	Biomasse moléculaire
	Rapport densité champignons/densité des bactéries
	Diversité taxonomique des bactéries et des champignons
<b>Nématodes</b>	Abondance
	Diversité taxonomique
	Abondance des nématodes phytoparasites
	Indice de structure
	Indice d'enrichissement
<b>Sol</b>	Structure (test bêche)
	Caractéristique physico-chimiques
	Teneurs en polluants métalliques
	Dégradation de la matière organique (LevaBag)
<b>Pathogènes</b>	Présence de <i>L. monocytogenes</i>

	Quantification d'E. coli
	Présence de <i>K. pneumoniae</i>
	Présence de <i>S. enterica</i>
<b>Carbone</b>	Teneur en Carbone
	Stabilité biogéochimique du carbone (RockEval®)

*Tableau 2 :* Tableau de bord de bioindicateurs de la qualité biologique des sols proposés dans le cadre du projet Metha-BioSol

## **2.2. Evaluation de l'impact de différents types de digestats sur la qualité biologique des sols à court terme (Lot 3)**

Il s'agissait ici d'étudier d'une part les impacts liés à la valorisation agronomique des digestats de méthanisation sur la qualité biologique des sols en conditions contrôlées, et d'autre part d'identifier les facteurs édaphiques (propriétés du sol) susceptibles de moduler ces impacts. Cette partie du projet prenait en compte les impacts à court terme. Deux hypothèses étaient considérées :

1. Les impacts sont différents en fonction des propriétés des sols ;
2. Les impacts sont différents en fonction de la nature des digestats.

Dans cette étude factorielle, les dispositifs expérimentaux qui ont été étudiés ont été sélectionnés de façon à réduire le nombre de variables non maîtrisées. Ainsi, l'épandage de digestats a été simulé en conditions de laboratoire à l'aide de mésocosmes et des microcosmes de sol de façon à maîtriser les conditions d'expérimentation. Les mésocosmes ont permis de produire les résultats relatifs aux indicateurs suivants : nématodes, lombriciens, formes et quantité de carbone, activité de dégradation de la matière organique ; les microcosmes, eux, ont permis de générer des résultats relatifs aux microorganismes et pathogènes du sol.



Microcosmes



Mésocosmes

*Figure 1 : Photos illustrant les expérimentations en micro et mésocosmes*

Concrètement, 3 types de méso- et microcosmes ont été construits à partir de 3 sols à la pédologie contrastée représentatifs des sols des régions investies dans le projet (Pays de la Loire (PDL=Sol 3), Provinces-Alpes Côte d'Azur (PACA=Sol 2) et Bourgogne (BOU=Sol 1)). La figure 2 et le tableau 3 illustrent les différences observées entre ces trois sols.

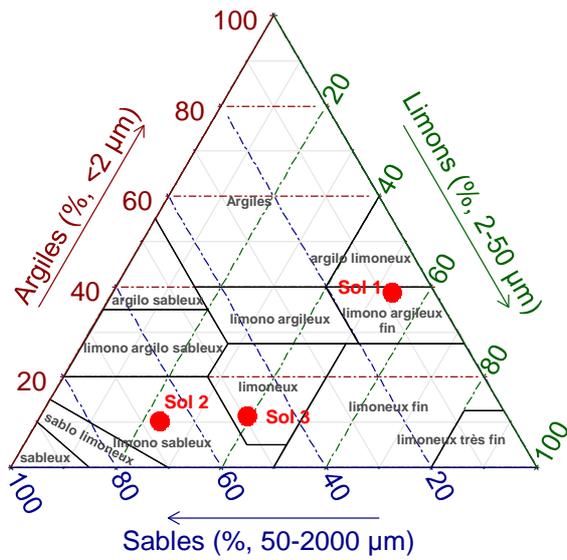


Figure 2 : Triangle des textures des trois sols utilisés pour les micro- et mésocosmes

Item	Sol 1	Sol 2	Sol 3
Matière Organique (g/kg sol sec)	34,28 <sup>a</sup>	13,28 <sup>c</sup>	16,68 <sup>b</sup>
C total (g/kg sol sec)	20,47 <sup>a</sup>	7,67 <sup>c</sup>	9,65 <sup>b</sup>
N total (g/kg sol sec)	1,74 <sup>a</sup>	0,77 <sup>c</sup>	0,99 <sup>b</sup>
C/N	11,43 <sup>a</sup>	10,00 <sup>b</sup>	9,70 <sup>b</sup>
pH	7,96 <sup>a</sup>	6,68 <sup>b</sup>	6,63 <sup>c</sup>
P2O5 (g/kg sol sec)	0,07 <sup>a</sup>	0,01 <sup>c</sup>	0,04 <sup>b</sup>
CEC (cmol+/kg sol sec)	25,44 <sup>a</sup>	7,10 <sup>b</sup>	6,94 <sup>b</sup>

Tableau 3 : Physico-chimie initiale des trois types de sols ayant servi à réaliser les micro- et mésocosmes

Chaque type de cosmes (= type de sol) a reçu 9 modalités d'apports (4 types de digestats, 1 lisier bovin (CS), 1 fumier bovin (CM), 1 apport minéral (MIN)) et une modalité sans apport (eau)). Les différents types de digestats comprenaient les biomasses entrantes suivantes :

-  - Digestat 1 (FYM) : (**82% fumier bovin** - 6,5% Matières végétales (3% Maïs/sorgho, 3% matières végétales diverses) – 7% dérivé lait (liquide) - 2% lisier bovin - 2% lisier porc - 0,5% graisse)
-  - Digestat 2 (MFW) : (**56% fumier – 20% Matières végétales** (3% Maïs/sorgho, 2% CIVE hiver, 15% Autres matières végétales) – 5% graisses – 4% lisier bovin - **13% biodéchet** (Sang, glycérine, divers) - 2% lisier porc)
-  - Digestat 3 (SMS) : (**100% Matière végétale** (55% Maïs/sorgho, 45 % CIVE hiver))
-  - Digestat 4 (CMF) : (**45% lisier de canard – 40 % graisse** - 15% matières végétales)

Pour le digestat 1 issu majoritairement de fumier bovin, les fractions brutes (FYM WD) et les fractions issues d'une séparation de phase - liquides (FYM LD) et solides (FYM SD) - ont été testées. Pour les autres digestats, seul le digestat brut a été testé. La qualité physico-chimie des différents amendements organiques apportés est décrite dans la figure 3 ci-dessous :

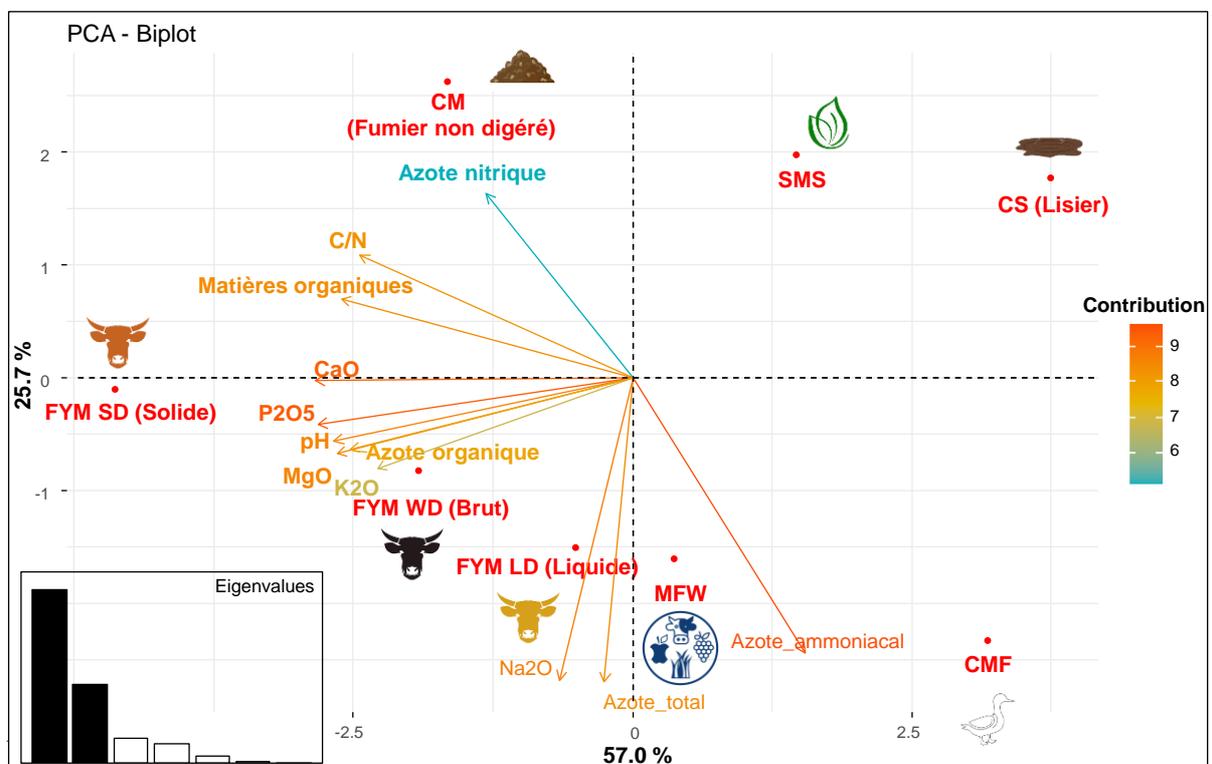


Figure 3 : Analyse en composante principale représentant la physico-chimie des amendements organiques utilisés dans les expérimentations en laboratoire (méso- et microcosmes)

## 2.2.1. Expérimentation en mésocosmes

### 2.2.1.1. Description du dispositif expérimental

Chaque traitement du dispositif mésocosmes correspond au croisement des modalités du facteur « sol » (3 modalités) et du facteur « digestat » (10 modalités d'apport). Les traitements sont répétés 4 fois. Ainsi, un dispositif expérimental aléatoire complet de 120 mésocosmes (10 modalités d'apport du facteur « digestat » x 3 modalités du facteur « sol » x 4 réplicats) a été mis en œuvre dans la serre de l'Ecole Supérieure d'Agriculture (ESA) au printemps 2021.

Tout le matériel nécessaire au montage des mésocosmes a été lavé au liquide vaisselle, désinfecté à l'eau de javel et à l'alcool à 70°, rincé à l'eau, puis séché à l'air libre. Les 120 sacs de toile à bluter ont été stérilisés par autoclave. Les 3 sols de l'expérimentation ont été préalablement tamisés à 11 mm.

Chaque mésocosme (Figure 4) est constitué d'un tube de PVC de 20 cm de diamètre et de 45 cm de hauteur. Chaque tube PVC a été fixé avec un support en inox. Des billes d'argile ont été déposées au fond de chaque colonne, à hauteur de 5 cm par tube. Un sac de toile à bluter a ensuite été positionné dans chaque mésocosme, afin de laisser l'eau s'écouler vers les billes d'argile, tout en maintenant la terre. Puis, 15 cm de sol brut a été ajouté au fond de chacun de ces sacs. Ensuite, afin de simuler l'enfouissement des matières apportées, 10 cm de sol amendé a été ajouté, suite à l'homogénéisation des produits à épandre avec les sols, par mixage ou brassage à la main, selon la proportion de 50 g de digestat pour 10 cm de sol. Des litterbags en maille de 1 mm, mesurant 11 cm sur 6 cm et contenant un poids de paille équivalent à 1,5 g, ont été déposés à plat sur les 10 cm de sol amendé. Puis, l'ajout de 10 cm de sol amendé, à nouveau, a permis de recouvrir les litterbags jusqu'en haut de chaque colonne, avec toujours 50 g d'effluent pour 10 cm de sol (Figure 4). **La quantité totale de produit organique appliquée correspond à une pratique agriculteur d'apport de 35 tonnes par hectare.** Pour la solution minérale  $\text{NO}_3\text{NH}_4$ , un apport équivalent total de 120 kg d'N/ha a été réalisé sur les 20 cm supérieur du sol du mésocosme. Lors du remplissage des mésocosmes, le sol a été tassé pour obtenir des densités apparentes de 1,4 g/cm<sup>3</sup> pour le sol 2 (PACA) ; 1,3 g/cm<sup>3</sup> pour le sol 3 (PDL) et enfin 1 g/cm<sup>3</sup> pour le sol 1 (BOU).

	Quantité de C introduite par mésocosme (gC)	Quantité de N introduite par mésocosme (gN)	Quantité d'eau introduite par mésocosme (g ou ml)
MIN	0	0,34	99
CS	0,41	0,27	98,4
CM	7,14	0,39	80,7
CMF	0,54	0,68	98,1
FYM_LD	2,00	0,54	92,2
FYM_WB	3,47	0,55	89,1
FYM_SD	10,58	0,47	73,5
MWF	<b>1,74</b>	<b>0,62</b>	<b>93,5</b>
SMS	1,67	0,37	95

Tableau 4 : Quantité de matière introduite dans les mésocosmes par les différents apports

L'analyse physico-chimique des matières apportées a également permis d'estimer les apports en termes de carbone et d'azote au cours de cet essai (Tableau 4). Les matières organiques apportées sont très humides (teneur en eau > 70% voire > à 90% pour nombres d'entre eux) et sont donc composées essentiellement d'eau. Mise à part pour CS (le lisier brut), la quantité d'azote total apportée par les matières organiques est supérieure à celle apportée par la fertilisation minérale (MIN). Ces apports sont plus élevés pour les traitements CMF (Ntot = 0.68 gN) et MWF (Ntot = 0.62 gN) et les plus faibles pour les traitements SMS (Ntot = 0.37 gN) et CS (0.27 gN). Cet azote est majoritairement sous forme ammoniacale pour les traitements CS et CMF ; il est principalement sous forme organique pour les traitements CM, FYM\_WD, FYM\_SD et SMS. La proportion entre les deux formes est équilibrée pour MWF et FYM\_FD. Les apports de carbone organique varient entre 0,4g et 10,6 gC par mésocosme selon les traitements (Tableau 4). Ces apports sont les plus élevés pour les traitements FYM\_WD (Corg = 10,6 gC) et CM (Corg = 7,1 gC). Les apports sont les plus faibles pour les traitements CS (Corg = 0,41 gC), CMF (Corg = 0,54 gC), SMS (Corg = 1,67 gC), MWF (Corg = 1,74 gC). Proportionnellement à la teneur en carbone et azote initiale des sols, pour un même traitement les apports en carbone et azote sont plus importants sur le sol de PACA que pour le sol de PDL et enfin le sol de BOU.

Après 12 jours de repos des mésocosmes, deux vers de terre (individus) anéciques de l'espèce *Aporrectodea longa longa* (Ude, 1885) ont été introduits dans chaque colonne. En amont de cette introduction, chaque ver de terre a été acclimaté pendant deux semaines dans un des trois sols pour lequel il était destiné. Les vers de terre ont été soumis à un jeûne de 24 heures avant leur introduction et ont été pesés individuellement, dans le but de proposer des binômes homogènes en termes de poids. Un grillage a ensuite été fixé en haut de chaque mésocosme, par des anneaux en plastique du diamètre de celui des colonnes de sol, afin que les lombriciens ne s'échappent pas. Pour finir, des tubes en carton isolant ont été positionnés autour des mésocosmes, afin que les colonnes de sol soient protégées du soleil durant l'essai. L'étape d'introduction des lombriciens a constitué le début de l'expérimentation. Les mésocosmes ont été désassemblés pour échantillonnage 31 jours après l'introduction des lombriciens dans les mésocosmes.

La gestion de l'humidité du sol des mésocosmes a constitué l'unique paramètre suivi lors de l'essai, par le biais d'un système d'arrosage en goutte-à-goutte. Le pilotage a été fixé à 70% ( $\pm$  10%) de la capacité au champ pour les trois types de sols. La fréquence du suivi a été adaptée selon la température de la serre mais s'élève en moyenne à une prise de mesure par semaine.

Une gamme d'irrigation a été fixée pour chaque modalité, déterminant ainsi les volumes d'eau à apporter, dans l'intention d'approcher l'optimum fixé à chaque sol.

La température a été régulée dans la mesure du possible avec les volets roulants sur les fenêtres de la serre, afin d'éviter de trop fortes températures. La norme souhaitée était fixée autour de 15°C, les pics de température ne devant pas dépasser la barre des 20°C et le minimum 10°C. La température moyenne recueillie sur les 31 jours d'expérimentation s'élève à 14.9°C, soit le seuil retenu. Quelques pics autour de 25°C ont toutefois été mesurés à certains moments.

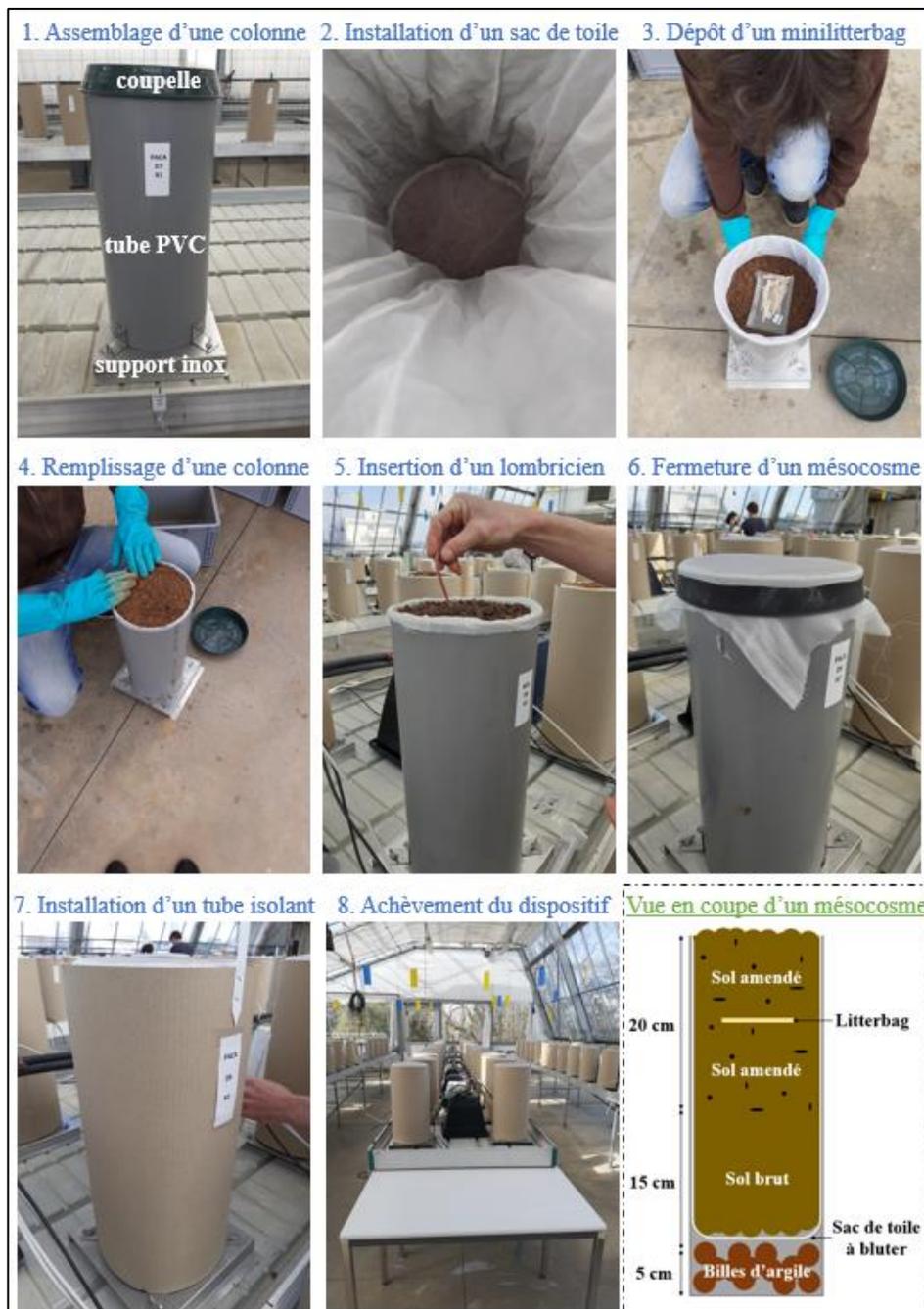


Figure 4 : Récapitulatif du montage des mésocosmes

Lors du démontage des mésocosmes, les 20 premiers centimètres contenant le sol et l'apport des matières organiques ont été isolés. Dans un premier temps, le litterbag a été retiré pour passer 48h à l'étude à 60°C. Les lombriciens ont été ensuite récoltés et leur position dans la colonne de sol a été relevée (sol amendé *versus* sol brut). Ils ont ensuite été soumis à un jeûne de 24 heures à nouveau, puis pesés individuellement, afin de saisir leur évolution au cours de l'essai. Dans un second temps, les 20 premiers centimètres correspondant au sol amendé du mésocosme ont été homogénéisés et des échantillons de sol ont été réalisés de la manière suivante :

- 700 g de sol conditionné dans un sachet plastique fermé de façon étanche pour l'analyse des nématodes (norme ISO 23611 – 4 / 2007) et conservé au frais (entre 10 et 15°C) et à l'abri de la lumière durant leur expédition à Elisol.
- Deux prélèvements de 100 g pour chaque mésocosme ont été effectués. Les échantillons ont été stockés au congélateur à -20°C, en attente du dosage des formes  $\text{NO}_3^-$  et  $\text{NH}_4^+$  à l'aide du flux continu segmenté SA3000 de marque SKALAR (norme ISO 14256 – 2 / 2005).
- 3 g de sol séché à l'air libre et conditionné dans un Eppendorf pour l'étude de la stabilité du carbone via l'analyse thermique Rock-Eval (ENS Paris) (Behar et al., 2001; Barré et al., 2016).
- 700 g de sol conditionné dans un sachet plastique et conservé à 4°C avant l'expédition au LAS pour des analyses physico-chimiques. Les analyses suivantes ont été réalisées : le carbone organique et total (ISO 10694 / 1995 ou ISO 14235 / 1998) ; l'azote total (ISO 13878 / 1998) ; le rapport carbone sur azote et la matière organique (méthode interne LAS) ; le pH (norme ISO 10390 / 1994) ; le carbonate de calcium (ISO 10693 / 1995) ; le phosphore (ISO 11263 / 1995) ; la capacité d'échange cationique effective (ISO 23470 / 2018) ; les protons (méthode interne LAS) ; ainsi que les éléments majeurs (ISO 23470 / 2018), tels que l'aluminium, le calcium, le fer, le potassium, le magnésium, le manganèse et le sodium.
- Enfin, 1 kg de sol séché à l'air libre a été conditionné pour un stockage dans la pédothèque de l'INRAE de Dijon.

Pour chacun des effluents utilisés dans les mésocosmes (digestats, lisier et fumier), 700 g de produit a été prélevé après homogénéisation, puis envoyé au laboratoire Auréa, afin de caractériser leur nature physico-chimique. Ont été mesurés : le pH (EN 12176 / 1998), le ratio C/N (EN 13040 / 2007), le taux de matières organiques (EN 13040 / 2007), le taux de matières minérales (EN 13040 / 2007), l'humidité (EN 13040 / 2007), la matière sèche (EN 13040 / 2007), l'azote total (EN 13654 – 1 / 2002), l'azote sous forme nitrique (EN 13040 / 2007), l'azote ammoniacal (EN 13040 / 2007), l'azote organique total (EN 13040 / 2007), le pentoxyde de phosphore (ISO 11885 / 2009), l'oxyde de magnésium (ISO 11885 / 2009), l'oxyde de calcium (ISO 11885 / 2009), l'oxyde de sodium (ISO 11885 / 2009) et enfin l'oxyde de potassium (ISO 11885 / 2009).

### 2.2.1.2. Impact de différents types de digestats sur la physico-chimie des sols à court terme

Quarante-deux jours après incubation, la physico-chimie des sols amendés avec les différents matériaux organiques (digestats, fumier...) se discriminait en fonction du type de sol et non du type d'apport (Axe 1 ACP Figure 5). Ainsi, l'axe 1 oppose le sol 1 (BOU) aux sols 2 (PACA) et 3 (PDL) suivant un gradient de matière organique, de carbone, d'azote total, du pH et du rapport C/N. Ce gradient caractéristique de la physico-chimie initiale des sols était déjà présent sur l'analyse des sols à T0 avant l'apport des effluents. La variabilité selon les digestats s'exprime surtout sur l'axe 2 de l'ACP.

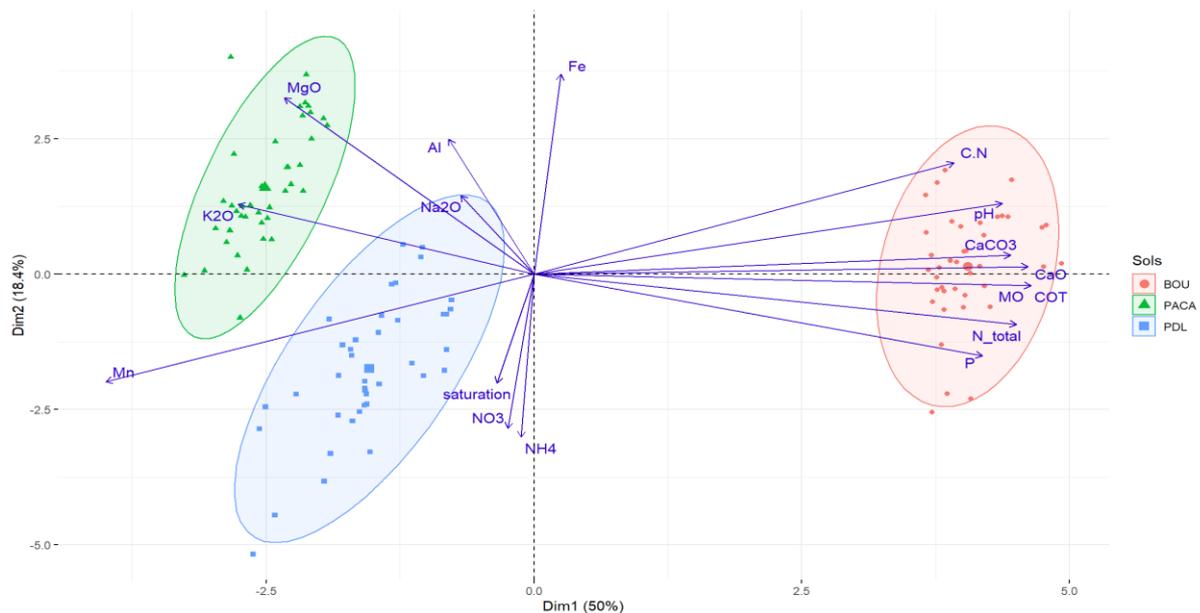


Figure 5 : Analyse en composante principale de la physico-chimie des sols 42 jours après incubation.

Une ACP intragroupe permet de retirer l'effet sol afin d'analyser plus précisément l'impact des effluents sur la physico-chimie des sols (figures 6). L'axe 1 (ellipse rouge figure 6) caractérise les dynamiques du carbone, de l'azote total, corrélées aux principaux nutriments (K, Na, P et Mg). L'axe 2 de cette analyse exprime l'acidité des sols avec les variables pH et le rapport C/N (ellipse bleue figure 6) qui sont principalement opposées à la concentration en nitrates dans les sols.

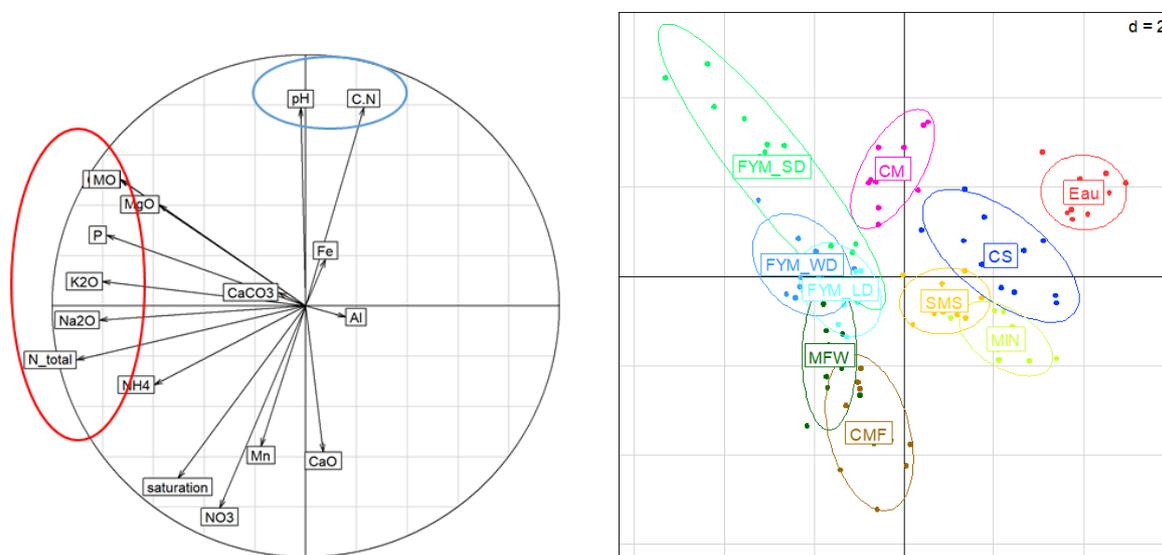


Figure 6 : Analyse en composante principale intragroupe de la physico-chimie des sols 42 jours après incubation

En comparaison à la modalité Eau et suivant l'axe 1 de la figure 6, FYM (toutes fractions ; solide, liquide et brute), MFV et CMF apportent les plus grandes quantités de carbone et d'azote total. Sur l'axe 2 de la figure 6, MFV, CMF apportent les plus grandes quantités de nitrate. Ce sont les digestats qui acidifient aussi le plus les sols.

### 2.2.1.1. Impact de différents types de digestats sur le litterbag (dégradation de la matière organique fraîche) à court terme

Quarante-deux jours après l'assemblage des mésosomes, la perte en masse de l'indicateur litterbag présente un effet significatif du type de digestat ( $P < 0.001$ ) et un effet significatif du type sol ( $P < 0.001$  ANOVA à 2 facteurs). Comme l'interaction n'est pas significative entre les deux facteurs, une analyse séparée des facteurs est possible. Ainsi, le sol 2 (PACA) a une activité de dégradation de la Matière Organique Fraîche 20% supérieure aux sols 1 (BOU) et 3 (PDL) (Figure 7 ; Test HSD de Tuckey ;  $P < 0,05$ ).

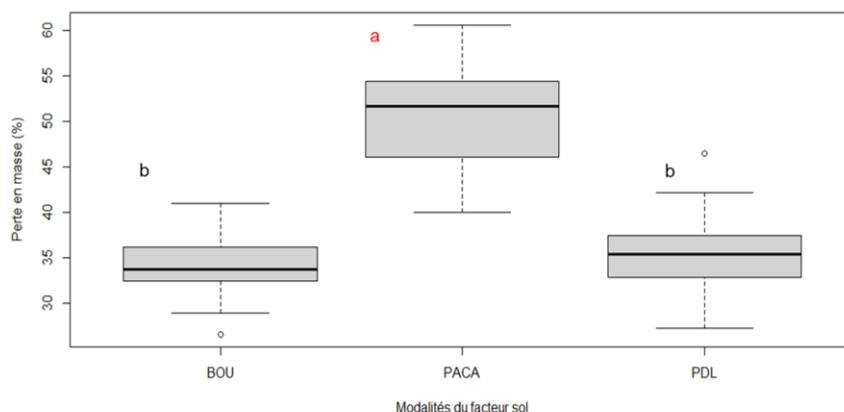
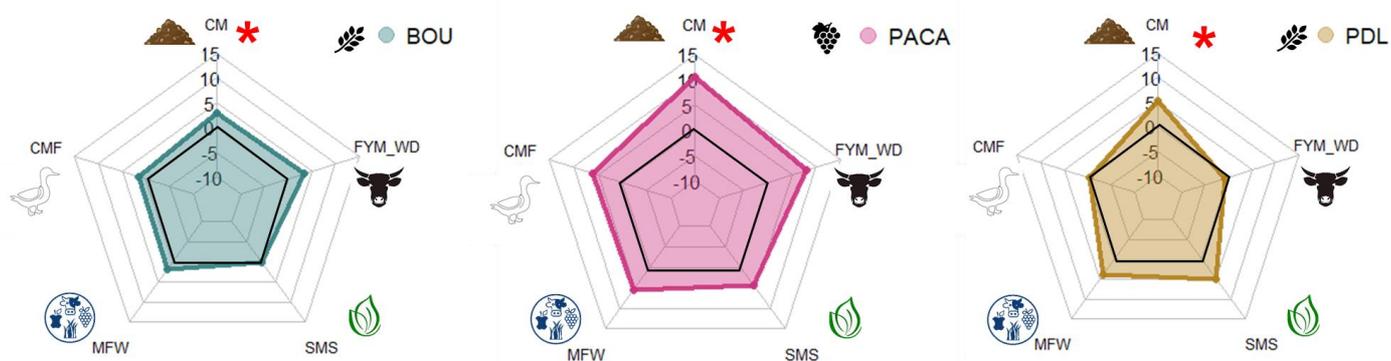


Figure 7 : Effet du sol sur la dégradation de la Matière Organique Fraîche.

### 2.2.1.1.1. Effet du type de digestat

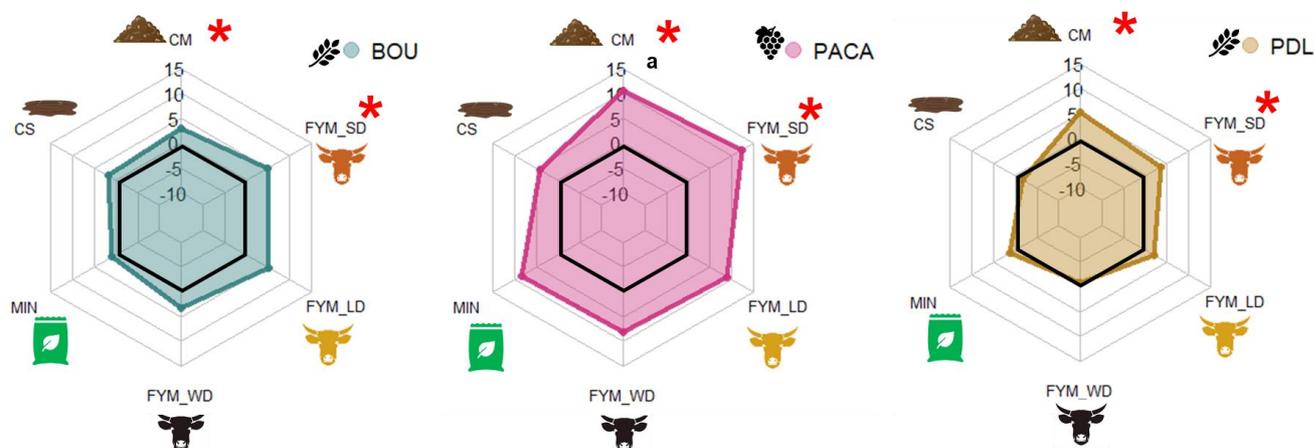
En comparaison à la modalité Eau (ligne noire figure 8), aucun digestat ne présente de différence significative. Seul, un apport de fumier non digéré (CM) présente une tendance significativement plus élevée de la perte en masse dans les litterbags que celle de l'eau (étoile rouge ; test de Dunnett  $P < 0,1$ ).



**Figure 8 :** Effet croisés de différents types de digestats sur différents types de sol sur la dégradation de la Matière Organique Fraîche dans les litterbags. Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%). \*indique une différence significative par rapport au témoin Eau (Test de Dunnett,  $p$ -value  $< 0,05$ , #  $p$ -value  $< 0,1$ ).

### 2.2.1.1.2. *Effet de la fraction*

En comparaison à la modalité Eau (ligne noire figure 9), la fraction solide du digestat (FYM-SD) ainsi que l'apport de fumier non digéré (CM) présentent une tendance significativement plus élevée de la dégradation de la matière organique fraîche que celle de l'eau (étoile rouge ; test de Dunnett  $P < 0,1$ ).



**Figure 9 :** Effet de la fraction du digestat sur la dégradation de la Matière Organique Fraîche. Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%). \*indique une différence significative par rapport au témoin Eau (Test de Dunnett, p-value < 0,05, # p-value < 0,1).

### 2.2.1.1.3. *Synthèse des résultats « litterbag »*

Les résultats obtenus pour cette première partie du projet confirment que l'effet d'un apport de matières organiques dont des digestats est variable en fonction du sol sur lequel il est appliqué et de la nature de ces matières organiques. Ainsi, il apparaît que le sol sableux utilisé dans les mésocosmes présente en moyenne la capacité de dégradation des MOF la plus élevée de 20 % par rapport aux sols argileux et limono-sableux.

La comparaison du type de digestat n'a pas permis de mettre en évidence un effet significatif, et cela quel que soit le sol, sur la dégradation d'une Matière Organique Fraîche (tests de Dunnett en comparaison à la modalité eau,  $p > 0,1$ ).

Cependant, un effet de la fraction des digestats a été observé sur la dégradation d'une MOF. Cet effet fraction était identique pour tous les sols. Ainsi, concernant l'indicateur litterbag, la fraction solide du digestat testé a un effet comparable à un fumier non digéré (augmentation de la dégradation de la MOF).

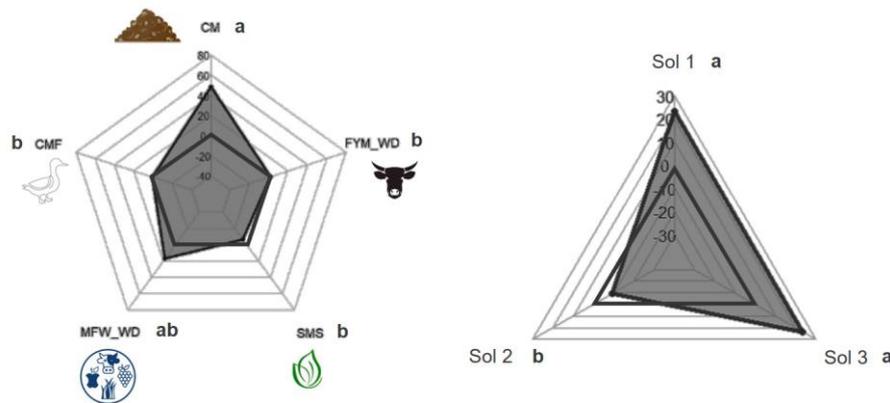
Il semble que l'apport de certaines matières organiques ; notamment celles présentant le C/N le plus élevé (C/N = 18,3 pour le la matière organique CM et C/N = 22,5 pour le digestat FYM\_SD), soit responsable d'une augmentation de la dégradation des MOF.

### 2.2.1.2. Impact de différents types de digestats sur les lombriciens à court terme

A la fin des 31 jours d'expérimentation, tous les lombriciens introduits ont été récupérés vivants, ce qui met en évidence qu'il n'y a pas eu d'effet du type de digestat et de la fraction sur la mortalité des lombriciens ; cependant, les lombriciens ont perdu en moyenne 20% de poids et 92% d'entre eux ont été retrouvés dans la partie inférieure de la colonne, témoin inclus. Leur localisation dans la colonne de sol et l'importance de cette perte de poids, met en évidence un ou plusieurs biais d'expérimentation, fréquemment observés en conditions contrôlées (Jégou, Cluzeau et al. 1998, Cortez and Bouche 2001, Frazão, de Goede et al. 2019, Hoeffner, Monard et al. 2019) où ces organismes sont plus ou moins contraints par le volume de sol disponible (en largeur et en hauteur). Compte-tenu, de cette importante perte de poids, les résultats présentés ci-dessous sont à interpréter dans l'unique cadre de cette expérimentation et ne sont pas généralisables. Enfin, pour faciliter la lecture des résultats, l'évolution du poids des lombriciens dans chacun des traitements a été exprimée en pourcentage de leur différence au traitement « eau » dans chacun des sols testés (Figures 10 et 11).

#### 2.2.1.2.1. Effet du type de digestat

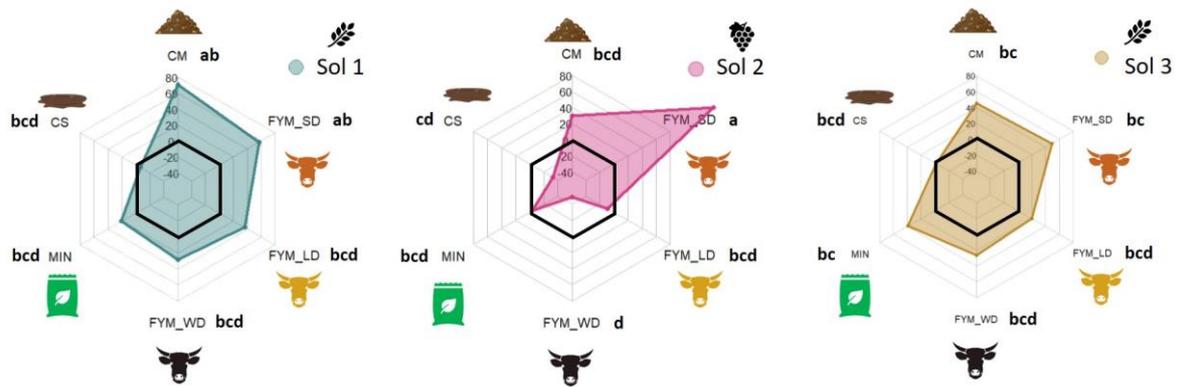
En comparaison à un apport de fumier classique non digéré (CM), l'apport des digestats a accentué la perte de poids des lombriciens ; cependant, comparé au témoin eau (trait noir), les différents types de digestat n'ont pas eu d'effet sur l'évolution du poids des lombriciens (Figure 10). Enfin, indépendamment des digestats, c'est dans les sols 1 et 3 que les différents apports organiques ont limité la perte de poids des lombriciens (Figure 10).



**Figure 10** : Effet des différents types de digestats et de sols sur l'évolution du poids des lombriciens. Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%). Une valeur supérieure à 0 indique un poids plus important que la référence « eau ».

#### 2.2.1.2.2. Effet de la fraction

En comparaison à un apport de fumier classique non digéré (CM), l'apport des différentes fractions de digestat (FYM\_SD, FYM\_LD et FYMW\_WD) ont eu des effets contrastés sur l'évolution du poids des lombriciens selon le type de sol (Figure 11). Ainsi, comparé à un apport de fumier classique non digéré (CM), la fraction solide du digestat (FYM\_SD) a permis de limiter la perte de poids des lombriciens pour le sol 2 alors qu'aucun effet n'a été observé pour les sols 1 et 3 (Figure 11). Cependant, comparé au témoin eau (ligne noire), les fractions de digestat ont globalement limité la perte de masse des lombriciens dans les sols 1 et 3 ( $P > 0.05$ ) ; à l'inverse dans le sol 2, le digestat brut (FYM\_WD) a plutôt accentué la perte de poids alors que le digestat solide a limité la perte de poids des lombriciens ( $P < 0.05$ ) (Figure 11).



**Figure 11** : Effet croisé de la fraction du digestat et des sols sur l'évolution du poids des lombriciens. Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%).

### 2.2.1.2.3. Synthèse des résultats Lombriciens

Du point de vue méthodologique, les résultats lombriciens ne portent que sur une variable comportementale (localisation dans le sol) et deux variables biologiques (le poids individuel et le taux de mortalité des lombriciens). Tous les lombriciens introduits ont été récupérés vivants, ce qui met en évidence qu'il n'y a pas eu d'effet du type et de la fraction des digestats sur la mortalité des lombriciens à court terme. Concernant l'évolution du poids des lombriciens, les résultats de cette expérimentation confirment que l'effet des digestats est variable selon la nature des digestats et du type de sol. Comparé à un fumier classique non digéré, les différents types de digestat ont accentué la perte de poids des lombriciens ; cependant, l'évolution de ce poids reste proche du témoin (eau sans apport). Comparé à un fumier classique non digéré, les différentes fractions des digestats (liquide, solide ou brute) ont, quant à elles, eu des effets contrastés selon le type de sol sur l'évolution du poids des lombriciens ; la fraction solide du digestat a permis de limiter la perte de poids des lombriciens pour le sol 2 alors qu'aucun effet n'a été observé pour les sols 1 et 3. Toutefois, il est important de rappeler qu'au cours de cette expérimentation, les lombriciens ont perdu 20% de poids en moyenne, dû aux contraintes de l'approche expérimentale multi-taxons (micro-organismes, meso- et macro-faune) ce qui limite les interprétations et ne permet pas de généraliser ces résultats.

### 2.2.1.3. Impact à court termes de différents types de digestats sur les communautés de nématodes

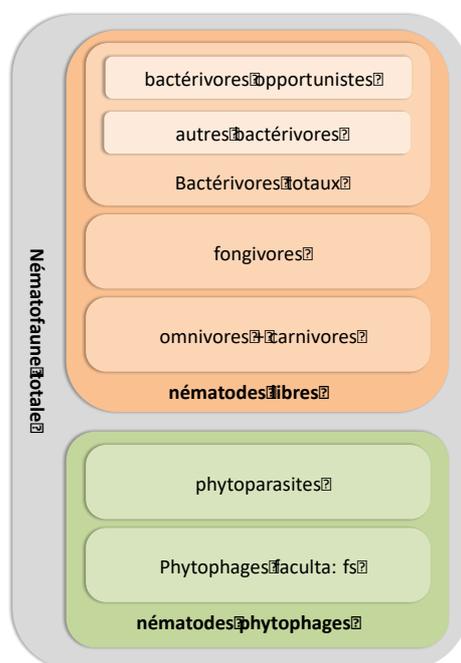
#### 2.2.1.3.1. Informations préliminaires à l'analyse des résultats de l'expérience

##### La caractérisation de la nématofaune du sol

La nématofaune des sols a été caractérisée à partir de 300 g de sol des 120 échantillons de l'expérimentation par la méthode normalisée ISO NF 23611.4. Elle a également été caractérisée dans 8 échantillons des PRO apportés dans les mésocosmes de façon à évaluer si ceux-ci apportaient des nématodes dans les sols.

La caractérisation de la nématofaune correspond à la quantification des différents taxons de nématodes présents (45 taxons dans cette expérience). A partir de ces abondances de taxons, différents paramètres de la nématofaune sont calculés :

- **des abondances de nématodes par groupe trophique** : nématodes bactériovores opportunistes, nématodes bactériovores non opportunistes, nématodes fongivores, nématodes prédateurs, nématodes phytophages facultatifs et nématodes phytoparasites ;
- l'abondance de chacun de ces groupes trophiques renseigne sur une fonctionnalité du sol. L'abondance de l'ensemble des nématodes libres donne une indication sur le niveau d'activité biologique globale du sol.



- **des indices nématofauniques et de diversité** sont calculées à partir du tableau d'abondance des différents taxons de nématodes :

- o **SI : Indice de Structure**

Il reflète la stabilité du milieu, la complexité des réseaux biologiques présents dans le sol.

Il est fonction de l'abondance relative de plusieurs familles de nématodes bactériovores, fongivores, omnivores et carnivores.

Plus il est élevé, moins le milieu est perturbé.

Il varie entre 0 et 100.

- o **EI : Indice d'Enrichissement**

Il donne une indication sur la dynamique des nutriments.

Cet indice est particulièrement utile dans les agro-systèmes.

Il varie entre 0 et 100.

L'EI augmente avec la disponibilité des nutriments ; au-delà d'une valeur de 85/90, les valeurs sont considérées comme excessives.

- o **NCR : Nematode Channel Ratio**

Il est calculé à partir des abondances des bactériovores (Ba) et des fongivores (Fu).

Il renseigne sur les voies de décomposition de la matière organique du sol (réparties entre voie fongique et voie bactérienne).

Plus il est élevé, plus la voie bactérienne est importante.

Il varie entre 0 et 100; il présente un optimum entre 35 et 85.

○ **H' : Indice de diversité de Shannon**

L'indice de diversité de Shannon renseigne sur la diversité taxonomique des nématodes présents en tenant compte également de leur abondance relative. Il renseigne sur le niveau de diversité patrimoniale.

Plus il est élevé, plus la diversité est importante.

Il varie entre 0 et 5.

**Dans ce rapport, nous présenterons essentiellement les résultats relatifs à ces 4 paramètres de la nématofaune.**

### *Apport de nématodes avec les matières organiques*

L'extraction des nématodes pratiquée sur les digestats de méthanisation et les effluents testés (lisier et fumier) préalablement à leur apport dans les méocosmes a révélé la présence de nématodes dans l'ensemble des effluents (Figure 12).

Cette présence est massive dans le fumier (CM = 89 300 nématodes 100g<sup>-1</sup> sol sec) et dans la fraction solide du digestat de fumier (FYM\_SD = 457 000 nématodes 100g<sup>-1</sup> sol sec). Elle est plus faible dans le lisier (CS = 1000 nématodes 100g<sup>-1</sup> sol sec). Les nématodes présents sont en grande majorité des nématodes bactériovores opportunistes de la famille des Rhabditidae, des nématodes fortement liés à la minéralisation des matières organiques. Ces organismes se multiplient de façon exponentielle dans les milieux riches en bactéries et en azote et ont la capacité d'entrer en dormance (*dauer-larvae*) lorsque les conditions ne leur sont pas favorables, ils sont alors capables de résister des conditions extrêmes (sécheresse, absence d'oxygène, absence de ressource etc.). Il est probable que quelques Rhabditidae aient pu survivre en forme *dauer-larvae* pendant la phase anaérobie de la méthanisation et se soient multipliés dès la sortie du méthaniseur. Les autres types de nématodes détectés dans les digestats sont probablement le résultat d'une colonisation post-méthanisation pendant la phase de repos des digestats (cette hypothèse est également plausible pour les Rhabditidae).

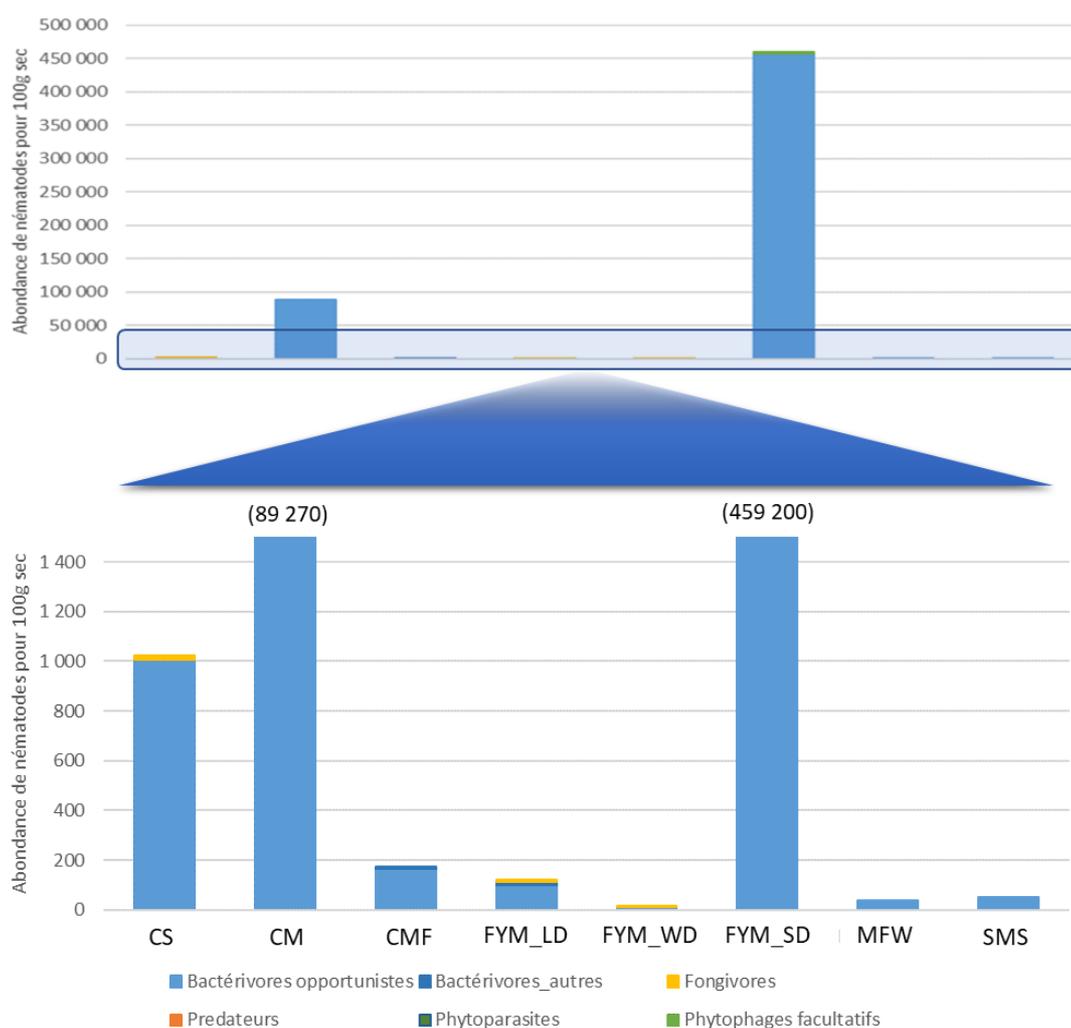


Figure 12 : Abondance des différents types de nématodes observés dans les matières organiques apportées (nb nématodes/100g matières sèches). Deux échelles sont présentées.

L'apport de 100g de produit brut de chacun de ces produits a conduit à un apport de nématodes dans les sols dont les quantités sont estimées dans le Tableau 5.

	CS	CM	CMF	FYM_LD	FYM_WD	FYM_SD	MFW	SMS
<b>Libres</b>	<b>16</b>	<b>17 230</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>1</b>	<b>121 144</b>	<b>1</b>	<b>3</b>
Bactérivores opportunistes			11	11	1	121 144	1	3
Bactérivores autres			1	1				
Fongivores				1				
Prédateurs								
<b>Phytophages</b>	<b>16</b>	<b>17 230</b>				<b>546</b>		
Phytoparasites								
Phytophages facultatifs						546		
<b>Total</b>	<b>16</b>	<b>17 230</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>1</b>	<b>121 690</b>	<b>1</b>	<b>3</b>

Tableau 5 : Estimation du nombre de nématodes apportés dans les mésocosmes pour 100g brut de produits (= nombre de nématodes apportés par mésocosme avec les produits). Case vide : absence de nématodes. Libres : Bactérivores opportunistes + Bactérivores autres+ Fongivores + Prédateurs. Phytophages : Phytoparasites + Phytophages facultatifs.

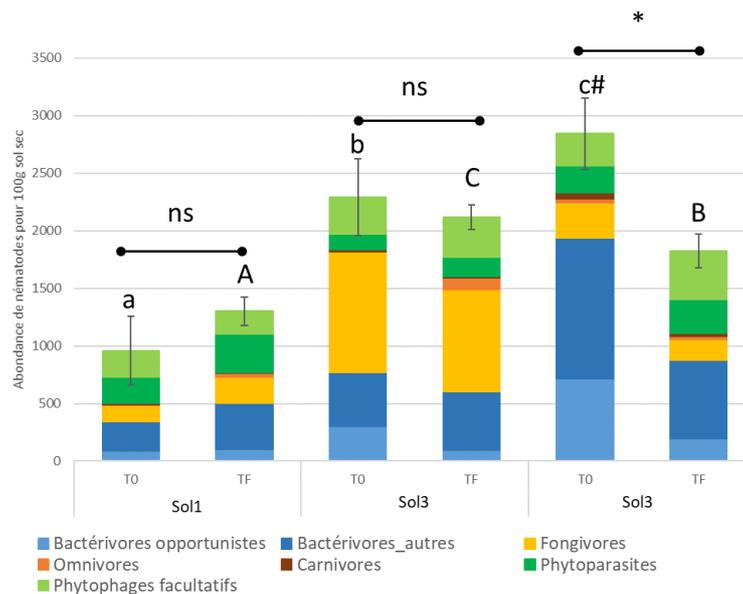
L'apport de plus de 120 000 nématodes (essentiellement des Rhabditidae) par FYM\_SD pour un volume de 5,6 L de sol sec de la partie amendé du mésocosme représente un apport d'environ 20 nématodes par gramme de sol sec. C'est un apport de nématodes très important. L'apport lié au fumier est plus modéré (<3 nématodes apporté par gramme de sol sec), il est négligeable pour les autres modalités.

### *Caractérisation de la nématofaune des 3 sols avant l'apport des produits résiduaux organiques (Digestats et fumier non digéré) et évaluation de l'évolution du témoin Eau au cours de l'expérience*

A T0, les 3 sols présentaient une abondance de nématodes libres (paramètre qui caractérise un niveau d'activité biologique d'un sol) significativement différente avec un gradient du niveau d'activité biologique dans l'ordre suivant : Pays de la Loire (Sol 3 - PDL) > Provence-Alpes-Côte d'Azur (Sol 2 - PACA) > Bourgogne (Sol 1 - BOU) (Figure 13). Les trois sols présentaient à T0 un niveau d'activité biologique satisfaisant pour un usage agricole de type « grandes cultures » (référentiel ELIPTO®). Ces caractéristiques de la nématofaune sont cohérentes avec les caractéristiques physico-chimiques des sols : Sol 3 - PDL est un sol à texture argileuse, riche en carbone organique et en azote (plus favorable à l'activité bactérienne) ; Sol 2 - PACA est un sol sableux avec des teneurs en carbone organique et en azote faibles, Sol 1 - BOU est un sol limoneux avec des teneurs en carbone organique et en azote faibles. (Tableau 3). Sol 2 - PACA et Sol 3 - PDL ont un pH à tendance acide (pH = 6,6 et 6,7 respectivement) tandis que Sol 1 - BOU est basique (pH = 7,8). Sol 1 - BOU se démarque également par une CEC plus importante.

Le diagnostic du réseau trophique indiquait des milieux enrichis et perturbés. L'indice d'enrichissement (EI) était plus élevé dans Sol 3 - PDL que dans Sol 1 - BOU indiquant des flux de nutriments issus de l'activité biologique plus importants dans ce sol malgré une CEC plus faible. L'indice de structure (SI) était réduit pour les trois sols et indiquait une complexité du réseau trophique réduite : ces sols recueillaient une diversité fonctionnelle faible. L'indice de diversité de Shannon était moyen, et légèrement plus élevé pour Sol 1 - BOU (Tableau 6).

**Le fonctionnement biologique de ces 3 sols peut être considéré comme limité. Ces conditions sont représentatives de parcelles agricoles avec de faibles apports de matières organiques.**



**Figure 13 :** Abondance des différents groupes trophiques de nématodes dans les 3 sols au moment la mise en place de l'essai (T0) et à la fin de l'essai (TF) dans la modalité témoin Eau. Sol 1 = sol de Bourgogne ; Sol 2 = sol de Provence côte d'Azur ; Sol 3 = sol des Pays de Loire. (Minuscule : ANOVA entre les 3 sols à T0, MAJUSCULE : ANOVA entre les 3 sols à TF, \* = différence significative de l'abondance totale de nématodes entre T0 et TF, Test de Kruskal-Wallis, # : p-value < 0,1).

Item	Sol 1 - BOU			Sol 2 - PACA			Sol 3 - PDL		
	T0	TF	P-value	T0	TF	P-value	T0	TF	P-value
Indice d'Enrichissement (EI)	57a	51	0.04	61ab	47	0.04	68b	54	0.04
Indice de Structure (SI)	30a	25	NS*	14a	34	0.02	25a	43	0.02
Indice des Voies de Décomposition (IVD)	71a	68	NS	43b	41	NS	87c	83	NS
Indice de diversité de Shannon (H')	2.1b	2.1	NS	1.8a	1.8	NS	1.9ab	2.1	NS
Richesse taxonomique (N)	14a	15	NS	14a	14	NS	16a	18	NS

\*NS : Non Significatif

*Tableau 6 :* Valeurs moyennes des indices nématofauniques dans les trois types de sol étudiés au moment de la mise en place de l'essai (T0) et à la fin de l'essai (TF). Sol 1 = sol de Bourgogne ; Sol 2 = Sol de Provence côte d'Azur ; Sol 3 = Sol des Pays de Loire. Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (minuscule : ANOVA entre les types de sol à T0, MAJUSCULE : ANOVA entre les types de sol à TF, p-value T0/TF : Test de Kruskal-Wallis entre T0 et TF au sein de chaque sol).

La comparaison des communautés de nématodes dans le témoin Eau entre T0 et TF permet d'évaluer les conditions de l'expérience. Ce sont essentiellement des fluctuations d'abondances de nématodes microbivores qui sont observées dans les trois sols entre T0 et TF. L'abondance de nématodes bactériovores opportunistes a significativement diminué dans le témoin Eau du Sol 2 tandis que celle des nématodes fongivores a significativement augmentée dans le témoin Eau du Sol 2 (Figure 13). L'abondance des nématodes bactériovores et fongivores a significativement diminuée dans le témoin Eau du Sol 3. En parallèle, l'Indice d'Enrichissement (EI) a significativement réduit dans les trois sols, indiquant une réduction des flux de nutriments au cours du mois d'incubation (Tableau 6). Ces variations sont probablement liées à une raréfaction de la disponibilité de matières organiques labiles, facilement dégradables, limitant l'activité bactérienne dans les sols. Il est également possible que la phase d'échantillonnage, transport, stockage et tamisage des sols ait favorisé temporairement l'oxygénation des sols et donc les fonctions de transformation de la matière organique à T0, expliquant de plus fortes abondances de nématodes microbivores à cette date. Les sols sableux et limoneux, tels que les Sols 2 et 3 peuvent être plus sensibles à ce type de manipulations que les sols argileux, plus lourd tel que Sol 1.

L'abondance de nématodes omnivores a significativement augmenté dans les sols 1 et 2, elle a faiblement varié pour le Sol 3, indiquant des conditions stables, favorables au développement des organismes les plus sensibles pendant les 42 jours de l'essai. Du fait d'une plus forte proportion de nématodes omnivores et prédateurs à TF, l'indice de Structure (SI) a légèrement augmenté dans les sols 2 et 3 (Tableau 6).

**Le fonctionnement biologique global du témoin Eau des trois sols à TF est similaire à celui de T0 et peut être considéré comme limité.**

Les analyses statistiques multivariées montrent de fortes différences entre les trois sols en termes de composition faunistique. Ces analyses permettent de comparer les structures taxonomiques des communautés entre les modalités. L'analyse statistique multivariée Multi-Dimensionnal Scaling (MDS) a été réalisée sur les abondances des familles de nématodes du sol. Elle permet de comparer les communautés biologiques entre les différents échantillons étudiés. Sur le plan MDS, les points les plus proches sont ceux qui présentent les communautés biologiques les plus similaires. Au contraire, les points les plus éloignés ont des communautés biologiques du sol très différentes.

Sur la projection MDS réalisée à partir des abondances de nématodes par famille, les points sont regroupés par type de sols et faiblement par type de digestat, indiquant un effet Sol prépondérant sur les effets des traitements (Figure 14).

Une analyse PERMANOVA sur les mêmes données confirme un effet « Sol » et « Traitement » significatif mais également une interaction significative entre ces deux facteurs (non-présenté) : la structure taxonomique des communautés de nématodes dépend du type de sol, du traitement appliqué et les effets d'un même traitement peuvent varier d'un sol à un autre.

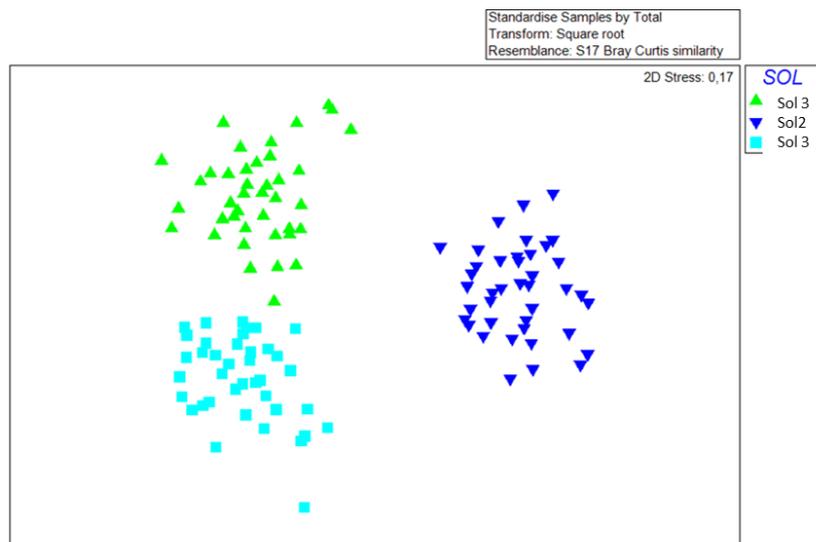


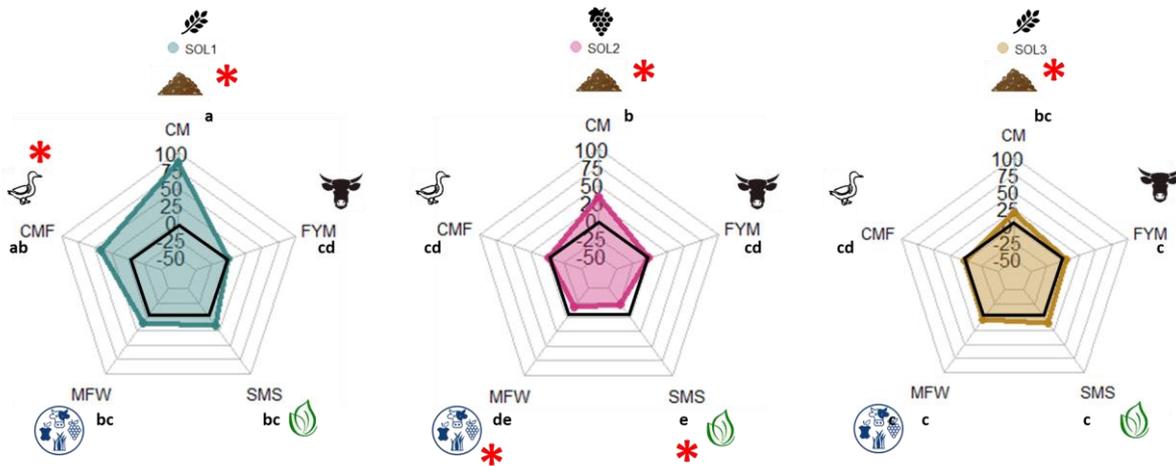
Figure 14 : MDS effectuée sur les abondances de nématodes par familles en fonction des sols d'origine à TF.

#### 2.2.1.3.1. Effet des digestats

Quarante-deux jours après incubation, pour l'ensemble des indicateurs de la nématofaune des sols (abondance de nématodes libres, indice d'enrichissement, indice de structure, diversité de Shannon) un effet significatif du type de traitement et du type de sol est mesuré ainsi qu'une interaction entre ces deux facteurs (ANOVA 2 facteurs, P-value <0.001). L'interaction entre le type de sol et le type de traitement indique que l'apport d'un digestat ou d'un fumier peut avoir un effet variable selon le sol sur lequel il est appliqué ; un même sol peut réagir différemment selon le type de digestat qui est appliqué.

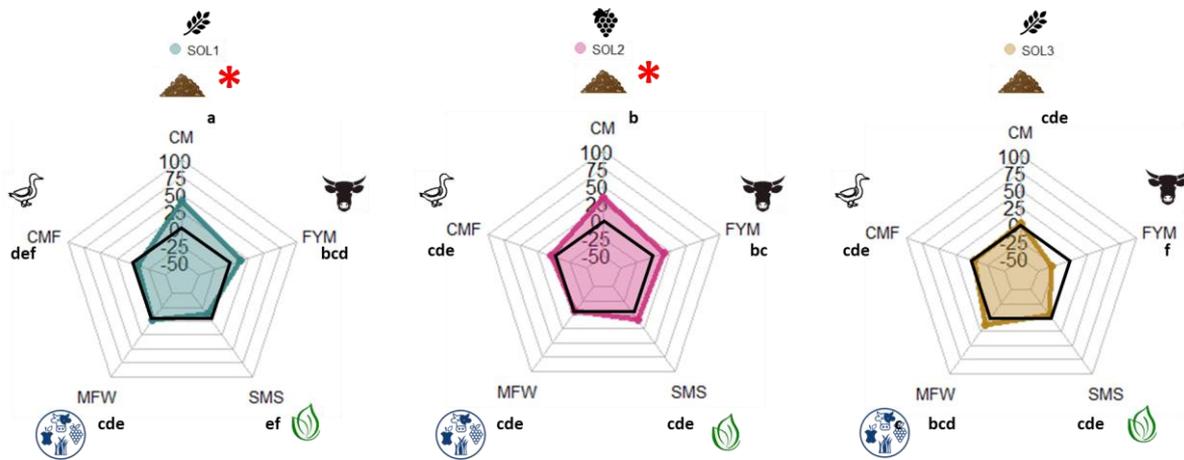
Après 42 jours d'incubation, les résultats obtenus montrent qu'en comparaison à un apport d'eau (Témoin sans apport) l'apport de fumier (CM) augmente l'abondance des nématodes libres quel que soit le sol considéré (Sol 1, 2 ou 3, Figure 15). Les nématodes impliqués dans cette augmentation sont des nématodes bactériovores opportunistes de la famille des Rhabditidae, probablement apportés directement par le fumier et dont les populations se sont maintenues dans les sols amendés (non présentés). L'apport de CMF (digestat de lisier de canard et de graisse) augmente l'abondance des nématodes libres pour le Sol 1 uniquement. En revanche, l'apport de MFW (digestat de fumier, matières végétales et biodéchets) et SMS (digestat de matière végétale uniquement) réduisent significativement l'abondance des nématodes libres du Sol 2 par rapport au traitement Eau. De manière générale, l'apport de fumier (CM) induit une abondance des nématodes libres supérieure aux apports de digestats dans les Sols 1 et 2 (sauf par rapport à CMF dans le Sol 1). Cet effet est également visible mais non significatif pour le Sol 3.

Les nématodes stimulés par les CM et CMF sont majoritairement bactériovores et dans une moindre mesure fongivores (données non-présentées).



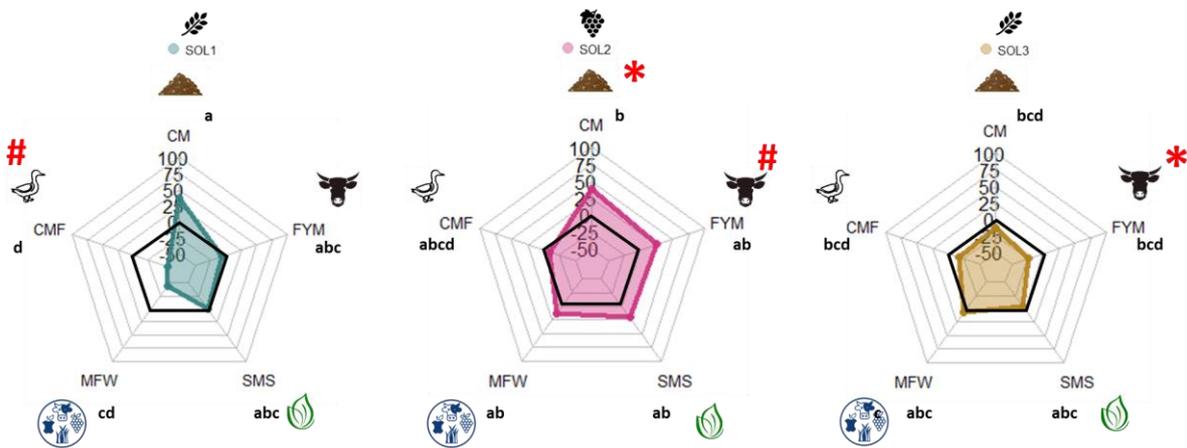
**Figure 15 :** Effet de différents types de digestats et d'un fumier appliqué à 3 types de sol sur l'abondance de nématodes libres du sol. Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%). \*indique une différence significative par rapport au témoin Eau (Test de Dunett, p-value < 0,05). Les résultats suivis d'une même lettre ne sont pas significativement différents (ANOVA 1 facteur, p-value < 0.05).

L'apport de fumier (CM) augmente l'indice d'enrichissement (EI) dans les sols 1 et 2 par rapport au traitement Eau (Figure 16). Les autres traitements n'ont pas induit d'effet significatif par rapport au témoin Eau, mais montrent une tendance à maintenir voire augmenter cet indice. Seul l'apport de FYM (digestat de fumier) dans le Sol 3 tend à réduire cet indice.



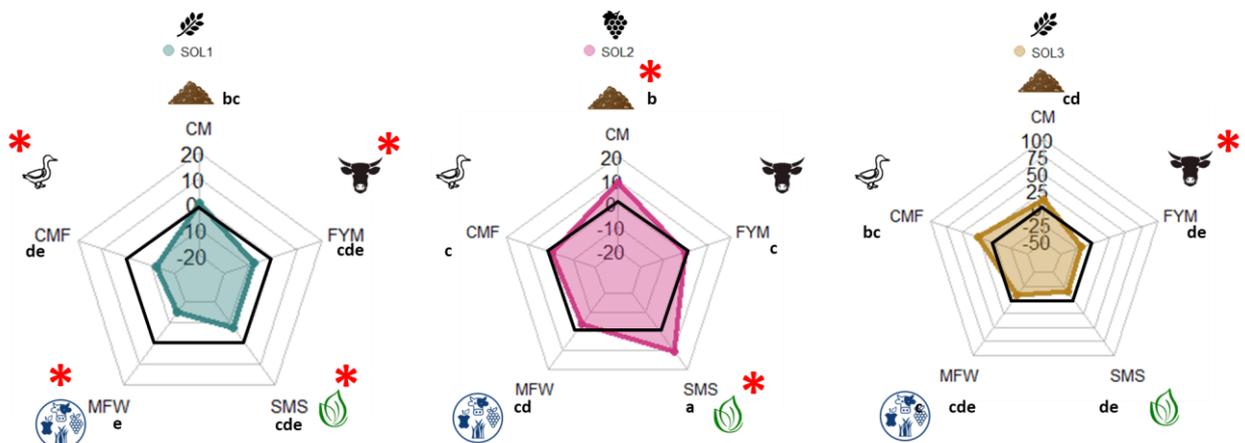
**Figure 16 :** Effet de différents types de digestats et d'un fumier appliqués à 3 types de sol sur Indice d'Enrichissement (EI). Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%). \*indique une différence significative par rapport au témoin Eau (Test de Dunett, p-value < 0,05). Les résultats suivis d'une même lettre ne sont pas significativement différents (ANOVA 1 facteur, p-value < 0.05).

L'apport de fumier (CM) augmente l'indice SI dans le Sol 2 par rapport au traitement Eau (Figure 17). Cette tendance s'observe également dans le Sol 1 mais n'est pas significative. Toutefois, dans le Sol 1, l'apport de CM permet une augmentation de l'indice SI significativement plus élevée que les traitements CMF et MFW. CM tend en revanche à réduire SI dans le Sol 3 (-13% par rapport au traitement Eau, non significatif). L'apport de digestat de fumier brut (FYM) présente un résultat variable selon le sol sur lequel il est apporté : FYM est sans effet sur le Sol 1, augmente significativement SI par rapport à Eau sur le Sol 2 (Test de Dunett, p-value < 0,1) et réduit significativement SI par rapport à Eau sur le Sol 3. L'apport de CMF réduit également SI par rapport à Eau dans le Sol 1, MFW présente la même tendance mais de manière non-significative (forte hétérogénéité des résultats). De manière globale, les différents traitements ont eu plus d'effet sur les Sols 1 et 2 que sur le Sol 3.



**Figure 17 :** Effet de différents types de digestats et d'un fumier appliqués à 3 types de sol sur l'Indice de Structure. Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%). \*indique une différence significative par rapport au témoin Eau (Test de Dunett, p-value < 0,05, # p-value<0,1).

Dans le Sol 1, tous les digestats induisent une réduction significative de l'indice de diversité de Shannon (H') par rapport au traitement Eau (-10% en moyenne, Figure 18). Dans ce sol, l'apport de CM permet de maintenir un indice H' similaire au traitement Eau, significativement supérieur aux autres traitements. Les apports de CM et SMS dans le Sol 2 augmente l'indice H' à un niveau significativement supérieur aux autres traitements, qui sont restés sans effet. Dans le Sol 3, l'apport de digestat de fumier réduit l'indice H' par rapport au traitement Eau. SMS et MFW tendent également à réduire cet indice dans ce sol, CMF et CM tendent en revanche à l'augmenter (non-significatifs).



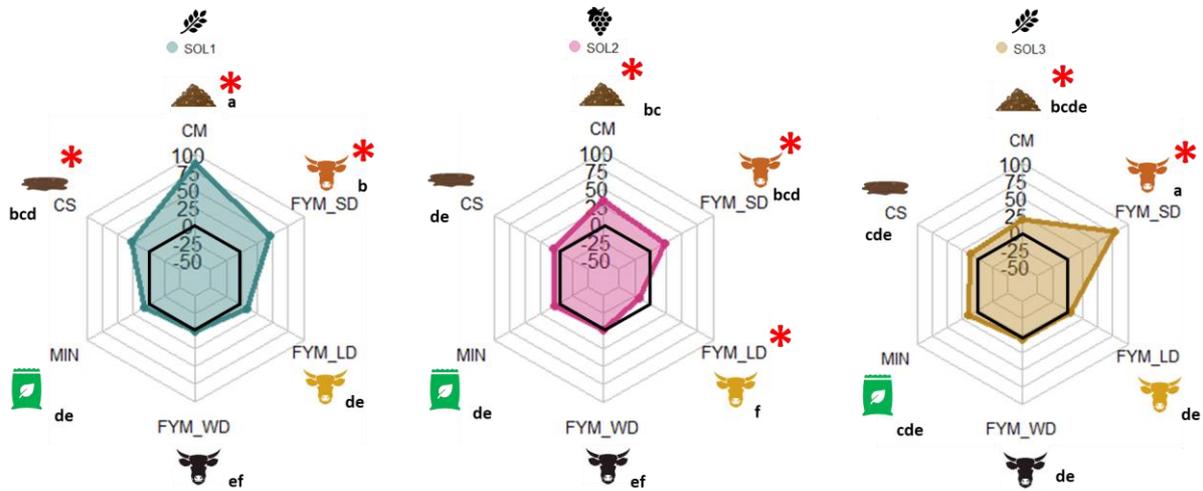
**Figure 18 :** Effet de différents types de digestats et d'un fumier appliqué à 3 types de sol sur l'Indice de diversité de Shannon. Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%). \*indique une différence significative par rapport au témoin Eau (Test de Dunett, p-value < 0,05, # p-value<0,1). Les résultats suivis d'une même lettre ne sont pas significativement différents (ANOVA 1 facteur, p-value < 0.05).

### 2.2.1.3.2. Effet des fractions

Quarante-deux jours après incubation, seul les indicateurs « abondance de nématodes libres » et « indice d'enrichissement (EI) » indiquent un effet significatif du type de traitement, du type sol (P<0.001) et une interaction entre ces deux facteurs. Les résultats des indicateurs « Indice de Structure » et « Diversité de Shannon » n'ont pas présenté d'interaction entre les facteurs « Sol » et « type de traitement » permettant une généralisation des effets des traitements quel que soit le sol. L'effet sol est resté toutefois important et significatif quel que soit le traitement.

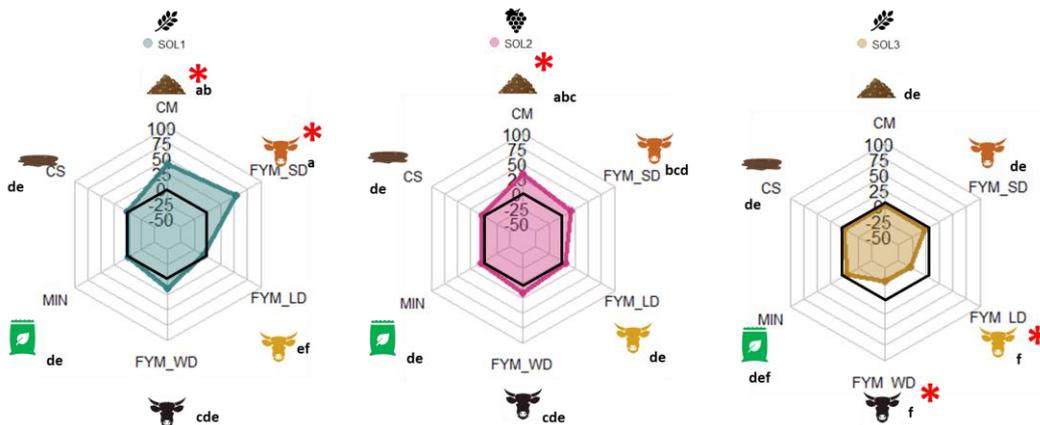
Après 42 jours d'incubation, l'abondance de nématodes libres montrent qu'en comparaison à un apport d'eau (Témoin sans apport) l'apport de fumier (CM) et de fraction solide de digestat de fumier (FYM\_SD) augmentent l'activité biologique des sols quel que soit le sol considéré (Sol 1, 2 ou 3, Figure 19). Ici encore, les nématodes impliqués dans cette augmentation sont des nématodes bactériovores opportunistes de la famille des Rhabditidae, probablement apporté directement par les apports et

dont les populations se sont maintenues dans les sols amendés. L'apport de CS augmente l'abondance de nématode par rapport au traitement Eau dans le Sol 1. En revanche, l'apport de la fraction liquide du digestat de fumier (FYM\_LD) a réduit significativement l'abondance de ces nématodes dans le Sol 2. Dans les trois sols, l'apport de fumier (CM) et de FYM\_SD ont induit un niveau d'activité biologique supérieur aux fractions liquide et brut du même digestat. Ces fractions liquide et brut ont un effet similaire ou moins favorable par rapport à un apport de fertilisation minérale (MIN).



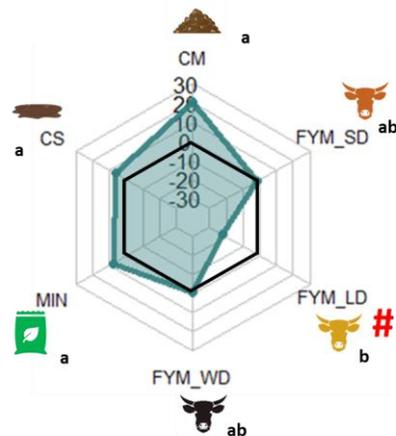
**Figure 19 :** Effet de différentes fractions de digestats, d'un lisier, d'un fumier et d'une fertilisation minérale appliqués à 3 types de sol sur l'abondance de nématodes libres des sols. Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%). \*indique une différence significative par rapport au témoin Eau (Test de Dunett, p-value < 0,05, # p-value<0,1). Les résultats suivis d'une même lettre ne sont pas significativement différents (ANOVA 1 facteur, p-value < 0.05).

L'apport de fumier (CM) et de la fraction solide du digestat de fumier (FYM\_SD) ont induit une augmentation significative de l'indice d'enrichissement (EI) dans le Sol 1 par rapport au traitement Eau et aux autres traitements (Figure 20) Cet effet stimulant sur EI est également observé dans le Sol 2 (mais non significatif pour FYM\_SD). Aucun apport n'a augmenté EI dans le Sol 3, au contraire les apports des fractions liquides (FYM\_LD) et brutes (FYM\_WD) ont induit une réduction significative de cet indice par rapport au traitement Eau dans ce sol.



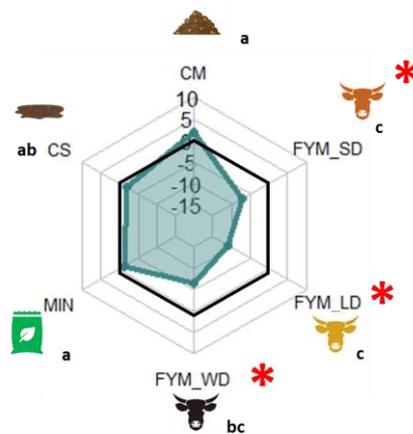
**Figure 20 :** Effet de différentes fractions de digestats, d'un lisier, d'un fumier et d'une fertilisation minérale appliqués à 3 types de sol sur l'Indice d'enrichissement (EI). Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%). \*indique une différence significative par rapport au témoin Eau (Test de Dunett, p-value < 0,05, # p-value<0,1). Les résultats suivis d'une même lettre ne sont pas significativement différents (ANOVA 1 facteur, p-value < 0.05).

Quel que soit le sol sur lequel elle est apportée, la fraction liquide du digestat de méthanisation (FYM\_LD) réduit l'indice SI des sols (Figure 21) ; cette tendance reste toutefois très variable (forte hétérogénéité des résultats entre sol et pour un même sol, p-value <0,1). Les autres fractions tendent à maintenir cet indice sans différence entre les traitements (Eau compris).



**Figure 21 :** Effet de différentes fractions de digestats, d'un lisier, d'un fumier et d'une fertilisation minérale sur l'Indice de Structure (SI) (moyenne des 3 sols testés). Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%). \*indique une différence significative par rapport au témoin Eau (Test de Dunett, p-value < 0,05, # p-value<0,1). Les résultats suivis d'une même lettre ne sont pas significativement différents (ANOVA 1 facteur, p-value < 0.05).

Quel que soit le sol sur lequel elles sont apportées, les fractions brut (FYM\_WD), liquide (FYM\_LD) et solide (FYM\_SD) des digestats de fumier réduisent l'indice de diversité de Shannon par rapport au traitement Eau sans différence entre les trois fractions (Figure 22). L'apport de lisier (CS) et de fertilisation minérale (MIN) permet de maintenir cet indice à un niveau significativement plus élevé que les fractions.



**Figure 22 :** Effet de différentes fractions de digestats, d'un lisier, d'un fumier et d'une fertilisation minérale sur l'Indice de diversité de Shannon (moyenne des 3 sols testés). Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%). \*indique une différence significative par rapport au témoin Eau (Test de Dunett, p-value < 0,05, # p-value<0,1). Les résultats suivis d'une même lettre ne sont pas significativement différents (ANOVA 1 facteur, p-value < 0.05).

### 2.2.1.3.3. *Synthèse des résultats nématodes*

Les résultats de l'essai confirment que l'effet d'un apport de matières organiques dont des digestats est variable en fonction du sol sur lequel il est appliqué et de la nature de ces matières organiques. De plus, les matières organiques apportées peuvent être des inoculas de nématodes comme c'est le cas pour le fumier ou FYM\_SD.

Les sols utilisés ici se différencient les uns des autres par des structures des communautés de nématodes différentes et les principales différences entre ces sols à T0 sont globalement conservés avec les différents apports. Par exemple, le Sol 1 conserve l'abondance de nématodes libres la plus faible même après les apports.

#### Effet des apports :

De manière attendue, les effets des apports réalisés dans cet essai sont comparables à un effet fertilisant en induisant une plus forte abondance des nématodes libres, et essentiellement les nématodes microbivores (bactérovores et fongivores) ; ces organismes sont liés aux fonctions de transformation des matières organiques et du recyclage des nutriments dans les sols. La stimulation de l'activité biologique caractérisée par l'augmentation de l'abondance des nématodes libres dans les sols semble fortement liée aux quantités de carbone apportées. Ce résultat a déjà été mis en avant dans de nombreuses études et pour de nombreux type de matières organiques (eg. Meta-analyses de Liu et al., 2018 et de Puissant et al., 2021).

#### Effet des digestats :

Dans cette étude, les apports de digestats ont un effet faible sur l'abondance des nématodes libres, notamment en comparaison à un apport de fumier ou un traitement sans apport. La faible stimulation de l'indice d'enrichissement malgré les forts flux de nutriments dans les sols (nitrate notamment) par les digestats est surprenante mais provient probablement du fait que la majeure partie des éléments apportés par les digestats sont sous formes minérales et ne représentent pas une ressource pour les organismes du sol. Tous les apports de digestats tendent à réduire la diversité des nématodes du sol ; cet effet est particulièrement marqué pour les digestats CMF et MWF.

De manière globale, les différents traitements ont eu plus d'effet sur les Sols 1 et 2 que sur le Sol 3.

#### Effet des fractions du digestat de fumier :

La fraction solide du digestat de fumier (FYM\_SD) permet d'obtenir des résultats comparables à ceux d'un apport de fumier (augmentation de l'abondance de nématodes libres et de EI, maintien de SII). FYM\_SD tend toutefois à réduire la diversité des nématodes dans le sol, mais ceci est un effet indirect, dû à une spécialisation de la communauté avec une forte proportion de nématodes bactérovores opportunistes (cp1) de la famille de Rhabditidae. Ce résultat est à mettre en relation avec les quantités importantes d'azote et de carbone organique apportés par ce traitement mais aussi à l'apport important de Rhabditidae directement par le digestat. Cet apport ayant potentiellement joué un rôle d'inocula dans le sol, avec une survie moyenne de 5 à 15% des organismes apportées.

En revanche la fraction brute (FYM\_WD) et liquide (FYM\_LD) présente un faible effet sur l'abondance des nématodes libres et l'indice d'Enrichissement (EI) avec une tendance à réduire la diversité fonctionnelle (Indice de Structure : SI) et taxonomique des communautés de nématodes (Indice de Shannon).

## 2.2.2. Expérimentation en microcosmes

### 2.2.2.1. Description du dispositif expérimental

Les modalités étudiées en microcosmes sont similaires aux expérimentations en mésocosmes. Ainsi, les modalités du facteur « sol » (3 modalités) et du facteur « digestat » (10 modalités d'apport dont 6 digestats, 1 témoin fumier, 1 témoin lisier, 1 témoin fertilisation minérale et 1 témoin eau) ont été croisées. Les traitements ont été répétés quatre fois. Le dispositif expérimental a donc consisté en 120 microcosmes (3 modalités du facteur sol x 10 modalités d'apport du facteur digestat x 4 répétitions) qui ont été mis en œuvre à INRAE, centre Bretagne-Normandie au laboratoire de microbiologie de l'UR OPAALE au printemps 2021 (Figure 23).



Figure 23 : Un dispositif expérimental constitué de 120 microcosmes.

Les microcosmes ont été construits dans des contenants stériles d'une capacité de 250 ml. Soixante grammes de sol équivalent poids sec ont été rajoutés à chaque microcosme. Avant l'incorporation du digestat, les sols sont pré-incubés à 15°C pendant 14 jours pour permettre la stabilisation du système. Les microcosmes sont aérés une fois par semaine pendant la durée de pré-incubation. Pour cela, après avoir dévissé leur bouchon, les microcosmes sont placés sous un poste de sécurité microbiologique (Figure 23) avec la porte fermée pour une durée de 20 minutes.

Après cette période de pré-incubation, les matières organiques (digestats, fumier, lisier) sont ajoutées à raison de 0,682 g par microcosme et l'humidité est ajustée à 70% de la capacité au champ du sol. **Cet apport de matière organique correspond à une pratique agronomique d'apport de 25 tonnes par hectare.** Pour la solution minérale NO<sub>3</sub>NH<sub>4</sub>, un apport équivalent total de 120Kg d'N/Ha a été réalisé. Un dernier témoin sans fertilisation est inclus dans le dispositif expérimental avec un ajustement de l'humidité du sol. En raison de leur hétérogénéité, les digestats bruts et les fumiers sont broyés avant incorporation dans les microcosmes. La phase liquide des digestats bruts est séparée avant broyage puis réincorporée. Les microcosmes sont incubés pendant 42 jours à 15°C ± 1°C. Pendant toute la durée d'incubation, les microcosmes sont aérés deux fois par semaine et l'humidité du sol est contrôlée par pesée à chaque aération. Si nécessaire, l'humidité est réajustée à sa valeur initiale par ajout d'un volume d'eau distillée stérile.

A la fin de la période d'incubation les microcosmes sont sacrifiés. Plusieurs paramètres sont analysés dans les laboratoires de l'UR OPAALE : la présence/absence de plusieurs bactéries pathogènes (*Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* et *Klebsiella pneumoniae*) est réalisée sur un échantillon de 10 g de sol pour chaque espèce bactérienne. La stratégie mise en place pour la détection des indicateurs sanitaires combine l'approche culturale avec la détection moléculaire des microorganismes recherchés. Brièvement, le sol prélevé est incubé dans plusieurs milieux d'enrichissement selon les procédures de routine mises en place au laboratoire pour la recherche de pathogènes dans le sol et dans les prélèvements de matrices environnementales. La recherche de *L. monocytogenes* est basée sur l'enrichissement sélectif en milieu Fraser suivi de la détection des gènes *prs* et *inlA* (Locatelli *et al.*, 2013). La détection des bactéries de complexe Kp est obtenue à l'aide de la méthode de PCR en temps réel ZKIR après enrichissement dans du LB (Lysogeny Broth) (Barbier *et al.*, 2020). La recherche de *Salmonella enterica* est basée sur l'enrichissement suivi de la détection du gène *invA* (Yergeau *et al.*, 2016). Le dénombrement d'*Escherichia coli* se fait sur le milieu TBX après dilution au dixième de 10 g de sol dans de l'eau peptonée tamponnée.

Un échantillon de 10 g de sol est également prélevé pour l'analyse de la diversité bactérienne (16S) et fongique (18S) par NGS. Ces analyses ont été réalisées à INRAE, Centre Bourgogne-Franche Comté par l'UMR Agroécologie. Un dernier prélèvement de 10 g de sol est destiné à la mesure de paramètres physico-chimiques.

#### 2.2.2.2. Impact de différents types de digestats sur la physico-chimie des sols à court termes

Quarante-deux jours après incubation, la physico-chimie des sols amendés avec les différents matériaux organiques (digestats, fumier...) se discriminait en fonction du type de sol et non du type d'apport (Figure 24).

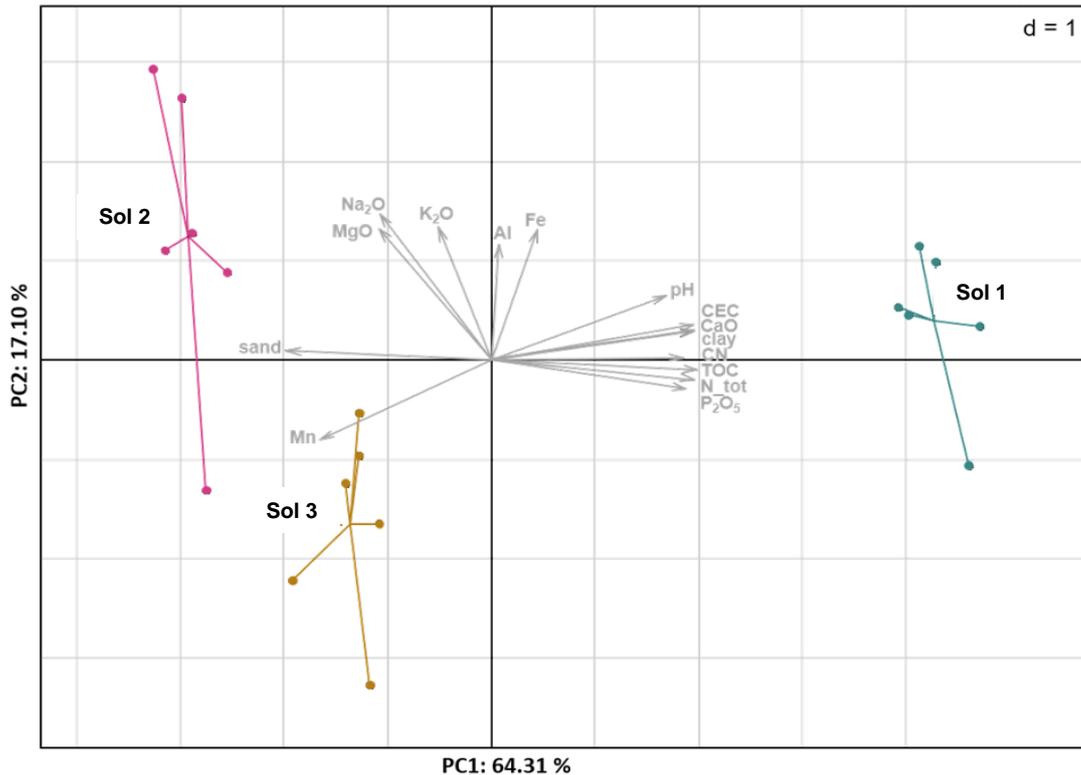


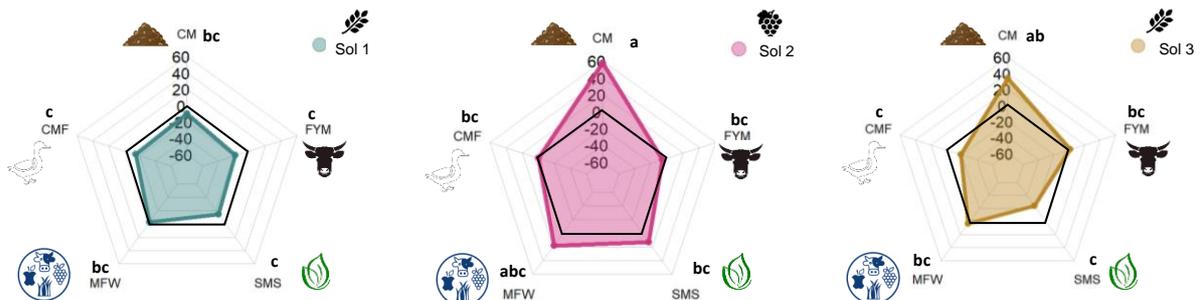
Figure 24 : Analyse en composante principale de la physico-chimie des sols 42 jours après incubation.

### 2.2.2.3. Impact de différents types de digestats sur la qualité microbienne des sols à court terme

#### 2.2.2.3.1. Effet du type de digestat

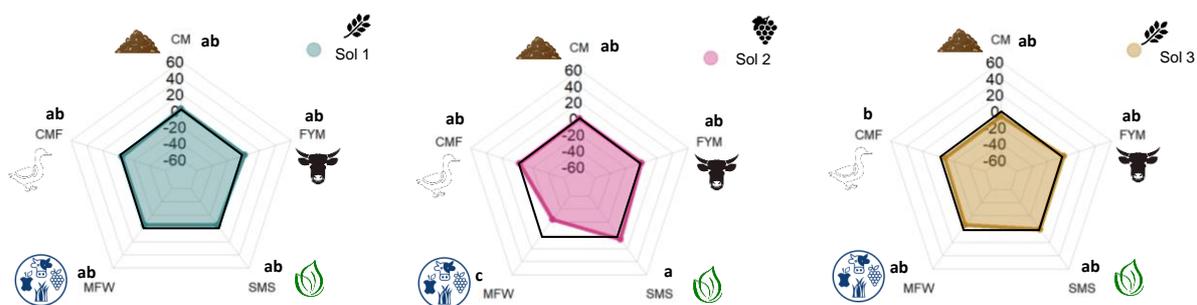
Quarante-deux jours après incubation, pour l'ensemble des indicateurs relatifs à la microbiologie des sols (Biomasse microbienne, Diversité taxonomique des bactéries et des champignons) un effet significatif du type de digestat a été observé en fonction de chaque type sol ( $P < 0.001$ ).

Concernant la biomasse microbienne (Figure 25), les résultats obtenus montrent qu'en comparaison à un apport de fumier classique, non digéré (CM), l'apport de certains types de digestats induit des valeurs de biomasse microbienne des sols significativement plus faibles. Cet effet est dépendant du type de sol et du type de digestats. Ainsi, pour le sol 1 (BOU), l'apport de digestats de méthanisation induit un effet comparable à un apport de fumier non digéré. Pour le sol 2 (PACA), l'apport de digestat de type FYM, SMS et CMF induit une biomasse microbienne significativement plus faible que celle présente dans les sols des microcosmes ayant été amendés avec un fumier non digéré. Le digestat MFW, a quant à lui, un effet comparable au fumier non digéré. Enfin, pour le sol 3 (PDL), l'apport de digestat de type SMS et CMF induit une biomasse microbienne significativement plus faible que celle présente dans les sols des microcosmes ayant été amendés avec un fumier non digéré. Les digestats MFW et FYM, ont eux, un effet comparable au fumier non digéré.



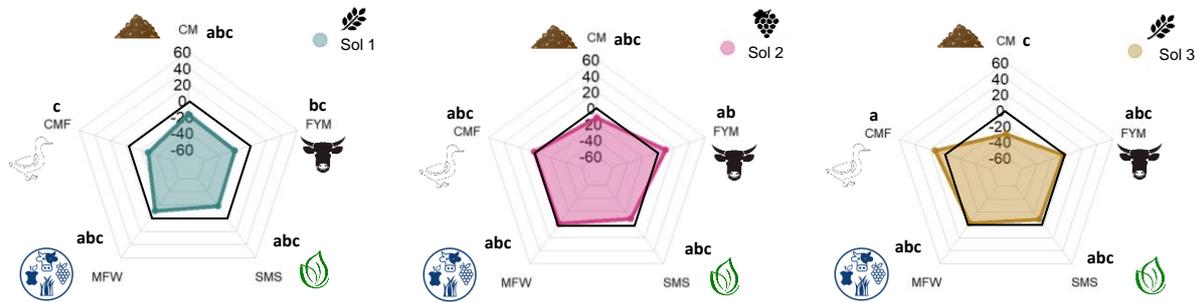
**Figure 25** : Effets croisés de différents types de digestats sur différents types de sol sur la biomasse microbienne des sols. Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%). Les différentes lettres indiquent des différences significatives entre les différentes modalités (ANOVA, Test de Tuckey).

Concernant la diversité bactérienne (Figure 26), les résultats obtenus montrent, comme pour les précédents indicateurs, un effet croisé du type de digestat et du type de sol. Pour les sols 1 (BOU) et 3 (PDL), l'apport de digestats de méthanisation, quel que soit son type, induit un effet comparable à un apport de fumier non digéré. En revanche, pour le sol 2 (PACA), l'apport de digestat de type MFW induit une diversité bactérienne significativement plus faible que celle présente dans les sols des microcosmes ayant été amendés avec un fumier non digéré.



**Figure 26** : Effet croisés de différents types de digestats sur différents types de sol sur la diversité (Richesse) bactérienne des sols. Les différentes lettres indiquent des différences significatives entre les différentes modalités (ANOVA, Test de Tuckey).

Concernant la diversité fongique (Figure 27), les résultats obtenus montrent, comme pour la diversité bactérienne, un effet croisé du type de digestat et du type de sol. Pour les sols 1 (BOU) et 2 (PACA), l'apport de digestats de méthanisation, quel que soit son type, induit un effet comparable à un apport de fumier non digéré. En revanche, pour le sol 3 (PDL), l'apport de digestat de type CMF induit une diversité fongique significativement plus importante en comparaison aux sols ayant reçu un apport de fumier non digéré.

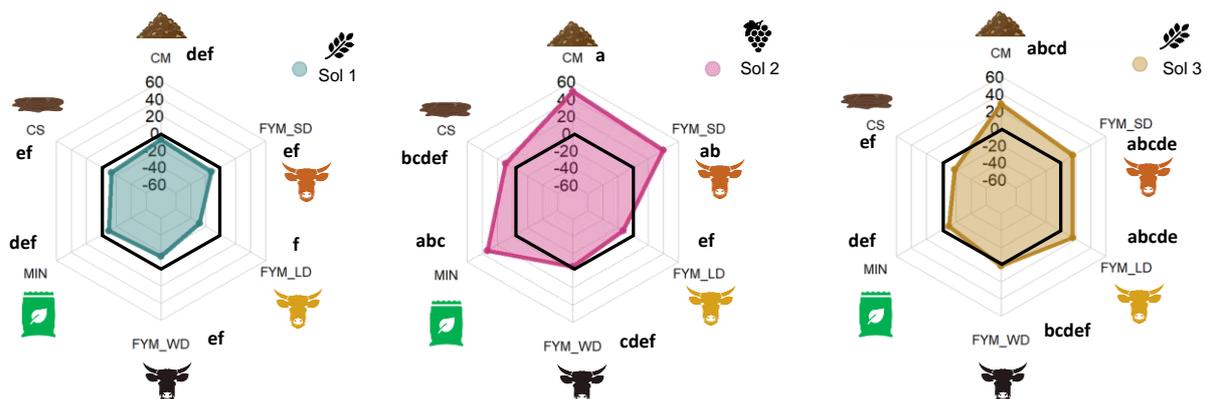


**Figure 27 :** Effet croisés de différents types de digestats sur différents types de sol sur la diversité (Richesse) fongique des sols. Les différentes lettres indiquent des différences significatives entre les différentes modalités (ANOVA, Test de Tuckey).

### 2.2.2.3.2. *Effet de la fraction*

Il s'agit ici d'évaluer l'effet du type de fraction (Brut (FYM WD), solide (FYM SD) ou liquide (FYM LD) du digestat sur la microbiologie des sols. Pour cela, les données obtenues seront comparées à trois autres témoins : un fumier non digéré (CM), un lisier non digéré (CS) également et un apport minéral (MIN).

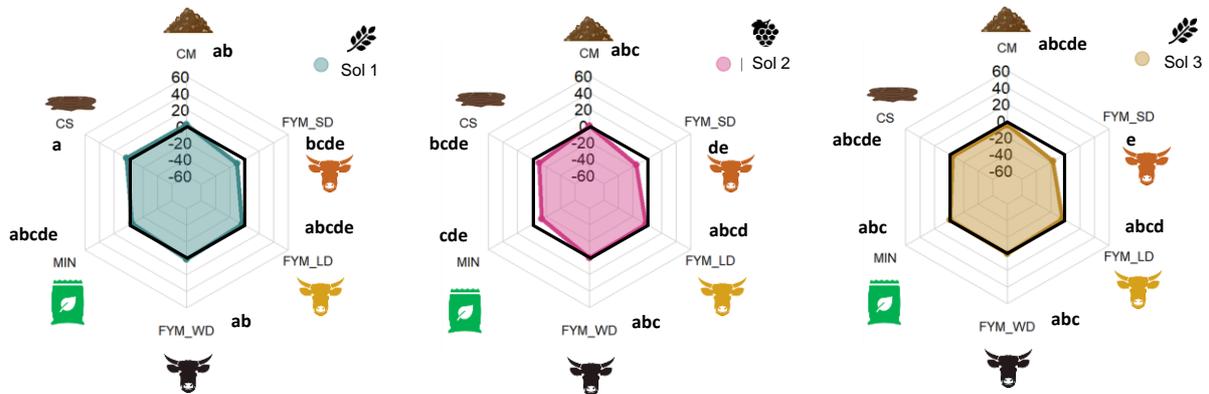
Concernant la biomasse microbienne (Figure 28), les résultats obtenus montrent que pour les sols de Bourgogne (Sol 1 - BOU) et de Pays de la Loire (Sol 3 - PDL), l'effet des trois fractions (brut, solide ou liquide) de digestats est comparable sur la biomasse microbienne des sols. Par ailleurs, quel que soit la fraction considérée, son effet sur la biomasse microbienne des sols 1 (BOU) et 3 (PDL) apparaît également comparable aux autres amendements témoins comme le fumier et le lisier non digéré et l'apport minéral. Sur le sol 2 (PACA) en revanche, un effet fraction est observé. Pour ce sol, la fraction solide du digestat induit une biomasse microbienne significativement plus importante que lorsque les fractions liquide ou brute sont apportées. En comparaison aux trois témoins (CM, CS et MIN) les fractions brute et liquide induisent une biomasse microbienne significativement plus faible dans les sols.



**Figure 28 :** Effet de la fraction du digestat sur la biomasse microbienne des sols. Les différentes lettres indiquent des différences significatives entre les différentes modalités (ANOVA, Test de Tuckey).

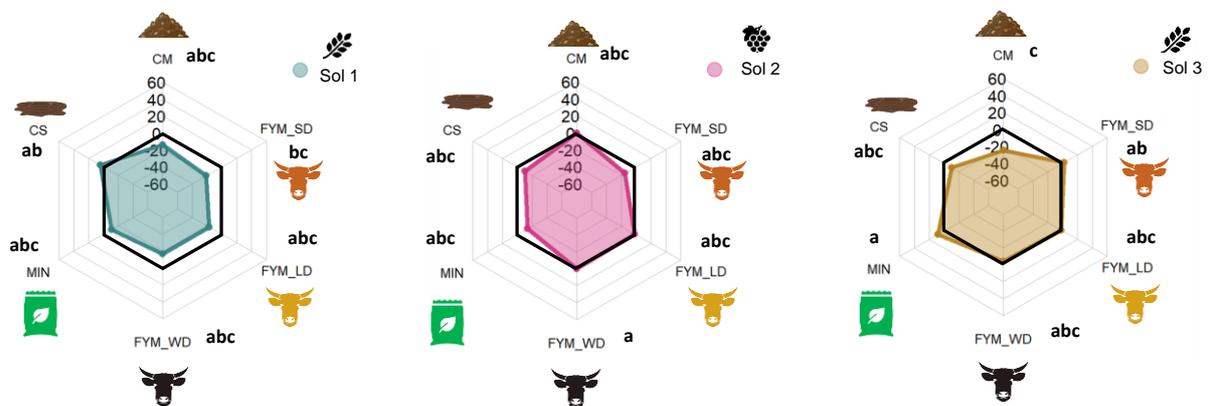
Concernant la diversité bactérienne (Figure 29), les résultats obtenus montrent que pour le sol 1 (BOU), l'effet des trois fractions (brut, solide ou liquide) de digestats est comparable sur la biomasse microbienne des sols. Par ailleurs, globalement, quelle que soit la fraction considérée, son effet sur la biomasse microbienne des sols 1 (BOU) et 3 (PDL) apparaît également comparable aux autres amendements témoins comme le fumier et le lisier non digéré et l'apport minéral. Seule la fraction solide induit une diversité bactérienne plus faible en comparaison à un apport de lisier. Pour les sols 2 (PACA) et 3 (PDL), un effet fraction est observé. Pour le sol 2 (PACA), la fraction solide du digestat induit une diversité bactérienne plus faible dans les sols par rapport au digestat brut. Pour le sol 3 (PDL) cet effet est également observé, mais cette fois c'est la fraction solide

qui induit une diversité bactérienne plus faible que la fraction liquide ou que le digestat brut lui-même. Lorsque l'on compare, pour les sols 2 (PACA) et 3 (PDL), l'effet des différentes fractions sur la diversité bactérienne des sols aux autres témoins (CM, CS et MIN), il apparaît pour le sol 2 que l'apport de la fraction solide induit une diversité bactérienne plus faible que lorsqu'un fumier non digéré est apporté. Pour le sol 3, c'est la fraction liquide du digestat qui induit une diversité bactérienne plus faible en comparaison avec un apport minéral.



**Figure 29 :** Effet de la fraction du digestat sur la diversité (Richesse) bactérienne des sols. Les différentes lettres indiquent des différences significatives entre les différentes modalités (ANOVA, Test de Tuckey).

Concernant la diversité fongique (Figure 30), les résultats obtenus montrent que pour l'ensemble des sols de l'étude, l'effet des trois fractions (brut, solide ou liquide) de digestats est comparable sur la biomasse microbienne des sols. Par ailleurs, pour les sols 1 (BOU) et 2 (PACA), quelle que soit la fraction considérée, la diversité fongique est comparable à celle observée dans les sols ayant reçu les apports témoins (fumier et le lisier non digéré et l'apport minéral). Pour le sol 3 (PDL) en revanche, une diversité fongique significativement plus importante est observée avec un apport de fraction solide de digestat en comparaison avec un apport de fumier non digéré (CM).



**Figure 30 :** Effet de la fraction du digestat sur la diversité (Richesse) fongique des sols. Les différentes lettres indiquent des différences significatives entre les différentes modalités (ANOVA, Test de Tuckey).

### 2.2.2.3.3. Synthèse des résultats sur la qualité microbiologique

Comme pour la plupart des autres bio indicateurs du projet, les résultats obtenus pour cette première partie du projet confirment que l'effet d'un apport de matières organiques dont des digestats est variable en fonction du sol sur lequel il est appliqué et de la nature de ces matières organiques. Au global, il apparaît que les sols sableux sont plus sensibles (chute de la biomasse microbienne, modification de la diversité microbienne présente) à l'apport de certains digestats ; notamment ceux présentant un C/N faible, soit une quantité d'azote (ammonium) importante.

Un effet de la fraction des digestats a également été observé sur les indicateurs relatifs à la microbiologie des sols. Cet effet fraction était d'autant plus marqué dans les sols sableux et limono-argileux. Ainsi, concernant la biomasse microbienne du sol, la fraction solide du digestat testé a un effet comparable à un fumier non digéré (augmentation de la biomasse microbienne). Toujours en comparaison à un fumier non digéré, l'apport de la fraction solide de digestat au sol induit une diminution de la diversité bactérienne, mais une augmentation de la diversité fongique présente dans les sols. Comme pour la biomasse microbienne, les effets observés sont fortement dépendant du type de sol considéré.

### 2.2.2.4. Impact à court terme de l'apport de différents types de digestats sur la présence de bactéries pathogènes dans les sols

#### 2.2.2.4.1. Analyse initiale des sols et des intrants

Les résultats de la recherche initiale des indicateurs sanitaires dans les trois sols sont consignés dans le tableau 7. Tous les dénombrements d'*E. coli* étaient sous le seuil de détection (<10 UFC/g). Parmi les espèces bactériennes pathogènes, la recherche dans 10 grammes de sol (présence/absence) n'a pas permis de mettre en évidence la présence de *S. enterica* et *L. monocytogenes*. Cependant, le genre *Listeria* était présent dans les trois sols ainsi que des bactéries appartenant au complexe Kp dans les sols 1 et 3.

	<i>E. coli</i> (UFC/g)	<i>S. enterica</i>	Complexe Kp	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria sp</i>
Sol 1	<10	ND*	+	ND	+
Sol 2	<10	ND	ND	ND	+
Sol 3	<10	ND	+	ND	+

\*Non Détecté

Tableau 7 : Résultats du dénombrement d'*E. coli* et de la détection moléculaire des indicateurs dans les sols à T0.

En ce qui concerne les digestats qui ont été utilisés dans cette expérimentation, *S. enterica* n'a jamais été détectée (Tableau 8). Les dénombrements d'*E. coli* étaient sous le seuil de détection à l'exception du digestat SMS. Ce dernier contenait également *L. monocytogenes* ainsi que des bactéries du complexe Kp. L'isolement sur géloses sélectives Rapid'L mono a permis la mise en collection d'une souche de *L. monocytogenes*. De même, après mise en culture sur des géloses SCAI, le phylogroupage des colonies caractéristiques a permis de mettre en évidence la présence de *Klebsiella pneumoniae sensu stricto* (Kp1) et de *Klebsiella quasipneumoniae* subsp *similipneumoniae* (Kp4) dans le digestat SMS. De plus, des bactéries du complexe Kp ont été détectées par PCR ZKIR dans les 4 autres digestats mais l'isolement de colonies caractéristiques n'a pas été concluant.

	<i>E. coli</i> (UFC/g)	<i>S. enterica</i>	Complexe Kp	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria sp</i>
	<10	ND <sup>a</sup>	+	ND	ND
<b>FYM LD</b>	<10	ND	+	ND	ND
<b>FYM SD</b>	<10	ND	+	ND	ND
<b>CMF</b>	<10	ND	+	ND	ND
<b>MFW</b>	<10	ND	+	ND	ND
<b>SMS</b>	50	ND	+ <sup>b</sup>	+ <sup>b</sup>	+

<sup>a</sup>Non Détecté

<sup>b</sup>isolement et mise en collection de souches

**Tableau 8 :** Résultats du dénombrement d'*E. coli* et de la détection moléculaire des indicateurs dans les digestats à T0.

Enfin, les résultats obtenus pour les témoins lisier et fumier sont présentés Tableau 9. Comme attendu, des populations d'*E. coli* ont été dénombrées. De même, *Listeria sp* et des bactéries du complexe Kp ont été détectées alors que *S. enterica* et *L. monocytogenes* n'ont pas été détectées. Après mise en culture sur le milieu SCAI, des souches appartenant aux espèces *K. quasipneumoniae* subsp. *quasipneumoniae* (Kp2) et *K. quasipneumoniae* subsp. *similipneumoniae* (Kp4) ont été isolées et mises en collection à -80°C.

	<i>E. coli</i> (UFC/g)	<i>S. enterica</i>	Complexe Kp	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria sp</i>
<b>CS</b>	3360	ND*	+	ND	+
<b>CM</b>	3900	ND	+	ND	+

<sup>a</sup>Non Détecté

<sup>b</sup>isolement et mise en collection de souches

**Tableau 9 :** Résultats du dénombrement d'*E. coli* et de la détection moléculaire des indicateurs dans les témoins à T0.

#### 2.2.2.4.2. Recherche des indicateurs après 42 jours d'incubation des microcosmes

Ces mêmes indicateurs ont été recherchés après 42 jours d'incubation des microcosmes. Pour l'ensemble des microcosmes, les dénombrements d'*E. coli* étaient sous le seuil de détection (<10 UFC/g) à l'exception de deux des quatre répliques des microcosmes du Sol 1 contenant du fumier de bovin pour lesquels 40 UFC/g ont été dénombrées. La figure 18 représente la proportion des microcosmes dans lesquels les indicateurs sanitaires ont été détectés. *S. enterica* n'a jamais été détectée quels que soient le sol et le type d'apport. *L. monocytogenes* a été détectée dans 1 des 4 microcosmes constitués du sol 1 avec apport de digestat SMS. De même, *Listeria sp* était présent dans tous les microcosmes de sol (Sol 1, Sol 2 et Sol 3) contenant du fumier. Enfin, des bactéries du genre *Listeria* ont également été détectées dans les microcosmes préparés avec le sol 2 et amendés avec les digestats bruts FYM et SMS et avec le lisier. Enfin, le complexe Kp était présent dans la plupart des microcosmes mais à des fréquences variables (Figure 31).

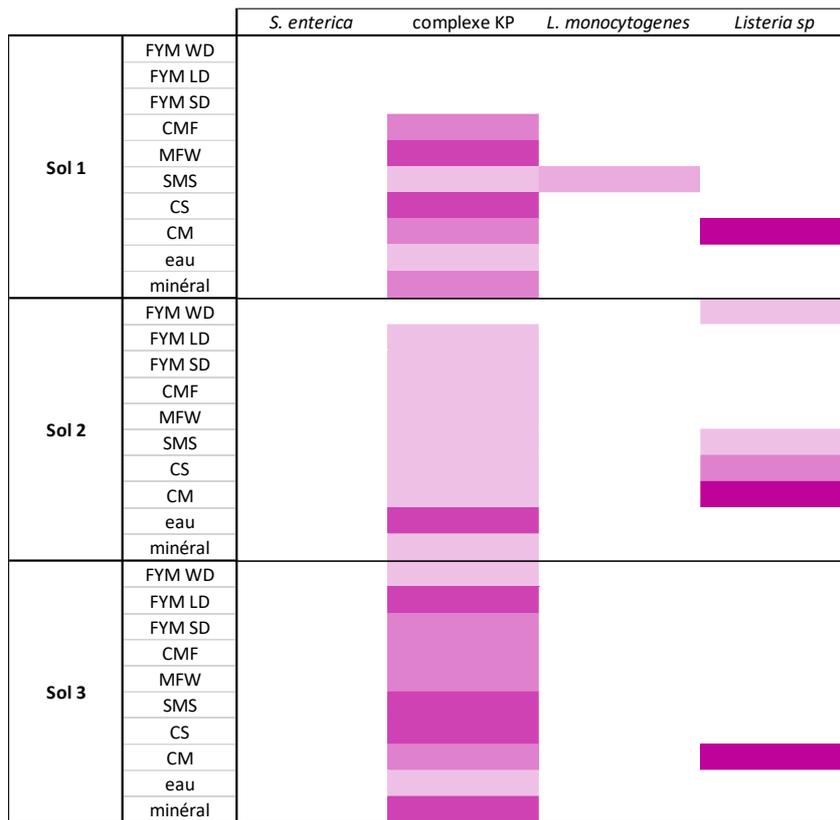
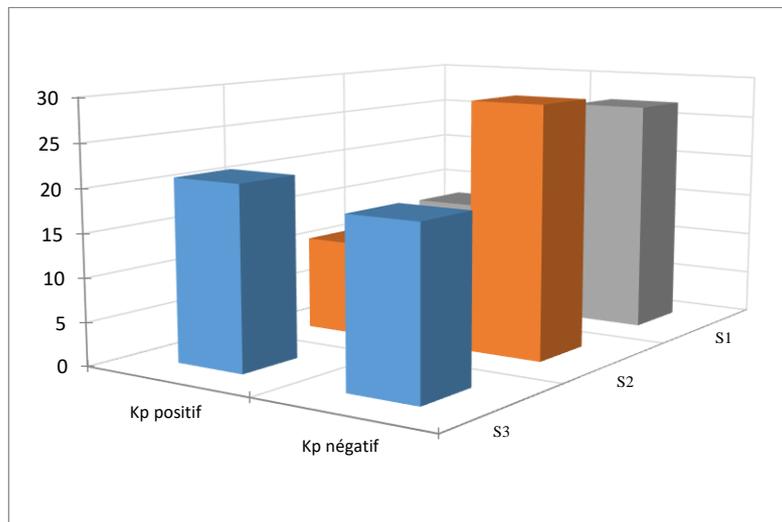


Figure 31 : Proportion de microcosmes positifs après détection moléculaire des indicateurs sanitaires.

L'analyse statistique de ces résultats de présence/absence a permis de mettre en évidence un effet Sol sur la détection du complexe Kp ( $\chi^2$ ,  $p = 0,05$ ). Le test exact de Fisher confirme une plus forte détection du complexe Kp dans le sol 3 par rapport à la valeur théorique (Figure 32). Le test de  $\chi^2$  n'a pas permis de mettre en évidence un effet Sol sur la détection de *Listeria* sp ( $p=0,315$ ).



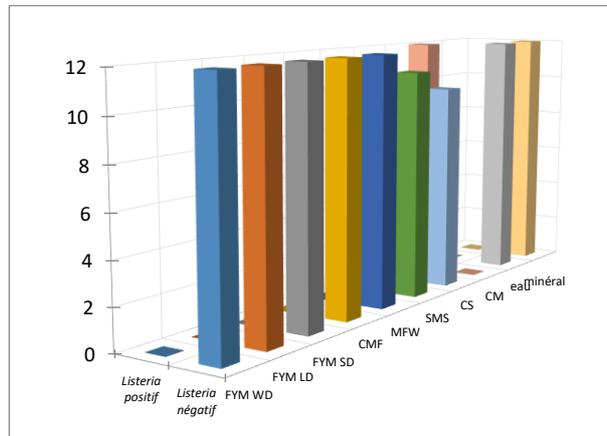
	Sol 3	Sol 2	Sol 1
Complexe Kp positif	>	<	<
Complexe Kp négatif	<	>	>

*Les valeurs affichées en rouge sont significatives au seuil  $\alpha=0,05$*

**Figure 32** : Représentation graphique du tableau de contingence de présence/absence du complexe Kp en fonction du sol et résultats du test exact de Fisher. Sol 1 : gris ; Sol 2 : orange ; Sol 3 : bleu.

A l'inverse, l'analyse du tableau de contingence de présence/absence du complexe Kp en fonction de la nature de l'intrant n'a pas permis de mettre en évidence un effet intrant sur la détection du complexe Kp (test exact de Fisher,  $p=0,449$ ).

Un effet intrant significatif a pu être mis en évidence sur la détection de *Listeria* sp (test exact de Fisher,  $p < 0,0001$ ). L'analyse du tableau de contingence montre que la condition témoin fumier (CM) participe à la significativité des résultats (Figure 33).



	FYM WD	FYM LD	FYM SD	CMF	MFW	SMS	CS	CM	eau	minéral
<i>Listeria</i> sp. positif	<	<	<	<	<	<	>	>	<	<
<i>Listeria</i> sp. négatif	>	>	>	>	>	>	<	<	>	>

*Les valeurs affichées en rouge sont significatives au seuil alpha=0,05*

**Figure 33 :** Représentation graphique du tableau de contingence de présence/absence de *Listeria* sp en fonction de l'intrant et résultats du test exact de Fisher.

### 2.2.2.4.3. Effet de la concentration initiale du pathogène dans le digestat sur sa détection dans le sol au cours du temps

Cette expérience visait à évaluer l'impact de la dose initiale de pathogène dans le digestat sur sa détection dans le sol après apport. Suite à la détection de *K. pneumoniae* et *L. monocytogenes* dans le digestat SMS, celui-ci a été sélectionné pour cette expérience. Une souche de *Klebsiella pneumoniae* et une souche de *Listeria monocytogenes* de la collection du laboratoire et préalablement isolées du digestat SMS ont été utilisées dans cette série d'expériences complémentaires pour ensemercer artificiellement le digestat SMS avant apport du digestat dans les trois sols. Trois niveaux de contamination ont ainsi été testés : 0 UFC/g, 10<sup>2</sup> UFC/g et 10<sup>4</sup> UFC/g. Les conditions expérimentales décrites précédemment (section 2.2.2.1) ont été suivies et trois réplicats ont été préparés par condition. Les résultats de présence/absence dans le sol pendant 42 jours d'incubation à 15°C sont présentés Figure 34.

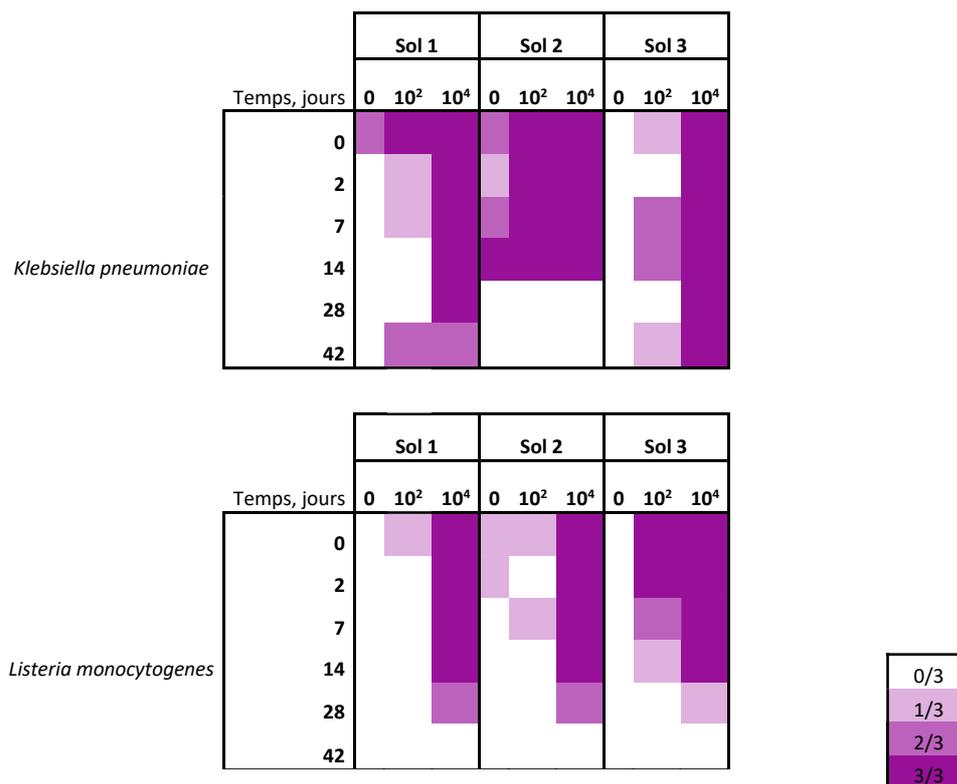
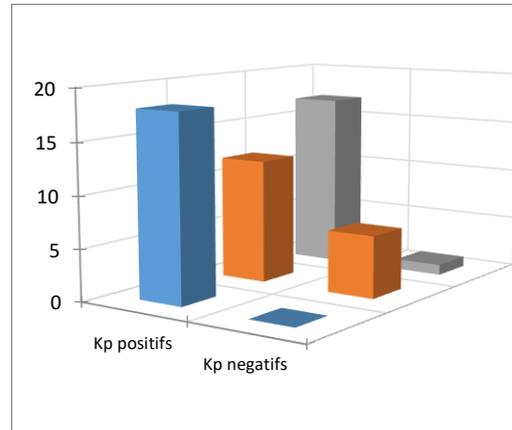


Figure 34 : Proportion de microcosmes positifs pour la présence de *K. pneumoniae* et *L. monocytogenes* au cours du temps.

L'analyse des résultats montre un effet significatif de la dose initiale de *K. pneumoniae* dans le digestat sur sa détection ultérieure dans le sol ( $\text{Khi}^2$ ,  $p < 0,0001$ ). Cet effet dose est également vérifié pour la détection de *L. monocytogenes* ( $\text{Khi}^2$ ,  $p < 0,0001$ ).

Par ailleurs, l'effet sol déjà observé sur la détection du complexe Kp est ici confirmé pour la condition  $10^4$  UFC/g (Test exact de Fisher,  $p = 0,012$ ). L'analyse du tableau de contingence montre une plus faible détection de *K. pneumoniae* dans le sol 2 (Figure 35).



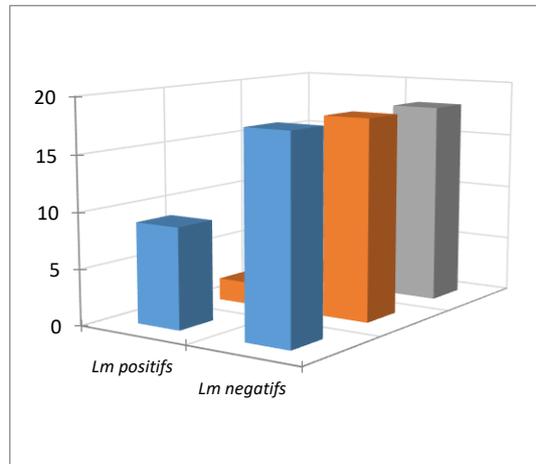
	Sol 3	Sol 2	Sol 1
<i>K. pneumoniae</i> positifs	>	<	>
<i>K. pneumoniae</i> négatifs	<	>	<

Les valeurs affichées en rouge sont significatives au seuil  $\alpha = 0,05$

**Figure 35 :** Représentation graphique du tableau de contingence de présence/absence de *K. pneumoniae* en fonction du sol, pour la condition  $10^4$  UFC/g, et résultats du test exact de Fisher. Sol 1 : gris ; Sol 2 : orange ; Sol 3 : bleu

Cependant les différences observées dans la condition  $10^2$  UFC/g ne sont pas significatives ( $\text{Khi}^2$ ,  $p = 0,190$ ). Aucune différence significative entre les trois sols n'a pu être mise en évidence sur la détection de *L. monocytogenes* dans la condition  $10^4$  UFC/g (test exact de Fisher,  $p = 1,0$ ), mais les différences observées étaient significatives dans la condition  $10^2$  UFC/g (test exact de Fisher,  $p = 0,041$ ).

Pour la condition  $10^2$  UFC/g, les résultats montrent une plus forte détection de *L. monocytogenes* dans le sol S3 alors que la détection la plus faible est observée dans le sol 1 (Figure 36).



	Sol 3	Sol 2	Sol 1
<i>L. monocytogenes</i> positifs	>	<	<
<i>L. monocytogenes</i> négatifs	<	>	>

Les valeurs affichées en rouge sont significatives au seuil  $\alpha=0,05$

**Figure 36 :** Représentation graphique du tableau de contingence de présence/absence de *L. monocytogenes* en fonction du sol, pour la condition  $10^2$  UFC/g, et résultats du test exact de Fisher. Sol 1 : gris ; Sol 2 : orange ; Sol 3 : bleu.

#### 2.2.2.4.4. Synthèse des résultats obtenus sur les indicateurs sanitaires

Les résultats de ces expérimentations en microcosmes montrent tout d'abord que certains indicateurs sanitaires ont été détectés après les 42 jours d'incubation. Un point important est que la détection des pathogènes dépend du sol ainsi que des matières organiques utilisés.

De plus, les résultats dépendent également de l'indicateur considéré. En effet, *E. coli* et *Salmonella enterica* n'ont jamais été détectées après incubation alors que le complexe Kp présentait la prévalence la plus importante. La détection du genre *Listeria* et de *L. monocytogenes* était quant à elle limitée.

Enfin, les expériences de contamination artificielle d'un digestat avec *K. pneumoniae* et *L. monocytogenes* ont montré que la concentration initiale des pathogènes influe sur la durée de leur détection au cours de l'incubation et ont confirmé un effet sol significatif sur le devenir de *K. pneumoniae* et *L. monocytogenes*.

## **2.3. Evaluation de l'impact de différents types de digestats sur la qualité biologique des sols à moyen terme (Lot 3)**

Afin d'étudier les effets à moyen terme, le présent projet s'appuie sur des sites expérimentaux de longue durée, épandant de façon récurrente et depuis plusieurs années des Produits Résiduaux Organiques dont des digestats de méthanisation. Concrètement, ces sites font partie du SOERE-PRO (Système d'observation et d'expérimentation sur le long terme pour la recherche en environnement – Produits Résiduaux Organiques, sites d'EFELE et PROspective) et du Lycée d'Enseignement Général et Technologique Agricole (LEGTA, site Dige'O) d'Obernai (67).

Les trois sites retenus dans le projet Metha-BioSol sont situés sur des territoires différents (Bretagne (EFELE) et Alsace (PROspective et Dige'O) présentent des contextes pédoclimatiques différents. L'historique de la parcelle d'EFELE est connu depuis 1977. La parcelle a été essentiellement cultivée en cultures annuelles, sans que l'on puisse identifier de rotation culturale. Le maïs a été la culture la plus fréquemment implantée, suivie par celle du blé, avec occasionnellement du colza, de l'orge et du ray grass. La fertilisation organique du maïs a été réalisée avec du fumier de bovins ou du lisier de porc. La parcelle a été cultivée en maïs durant les 3 années précédant le début des essais (2009 à 2011). Concernant le site expérimental de PROspective, avant les apports de digestat, les parcelles ont reçu durant 15 ans des apports de différents produits résiduaux organiques en fonction des modalités (fumier, compost de biodéchets, boue de station d'épuration) tous les 2 ans et sur une base de 170 kg N total/ha. Par la suite, en 2014, le digestat est venu en complément de ces PRO. Concernant les historiques d'apport des différents sites, le site Dige'O a connu une historique d'apports organiques en fumier de bovins (sur l'ensemble des parcelles) pendant plusieurs décades. D'autres part, chaque site épand un type de digestat particulier, représentatif de son territoire.

### - PROspective :

- o Digestat: 60% déchets IAA, 20% végétaux, 20% effluents d'élevage

### - Dige'O:

- o Digestat Obernais (DIGOB): 23% végétaux, 40% effluents d'élevage, 37% déchets IAA
- o Digestat Obernais corrigé (DIGCOR): 23% végétaux, 40% effluents d'élevage, 37% déchets IAA + Glenor kr+

*Le digestat Obernai Corrigé, correspond au Digestat d'Obernai auquel on additionne le produit Glenor Kr+, au moins une heure avant épandage. Le produit GLENOR KR+ est un composteur rapide constitué d'argile et d'algues avec des activateurs bio-dynamiques. Il accélère et règle la décomposition nécessaire du lisier et du fumier, favorise la croissance des racines, améliore la disponibilité des substances nutritives pour la plante, améliore la qualité et la rapidité du fourrage et réduit l'odeur du lisier et le rend liquide et homogène. Il vise notamment à maîtriser la volatilisation ammoniacale suite à l'épandage.*

- o Digestat Méthachrist (DIGMETH): 38% végétaux, 43% effluents d'élevage, 19% déchets IAA

### - EFELE:

- o Digestat L (DIG\_Lr): 80% déchets IAA, 13% effluents d'élevage, 7% graisses  
*Il s'agit d'un digestat territorial, constitué en moyenne de : 48 000 Tonnes de déchets de l'agro-industrie locale (graisses animales, cosses et fanes de légumes...), 8 000 Tonnes d'excédents agricoles (lisier des élevages porçins) et 4 000 Tonnes des collectivités (Boues - graisses). Le digestat brut n'est pas épandu sur le site expérimental d'EFELE. Est épandu le refus de séparation de phase composté avec des déchets verts.*
- o Digestat Lisier de Porc (DIG\_LP): 100% effluents d'élevage
- o Digestat T (DIG\_T): 70% effluents d'élevage, 20% CIVE, 10% autres végétaux  
*Il s'agit d'un digestat agricole de base bovine, constituée en majeure partie de lisier de bovins, auquel il est ajouté des CIVE (avoine, orge) et des résidus de céréales et de tonte. Il est difficile de connaître la proportion du mélange entrant car ce dernier est variable au cours de l'année, mais on estime que le lisier représente en moyenne 70 % de la matière brute entrante. Le digestat brut n'est pas épandu sur le site expérimental d'EFELE. Est épandu le refus de séparation de phase composté avec des déchets verts.*

Les fréquences et les historiques d'apports de digestats varient également selon le site expérimental considéré :

### - PROspective :

- o Tous les ans sur 4 parcelles sur site depuis 2014 (Prélèvements de sols en 2022, soit 8 ans de récurrence d'apport (= 8 campagnes d'apports))
- o Pour les autres parcelles, tous les deux ans en compléments d'autres PRO apportés en année n et ce, depuis 2016 (Prélèvements de sols en 2022, soit 6 ans de récurrence d'apport (= 3 campagnes d'apports))

- **Dige'O:**
  - o De 2013 à 2018 tous les ans
  - o Pas d'épandage entre 2016 et 2018
  - o Puis, depuis 2018 épandage de digestats tous les ans (Prélèvements de sols en 2022, soit 4 ans de récurrence d'apport (= 4 campagnes d'apports))
- **EFELE:**
  - o Tous les ans au printemps depuis 2012 (Prélèvements de sols en 2022, soit 10 ans de récurrence d'apport (= 10 campagnes d'apports))
  - o DIG\_L et DIG\_T sont apportés depuis 2021, DIG\_LP depuis 2010.

Sur les trois sites expérimentaux, des prélèvements de sol ont été réalisés sur différentes parcelles présentant différentes modalités d'apport (Digestat, PRO, fertilisation minérale (MIN)...). Ceci permet d'avoir une approche factorielle des impacts (fertilisation minérale vs digestats, digestats vs PRO (ex : lisier, fumier...)). Les prélèvements de sols nécessaires à la genèse des bio-indicateurs de la qualité biologique des sols ont été réalisés en sortie d'hiver juste avant les épandages.

### 2.3.1. Impact des digestats sur la physico-chimie des sols agricoles à moyens termes

Pour chaque site expérimental, une analyse statistique par modèles linéaires mixtes a été réalisée sur les données physico-chimique des sols prélevés.

Pour le site expérimental d'EFELE :

	EFELE			
	pH	N Total	Corg Total	Carbone actif
FB*	6.54a	1.34a	12.8a	6.79a
LP*	6.27a	1.16c	10.5c	4.94bcd
DIG*_L	6.45a	1.23b	11.4b	5.78b
DIG*_T	6.41a	1.23b	11.4b	5.50bc
DIG*_LP*	6.24a	1.11c	10.1c	4.76cd
MIN*	5.91b	1.13c	10.3c	4.49d

\*DIG : Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FB : Fumier non digéré / LP: Lisier non digéré / DIG\_LP: Digestat de lisier

Tableau 10 : Effet des différentes modalités d'apport sur les paramètres physico-chimique du sol d'EFELE.

Pour le site expérimental de PROspective :

	PROspective		
	MO	N Total	Carbone actif
BIO_DIG*	28.1a	1.57a	7.06a
BIO_MIN*	26.6ab	1.47ab	6.19ab
FUM_DIG*	26.6ab	1.44abc	6.77a
FUM_MIN*	24.7bc	1.38bcd	5.21bc
BOUE_DIG*	24.4bc	1.33cd	4.97c
BOUE_MIN*	23.2c	1.31cd	4.61c
DIG*	23.9c	1.26d	4.71c
TEM (MIN)*	22.2c	1.25d	4.08c

\*DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FUM\_DIG: Fumier non digéré + Digestat / FUM\_MIN: Fumier non digéré + MIN / BOUE\_DIG: Boue de station d'épuration + Digestat / BOUE\_MIN: Boue de station d'épuration + MIN / BIO\_DIG: Compost de biodéchets + Digestat / BIO\_MIN: Compost de biodéchets + MIN

Tableau 11 : Effet des différentes modalités d'apport sur les paramètres physico-chimique du sol de PROspective.



Pour le site expérimental de DIGE'O :

	DIGE'O	
	N Total	Carbone actif
FUM*	1.78a	7.77a
DIGOB*	1.64ab	7.10ab
DIGCOR*	1.63ab	6.71ab
METHAC*	1.58b	7.09ab
MIN*	1.52b	6.18b

\*DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FUM: Fumier non digéré / DIGOB: Digestat Obernai / DIGCOR: Digestat Obernai corrigé / METHAC: Digestat MethaChrist

*Tableau 12* : Effet des différentes modalités d'apport sur les paramètres physico-chimique du sol de DIGE'O.

Les résultats obtenus montrent que pour l'ensemble des sites, en comparaison avec une fertilisation minérale, des apports répétés de digestats, tout comme des apports de fumier ou de lisier, induisent une modification de la physico-chimie des sols. Ainsi une diminution du pH est observée en sol acide mais moins prononcée qu'avec une fertilisation exclusivement minérale. De même, des apports répétés de digestats (seuls ou associés avec du fumier) entraînent une augmentation de la teneur en azote total et en carbone actif des sols.

Pour chacun des 3 sites, les parcelles n'ayant reçu que de la fertilisation minérale ont des teneurs en carbone actif systématiquement inférieures aux parcelles ayant reçu des produits organiques. Pour le site d'EFELE, le traitement « fumier non digéré » qui reçoit les entrées de carbone sous forme de PRO les plus importantes présente les teneurs en carbone actif les plus élevées. En ce qui concerne, les autres traitements qui reçoivent des quantités plus faibles, la stabilité des matières organiques mesurée par l'ISMO semble jouer sur les évolutions des teneurs en carbone actif. En effet, les traitements « DIG-L » et « DIG-T » recevant des digestats avec une grande stabilité (ISMO > 75) présentent les concentrations en carbone actif les plus élevées.

Le site PROspective montre que l'ajout de digestats a systématiquement permis l'augmentation des teneurs en carbone actif par rapport aux modalités sans digestat. Ceci s'explique probablement par le fait que les parcelles sur lesquelles des digestats ont été épandus ont connu des apports en carbone sous forme de PRO plus importants. D'ailleurs, même si la teneur en carbone actif est plus élevée dans le traitement « BOUE + DIG » que dans le traitement « BOUE », la différence n'est pas significative ce qui est probablement à rapprocher du fait que les apports en PRO ont été quasi-équivalents dans ces deux traitements.

Pour le site expérimental d'Obernai, les parcelles ayant reçu des digestats présentent des teneurs en carbone actif intermédiaires entre les parcelles ayant reçu du fumier et celles n'ayant reçu qu'une fertilisation minérale. Ceci s'explique probablement par les apports plus importants sous forme de fumier. Les trois traitements présentant des apports de digestats ne présentent pas de différences entre eux.

Les résultats de ces 3 sites expérimentaux de longue durée montrent que les apports de digestats augmentent les teneurs en carbone actif dans les sols en comparaison aux traitements ne recevant que de la fertilisation minérale. Des travaux plus approfondis et pour des durées d'épandage plus longues seraient nécessaires pour déterminer si l'apport de digestat est plus ou moins « efficace » pour augmenter les stocks de carbone des sols par rapport à l'apport d'autres PRO.

## 2.3.2. Impact des digestats sur les Litterbag à moyens termes

### 2.3.2.1. Site experimental EFELE

Concernant la capacité du sol à dégrader la matière organique fraîche (Figure 37), les résultats obtenus montrent qu'en comparaison à un apport de fumier classique, non digéré (FB), ou à une fertilisation minérale (MIN), l'apport de digestats induits des valeurs de la dégradation de matière organique fraîche des sols similaire ( $P > 0.05$ ). Cependant, les valeurs de dégradation de la matière organique fraîche mesurées sur le site d'EFELE sont globalement faibles et peuvent s'expliquer en partie par un printemps 2021 déficitaire en précipitations.

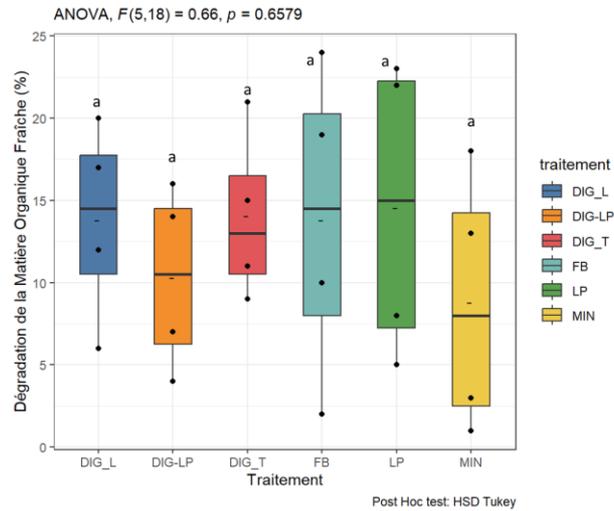


Figure 37 : Effet des différentes modalités d'apport sur la capacité du sol à dégrader la matière organique fraîche (DIG\_L : Digestat L / DIG\_LP: Digestat de lisier / DIG\_T : Digestat T / FB : Fumier non digéré / LP: Lisier non digéré / MIN: Fertilisation Minérale)

### 2.3.2.2. Site experimental PROspective

Concernant la capacité du sol à dégrader la matière organique fraîche (Figure 38), les résultats obtenus sur le site expérimental de PROspective montrent que la dégradation de matière organique fraîche est similaire quel que soit la modalité d'apport ( $P > 0.05$ ).

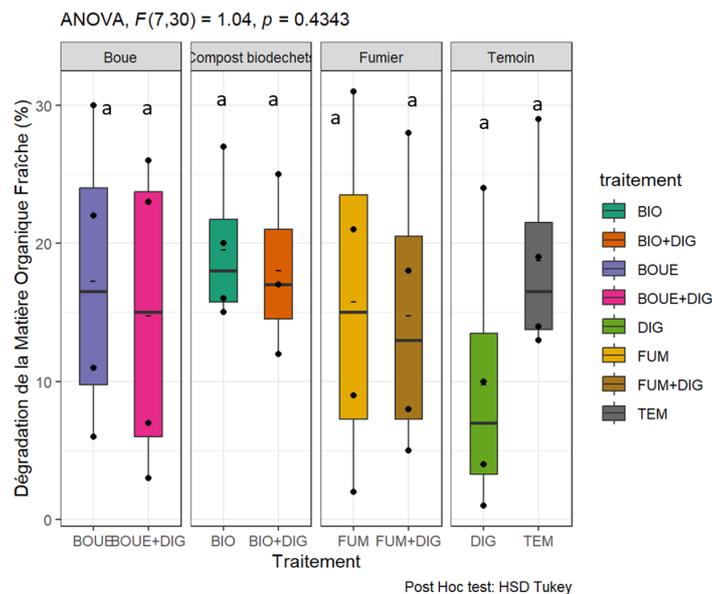
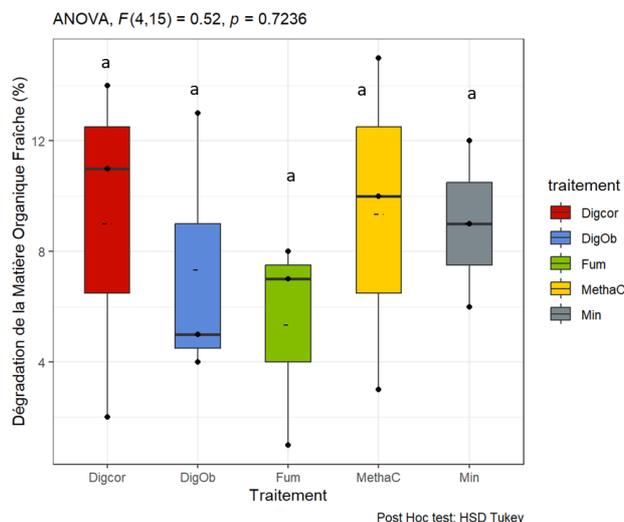


Figure 38 : Effet des différentes modalités d'apport sur la capacité du sol de PROspective à dégrader la matière organique fraîche (DIG: Digestat / TEM: Fertilisation Minérale / FUM\_DIG: Fumier non digéré + Digestat / FUM\_MIN: Fumier non digéré + MIN / BOUE\_DIG: Boue de station d'épuration + Digestat / BOUE\_MIN: Boue de station d'épuration + MIN / BIO\_DIG: Compost de biodéchets + Digestat / BIO\_MIN: Compost de biodéchets + MIN)

### 2.3.2.3. Site experimental DIGE'O

Concernant la capacité du sol à dégrader la matière organique fraîche (Figure 39), les résultats obtenus sur le site expérimental de DIGE'O montrent que la dégradation de matière organique fraîche des sols est similaire quel que soit la modalité d'apport ( $P > 0.05$ ). Cependant, les valeurs de dégradation de la matière organique fraîche mesurées sur le site de DIGE'O sont globalement très faibles et peuvent s'expliquer en partie par un printemps 2021 déficitaire en précipitations.

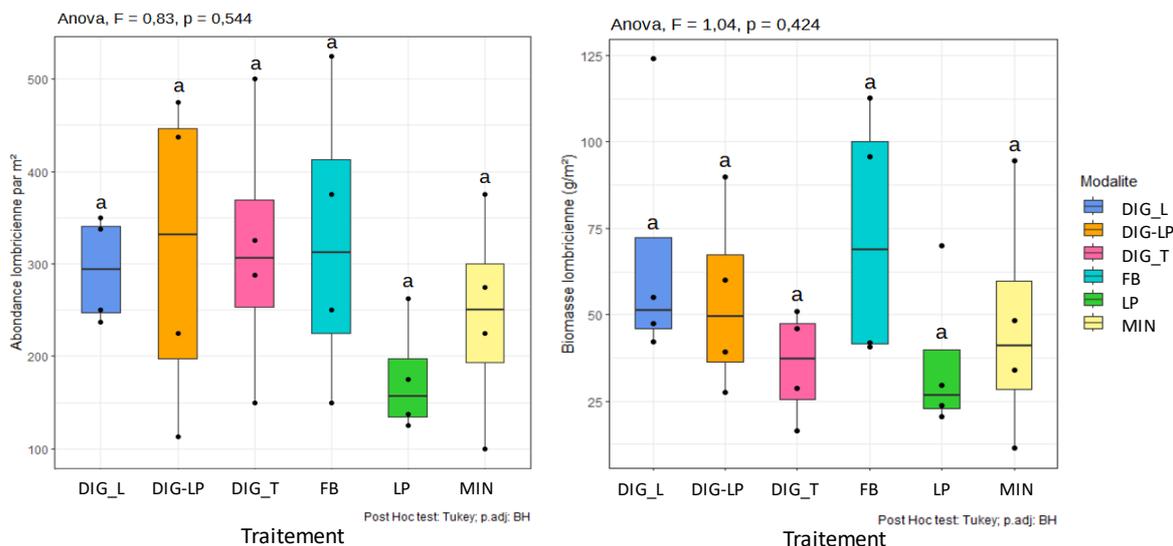


**Figure 39 :** Effet des différentes modalités d'apport la capacité du sol de DIGE'O à dégrader la matière organique fraîche (DIGcor: Digestat Obernai corrigé / DIGOb: Digestat Obernai / Fum: Fumier non digéré / MethaC: Digestat MethaChrist / Min: Fertilisation Minérale)

### 2.3.3. Impact des digestats sur les lombriciens à moyens termes

#### 2.3.3.1. Site expérimental EFELE

Quel que soit le traitement appliqué, les résultats ne montrent pas de différence significative au niveau de l'abondance et de la biomasse lombricienne (Figure 40,  $p > 0.05$ ). La richesse spécifique ainsi que les abondances et biomasses par catégories écologiques (épigés, épi-anéciques, anéciques stricts et endogés) sont également similaires entre les traitements ( $p > 0.05$ ).

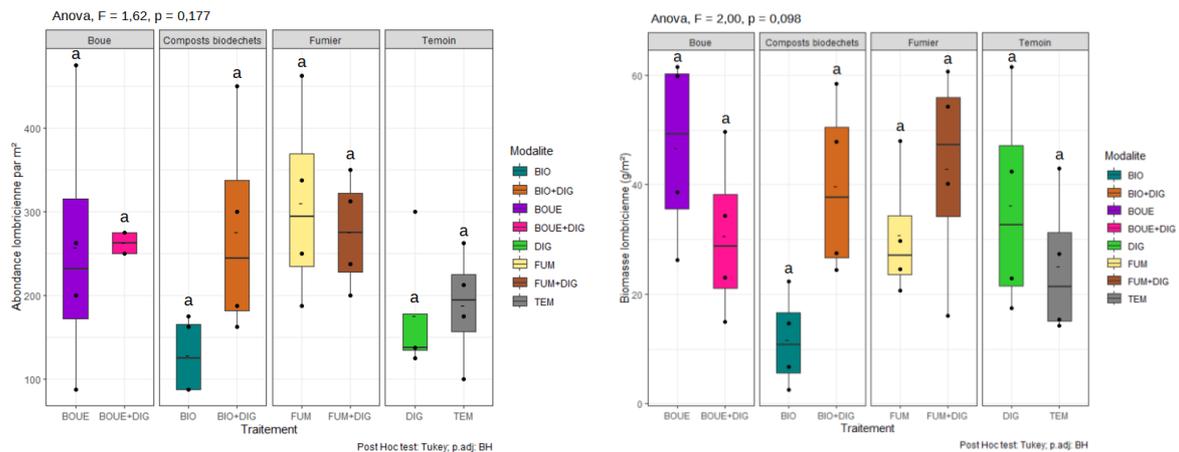


**Figure 40 :** Effet des différentes modalités d'apport sur l'abondance et la biomasse des lombriciens d'EFELE (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FB : Fumier non digéré / LP: Lisier non digéré / DIG\_LP: Digestat de lisier)

#### 2.3.3.2. Site expérimental PROspective

Quelle que soit la modalité d'apport, les résultats ne montrent pas de différence significative au niveau de l'abondance et de la biomasse lombricienne (Figure 41,  $p > 0.05$ ). La richesse spécifique ainsi que les abondances et biomasses par catégories

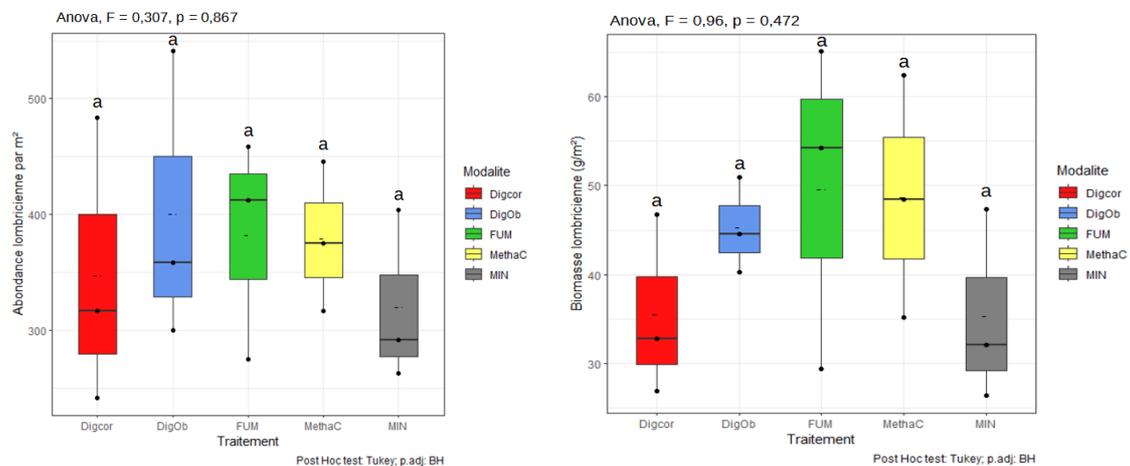
écologiques (épigés, épi-anéciques, anéciques stricts et endogés) sont similaires entre les différentes modalités d'apport ( $p > 0.05$ ).



**Figure 41:** Effet des différentes modalités d'apport sur l'abondance et la biomasse des lombriciens de PROSpective (DIG: Digestat / TEM: Fertilisation Minérale / FUM\_DIG: Fumier non digéré + Digestat / FUM\_MIN: Fumier non digéré + MIN / BOUE\_DIG: Boue de station d'épuration + Digestat / BOUE\_MIN: Boue de station d'épuration + MIN / BIO\_DIG: Compost de biodéchets + Digestat / BIO\_MIN: Compost de biodéchets + MIN)

### 2.3.3.3. Site expérimental DIGE'O

Quelle que soit la modalité d'apport, les résultats ne montrent pas de différence significative au niveau de l'abondance et de la biomasse lombricienne (Figure 42,  $p > 0.05$ ). L'abondance des anéciques stricts est plus importante avec un apport de fumier non-digéré (FUM) que dans les autres apports ( $p < 0.05$ ). La richesse spécifique, les autres abondances et les biomasses par catégories écologiques (épigés, épi-anéciques, anéciques stricts et endogés) sont similaires entre les différentes modalités d'apport ( $p > 0.05$ ).



**Figure 42 :** Effet des différentes modalités d'apport sur l'abondance et la biomasse des lombriciens de DIGE'O (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FUM: Fumier non digéré / DIGOB: Digestat Obernai / DIGCOR: Digestat Obernai corrigé / METHAC: Digestat MethaChrist)

## 2.3.4. Impact des digestats sur les communautés de nématodes à moyens termes

### 2.3.4.1. Site experimental EFELE

L'abondance des nématodes bactériovores opportunistes est significativement supérieure pour LP par rapport à DIG\_T (Tableau 13, Figure 43). Ces nématodes sont directement impliqués dans la fonction de recyclage des nutriments. Il n'y a pas de différence entre les modalités pour les abondances de nématodes bactériovores non opportunistes, fongivores et omnivores carnivores (Tableau 13).

LP présente également une abondance de nématodes phytophages significativement supérieure à DIG\_T et DIG\_L (Tableau 13). Toutefois, les genres présents (*Pratylenchus*, *Amplimerlinius*) ne représentent pas de risque de dégâts sur les cultures en place (maïs) pour les abondances observées.

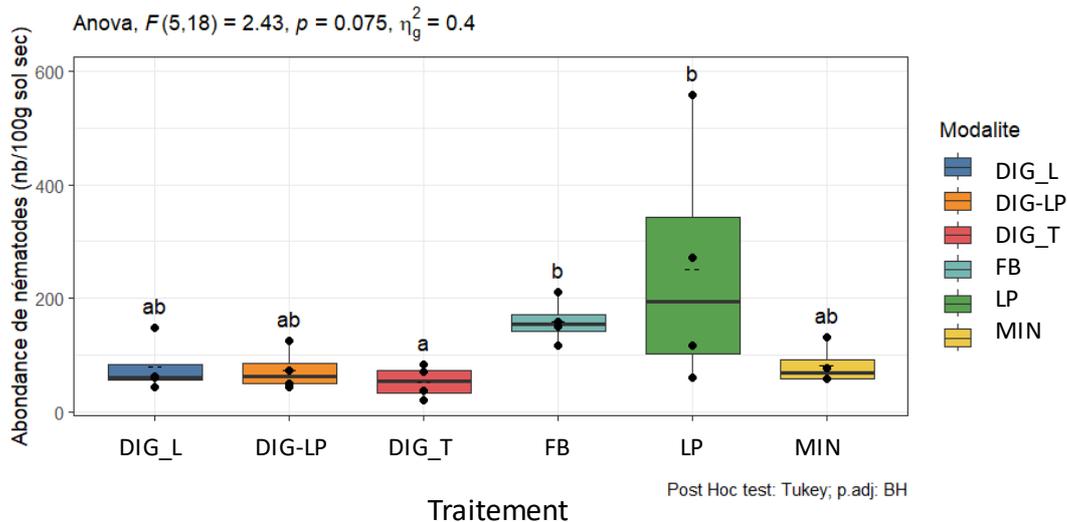


Figure 43: Effet des différentes modalités d'apport sur l'abondance des nématodes bactériovores opportunistes (n=4) à EFELE (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FB : Fumier non digéré / LP: Lisier non digéré / DIG\_LP: Digestat de lisier). Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon un test ANOVA correction de Tukey, p-value <0,1.

	MIN		FB		LP		DIG-LP		DIG_L		DIG_T		F value/ Chisq	Pr(>F)
LIBRES	645 ± 263	a	839 ± 133	a	1006 ± 407	a	685 ± 59	a	615 ± 231	a	618 ± 217	a	1,66	NS
BACTERIVORES_cp1	82 ± 35	ab	160 ± 38	ab	252 ± 222	b*	74 ± 37	ab	79 ± 47	ab	54 ± 28	a	3,32	< 0,05
BACTERIVORES_AUTRES	500 ± 206	a	603 ± 98	a	667 ± 153	a	542 ± 34	a	481 ± 218	a	516 ± 204	a	0,72	NS
FONGIVORES	48 ± 20	a	49 ± 39	a	39 ± 27	a	39 ± 13	a	40 ± 10	a	22 ± 12	a	0,75	NS
PREDATEURS	16 ± 11	a	27 ± 10	a	48 ± 37	a	30 ± 21	a	15 ± 9	a	26 ± 11	a	1,48	NS
PHYTOPHAGES	651 ± 137	abc	696 ± 192	abc	805 ± 102	c	744 ± 55	bc	474 ± 62	a*	501 ± 98	ab	5,12	< 0,001
PHYTOPARASITES	300 ± 73	ab	225 ± 146	ab	323 ± 144	b*	259 ± 119	ab	85 ± 17	a	150 ± 74	ab	2,95	< 0,05
PHYTO_FALC	351 ± 147	a	471 ± 77	a	483 ± 114	a	485 ± 171	a	389 ± 66	a	351 ± 42	a	1,36	NS
TOTAL	1296 ± 394	ab	1534 ± 275	ab	1811 ± 391	b	1429 ± 66	ab	1089 ± 262	a	1118 ± 305	a*	11,21 (KW)	< 0,05 k

**Tableau 13:** Abondances de nématodes par groupes trophique et modalités testées (moyenne ± EC, n=4). BACTERIVORES\_cp1 : bactérivores opportunistes. BACTERIVORES\_AUTRES : bactérivores non opportunistes. Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon un test ANOVA correction de Tuckey, p-value<0,05 et <0,1 si la lettre est suivie d'une \*. NS = non significatif. (k = test de Kruskal-Wallis).

	MIN		FB		LP		DIG-LP		DIG_L		DIG_T		F value	Pr(>F)
EI	42 ± 5	a	52 ± 6	a	54 ± 16	a	36 ± 10	a	42 ± 13	a	32 ± 13	a	2,40	NS
IVD	93 ± 1	a	95 ± 4	a	96 ± 3	a	94 ± 2	a	93 ± 4	a	96 ± 2	a	1,23	NS
SI	23 ± 8	a	23 ± 12	a	36 ± 16	a	33 ± 10	a	30 ± 11	a	38 ± 3	a	1,46	NS
H'	1,7 ± 0	a	1,6 ± 0,2	a	1,6 ± 0,2	a	1,6 ± 0,1	a	1,5 ± 0,1	a	1,6 ± 0,1	a	0,67	NS
R	12,0 ± 1,2	a	13,5 ± 1,3	a	12,0 ± 2,2	a	14,0 ± 2,6	a	12,8 ± 1	a	12,5 ± 1,3	a	0,94	NS

**Tableau 14:** Valeurs des Indices nématofauniques (moyenne ± EC, n=4). Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon un test ANOVA avec correction de Tuckey. NS = non significatif.

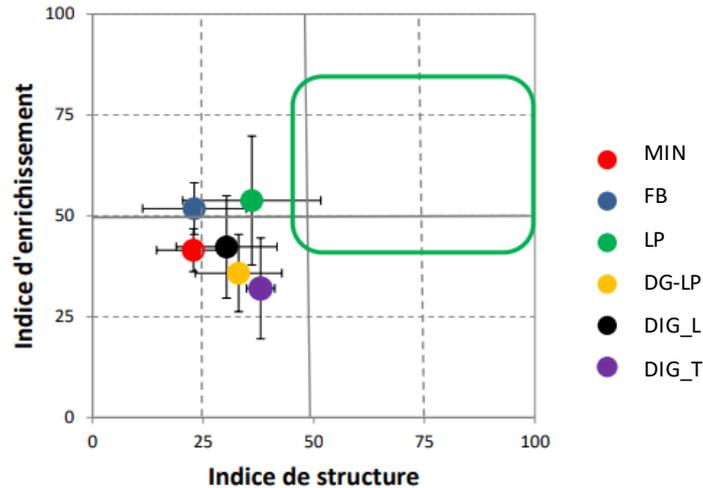


Figure 44 : Diagnostic du réseau trophique obtenu en projetant les indices EI et SI. La zone entourée représente la zone cible conseillée pour un usage en grandes cultures (ELIPTO®). Les écarts-types sont représentés via les barres d'erreurs.

Il n'y a pas d'effet significatif des types de fertilisants sur les différents indices nématofauniques (Tableau 14). Toutes les modalités présentent une valeur d'indice de voies de décomposition (IVD) supérieure à 90, indiquant que la voie de décompositions bactérienne domine dans ces sols. L'indice de diversité de Shannon (H') est inférieur à 2 quelle que soit la modalité et indique que certains taxons tendent à dominer la communauté dans ces sols. En parallèle, la richesse taxonomique est moyenne à faible dans ces sols (entre 12,5 et 14 familles détectées).

Le diagnostic du réseau trophique du sol (figure 44) indique qu'aucune modalité ne permet d'atteindre la zone cible grandes cultures : l'indice d'enrichissement (EI) est satisfaisant et indique des flux de nutriments équilibrés pour la majorité des modalités. Cet indice est un peu faible pour DIG-LP et DIG\_T indiquant des flux faibles pour un usage Grande Culture. L'indice de structure (SI) est faible (<40) à très faible (<25) pour toutes les modalités indiquant des chaînes trophiques perturbées dans les sols des parcelles de l'expérimentation.

### 2.3.4.2. Site experimental PROspective

L'abondance des nématodes libres est significativement plus importante dans les sols de BOUE et FUM+DIG par rapport à BIO (Tableau 15) indiquant une activité biologique plus élevée dans le sol de ces modalités. Ces nématodes sont majoritairement des nématodes bactériovores opportunistes (Figure 45). FUM+DIG contient plus de phytophages facultatifs que DIG (Tableau 15), probablement en lien avec un développement racinaire plus important des cultures en place. Aucun effet modalité n'a été mis en évidence sur l'abondance des nématodes bactériovores autres, fongivores et omnivores\_carnivores et phytoparasites (Tableau 15).

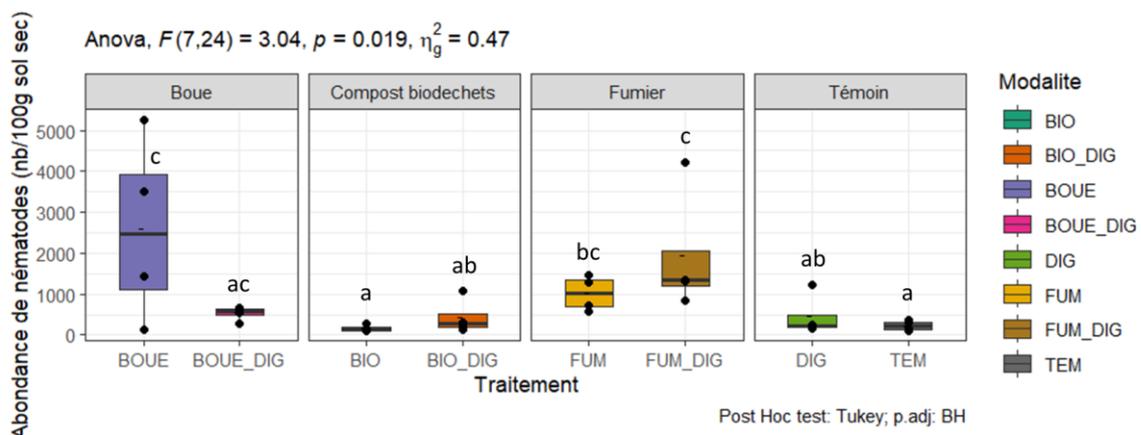


Figure 45 : Effet des différentes modalités d'apport sur l'abondance des nématodes bactériovores opportunistes (n=4) à PROspective (DIG: Digestat / TEM: Fertilisation Minérale / FUM\_DIG: Fumier non digéré + Digestat / FUM\_MIN: Fumier non digéré + MIN / BOUE\_DIG: Boue de station d'épuration + Digestat / BOUE\_MIN: Boue de station d'épuration + MIN / BIO\_DIG: Compost de biodéchets + Digestat / BIO\_MIN: Compost de biodéchets + MIN). Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon un test ANOVA correction de Tuckey, p-value <0,05.

	BOUE		Compost de biodéchets				Fumier				Témoin		F value	Pr(>F)				
	BOUE	BOUE+DIG	BIO	BIO+DIG	FUM	FUM+DIG	DIG	TEM										
LIBRES	3335 ± 2360	b*	1181 ± 180	ab	795 ± 340	a	1060 ± 537	ab	1717 ± 632	ab	2794 ± 1641	b*	921 ± 573	ab	912 ± 178	ab	3,70	< 0,01
BACTERIVORES_cp1	2585 ± 2253	cb	537 ± 172	abc	168 ± 83	a	442 ± 436	abc	1019 ± 430	abc	1933 ± 1550	b*	460 ± 519	abc	231 ± 119	ac	4,36	< 0,01
BACTERIVORES_AUTRES	331 ± 187	a	287 ± 40	a	286 ± 108	a	307 ± 103	a	304 ± 120	a	342 ± 114	a	199 ± 72	a	276 ± 43	a	0,65	NS
FONGIVORES	339 ± 109	a	276 ± 50	a	270 ± 109	a	225 ± 57	a	357 ± 207	a	410 ± 243	a	173 ± 78	a	330 ± 26	a	1,37	NS
OMN_CARN	80 ± 52	a	81 ± 30	a	71 ± 59	a	87 ± 51	a	37 ± 32	a	108 ± 76	a	88 ± 38	a	76 ± 22	a	0,70	NS
PHYTOPHAGES	1116 ± 160	a	999 ± 298	a	896 ± 269	a	1035 ± 52	a	942 ± 203	a	1356 ± 334	a	939 ± 175	a	854 ± 47	a	2,08	NS
PHYTOPARASITES	648 ± 169	a	689 ± 230	a	576 ± 156	a	651 ± 78	a	577 ± 122	a	819 ± 267	a	682 ± 114	a	535 ± 76	a	1,16	NS
PHYTO_FALC	468 ± 143	ab	310 ± 77	ab	319 ± 119	ab	384 ± 44	ab	365 ± 146	ab	538 ± 69	b	256 ± 122	a	319 ± 75	ab	3,06	< 0,05
TOTAL	4451 ± 2489	bc	2180 ± 346	abc	1691 ± 569	a	2095 ± 501	abc	2659 ± 574	abc	4150 ± 1966	c*	1859 ± 663	abc	1766 ± 206	ab	3,98	< 0,01

**Tableau 15:** Abondances de nématodes par groupes trophique et modalités testées (moyenne ± EC, n=4). BACTERIVORES\_cp1 : bactériovores opportunistes. BACTERIVORES\_AUTRES : bactériovores non opportunistes. Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon un test ANOVA correction de Tuckey, p-value<0,05 et <0,1 si la lettre est suivie d'une \*

	Boue			Compost de Biodéchets				Fumier				Témoin			F value	P-value		
	BOUE		BOUE+DIG	BIO		BIO+DIG	FUM		FUM+DIG	DIG		TEM						
EI	85,8 ± 17,4	bc	81,0 ± 6,1	abc	63,5 ± 2,9	a*	75,5 ± 9,9	abc	87,5 ± 3,1	bc	89,8 ± 7,5	c	80,5 ± 9,9	abc	66,5 ± 8,9	ab	4,31	< 0,01
IVD	83,5 ± 13,8	c*	75,0 ± 2,2	abc	62,8 ± 6,8	ab	73,5 ± 8,3	abc	79,5 ± 5,9	bc	83,8 ± 10,9	c*	76,3 ± 9,7	abc	59,8 ± 6,2	a	4,21	< 0,01
SI	47,0 ± 17,4	a	48,0 ± 10,4	a	41,0 ± 10,9	a	53,0 ± 7	a	35,8 ± 16,4	a	50,3 ± 16,4	a	63,8 ± 7,8	a	45,8 ± 8,2	a	1,77	NS
H'	1,7 ± 0,4	a	2,2 ± 0	ab	2,3 ± 0,1	b	2,3 ± 0,2	b	2,0 ± 0,1	ab	2,0 ± 0,2	ab	2,1 ± 0,2	ab	2,3 ± 0,2	b	NA	< 0,01 k
R	13,8 ± 1	a	14,5 ± 1,7	a*	15,8 ± 1	ab	18,5 ± 1	b	13,8 ± 1	a	16,3 ± 1,3	ab	14,0 ± 0	a	15,3 ± 2,2	ab	NA	< 0,01 k

**Tableau 16:** Valeurs des indices nématofauniques (moyenne ± EC, n=4). Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon un test ANOVA avec correction de bonferonni, p-value<0,05 et <0,1 si la lettre est suivie d'une \*. K = test de Kruskal Wallis.

Les modalités BOUE et FUM+DIG induisent une valeur d'IVD supérieur à TEM et BIO et favorisent la voie de décomposition bactérienne dans les sols (Tableau 16). Les voies de décomposition sont plus équilibrées entre voie fongique et voie bactérienne dans les sols des autres modalités.

La modalité BOUE présente une valeur d'indice de diversité de Shannon ( $H'$ ) faible, inférieur à 2 et significativement inférieur à TEM, BIO et BIO+DIG (Tableau 16). Les taxons appartenant à la famille Rhabditidae (bactérovores opportunistes) sont en proportions importantes dans cette modalité BOUE et déséquilibrent la structure de la communauté. Cet indice est supérieur à 2 et satisfaisant dans les autres modalités.

En parallèle, la modalité BIO+DIG, à une richesse taxonomique ( $R$ ) moyenne de 18,5 indiquant un plus grand nombre de taxons que pour les modalités BOUE, FUM, DIG et BOUE+DIG (Tableau 16). La richesse taxonomique des autres modalités est comprise entre 13,8 et 16,3 indiquant une richesse moyenne à faible pour un usage Grandes Cultures.

Le diagnostic du réseau trophique est satisfaisant pour la plupart des modalités (atteinte de la zone cible). Les modalités FUM FUM + DIG et BOUE se démarquent avec un indice EI élevés que les autres modalités (significatif par rapport à BOUE).

Les modalités BIO et FUM présentent les valeurs de SI les plus faibles ( $SI < 40$ ), indiquant des chaînes trophiques à tendance plus perturbées pour ces modalités (non significatif) (Figure 46).

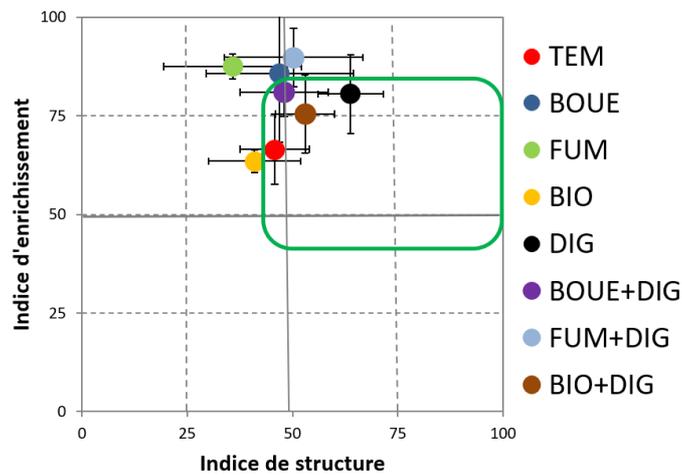


Figure 46: Diagnostic du réseau trophique obtenu en projetant les indices EI et SI. La zone entourée représente la zone cible conseillée pour un usage en grandes cultures. Les écarts-types sont représentés via les barres d'erreurs.

### 2.3.4.3. Site experimental Obernai

L'abondance des bactérivores\_autres (= non opportunistes) est significativement plus importante pour les modalités MIN et FUM par rapport à DIGOB et DIGCOR (Figure 47). En ce qui concerne les bactérivores opportunistes, leur abondance tend à être moins importante pour METHAC et DIGOB tandis qu'elle tend à être plus importante pour MIN, FUM et DIGCOR (Tableau 17). Il n'a pas été mis en évidence de différence d'abondance des autres types de nématodes.

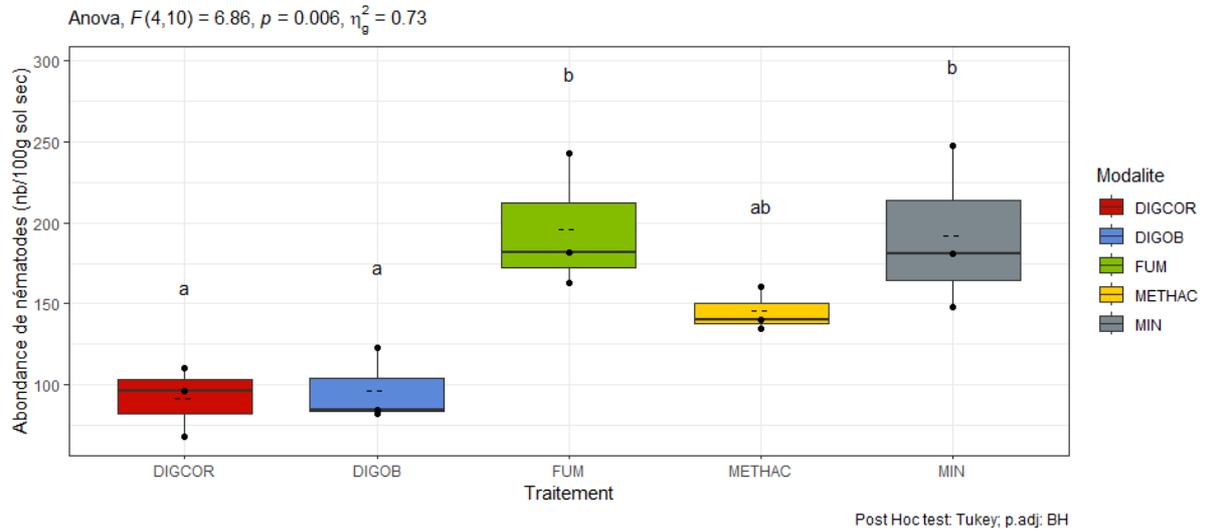


Figure 47 : Effet des différentes modalités d'apport sur l'abondance des nématodes bactérivores autres (n=34) sur le site de DIGE'O (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FUM: Fumier non digéré / DIGOB: Digestat Obernai / DIGCOR: Digestat Obernai corrigé / METHAC: Digestat MethaChrist). Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon un test ANOVA correction de Tuckey, p-value <0,1

	MIN	FUM	METHAC	DIGOB	DIGCOR	F value	Pr(>F)
LIBRES	486 ± 244 a	548 ± 136 a	283 ± 30 a	239 ± 89 a	321 ± 65 a	2,96	NS
BACTERIVORES_cp1	195 ± 157 a	243 ± 170 a	65 ± 36 a	37 ± 10 a	159 ± 106 a	2,73	NS
BACTERIVORES_AUTRES	192 ± 50 b	196 ± 42 b	145 ± 14 ab	92 ± 27 a	91 ± 21 a	6,87	0,01
FONGIVORES	60 ± 21 a	83 ± 50 a	40 ± 10 a	84 ± 33 a	62 ± 39 a	0,88	NS
OMN_CARN	39 ± 23 a	27 ± 6 a	33 ± 7 a	27 ± 21 a	9 ± 4 a	1,81	NS
PHYTOPHAGES	338 ± 136 a	541 ± 178 a	402 ± 67 a	370 ± 22 a	295 ± 88 a	2,10	NS
PHYTOPARASITES	184 ± 88 a	275 ± 81 a	245 ± 12 a	169 ± 33 a	146 ± 111 a	1,58	NS
PHYTO_FALC	154 ± 50 a	266 ± 140 a	157 ± 67 a	201 ± 18 a	148 ± 39 a	1,31	NS
TOTAL	824 ± 309 ab	1088 ± 162 b*	685 ± 53 ab	609 ± 107 a	615 ± 26 a	4,02	0,03

*Tableau 17:* Abondances de nématodes par groupes trophique et modalités testées (moyenne ± EC, n=3). BACTERIVORES\_cp1 : bactérivores opportunistes. BACTERIVORES\_AUTRES : bactérivores non opportunistes. Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon un test ANOVA correction de Tuckey, p-value<0,05 et <0,1 si la lettre est suivie d'une \*. NS = non significatif.

	MIN	FUM	METHAC	DIGOB	DIGCOR	Fvalue	P-value
EI	76 ± 11 a	75 ± 18 a	62 ± 11 a	59 ± 2 a	81 ± 11 a	1,96	NS
IVD	86 ± 3 a	81 ± 17 a	84 ± 4 a	61 ± 3 a	80 ± 13 a	2,96	NS
SI	58 ± 14 a	43 ± 7 a	51 ± 6 a	40 ± 18 a	37 ± 19 a	1,09	NS
H'	2,1 ± 0,1 a	1,9 ± 0,2 a	2,1 ± 0,1 a	2,0 ± 0,2 a	1,9 ± 0,4 a	0,50	NS

*Tableau 18:* Valeurs des indices nématofauniques (moyenne ± EC, n=3). Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon un test ANOVA avec correction de Tuckey, p-value<0,05 et <0,1 si la lettre est suivie d'une \*. NS = non significatif.

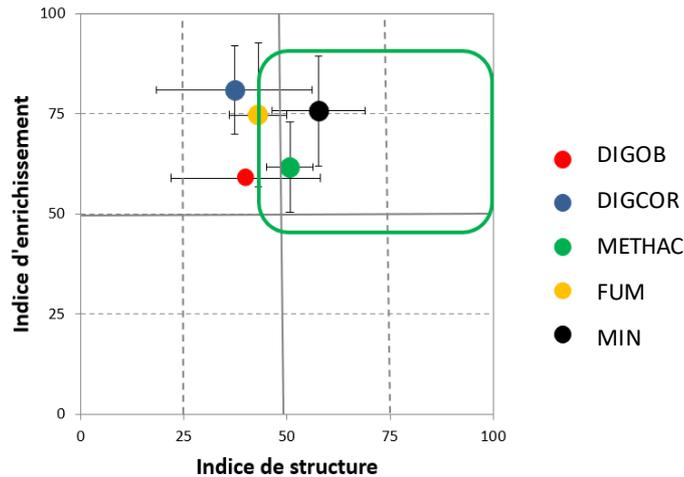


Figure 48: Diagnostic du réseau trophique obtenu en projetant les indices EI et SI. La zone entourée représente la zone cible conseillée pour un usage en grandes cultures. Les barres d'erreur représentent les écart-types.

Il n'a pas été mis en avant de différence significative sur les indices nématofauniques entre les modalités de l'essai. Toutefois certaines tendances ressortent :

L'indice IVD est élevé pour MIN, FUM, METHAC et DIGCOR est de ( $IVD > 80$ ) correspondant à une voie de décomposition à tendance bactérienne. Tandis que DIGOB présente des voies plus équilibrées entre la composante bactérienne et la composante fongique ( $IVD = 61$ ).

Les valeurs de l'indice de diversité de Shannon ( $H'$ ) des différentes modalités sont moyennes et satisfaisantes pour un usage grandes cultures ( $H' > 1,9$ ). Aucune famille de nématodes ne domine dans ces communautés. Toutes les parcelles de l'essai ont des richesses taxonomiques moyenne à faible pour un usage grande culture ( $R$  entre 13 et 15), sans différence significative entre les modalités (non présenté).

Les indices EI de toutes les modalités sont moyens ( $>50$ ) à élevés ( $>70$ ) indiquant des flux de nutriments équilibrés à élevés. L'indice SI est moyen pour les modalités MIN, FUM, METHAC ( $40 < SI < 60$ ). Cet indice est plus faible ( $<40$ ) pour les modalités DIGOB et DIGCOR indiquant une chaîne trophique plus réduite dans ces sols. Cela entraîne le décalage des points DIGOB et DIGCOR sur le diagnostic du réseau trophique, et de ce fait, ils ne sont pas présents dans la zone cible conseillée en grande culture (figure 13).

Le diagnostic du réseau trophique est satisfaisant pour FUM, METHAC et Minéral (atteinte de la zone cible). Les modalités DIGOB et DIGCOR se démarquent avec un indice SI plus faible ( $<40$ ) indiquant une chaîne trophique qui tend à être plus réduite dans ces sols (non significatif).

## 2.3.5. Impact des digestats sur la qualité microbienne des sols à moyens termes

### 2.3.5.1. Site experimental EFELE

Concernant la biomasse microbienne (Figure 49), les résultats obtenus montrent qu'en comparaison à un apport de fumier classique, non digéré (FB), ou à une fertilisation minérale (MIN), l'apport de digestats induit des valeurs de biomasse microbienne des sols similaires ( $P > 0.05$ ).

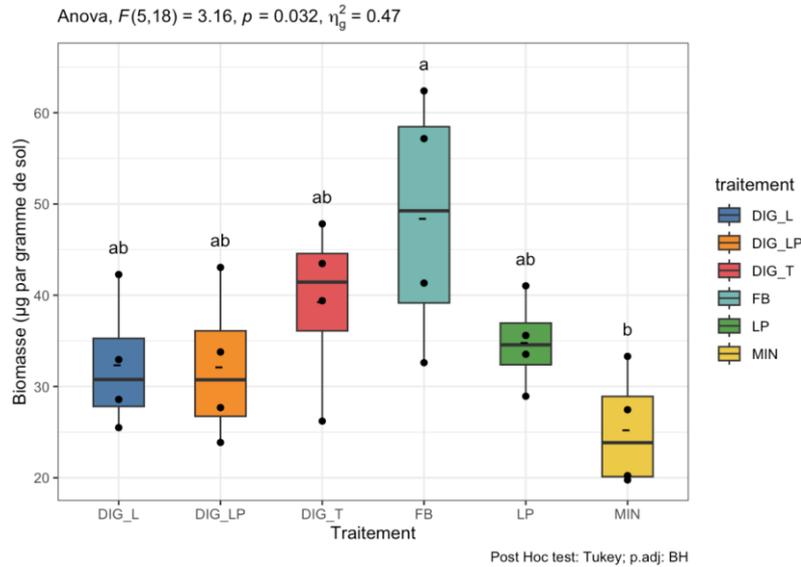


Figure 49 : Effet des différentes modalités d'apport sur la biomasse microbienne du sol d'EFELE (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FB : Fumier non digéré / LP: Lisier non digéré / DIG\_LP: Digestat de lisier)

Concernant la structure des communautés microbiennes (Bactéries et Champignons) (Figure 50), les résultats obtenus sur le site expérimental d'EFELE montrent des différences selon les modalités d'apport. Ces différences semblent être plus marquées pour la communauté bactérienne que fongique. Plus précisément, concernant la structure bactérienne, les différences sont surtout observées entre les sols ayant reçu une fertilisation minérale (MIN (TEM)), le digestat L (DIG\_L) et ceux ayant reçu du digestat de lisier porcin (DIG\_LP). Pour les communautés fongiques, les différences de structures de communautés sont surtout présentes entre les sols ayant reçus une fertilisation minérale (MIN) et ceux ayant reçu une fertilisation organique.

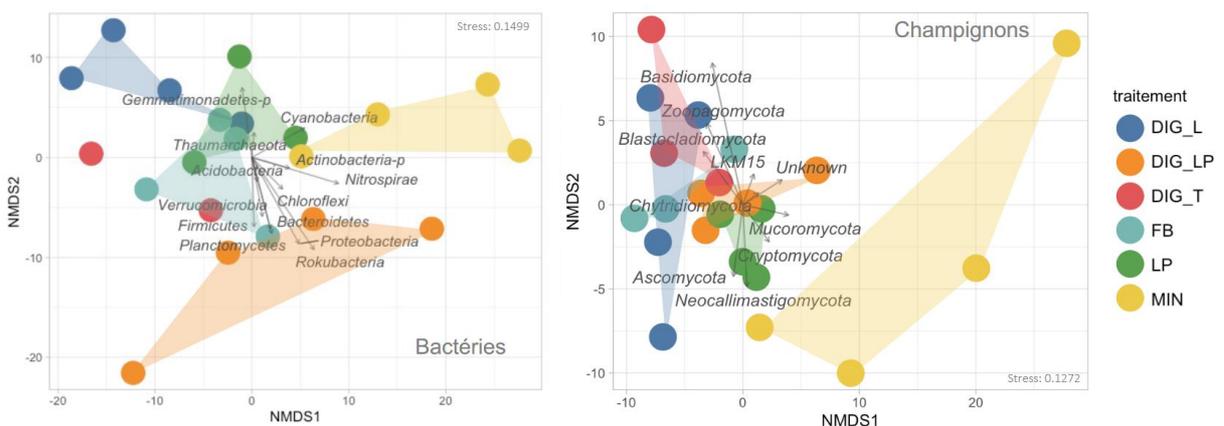


Figure 50 : Effet des différentes modalités d'apport sur la structure des communautés bactériennes et fongiques du sol d'EFELE (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FB : Fumier non digéré / LP: Lisier non digéré / DIG\_LP: Digestat de lisier)

### 2.3.5.2. Site experimental PROspective

Concernant la biomasse microbienne (Figure 51), les résultats obtenus sur le site expérimental de PROsective montrent que la biomasse microbienne des sols est similaire quel que soit la modalité d'apport ( $P > 0.05$ ).

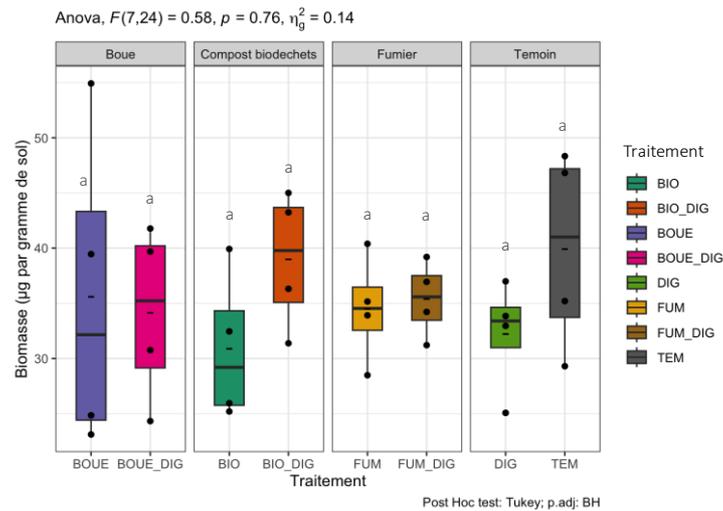


Figure 51 : Effet des différentes modalités d'apport sur la biomasse microbienne du sol de PROspective (DIG: Digestat / TEM: Fertilisation Minérale / FUM\_DIG: Fumier non digéré + Digestat / FUM\_MIN: Fumier non digéré + MIN / BOUE\_DIG: Boue de station d'épuration + Digestat / BOUE\_MIN: Boue de station d'épuration + MIN / BIO\_DIG: Compost de biodéchets + Digestat / BIO\_MIN: Compost de biodéchets + MIN)

Concernant la structure des communautés microbiennes (Bactéries et Champignons) (Figure 52), les résultats obtenus sur le site expérimental de PROspective montrent des différences selon les modalités d'apport. Plus précisément, concernant la structure bactérienne, les différences sont surtout observées entre les sols ayant reçu une fertilisation minérale (MIN (TEM)) et ceux ayant reçu du digestat associé à du fumier non digéré (FUM\_DIG). Pour les communautés fongiques, les différences de structures de communautés sont plus marquées selon le type d'apport ; seuls les sols ayant reçu du digestats (DIG), du digestat associé à des boues de station d'épuration (BOUE\_DIG) et du digestat associé à du compost de biodéchets (BIO\_DIG) semblent similaires.

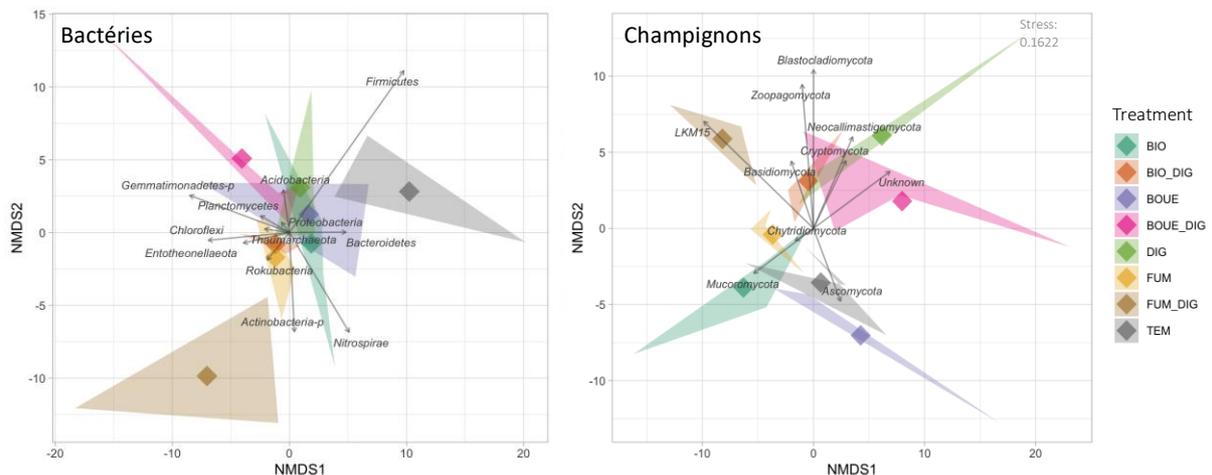


Figure 52 : Effet des différentes modalités d'apport sur la structure des communautés bactériennes et fongiques du sol de PROspective (DIG: Digestat / TEM: Fertilisation Minérale / FUM\_DIG: Fumier non digéré + Digestat / FUM\_MIN: Fumier non digéré + MIN / BOUE\_DIG: Boue de station d'épuration + Digestat / BOUE\_MIN: Boue de station d'épuration + MIN / BIO\_DIG: Compost de biodéchets + Digestat / BIO\_MIN: Compost de biodéchets + MIN)

### 2.3.5.3. Site experimental DIGE'O

Concernant la biomasse microbienne (Figure 53), les résultats obtenus sur le site expérimental de DIGE'O montrent que la biomasse microbienne des sols est similaire quel que soit la modalité d'apport ( $P > 0.05$ ).

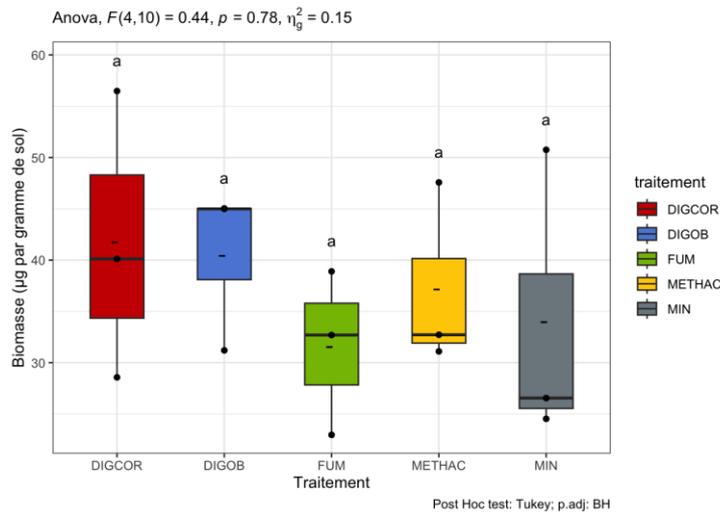


Figure 53 : Effet des différentes modalités d'apport sur la biomasse microbienne du sol de DIGE'O (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FUM: Fumier non digéré / DIGOB: Digestat Obernai / DIGCOR: Digestat Obernai corrigé / METHAC: Digestat MethaChrist)

Concernant la structure des communautés microbiennes (Bactéries et Champignons) (Figure 54), les résultats obtenus sur le site expérimental DIGE'O montrent des différences selon les modalités d'apport. Plus précisément, concernant les structures bactérienne et fongique, les différences sont surtout observées entre les sols ayant reçu une fertilisation organique de type fumier non digéré (FUM) et ceux ayant reçu du digestat (DIGOB, DIGCOR et METHAC) ou une fertilisation minérale (MIN).

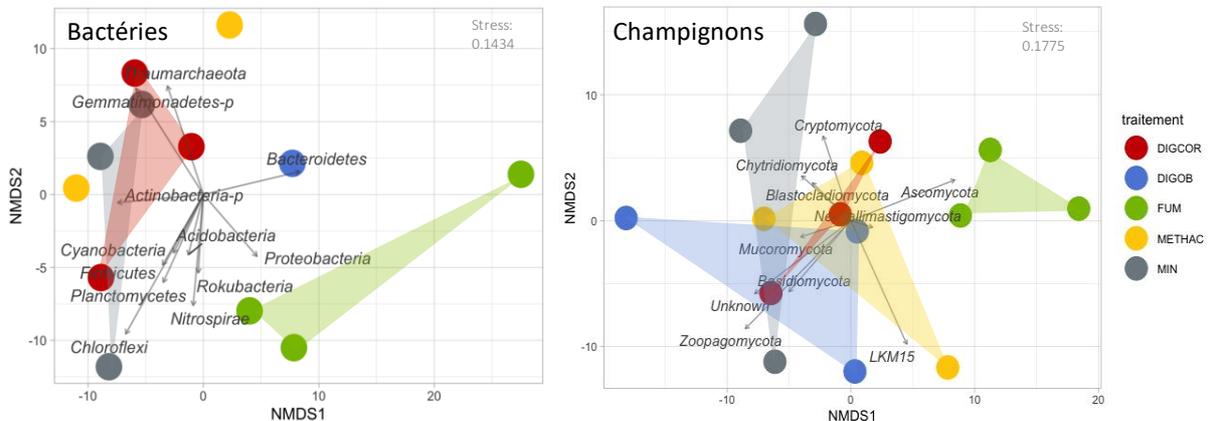


Figure 54 : Effet des différentes modalités d'apport sur la structure des communautés bactériennes et fongiques du sol de DIGE'O (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FUM: Fumier non digéré / DIGOB: Digestat Obernai / DIGCOR: Digestat Obernai corrigé / METHAC: Digestat MethaChrist)

## 2.3.6. Impact des digestats sur les pathogènes des sols à moyens termes

### 2.3.6.1. Site experimental EFELE

Concernant le dénombrement de la bactérie indicatrice de traitement *Escherichia coli* (Figure 55), des concentrations faibles ont été dénombrées dans les échantillons de sol provenant de trois des traitements (DIG\_LP, DIG\_T et LP). Pour ces traitements, les résultats du dénombrement d'*E. coli* étaient au-dessus du seuil de sensibilité uniquement dans une des quatre parcelles.

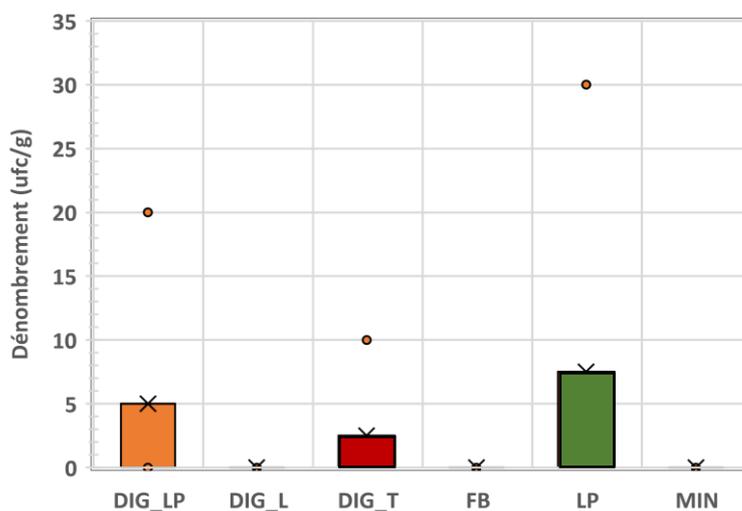


Figure 55 : Effet des différentes modalités d'apport sur la population d'*Escherichia coli* dans le sol d'EFELE (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FB : Fumier non digéré / LP: Lisier non digéré / DIG\_LP: Digestat de lisier de porc / DIG\_L : digestat territorial / Dig\_T : digestat de lisier de bovin)

Les résultats de la recherche des trois pathogènes cibles sont consignés dans le tableau 19. *L. monocytogenes* et *S. enterica* n'ont pas été détectées dans aucun des échantillons de sol analysés. Des bactéries appartenant au complexe Kp ont été détectées dans une des quatre parcelles du témoin fertilisation minérale. Après phylogroupage, l'espèce *Klebsiella variicola* (Kp 3-5) a été identifiée.

Modalités	Complexe Kp	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. enterica</i>
DIG_LP	- <sup>a</sup>	-	-
DIG_L	-	-	-
DIG_T	-	-	-
FB	-	-	-
LP	-	-	-
MIN	+ <sup>b</sup>	-	-

<sup>a</sup> absence de détection

<sup>b</sup> détection du complexe Kp dans une des quatre parcelles échantillonnées

Tableau 19 : Résultats de la recherche de bactéries pathogènes dans les sols d'EFELE en fonction des modalités d'apport. (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FB : Fumier non digéré / LP: Lisier non digéré / DIG\_LP: Digestat de lisier de porc / DIG\_L : digestat territorial / Dig\_T : digestat de lisier de bovin)

### 2.3.6.2. Site expérimental PROspective

Dans les échantillons de sol issus du site expérimental PROspective (Figure 56), *E. coli* n'a été dénombrée que dans une des quatre parcelles amendées avec du fumier (FUM\_MIN).

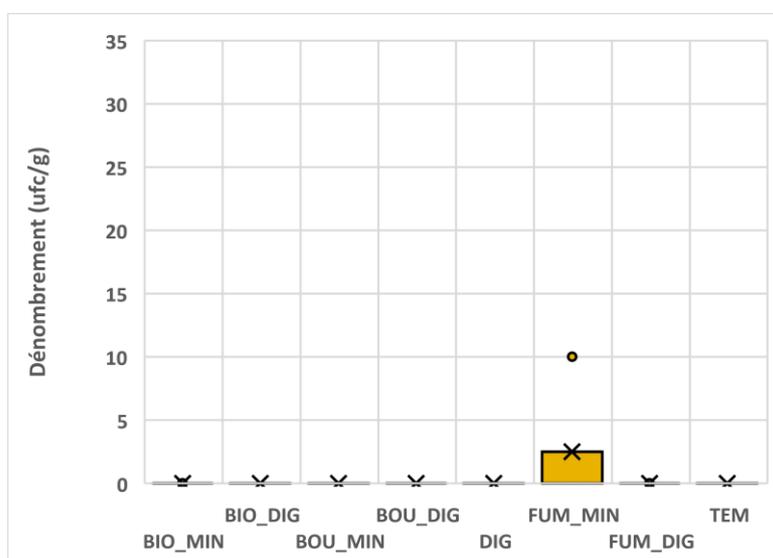


Figure 56 : Effet des différentes modalités d'apport sur la population d'Escherichia coli dans le sol de PROspective (DIG: Digestat / TEM: Fertilisation Minérale / FUM\_DIG: Fumier non digéré + Digestat / FUM\_MIN: Fumier non digéré + MIN / BOUE\_DIG: Boue de station d'épuration + Digestat / BOUE\_MIN: Boue de station d'épuration + MIN / BIO\_DIG: Compost de biodéchets + Digestat / BIO\_MIN: Compost de biodéchets + MIN)

La recherche du complexe Kp, de *L. monocytogenes* et de *S. enterica* s'est révélée négative dans tous les échantillons provenant du dispositif expérimental PROspective (Tableau 20).

Modalités	Complexe Kp	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. enterica</i>
BIO_MIN	- <sup>a</sup>	-	-
BIO_DIG	-	-	-
BOU_MIN	-	-	-
BOU_DIG	-	-	-
DIG	-	-	-
FUM_MIN	-	-	-
FUM_DIG	-	-	-
<b>TEM</b>	-	-	-

<sup>a</sup> absence de détection

Tableau 20 : Résultats de la recherche de bactéries pathogènes dans les sols de PROspective en fonction des modalités d'apport (DIG: Digestat / TEM: Fertilisation Minérale / FUM\_DIG: Fumier non digéré + Digestat / FUM\_MIN: Fumier non digéré + MIN / BOUE\_DIG: Boue de station d'épuration + Digestat / BOUE\_MIN: Boue de station d'épuration + MIN / BIO\_DIG: Compost de biodéchets + Digestat / BIO\_MIN: Compost de biodéchets + MIN)

### 2.3.6.3. Site experimental DIGE'O

La bactérie indicatrice de traitement *E. coli* n'a été dénombrée que dans le traitement METHAC et seulement dans une des trois parcelles (Figure 57).

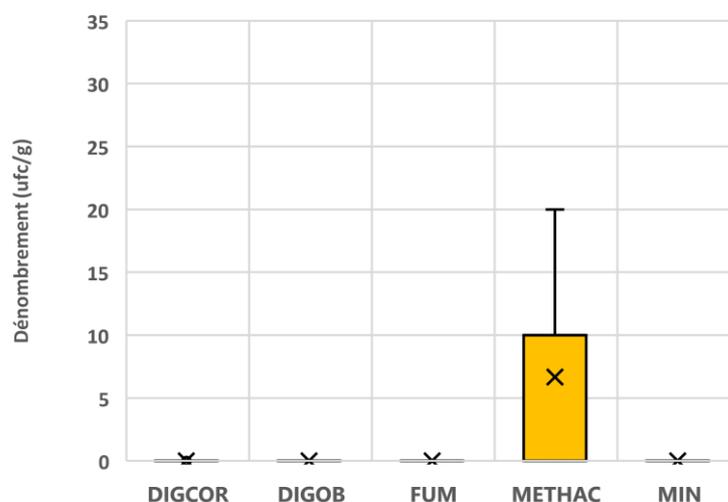


Figure 57 : Effet des différentes modalités d'apport sur la population d'*Escherichia coli* du sol de DIGE'O (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FUM: Fumier non digéré / DIGOB: Digestat Obernai / DIGCOR: Digestat Obernai corrigé / METHAC: Digestat MethaChrist)

Alors que *L. monocytogenes* et *S. enterica* n'ont pas été détectées, le complexe Kp a été détecté dans une des trois parcelles du traitement DIGCOR (Tableau 21).

Modalités	Complexe Kp	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. enterica</i>
DIGCOR	+ <sup>a</sup>	- <sup>b</sup>	-
DIGOB	-	-	-
METHAC	-	-	-
FUM	-	-	-
LP	-	-	-
MIN	-	-	-

<sup>a</sup> détection du complexe Kp dans une des trois parcelles échantillonnées

<sup>b</sup> absence de détection

Tableau 21 : Résultats de la recherche de bactéries pathogènes dans les sols de DIGE'O en fonction des modalités d'apport (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FUM: Fumier non digéré / DIGOB: Digestat Obernai / DIGCOR: Digestat Obernai corrigé / METHAC: Digestat MethaChrist)

### 2.3.7. Synthèse de l'impact des digestats sur la qualité biologique des sols agricoles à moyens termes

Grâce à une analyse statistique combinée (Analyse Factorielle Multiple), l'effet des différentes modalités d'apport a été testé sur l'ensemble des bioindicateurs de la qualité biologique du sol, et ce pour chaque site expérimental (Figure 58).

Afin de tester la significativité de la dispersion des modalités de la variable traitement (fertilisation minérale ou d'apport de PRO), un modèle d'analyse de variance à un facteur est réalisé pour chaque dimension de l'AFM. Les variables à expliquer sont les coordonnées des individus sur les axes factoriels de l'AFM et la variable explicative le traitement. Un test F permet donc de voir si la variable a un effet significatif sur la dimension et que certaines modalités de la variable traitement sont significativement différentes de celles de l'ensemble de la population (la plus grande distance entre les modalités sur la dimension considérée).

Pour le site expérimental d'EFELE, seule la première dimension de l'AFM est significative ( $p < 5\%$ ) et permet d'opposer la modalité FB (coordonnées positives) à la modalité MIN (coordonnées négatives). Les paramètres physico-chimiques associés à cette dimension sont le pH, la CEC, le carbone actif et le rapport C/N (coordonnées positives). Ensuite, la dégradation de la matière organique fraîche (LevaBag) et la biomasse microbienne (coordonnées positives) sont corrélées à ces paramètres physico-chimiques et s'opposent à la diversité en champignon (coordonnées négatives). Pour le site expérimental de PROspective, les deux premières dimensions de l'AFM sont significatives (respectivement F1  $p < 1\%$  et F2  $p < 5\%$ ). Ainsi, la biomasse lombricienne totale, les nématodes phytophages et bactériophage cp1 (coordonnées positives) sont corrélées à la première dimension de l'AFM. Ces variables permettent d'opposer FUM\_DIG (coordonnées positives) à MIN (coordonnées négatives). Concernant la deuxième dimension de l'AFM, Les paramètres physico-chimiques associés à cette dimension sont l'azote total, la matière organique et le carbone actif (coordonnées positives). Ensuite, la dégradation de la matière organique fraîche (LevaBag) et la biomasse microbienne (coordonnées positives) sont corrélées à ces paramètres physico-chimiques et s'opposent à la diversité en champignon (coordonnées négatives). Cet axe factoriel oppose la modalité BIO\_MIN (coordonnées positives) à la modalité DIG (coordonnées négatives). Pour le site expérimental d'Obernai, aucun test F n'est significatif. Ainsi, aucune dimension de l'AFM ne permet de différencier les traitements entre eux.

Pour rappel, les différents sites expérimentaux n'ont pas tous le même historique d'apport de digestats. Le plus ancien étant EFELE (10 ans) et pour les apports de DIG\_LP, puis PROspective (8 ans) et ensuite Dige'O (4 ans). Les résultats obtenus pour Dige'O et PROspective montrent qu'au bout de trois à huit campagnes d'apports de digestat, la biologie du sol des parcelles ayant reçu du digestat (et uniquement du digestat pour PROspective) s'avèrent être proches de celles ayant reçu une fertilisation minérale mais très éloignée de celles ayant reçu du fumier (Figure 58A et B). En revanche, sur le site d'EFELE, après 10 campagnes d'apport de digestat, la biologie du sol des parcelles testées se retrouve en position intermédiaire de celles amendées avec un fumier et fertilisées de façon chimique (Figure 58C). Certes, les digestats testés entre les différents sites sont différents, tout comme les contextes pédoclimatiques. Les résultats obtenus sont donc à consolider, mais ces derniers suggèrent un effet pivot des digestats sur la biologie des sols entre 8 et 10 ans de répétitions d'apport.

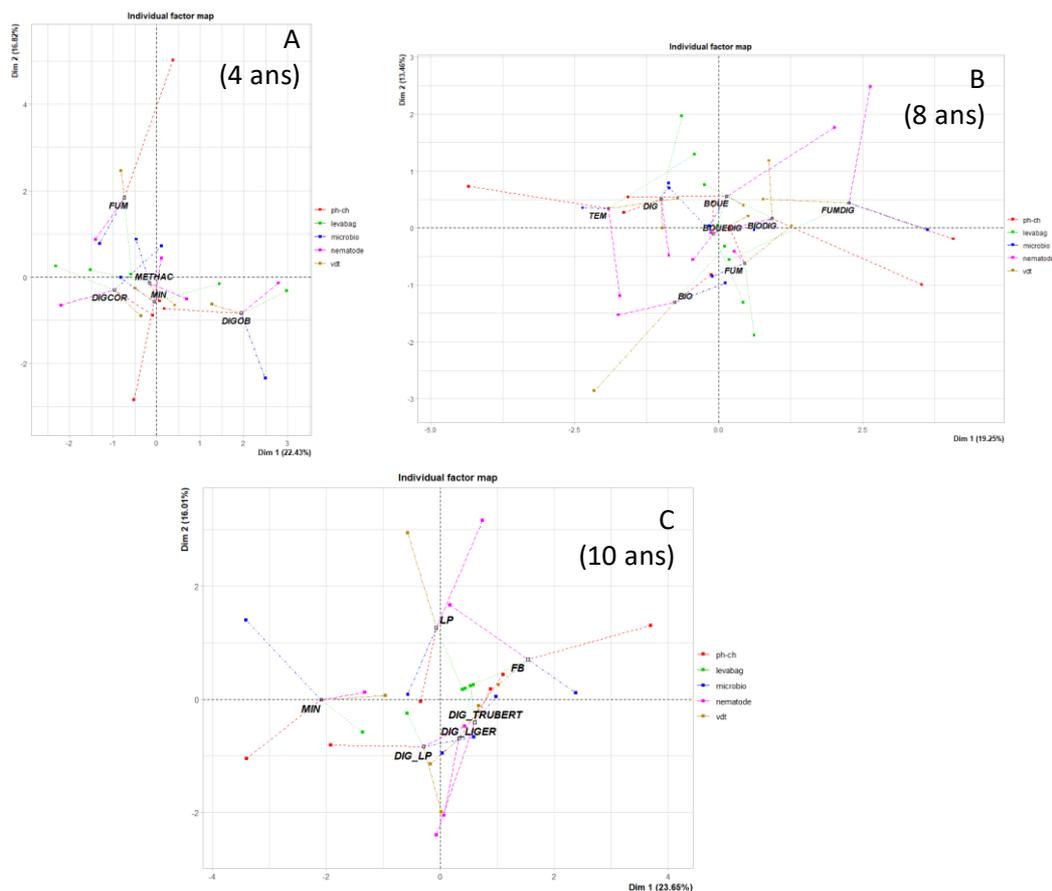


Figure 58 : Effet des différentes modalités d'apport sur les indicateurs de la biologie des sols pour les trois sites expérimentaux testés dans le projet Metha-BioSol (A : DIGE'O ; B : PROspective et C : EFELE)

(Abréviations des modalités pour DIGE'O: DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FUM: Fumier non digéré / DIGOB: Digestat Obernai / DIGCOR: Digestat Obernai corrigé / METHAC: Digestat MethaChrist ; Abréviations des modalités pour PROspective: DIG: Digestat / TEM: Fertilisation Minérale / FUM\_DIG: Fumier non digéré + Digestat / FUM: Fumier non digéré + MIN / BOUE\_DIG: Boue de station d'épuration + Digestat / BOUE: Boue de station d'épuration + MIN / BIO\_DIG: Compost de biodéchets + Digestat / BIO\_MIN: Compost de biodéchets + MIN ; EFELE : DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FB : Fumier non digéré / LP: Lisier non digéré / DIG\_LP: Digestat de lisier de porc / DIG\_L : digestat territorial / DIG\_T : digestat de lisier de bovin)

### 3. Conclusions

Dans un contexte d'amélioration de la gestion agroécologique des sols afin d'optimiser leur capacité de production pour une agriculture plus écoefficiente, le projet Metha-BioSol a cherché à évaluer l'impact des digestats de méthanisation sur la qualité biologique et écologique des sols en utilisant des bio-indicateurs opérationnels, c'est-à-dire des outils permettant d'appréhender la diversité des macro et micro-organismes, la dynamique du carbone (C) et l'état sanitaire (pathogènes) des sols.

Les résultats obtenus au laboratoire montrent que les sols sableux sont plus vulnérables, sensibles, à l'apport de certains digestats ; notamment ceux présentant un C/N faible, soit une quantité d'azote (ammonium) importante. Il est à noter que les résultats obtenus à cette échelle constituent un premier élément de réponse, mais ne gagent en rien de ce qu'il peut se passer au terrain. En effet, les digestats n'ont pas tous été appliqués avec la même quantité d'azote et les micro- et mésocosmes étaient dépourvus de plantes... Par ailleurs, les résultats obtenus sont valables dans les conditions expérimentales décrites dans le présent rapport (un seul apport de digestats, évaluation de l'impact au bout de 42 jours d'incubation, expérimentation en milieux contrôlés...).

Les expérimentations au champ montrent également un effet des digestats sur la biologie des sols. Les indicateurs de la qualité biologique des sols répondent aux apports de digestats après 8 et 10 ans de répétitions d'apport. Cet effet semble apparaître après 8 à 10 campagnes d'épandage de digestats. Les paramètres relatifs à la physico-chimie des sols (Corg, Ntot, pH), les indicateurs de la qualité microbiologique (biomasse microbienne, richesse bactérienne) et nématologique (abondance de nématodes bactérivores, Indice de diversité de Shannon) des sols semblent être les indicateurs les plus discriminants. Dans les sols prélevés, ceux ayant été amendés avec un digestat de méthanisation semble présenter une biologie différente de ceux ayant reçu un amendement plus récalcitrant de type fumier non digéré ou une fertilisation minérale.

Les résultats du projet obtenus au laboratoire et aux champs montrent ainsi que les impacts, à court et moyen termes, de l'épandage de digestats de méthanisation sur la biologie des sols sont variables et dépendent du type de sol et des caractéristiques des digestats apportés.

Ainsi en ce qui concerne la qualité sanitaire du sol, deux des trois pathogènes recherchés ont été détectés dans un même digestat. De façon intéressante, ces mêmes indicateurs ont été identifiés simultanément dans les microcosmes préparés avec ce digestat et le sol limono-argileux. Cela suggère une survie potentielle de ces bactéries pathogènes dans le sol après épandage mais que les caractéristiques édaphiques influencent de façon significative cette survie. De plus, la durée de détection de ces pathogènes dans les microcosmes dépend de leur concentration initiale dans le digestat. Ces résultats montrent d'une part que la qualité sanitaire du digestat est un paramètre important à prendre en compte et, que d'autre part, les caractéristiques du milieu receveur doivent être prises en considération avant de pouvoir conclure de façon définitive sur un impact direct éventuel de l'épandage de digestats sur la qualité sanitaire des sols. Les résultats obtenus à partir de prélèvements ponctuels sur les parcelles expérimentales et les réseaux de fermes montrent, dans quelques cas, la détection d'un des indicateurs sanitaires. Des études longitudinales avant, pendant et après épandage, et sur un nombre plus important de parcelles est nécessaire afin d'affiner ces résultats. Enfin, la pluralité des microorganismes indésirables susceptibles d'être présents dans certains digestats devra être prise en compte dans les études futures.

En ce qui concerne les indicateurs de qualité biologique du sol, un déploiement de ces indicateurs en condition réelle de terrain, sur un réseau de fermes agricoles épandant des digestats de méthanisation depuis plusieurs années, pourrait permettre de continuer à, renseigner l'impact des digestats de méthanisation en associations avec des pratiques agricoles sur la qualité des sols agricoles. Il est probable que des mécanismes de compensation puissent ainsi être mis en avant. Cette démarche implique une vision systémique de l'usage des digestats dans divers systèmes de culture et dans diverses situations pédologiques. Par ailleurs, il est essentiel de poursuivre les dispositifs expérimentaux sur les apports de digestats, afin de mieux cerner cet effet long termes qui semble apparaître dans cette étude, et ce dans des dispositifs où seul le facteur avec/sans digestat varie sur de longue durée (>10ans).

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

Cortez, J. and M. Bouche (2001). "Decomposition of Mediterranean leaf litters by *Nicodrilus meridionalis* (Lumbricidae) in laboratory and field experiments." Soil Biology and Biochemistry **33**(15): 2023-2035.

Frazão, J., et al. (2019). "Soil structure formation and organic matter distribution as affected by earthworm species interactions and crop residue placement." Geoderma **338**: 453-463.

Hoeffner, K., et al. (2019). "Response of temperate anecic earthworm individual biomass to species interactions." Applied Soil Ecology **144**: 8-11.

Jégou, D., et al. (1998). "Effects of four ecological categories of earthworms on carbon transfer in soil." Applied Soil Ecology **9**(1-3): 249-255.

Cortez, J. and M. Bouche (2001). "Decomposition of Mediterranean leaf litters by *Nicodrilus meridionalis* (Lumbricidae) in laboratory and field experiments." Soil Biology and Biochemistry **33**(15): 2023-2035.

Frazão, J., et al. (2019). "Soil structure formation and organic matter distribution as affected by earthworm species interactions and crop residue placement." Geoderma **338**: 453-463.

Hoeffner, K., et al. (2019). "Response of temperate anecic earthworm individual biomass to species interactions." Applied Soil Ecology **144**: 8-11.

Jégou, D., et al. (1998). "Effects of four ecological categories of earthworms on carbon transfer in soil." Applied Soil Ecology **9**(1-3): 249-255.

## INDEX DES TABLEAUX ET FIGURES

---

### FIGURES :

Figure 1 : Photos illustrant les expérimentations en micro et mésocosmes .....	10
Figure 2 : Triangle des textures des trois sols utilisés pour les micro- et mésocosmes.....	11
Figure 3 : Analyse en composante principale représentant la physico-chimie des amendements organiques utilisés dans les expérimentations en laboratoire (mésos- et microcosmes).....	12
Figure 4 : Récapitulatif du montage des mésocosmes .....	14
Figure 5 : Analyse en composante principale de la physico-chimie des sols 42 jours après incubation.....	15
Figure 6 : Analyse en composante principale intragroupe de la physico-chimie des sols 42 jours après incubation.....	16
Figure 7 : Effet du sol sur la dégradation de la Matière Organique Fraîche.....	16
Figure 8 : Effet croisés de différents types de digestats sur différents types de sol sur la dégradation de la Matière Organique Fraîche dans les litterbags. Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%). *indique une différence significative par rapport au témoin Eau (Test de Dunett, p-value < 0,05, # p-value<0,1).....	17
Figure 9 : Effet de la fraction du digestat sur la dégradation de la Matière Organique Fraîche. Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%). *indique une différence significative par rapport au témoin Eau (Test de Dunett, p-value < 0,05, # p-value<0,1).....	18
Figure 10 : Effet des différents types de digestats et de sols sur l'évolution du poids des lombriciens. Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%).....	19
Figure 11 : Effet croisé de la fraction du digestat et des sols sur l'évolution du poids des lombriciens. Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%).....	20
Figure 12 : Abondance des différents types de nématodes observés dans les matières organiques apportées (nb nématodes/100g matières sèches). Deux échelles sont présentées.....	23
Figure 13 : Abondance des différents groupes trophiques de nématodes dans les 3 sols au moment la mise en place de l'essai (T0) et à la fin de l'essai (TF) dans la modalité témoin Eau. Sol 1 = sol de Bourgogne ; Sol 2 = sol de Provence côte d'Azur ; Sol 3 = sol des Pays de Loire. (Minuscule : ANOVA entre les 3 sols à T0, MAJUSCULE : ANOVA entre les 3 sols à TF, * = différence significative de l'abondance totale de nématodes entre T0 et TF, Test de Kruskal-Wallis, # : p-value < 0,1).....	24
Figure 14 : MDS effectuée sur les abondances de nématodes par familles en fonction des sols d'origine à TF.....	26
Figure 15 : Effet de différents types de digestats et d'un fumier appliqué à 3 types de sol sur l'abondance de nématodes libres du sol. Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%). *indique une différence significative par rapport au témoin Eau (Test de Dunett, p-value < 0,05). Les résultats suivis d'une même lettre ne sont pas significativement différents (ANOVA 1 facteur, p-value < 0,05).....	27
Figure 16 : Effet de différents types de digestats et d'un fumier appliqués à 3 types de sol sur Indice d'Enrichissement (EI). Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%). *indique une différence significative par rapport au témoin Eau (Test de Dunett, p-value < 0,05). Les résultats suivis d'une même lettre ne sont pas significativement différents (ANOVA 1 facteur, p-value < 0,05).....	27
Figure 17 : Effet de différents types de digestats et d'un fumier appliqués à 3 types de sol sur l'Indice de Structure. Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%). *indique une différence significative par rapport au témoin Eau (Test de Dunett, p-value < 0,05, # p-value<0,1).....	28
Figure 18 : Effet de différents types de digestats et d'un fumier appliqué à 3 types de sol sur l'Indice de diversité de Shannon. Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%). *indique une différence significative par rapport au témoin Eau (Test de Dunett, p-value < 0,05, # p-value<0,1). Les résultats suivis d'une même lettre ne sont pas significativement différents (ANOVA 1 facteur, p-value < 0,05).....	28
Figure 19 : Effet de différentes fractions de digestats, d'un lisier, d'un fumier et d'une fertilisation minérale appliqués à 3 types de sol sur l'abondance de nématodes libres des sols. Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%). *indique une différence significative par rapport au témoin Eau (Test de Dunett, p-value < 0,05, # p-value<0,1). Les résultats suivis d'une même lettre ne sont pas significativement différents (ANOVA 1 facteur, p-value < 0,05).....	29
Figure 20 : Effet de différentes fractions de digestats, d'un lisier, d'un fumier et d'une fertilisation minérale appliqués à 3 types de sol sur l'Indice d'enrichissement (EI). Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%). *indique une différence significative par rapport au témoin Eau (Test de Dunett, p-value < 0,05, # p-value<0,1). Les résultats suivis d'une même lettre ne sont pas significativement différents (ANOVA 1 facteur, p-value < 0,05).....	29
Figure 21 : Effet de différentes fractions de digestats, d'un lisier, d'un fumier et d'une fertilisation minérale sur l'Indice de Structure (SI) (moyenne des 3 sols testés). Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%). *indique une différence significative par rapport au témoin Eau (Test de	

Dunett, p-value < 0,05, # p-value<0,1). Les résultats suivis d'une même lettre ne sont pas significativement différents (ANOVA 1 facteur, p-value < 0.05).....	30
Figure 22 : Effet de différentes fractions de digestats, d'un lisier, d'un fumier et d'une fertilisation minérale sur l'Indice de diversité de Shannon (moyenne des 3 sols testés). Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%). *indique une différence significative par rapport au témoin Eau (Test de Dunett, p-value < 0,05, # p-value<0,1). Les résultats suivis d'une même lettre ne sont pas significativement différents (ANOVA 1 facteur, p-value < 0.05).....	30
Figure 23 : Un dispositif expérimental constitué de 120 microcosmes.....	32
Figure 24 : Analyse en composante principale de la physico-chimie des sols 42 jours après incubation.....	33
Figure 25 : Effet croisés de différents types de digestats sur différents types de sol sur la biomasse microbienne des sols. Les résultats sont présentés en % de différence par rapport au témoin eau sans apport (ligne noire à 0%). Les différentes lettres indiquent des différences significatives entre les différentes modalités (ANOVA, Test de Tuckey). ....	34
Figure 26 : Effet croisés de différents types de digestats sur différents types de sol sur la diversité (Richesse) bactérienne des sols. Les différentes lettres indiquent des différences significatives entre les différentes modalités (ANOVA, Test de Tuckey).....	34
Figure 27 : Effet croisés de différents types de digestats sur différents types de sol sur la diversité (Richesse) fongique des sols. Les différentes lettres indiquent des différences significatives entre les différentes modalités (ANOVA, Test de Tuckey).....	35
Figure 28 : Effet de la fraction du digestat sur la biomasse microbienne des sols. Les différentes lettres indiquent des différences significatives entre les différentes modalités (ANOVA, Test de Tuckey). ....	35
Figure 29 : Effet de la fraction du digestat sur la diversité (Richesse) bactérienne des sols. Les différentes lettres indiquent des différences significatives entre les différentes modalités (ANOVA, Test de Tuckey).....	36
Figure 30 : Effet de la fraction du digestat sur la diversité (Richesse) fongique des sols. Les différentes lettres indiquent des différences significatives entre les différentes modalités (ANOVA, Test de Tuckey).....	36
Figure 31 : Proportion de microcosmes positifs après détection moléculaire des indicateurs sanitaires.....	39
Figure 32 : Représentation graphique du tableau de contingence de présence/absence du complexe Kp en fonction du sol et résultats du test exact de Fisher. Sol 1 : gris ; Sol 2 : orange ; Sol 3 : bleu.....	40
Figure 33 : Représentation graphique du tableau de contingence de présence/absence de Listeria sp en fonction de l'intrant et résultats du test exact de Fisher. ....	41
Figure 34 : Proportion de microcosmes positifs pour la présence de K. pneumoniae et L. monocytogenes au cours du temps. ....	42
Figure 35 : Représentation graphique du tableau de contingence de présence/absence de K. pneumoniae en fonction du sol, pour la condition 104 UFC/g, et résultats du test exact de Fisher. Sol 1 : gris ; Sol 2 : orange ; Sol 3 : bleu .....	43
Figure 36 : Représentation graphique du tableau de contingence de présence/absence de L. monocytogenes en fonction du sol, pour la condition 10 <sup>2</sup> UFC/g, et résultats du test exact de Fisher. Sol 1 : gris ; Sol 2 : orange ; Sol 3 : bleu. ....	44
Figure 37 : Effet des différentes modalités d'apport sur la capacité du sol à dégrader la matière organique fraîche (DIG_L : Digestat L / DIG_LP: Digestat de lisier / DIG_T : Digestat T / FB : Fumier non digéré / LP: Lisier non digéré / MIN: Fertilisation Minérale) .....	49
Figure 38 : Effet des différentes modalités d'apport sur la capacité du sol de PROspective à dégrader la matière organique fraîche (DIG: Digestat / TEM: Fertilisation Minérale / FUM_DIG: Fumier non digéré + Digestat / FUM_MIN: Fumier non digéré + MIN / BOUE_DIG: Boue de station d'épuration + Digestat / BOUE_MIN: Boue de station d'épuration + MIN / BIO_DIG: Compost de biodéchets + Digestat / BIO_MIN: Compost de biodéchets + MIN) .....	49
Figure 39 : Effet des différentes modalités d'apport sur la capacité du sol de DIGE'O à dégrader la matière organique fraîche (DIGcor: Digestat Obernai corrigé / DIGOb: Digestat Obernai / Fum: Fumier non digéré / MethaC: Digestat MethaChrist / Min: Fertilisation Minérale).....	50
Figure 40 : Effet des différentes modalités d'apport sur l'abondance et la biomasse des lombriciens d'EFELE (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FB : Fumier non digéré / LP: Lisier non digéré / DIG_LP: Digestat de lisier) .....	50
Figure 41: Effet des différentes modalités d'apport sur l'abondance et la biomasse des lombriciens de PROspective (DIG: Digestat / TEM: Fertilisation Minérale / FUM_DIG: Fumier non digéré + Digestat / FUM_MIN: Fumier non digéré + MIN / BOUE_DIG: Boue de station d'épuration + Digestat / BOUE_MIN: Boue de station d'épuration + MIN / BIO_DIG: Compost de biodéchets + Digestat / BIO_MIN: Compost de biodéchets + MIN) .....	51
Figure 42 : Effet des différentes modalités d'apport sur l'abondance et la biomasse des lombriciens de DIGE'O (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FUM: Fumier non digéré / DIGOB: Digestat Obernai / DIGCOR: Digestat Obernai corrigé / METHAC: Digestat MethaChrist) .....	51
Figure 43: Effet des différentes modalités d'apport sur l'abondance des nématodes bactériovores opportunistes (n=4) à EFELE (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FB : Fumier non digéré / LP: Lisier non digéré / DIG_LP:	

Digestat de lisier). Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon un test ANOVA correction de Tuckey, p-value <0,1.....	52
Figure 44 : Diagnostic du réseau trophique obtenu en projetant les indices EI et SI. La zone entourée représente la zone cible conseillée pour un usage en grandes culture (ELIPTO®). Les écarts-types sont représentés via les barres d'erreurs. ....	54
Figure 45 : Effet des différentes modalités d'apport sur l'abondance des nématodes bactériovores opportunistes (n=4) à PROspective (DIG: Digestat / TEM: Fertilisation Minérale / FUM_DIG: Fumier non digéré + Digestat / FUM_MIN: Fumier non digéré + MIN / BOUE_DIG: Boue de station d'épuration + Digestat / BOUE_MIN: Boue de station d'épuration + MIN / BIO_DIG: Compost de biodéchets + Digestat / BIO_MIN: Compost de biodéchets + MIN). Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon un test ANOVA correction de Tuckey, p-value <0,05. ....	54
Figure 46: Diagnostic du réseau trophique obtenu en projetant les indices EI et SI. La zone entourée représente la zone cible conseillée pour un usage en grandes cultures. Les écarts-types sont représentés via les barres d'erreurs. ..	56
Figure 47 : Effet des différentes modalités d'apport sur l'abondance des nématodes bactériovores autres (n=4) sur le site de DIGE'O (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FUM: Fumier non digéré / DIGOB: Digestat Obernai / DIGCOR: Digestat Obernai corrigé / METHAC: Digestat MethaChrist). Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon un test ANOVA correction de Tuckey, p-value <0,1 .....	57
Figure 48: Diagnostic du réseau trophique obtenu en projetant les indices EI et SI. La zone entourée représente la zone cible conseillée pour un usage en grandes cultures. Les barres d'erreur représentent les écart-types.....	59
Figure 49 : Effet des différentes modalités d'apport sur la biomasse microbienne du sol d'EFELE (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FB : Fumier non digéré / LP: Lisier non digéré / DIG_LP: Digestat de lisier) .....	60
Figure 50 : Effet des différentes modalités d'apport sur la structure des communautés bactériennes et fongiques du sol d'EFELE (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FB : Fumier non digéré / LP: Lisier non digéré / DIG_LP: Digestat de lisier) .....	60
Figure 51 : Effet des différentes modalités d'apport sur la biomasse microbienne du sol de PROspective (DIG: Digestat / TEM: Fertilisation Minérale / FUM_DIG: Fumier non digéré + Digestat / FUM_MIN: Fumier non digéré + MIN / BOUE_DIG: Boue de station d'épuration + Digestat / BOUE_MIN: Boue de station d'épuration + MIN / BIO_DIG: Compost de biodéchets + Digestat / BIO_MIN: Compost de biodéchets + MIN) .....	61
Figure 52 : Effet des différentes modalités d'apport sur la structure des communautés bactériennes et fongiques du sol de PROspective (DIG: Digestat / TEM: Fertilisation Minérale / FUM_DIG: Fumier non digéré + Digestat / FUM_MIN: Fumier non digéré + MIN / BOUE_DIG: Boue de station d'épuration + Digestat / BOUE_MIN: Boue de station d'épuration + MIN / BIO_DIG: Compost de biodéchets + Digestat / BIO_MIN: Compost de biodéchets + MIN) .....	61
Figure 53 : Effet des différentes modalités d'apport sur la biomasse microbienne du sol de DIGE'O (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FUM: Fumier non digéré / DIGOB: Digestat Obernai / DIGCOR: Digestat Obernai corrigé / METHAC: Digestat MethaChrist) .....	62
Figure 54 : Effet des différentes modalités d'apport sur la structure des communautés bactériennes et fongiques du sol de DIGE'O (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FUM: Fumier non digéré / DIGOB: Digestat Obernai / DIGCOR: Digestat Obernai corrigé / METHAC: Digestat MethaChrist) .....	62
Figure 55 : Effet des différentes modalités d'apport sur la population d'Escherichia coli dans le sol d'EFELE (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FB : Fumier non digéré / LP: Lisier non digéré / DIG_LP: Digestat de lisier de porc / DIG_L : digestat territorial / Dig_T : digestat de lisier de bovin) .....	63
Figure 56 : Effet des différentes modalités d'apport sur la population d'Escherichia coli dans le sol de PROspective (DIG: Digestat / TEM: Fertilisation Minérale / FUM_DIG: Fumier non digéré + Digestat / FUM_MIN: Fumier non digéré + MIN / BOUE_DIG: Boue de station d'épuration + Digestat / BOUE_MIN: Boue de station d'épuration + MIN / BIO_DIG: Compost de biodéchets + Digestat / BIO_MIN: Compost de biodéchets + MIN) .....	64
Figure 57 : Effet des différentes modalités d'apport sur la population d'Escherichia coli du sol de DIGE'O (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FUM: Fumier non digéré / DIGOB: Digestat Obernai / DIGCOR: Digestat Obernai corrigé / METHAC: Digestat MethaChrist) .....	65
Figure 58 : Effet des différentes modalités d'apport sur les indicateurs de la biologie des sols pour les trois sites expérimentaux testés dans le projet Metha-BioSol (A : DIGE'O ; B : PROspective et C : EFELE).....	67

## TABLEAUX :

Tableau 1 : Tableau de bord des bioindicateurs de la qualité biologique des sols proposés dans le cadre du projet AgrInnov (CASDAR IP 2012-2015).....	9
Tableau 2 : Tableau de bord de bioindicateurs de la qualité biologique des sols proposés dans le cadre du projet Metha-BioSol .....	10
Tableau 3 : Physico-chimie initiale des trois types de sols ayant servi à réaliser les micro- et mésocosmes .....	11
Tableau 4 : Quantité de matière introduite dans les microcosmes par les différents apports .....	13

Tableau 5 : Estimation du nombre de nématodes apportés dans les mésocosmes pour 100g brut de produits (= nombre de nématodes apportés par mésocosme avec les produits). Case vide : absence de nématodes. Libres : Bactérovores opportunistes + Bactérovores autres+ Fongivores + Prédateurs. Phytophages : Phytoparasites + Phytophages facultatifs.....	23
Tableau 6 : Valeurs moyennes des indices nématofauniques dans les trois types de sol étudiés au moment de la mise en place de l'essai (T0) et à la fin de l'essai (TF). Sol 1 = sol de Bourgogne ; Sol 2 = Sol de Provence côte d'Azur ; Sol 3 = Sol des Pays de Loire. Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (minuscule : ANOVA entre les types de sol à T0, MAJUSCULE : ANOVA entre les types de sol à TF, p-value T0/TF : Test de Kruskal-Wallis entre T0 et TF au sein de chaque sol). .....	25
Tableau 7 : Résultats du dénombrement d'E. coli et de la détection moléculaire des indicateurs dans les sols à T0. ...	37
Tableau 8 : Résultats du dénombrement d'E. coli et de la détection moléculaire des indicateurs dans les digestats à T0. ....	38
Tableau 9 : Résultats du dénombrement d'E. coli et de la détection moléculaire des indicateurs dans les témoins à T0. ....	38
Tableau 10 : Effet des différentes modalités d'apport sur les paramètres physico-chimique du sol d'EFELE. ....	46
Tableau 11 : Effet des différentes modalités d'apport sur les paramètres physico-chimique du sol de PROspective. ..	46
Tableau 12 : Effet des différentes modalités d'apport sur les paramètres physico-chimique du sol de DIGE'O. ....	48
Tableau 13: Abondances de nématodes par groupes trophique et modalités testées (moyenne ± EC, n=4). BACTERIVORES_cp1 : bactérovores opportunistes. BACTERIVORES_AUTRES : bactérovores non opportunistes. Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon un test ANOVA correction de Tuckey, p-value<0,05 et <0,1 si la lettre est suivie d'une *. NS = non significatif. (k = test de Kruskal-Wallis).....	53
Tableau 14 : Valeurs des Indices nématofauniques (moyenne ± EC, n=4). Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon un test ANOVA avec correction de Tuckey. NS = non significatif. ....	53
Tableau 15: Abondances de nématodes par groupes trophique et modalités testées (moyenne ± EC, n=4). BACTERIVORES_cp1 : bactérovores opportunistes. BACTERIVORES_AUTRES : bactérovores non opportunistes. Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon un test ANOVA correction de Tuckey, p-value<0,05 et <0,1 si la lettre est suivie d'une *. ....	55
Tableau 16: Valeurs des indices nématofauniques (moyenne ± EC, n=4). Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon un test ANOVA avec correction de bonferonni, p-value<0,05 et <0,1 si la lettre est suivie d'une *. K = test de Kruskal Wallis. ....	55
Tableau 17: Abondances de nématodes par groupes trophique et modalités testées (moyenne ± EC, n=3). BACTERIVORES_cp1 : bactérovores opportunistes. BACTERIVORES_AUTRES : bactérovores non opportunistes. Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon un test ANOVA correction de Tuckey, p-value<0,05 et <0,1 si la lettre est suivie d'une *. NS = non significatif. ....	58
Tableau 18: Valeurs des indices nématofauniques (moyenne ± EC, n=3). Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes selon un test ANOVA avec correction de Tuckey, p-value<0,05 et <0,1 si la lettre est suivie d'une *. NS = non significatif. ....	58
Tableau 19 : Résultats de la recherche de bactéries pathogènes dans les sols d'EFELE en fonction des modalités d'apport. (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FB : Fumier non digéré / LP: Lisier non digéré / DIG_LP: Digestat de lisier de porc / DIG_L : digestat territorial / Dig_T : digestat de lisier de bovin) .....	63
Tableau 20 : Résultats de la recherche de bactéries pathogènes dans les sols de PROspective en fonction des modalités d'apport (DIG: Digestat / TEM: Fertilisation Minérale / FUM_DIG: Fumier non digéré + Digestat / FUM_MIN: Fumier non digéré + MIN / BOUE_DIG: Boue de station d'épuration + Digestat / BOUE_MIN: Boue de station d'épuration + MIN / BIO_DIG: Compost de biodéchets + Digestat / BIO_MIN: Compost de biodéchets + MIN) .....	64
Tableau 21 : Résultats de la recherche de bactéries pathogènes dans les sols de DIGE'O en fonction des modalités d'apport (DIG: Digestat / MIN: Fertilisation Minérale / FUM: Fumier non digéré / DIGOB: Digestat Obernai / DIGCOR: Digestat Obernai corrigé / METHAC: Digestat MethaChrist) .....	65

## SIGLES ET ACRONYMES

<b>FYM</b>	82% fumier bovin - 6,5% Matières végétales (3% Maïs/sorgho, 3% matières végétales diverses) – 7% dérivé lait (liquide) - 2% lisier bovin - 2% lisier porc - 0,5% graisse
<b>FYM_SD</b>	56% fumier – 20% Matières végétales (3% Maïs/sorgho, 2% CIVE hiver, 15% Autres matières végétales) – 5% graisses – 4% lisier bovin - 13% biodéchet (Sang, glycérine, divers) - 2% lisier porc / Fraction solide

<b>FYM_LD</b>	56% fumier – 20% Matières végétales (3% Maïs/sorgho, 2% CIVE hiver, 15% Autres matières végétales) – 5% graisses – 4% lisier bovin - 13% biodéchet (Sang, glycérine, divers) - 2% lisier porc / Fraction liquide
<b>FYM-SW</b>	56% fumier – 20% Matières végétales (3% Maïs/sorgho, 2% CIVE hiver, 15% Autres matières végétales) – 5% graisses – 4% lisier bovin - 13% biodéchet (Sang, glycérine, divers) - 2% lisier porc / Brut
<b>MFW</b>	56% fumier – 20% Matières végétales (3% Maïs/sorgho, 2% CIVE hiver, 15% Autres matières végétales) – 5% graisses – 4% lisier bovin - 13% biodéchet (Sang, glycérine, divers) - 2% lisier porc
<b>SMS</b>	100% Matière végétale (55% Maïs/sorgho, 45 % CIVE hiver)
<b>CMF</b>	45% lisier de canard – 40 % graisse - 15% matières végétales
<b>CM</b>	Fumier de bovin non digéré
<b>UFC</b>	Unité Formant Colonies

## L'ADEME EN BREF

À l'ADEME - l'Agence de la transition écologique -, nous sommes résolument engagés dans la lutte contre le réchauffement climatique et la dégradation des ressources.

Sur tous les fronts, nous mobilisons les citoyens, les acteurs économiques et les territoires, leur donnons les moyens de progresser vers une société économe en ressources, plus sobre en carbone, plus juste et harmonieuse.

Dans tous les domaines - énergie, économie circulaire, alimentation, mobilité, qualité de l'air, adaptation au changement climatique, sols... - nous conseillons, facilitons et aidons au financement de nombreux projets, de la recherche jusqu'au partage des solutions.

À tous les niveaux, nous mettons nos capacités d'expertise et de prospective au service des politiques publiques.

L'ADEME est un établissement public sous la tutelle du ministère de la Transition écologique et du ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation.

### LES COLLECTIONS DE L'ADEME



#### FAITS ET CHIFFRES

L'ADEME référent : Elle fournit des analyses objectives à partir d'indicateurs chiffrés régulièrement mis à jour.



#### CLÉS POUR AGIR

L'ADEME facilitateur : Elle élabore des guides pratiques pour aider les acteurs à mettre en œuvre leurs projets de façon méthodique et/ou en conformité avec la réglementation.



#### ILS L'ONT FAIT

L'ADEME catalyseur : Les acteurs témoignent de leurs expériences et partagent leur savoir-faire.



#### EXPERTISES

L'ADEME expert : Elle rend compte des résultats de recherches, études et réalisations collectives menées sous son regard



#### HORIZONS

L'ADEME tournée vers l'avenir : Elle propose une vision prospective et réaliste des enjeux de la transition énergétique et écologique, pour un futur désirable à construire ensemble.



## Projet Metha-BioSol

Dans un contexte d'amélioration de la gestion agroécologique des sols afin d'optimiser leur capacité de production pour une agriculture plus écoefficiente, le projet Metha-BioSol vise à évaluer l'impact des digestats de méthanisation sur la qualité biologique et écologique des sols en utilisant des bio-indicateurs opérationnels, c'est-à-dire des outils permettant d'appréhender la diversité des macro et micro-organismes, la dynamique du carbone (C) et l'état sanitaire (pathogènes) des sols.

Ce projet répond à des interrogations de plus en plus nombreuses d'agriculteurs engagés dans des démarches de méthanisation de leurs effluents d'élevage ou résidus de culture. Il a permis de générer des données scientifiques quant à l'impact des digestats de méthanisation sur la qualité biologique et écologique des sols.

