



VALORISER LES DIGESTATS EN AUVERGNE-RHÔNE-ALPES

“Sécuriser la qualité des sols et les productions végétales avec les digestats de méthanisation”

Document de synthèse réalisé dans le cadre des travaux financés par le programme PEPIT (Pôles d’Expérimentations Agricoles Partenariales pour l’Innovation et le Transfert) digestat



La méthanisation agricole : un fort enjeu régional

La méthanisation agricole est, pour l'agriculture et le territoire de la région Auvergne-Rhône-Alpes, au carrefour d'enjeux stratégiques économiques, environnementaux et sociaux : production d'énergie verte et locale, réduction des gaz à effet de serre (GES), diversification des productions et pérennité des exploitations agricoles sur les territoires, la fertilisation des cultures, la qualité de l'eau, de l'air et des sols.

Les digestats de méthanisation : un sous-produit à valoriser

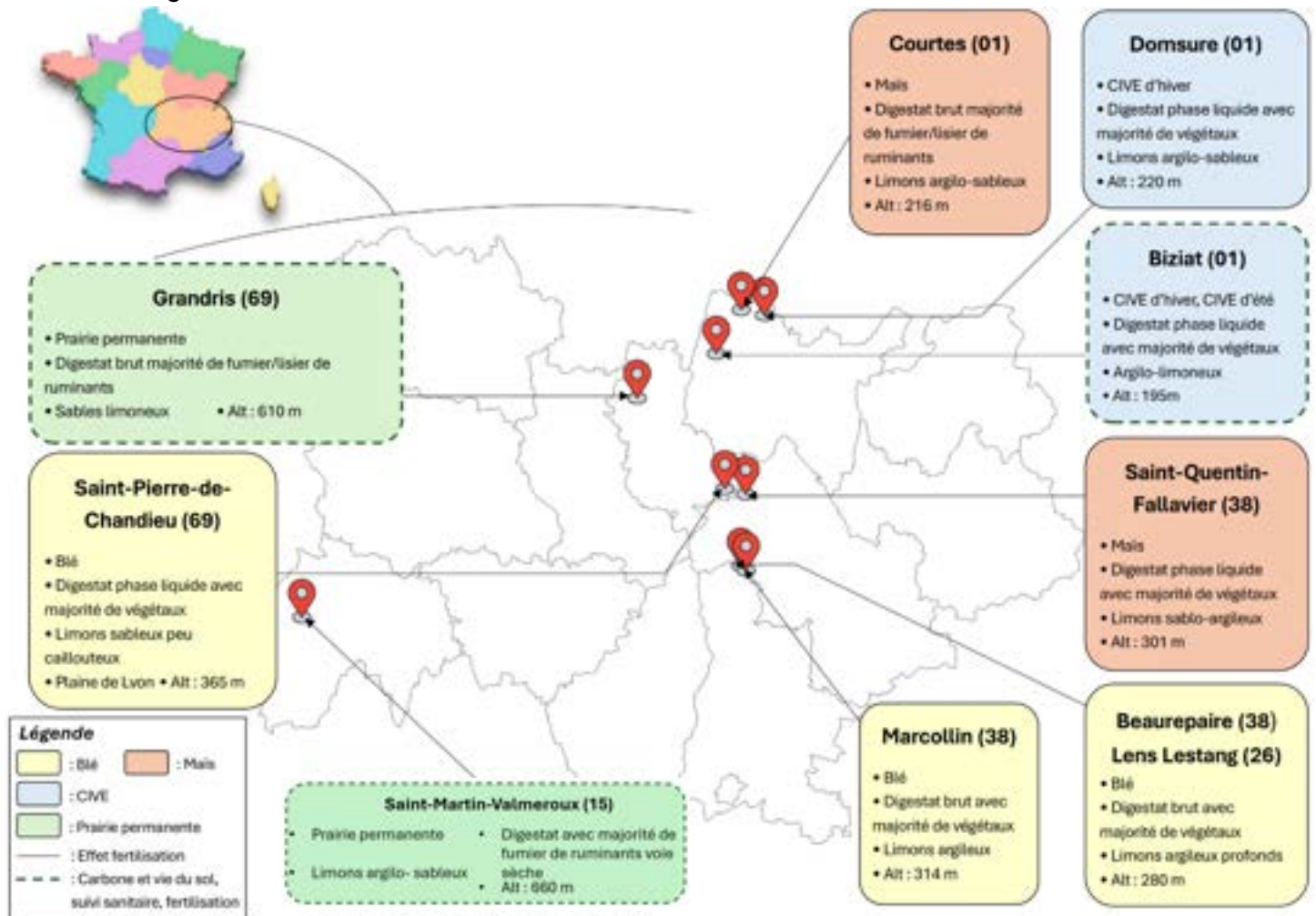
Les digestats sont l'un des principaux sous-produits de la méthanisation. Ils sont riches en éléments fertilisants et peuvent être utilisés comme engrais sur les cultures quand ils sont valorisés par épandage. La composition des digestats est très variable et dépend des intrants, du processus de méthanisation et du post-traitement. Il existe déjà de nombreuses études sur la valorisation des digestats dont les résultats ont servi pour cette étude.

Le projet PEPIT DIGESTAT 2023-2025 vient compléter dans le contexte régional la connaissance des digestats et leurs effets, avec la durabilité de la filière comme ligne directrice.

Ce projet régional s'appuie en particulier sur deux programmes nationaux :

- Ferti-Dig qui a proposé une typologie de classes de digestats afin d'associer les effets observés sur la fertilité du sol, des cultures, l'environnement et l'innocuité.
- Metha-BioSol qui a évalué l'impact des digestats de méthanisation sur la qualité biologique et écologique des sols.

14 essais PEPIT digestats ont été menés en 2024 et 2025 dans l'Ain, le Cantal, l'Isère et le Rhône.



Ce document met en lumière les principaux résultats et points d'attention issus de ces travaux et s'articule autour de **3 thématiques**.

→ **La valorisation agronomique des digestats**..... pages 1-6

→ **Le carbone et la vie du sol**..... pages 7-10

→ **Dynamiques microbiennes et risques sanitaires en grandes cultures et prairies**
..... pages 11-16

La valorisation agronomique des digestats

Connaître ses digestats : plusieurs classes de digestats

Le programme Ferti-Dig (2020-2024 , <https://fertiliser-avec-des-digestats.fr>) a identifié **7 classes de digestats** agricoles, expliquées par les intrants, les post-traitements (digestat brut, fractions liquide ou solide séparées, compost) et le procédé de méthanisation (voie sèche ou humide). Une fiche descriptive permet de prédire la composition et le comportement des digestats.

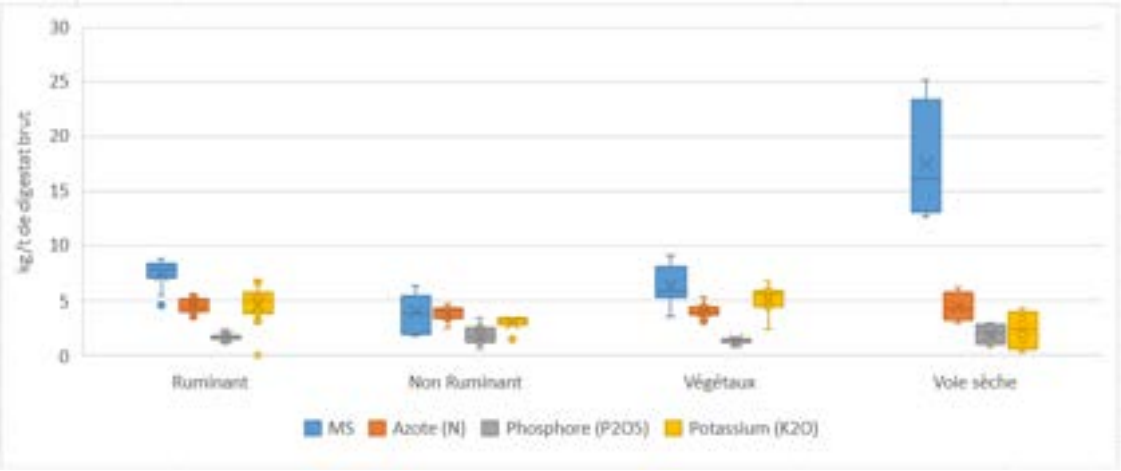
Intrants majoritaires	Type de digestat	MS	C/N	Matière Organique (MO)	Carbone organique (C)	Azote (N)	N organique	N NH4	% Nnh4/ Ntot	Phosphore (P2O5)	Potassium (K2O)
		%									
Fumier et lisier RUMINANT	brut ou liquide*	8-12	6-9	50-70	29-41	4-6	2-4	1-2	28%	2-3	4-6
	solide	23-28	14-21	180-230	87-121	5-7	4-6	0,7-2	30%	4-6	4-6
Fumier de NON RUMINANT	brut ou liquide*	3-5	2-4	20-30	9-18	4-6	1-2	3-4	75%	1-3	2-5
	solide	24-28	8-9	170-200	85-101	10-11	5-7	4-5	45%	10-13	2-6
VEGETAUX et autres	brut ou liquide*	5-8	4-6	40-50	18-28	4-6	2-3	2-3	50%	1-3	3-5
	solide	42-60	11-17	210-380	109-191	8-17	8-15	0,1-3,2	18%	21-32	9-13
Fumier de ruminant	VOIE SECHE*	18-24	9-14	120-160	63-83	5-8	4-6	1-2	22%	3-6	7-9

Composition des digestats d'après le projet Ferti-Dig

*Types de digestats utilisés dans les essais du PEPIT

Les digestats dans nos essais

Types et composition des digestats utilisés dans nos essais



Composition des digestats analysés dans le cadre des 14 essais du projet PEPIT

En zone vulnérable :
Pour les phases liquides séparées de digestats, en AURA, il est obligatoire de disposer d'une analyse de moins de 6 mois avant épandage.

Les valeurs fertilisantes des digestats peuvent être très différentes selon les process et les produits qui alimentent le méthaniseur. Seules des analyses permettent de préciser ces valeurs. Il est indispensable d'en réaliser régulièrement, en veillant particulièrement à la qualité de l'échantillonnage (brassage préalable, nombre de prises...) et de la conservation (au frais voire congelé) avant transmission au laboratoire.

Mieux connaître ses digestats et bien les répartir permet de réelles économies sur le poste « fertilisation » de l'exploitation.

Quelle efficacité engrais des digestats ?

Le coefficient d'équivalence azote (keqN) exprime la part de l'azote du digestat qui a une efficacité équivalente à l'azote de l'engrais minéral. Par exemple, un keq de 0.5, signifie que 100 unités d'azote total du digestat auront la même efficacité que 50 unités d'azote en ammonitrate. Le keq dépend du type de produit organique, de la culture, de la période d'apport et de l'enfouissement. En pratique, l'efficacité est également influencée par les conditions à l'épandage ou suivant l'épandage (pluie dans les jours qui suivent, vent, température, développement de la végétation...).

Dans nos essais : Les digestats ont une réelle efficacité fertilisante et peuvent se substituer partiellement – voire totalement parfois sur CIVE et prairies – à des engrais minéraux.

Sur cultures, les essais ont été menés avec des digestats bruts ou phases liquides de digestats agricoles, dont l'azote était environ pour moitié sous forme ammoniacale. Variables, les Keq sont apparus sur blé nettement inférieurs à ceux retenus actuellement dans la réglementation zones vulnérables AURA.

BLÉ

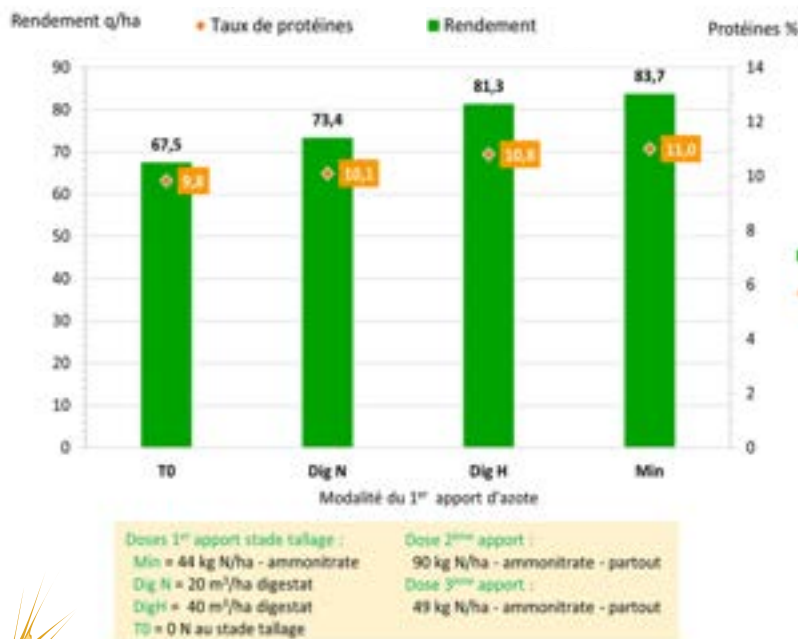
Les apports de digestat au tallage ou au stade épi 1 cm ont montré une efficacité. Nos résultats indiquent toutefois des keq plus faibles que les références réglementaires AURA : de l'ordre de 0.2 à 0.4 pour des épandages de fin d'hiver – printemps, au lieu de 0.69 coefficient réglementaire en zone vulnérable AURA.

L'usage de digestat pour l'apport principal, à épi 1 cm, peut offrir une alternative à l'apport tallage. Ce type de stratégie se pratique uniquement de manière opportuniste et en substitution partielle à l'apport minérale épi 1 cm.

Les prérequis semblent les suivants :

- Réaliser l'apport en conditions portantes au plus tard au stade épi 1cm, pour éviter de trop marquer la culture avec une couverture au sol homogène et développée (pour limiter la volatilisation ammoniacale).

- 1 à 2 jours maximum avant une pluie et en l'absence de vent . L'impossibilité d'enfouir le digestat sur céréales lors des apports en végétation implique d'être très exigeant sur les conditions climatiques lors de son utilisation, de façon à limiter les pertes par volatilisation.



Essai digestat blé chambre d'agriculture de l'Isère 2025 -digestat brut- Lens Lestang

La volatilisation d'une partie de l'azote du digestat a sans doute pénalisé l'efficacité

N°	Nom modalité	Dose Azote (kgN/ha)	Produit	AZOTE TOTAL (kgN/ha)	Rendement (q/ha)	Groupes homogènes statistiques, test Newman – Keuls 5%	Teneur protéines (%)	Groupes homogènes statistiques, test Newman – Keuls 5%	Nabs PE calculé * (kgN/ha)	Groupes homogènes statistiques, test Newman – Keuls 5%	CAU estimé **	Keq Digestat ***
1	Témoin DuN	0	Témoin	0	23,7	...d	11,2	.b.	67	...d	-	
2	X-40 - Ammo 27	X-40	Dose X-40	130	67,6	.b.	11,2	.b.	197	.b.	99%	
3	X - Ammo 27	X	Dose X	170	74,7	ab.	11,8	ab.	230	a...	96%	
4	X+40 - Ammo 27	X+40	Dose + 40	210	78,1	a...	12,6	a.	261	a...	92%	
5	X - Digestat liquide	X	Digestat liquide 0,45 % N organique	292	48,3	..c.	9,2	..c.	116	..c.	17%	0,18
Coefficient de Variation (%)					6,9		3,6		7,7			

Essai OXYANE récolte 2025, blé tendre non irrigué, Limon Sableux de la plaine de Lyon (69).

Apport d'azote minéral en 3 apports (tallage, EIC et DFE). Apport de digestat en 2 apports (tallage et EIC), sans complément à DFE, pour une dose d'azote ammoniacal de 130 kg/ha (et 292 kg/ha d'azote total (ammoniacal + organique))

*Nabs PE calculé = azote absorbé plante entière estimé d'après le rendement et les teneurs en protéines.

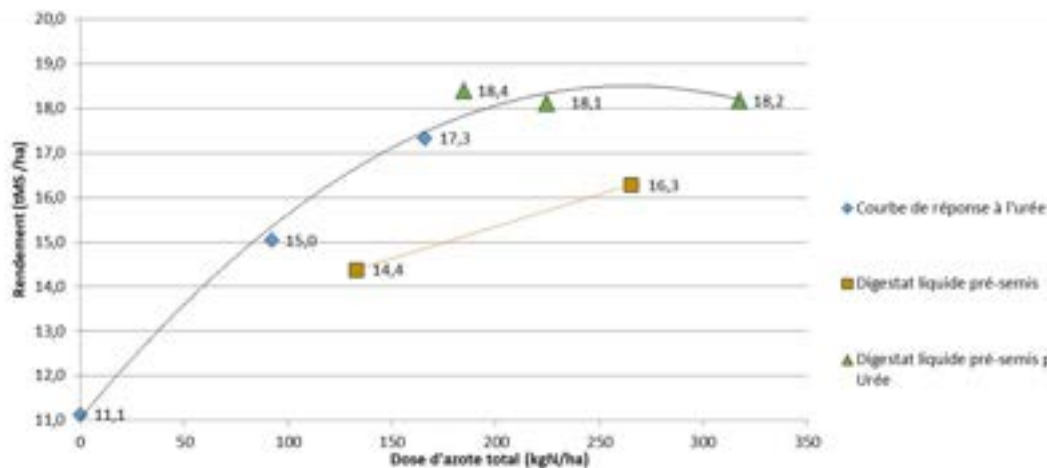
**CAU estimé = coefficient apparent d'utilisation de l'azote

***Keq Digestat = coefficient d'équivalence engrais minéral du digestat, estimé d'après la courbe de réponse à l'azote absorbé avec l'ammonitrate pour une dose d'azote minéral de 130 kg/ha.

MAÏS

En épandage avant semis suivi d'un enfouissement très rapide, les keq estimés entre 0.5 et 0.75 sont proches des keq réglementaires AURA.

À manier avec prudence car issus seulement de quelques situations, ces chiffres de keq maïs sont cohérents avec les fourchettes de valeurs publiées récemment par le COMIFER, pour des digestats bruts. Les conditions de l'année et la situation particulière de la parcelle influencent largement les résultats. L'absence d'enfouissement dégrade fortement l'efficacité du digestat



Essai OXYANE Récolte 2024, maïs fourrage non-irrigué, Argile limoneuse profonde de la Bresse (01).

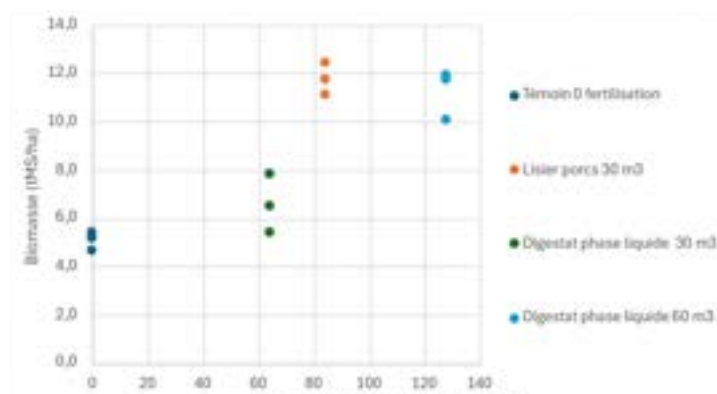
Apport d'azote minéral unique à 8/10F.

Apport de digestat liquide enfoui par labour avant semis.

CIVE

Sur **CIVE D'ÉTÉ** (2 essais), les apports de digestats améliorent significativement les rendements par rapport au témoin non fertilisé. Il existe un effet seuil sur le rendement et il n'est pas intéressant d'apporter une trop grande quantité de digestat, d'où l'importance d'un ajustement précis des doses. **À noter : la pluviométrie de 2024 a favorisé une bonne croissance des CIVE et la valorisation de l'azote apporté dans les digestats.**

Sur **CIVE D'HIVER** (2 essais), un apport de digestat peut parfois remplacer les engrais minéraux tout en atteignant un rendement équivalent, sous réserve d'une gestion précise des doses et des conditions favorables.



Essai CA01 CIVE été 2024-Biziat (01), digestat phase liquide

Total apport azote efficace (kg/ha)-apports en végétation 30 jours après le semis

En zone vulnérable : les plans de fumure doivent intégrer les apports d'azote par les digestats, en appliquant les coefficients d'équivalence engrais définis dans l'arrêté régional établissant le référentiel de fertilisation azotée. L'utilisation éventuelle d'autres coefficients doit pouvoir être dûment justifiée dans le plan d'épandage et/ou à partir d'analyses spécifiques.



PRAIRIES : QUE DISENT NOS ESSAIS ?

Le digestat, un fertilisant efficace

En élevage, les agriculteurs ont la possibilité de compenser une grosse partie des achats d'engrais du commerce en valorisant les engrais de ferme présents sur les exploitations.

Les 2 sites d'essai en prairie permanente, exploités en fauche ; 1 digestat voie sèche, 1 digestat brut, à base d'effluents de bovins montrent l'intérêt des digestats comme fertilisants.

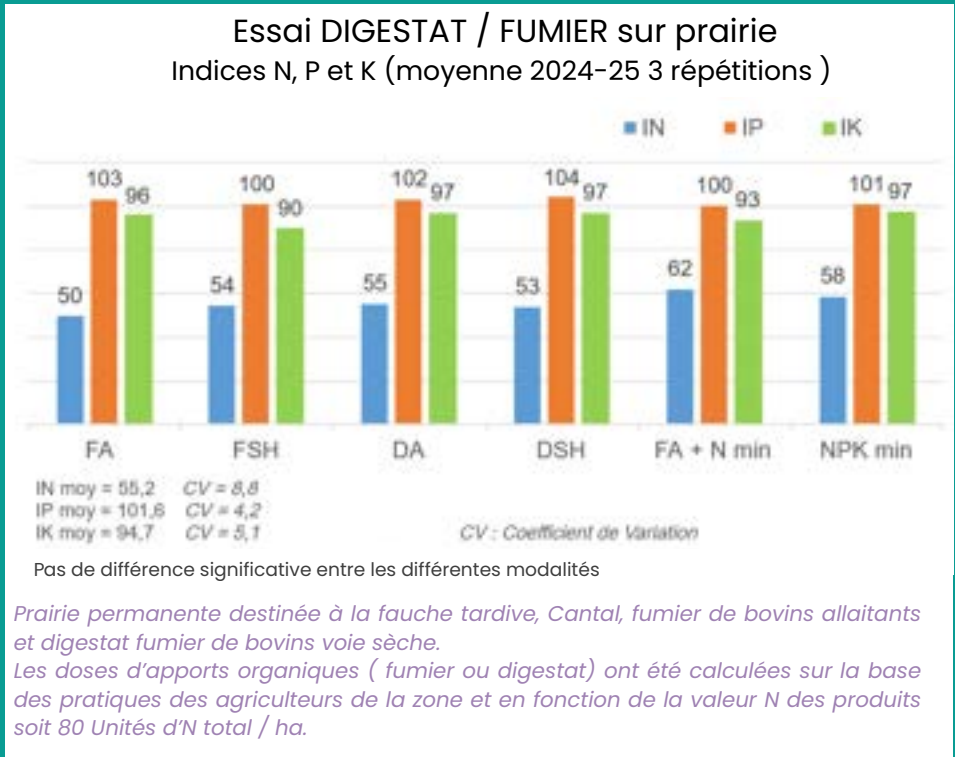
Le digestat appliqué à l'automne ou en sortie d'hiver donne des résultats équivalents. Le double apport (automne et sortie d'hiver) augmente encore les rendements. Il permet d'obtenir des rendements similaires aux apports d'engrais minéraux et couvre les besoins en phosphore et potassium de la prairie.

L'ajustement des doses et le choix du moment d'apport en fonction des conditions climatiques de l'année restent des leviers clés pour optimiser la productivité.

L'analyse d'herbe pour optimiser la fertilisation azotée et phospho-potassique :

Le diagnostic de nutrition par l'analyse d'herbe vise à évaluer les pratiques de fertilisation sur les prairies. L'analyse des teneurs en N, P et K d'un échantillon prélevé sur une prairie au printemps, permet de caractériser son état de nutrition réel et ainsi de vérifier et valider a posteriori le niveau de fertilisation organique et / ou minéral réalisé à l'automne et en sortie d'hiver.

Résultats obtenus sur l'essai réalisé dans le Cantal sur prairie permanente (moyenne 2024 – 2025)



MODALITES

- FA : Fumier 15-20 T/ha Automne
- FSH : Fumier 15-20 T/ha sortie hiver
- DA : Digestat 10-15 T/ha automne
- DSH : Digestat 10-15 T/ha sortie hiver
- FA+Nmin : Fumier 15-20 T/ha automne +30 N min début printemps
- NPK min : Engrais minéral 30-60-90

Pour l'azote, l'état de nutrition est considéré comme satisfaisant à partir d'un indice N de 60, pour une récolte au stade foin. Les modalités d'apports « fumier aut + Nmin » et « NPK min » sont correctes. Pour les autres, le niveau de nutrition azoté est considéré comme insuffisant.

Pour des indices P et K compris entre 80 et 100, l'état de nutrition de la prairie est considéré comme satisfaisant. C'est le cas pour toutes les modalités.



En résumé dans cet essai :

- 10 à 15 t / ha / an de digestat ou 15 à 20 t de fumier / ha / an couvrent les besoins P et K de la prairie, avec un effet sur l'état de nutrition de la prairie équivalent aux meilleurs engrais minéraux PK du commerce.
- Sur prairies : raisonner la dose de l'apport organique (digestat et fumier) de manière à couvrir les besoins P,K.
- En complément de la fertilisation organique, 30 kg d'azote minéral suffisent pour une récolte en foin.
- La période d'apport (automne ou sortie d'hiver) de la fumure organique, sans complément minéral, n'induit pas de différence significative sur l'état de nutrition de la prairie en N, P et K.



Épandre à l'automne ou au printemps ?

Pour valoriser au mieux l'azote des digestats bruts ou liquides, dont une part significative est sous forme ammoniacale, il est souhaitable de les **épandre au plus près des périodes d'absorption intense** par la culture – lorsque c'est matériellement possible : fin d'hiver printemps pour une céréale à paille, idéalement vers 6-8 feuilles pour des maïs, ... Ceci pour une absorption maximale, de **moindres risques de pertes par lixiviation de l'azote** (épandages d'automne), ou de **pertes d'efficacité suite à une remobilisation de l'azote dans le sol**.

Ce n'est toutefois pas toujours possible du fait des contraintes de matériel (ex : sur maïs en l'absence de possibilité d'épandage sans tonne), de portance des sols (ex : digestat en fin d'hiver en sol peu filtrant). Les épandages de fin d'hiver printemps sur céréales, n'autorisant pas l'enfouissement, peuvent aussi subir des **baisses d'efficacité par volatilisation de l'azote**. Les conditions de l'apport et des jours suivants sont cruciaux pour limiter ces pertes.



En zone vulnérable : Outre les restrictions de calendrier, les épandages de fin d'été-automne sont soumis à des plafonds d'azote potentiellement libéré jusqu'en sortie d'hiver. Cela peut restreindre les apports possibles en digestat liquide à moins de 10-15 m³/ha dans certains cas.

Dans nos essais :

- Sur **CIVE D'HIVER** : les apports de digestat réalisés en automne ont été moins efficaces que ceux de printemps ; les conditions hivernales réduisent l'efficacité de l'azote notamment par lessivage. Cependant le double apport automne + printemps a permis un gain de rendement maïs avec une quantité d'azote apportée supérieure.
- Sur **PRAIRIE** : dans les conditions des essais les apports d'automne et fin d'hiver ont donné des résultats équivalents.
- Sur **BLÉ** : les périodes n'ont pas été comparées derrière maïs grain en zone vulnérable il était trop tard pour pouvoir épandre en respectant le calendrier réglementaire.
- Sur **MAÏS** : au printemps les résultats ont confirmé l'intérêt d'un enfouissement très rapide (moins de 2 h après épandage).



Si la prévision précise de l'azote réellement efficace des digestats reste difficile, plusieurs moyens peuvent améliorer l'efficacité du digestat ou l'ajustement de la fertilisation :

- disposer d'**analyses récentes et représentatives du digestat**.
- adapter **la dose** de digestat selon la culture, la période, les conditions parcellaires
- épandre au plus près de **la période des besoins de la culture**
- **épandre dans les meilleures conditions possibles** : avec un matériel adapté (injection, rampe à patins, pendillards...) et dans l'idéal, pour réduire la volatilisation d'ammoniac, en l'absence de vent, peu avant une pluie, en favorisant l'infiltration, hors périodes chaudes et sèches...

C'est souvent complexe et nécessite une **organisation et des capacités de stockage** suffisantes pour disposer d'un peu de souplesse selon les conditions de l'année...

- **enfouir** immédiatement (ou dans les 2 h après épandage) en cas d'apport au semis, pour moins de volatilisation
- utiliser un **outil de pilotage** – s'il existe – pour **ajuster la fertilisation minérale** complémentaire selon l'azote mit à disposition par le digestat ;
- favoriser un bon fonctionnement du sol et des racines : **limiter au maximum le tassement**, souvent accentué par les passages répétés d'engins pour l'épandage et les ensilages de CIVES, surtout sur sols sensibles
- **suivre ses sols**, notamment les teneurs en matière organique, phosphore, potasse, et répartir au mieux les digestats pour compenser les exportations souvent élevées en système méthanisation (pailles, ensilages, CIVE...)



Que dit la réglementation ?

Les digestats sont considérés comme un déchet et sont sous la responsabilité du producteur jusqu'à leur épandage. Ils sont liés à un plan d'épandage géré par l'unité de méthanisation. Pour passer par un statut de produit, il faut soit une Autorisation de Mise sur le Marché par l'homologation (AMM), soit être conforme à une norme NFU, soit être conforme au cahier des charges CDC DIG.

Par ailleurs, les digestats peuvent aussi être considérés comme sous-produit animal, il faudra alors respecter les exigences liées à l'agrément sanitaire des sites de méthanisation.

Les conditions d'épandage, de stockage et d'analyse pour la traçabilité peuvent varier selon la rubrique ICPE de l'unité de méthanisation 2781-1 ou 2781-2 et des intrants dans le digesteur (boues de STEP, produits carnés). Elles sont aussi encadrées en zones vulnérables par la réglementation « directive nitrates » : périodes et conditions d'épandage, doses et prise en compte dans la fertilisation, suivi et enregistrement.

L'épandage doit se faire au moyen de matériel permettant de limiter la volatilisation de l'azote en respectant des distances minimales vis-à-vis des tiers et des cours d'eau.



Le Carbone et la vie du sol

Qu'apporte le digestat au sol ?

-Index de stabilité de la matière organique

L'ISMO est l'Indice de Stabilité de la Matière Organique. Il s'agit d'un indicateur normalisé par l'AFNOR (FD U44-162), basé sur la méthode de fractionnement biochimique qui prend aussi en compte la mesure de la minéralisation potentielle du carbone après 3 jours d'incubation. Il permet d'estimer le pourcentage de Matière Organique potentiellement résistante à la dégradation du produit et qui a terme sera incorporée dans la fraction humique du sol. Cette fraction résiduelle reste minéralisable, mais à un rythme plus lent (minéralisation secondaire). Elle est exprimée en pourcentage de carbone organique initialement présent dans le produit organique épandu.

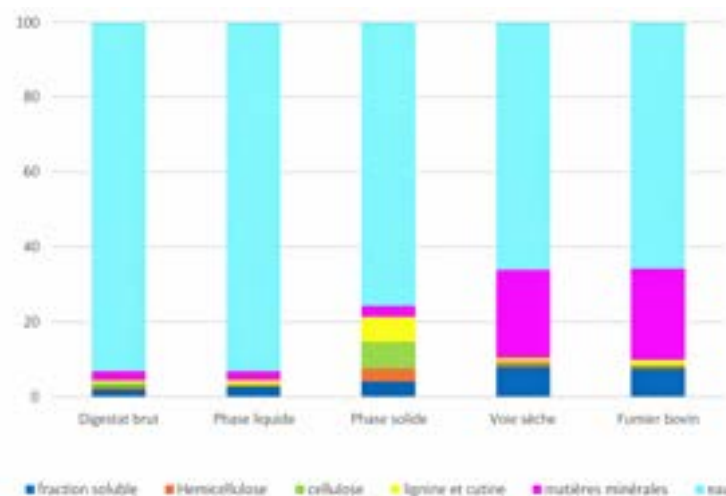


Figure 1 : Composition moyenne des produits organiques (N=4) épandus sur les essais PEPIT (en % de produit brut)

Plus le produit présente un ISMO élevé et plus il va renforcer directement le stock de MO durable et va jouer sur la structure physique du sol. Ce stock apporté est fonction de la teneur en MO du produit apporté.

Les digestats sont des produits organiques avec des ISMO élevés à très élevés équivalent à des composts de broyats de déchets vert.

-Mesure du carbone labile

Après 4 années d'essai sur prairie dans le Cantal, **l'évolution de la matière organique apportée sur le sol en fonction des différentes modalités a été évaluée dans le sol**. Le carbone labile représente la fraction facilement biodégradable. Le carbone labile alimente les organismes vivants du sol et est indispensable au bon état biologique.

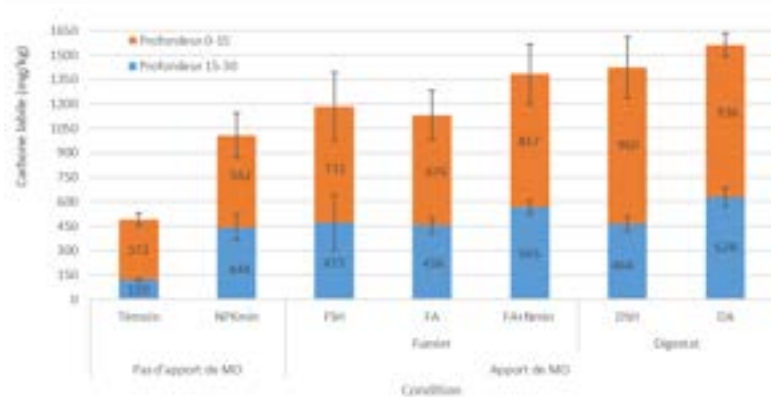


Figure 2 : Composition moyenne des produits organiques épandus (n=4) sur les essais PEPIT : ISMO et potentiel de MO stable en kg/t de produit brut

D'après le guide d'interprétation à l'analyse des bioindicateurs (2022), les valeurs de Carbone Labile s'étendent de 390 à 1 414 (moyenne 768) mg C/kg de sol.

Une valeur élevée (supérieure à 937 mg/kg) va permettre de maintenir une stabilité structurale du sol ainsi que favoriser la circulation de l'eau et de l'air.

Dans notre contexte pédoclimatique, **l'ajout de digestat** permet d'obtenir ces conditions favorables. Ceci est intéressant **puisque les doses épandues sont environ 30 % moins importantes que celles du fumier**. Il semble donc que, par rapport à la quantité totale de matière fraîche apportée, le digestat voie sèche est plus performant que le fumier.

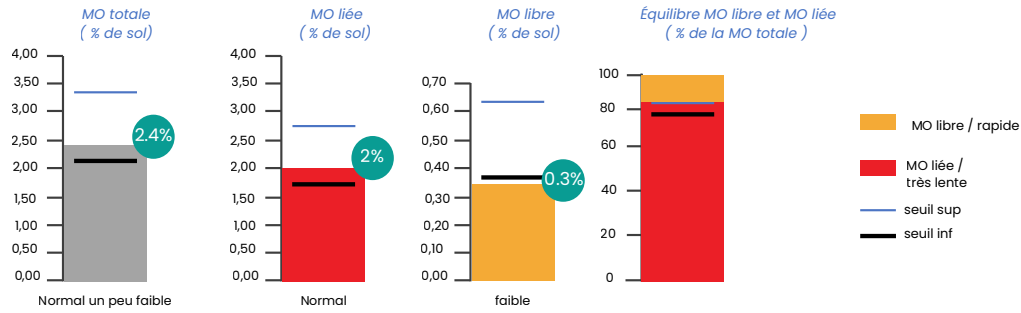
Teneur en carbone labile dans les horizons 0-15cm et 15-30 cm en fonction des conditions dans les essais prairies permanentes destinées à la fauche, Cantal, digestat fumier de bovin voie sèche (pas d'apport de matière organique : témoin et engrais minéral ; apport de matière organique : fumier Sortie Hiver, Automne, Automne + Engrais minéral, Digestat voie sèche : Sortie Hiver et Automne)

Exemple d'une simulation carbone dans une rotation grandes cultures avec utilisation du digestat

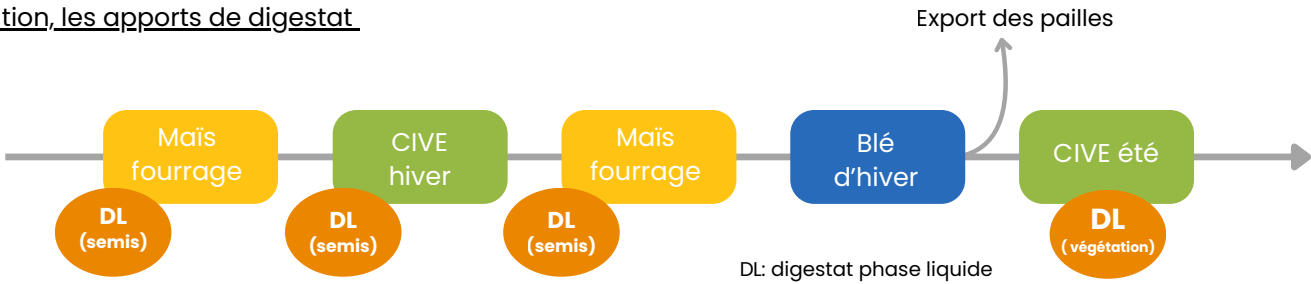
Notre point de départ : Caractérisation des matières organiques de notre parcelle (analyse celesta lab de février 2024)

Constat :

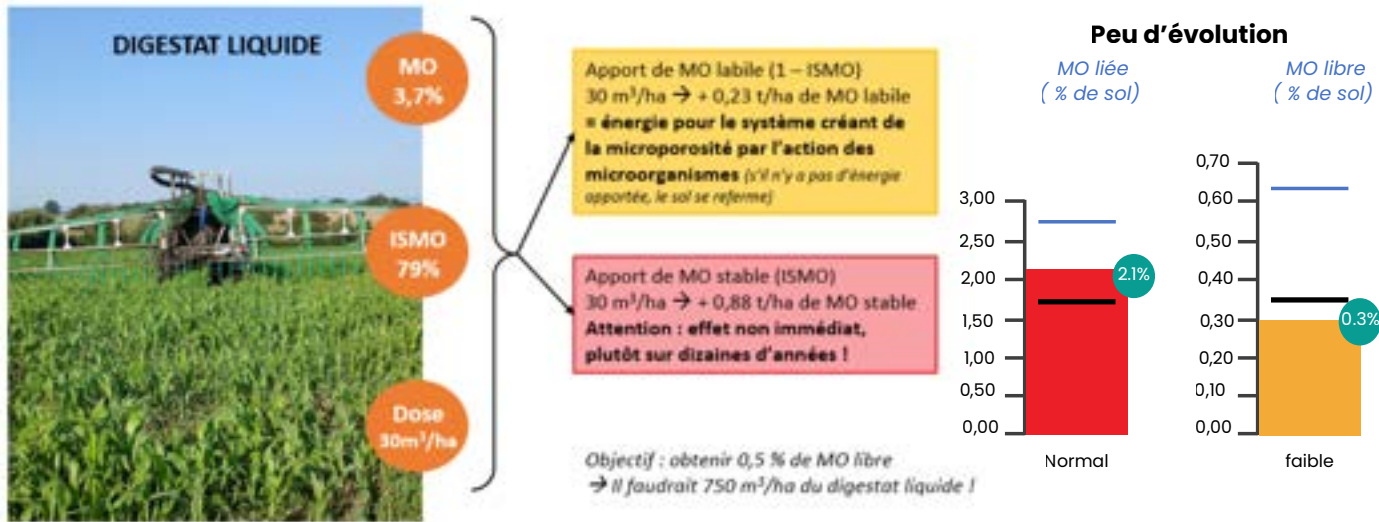
- Teneur en MO libre faible : objectif 0.50%
- Malgré une teneur totale en MO quasi satisfaisante, le sol manque de MO jeunes et énergétiques.



La rotation, les apports de digestat



Quel est l'effet d'un apport de 30 m3 de digestat ?



Le digestat est une MO déjà digérée qui n'apporte pas l'énergie nécessaire au développement de la biomasse microbienne, **il ne peut être la seule source de MO** pour améliorer le statut organique du sol.

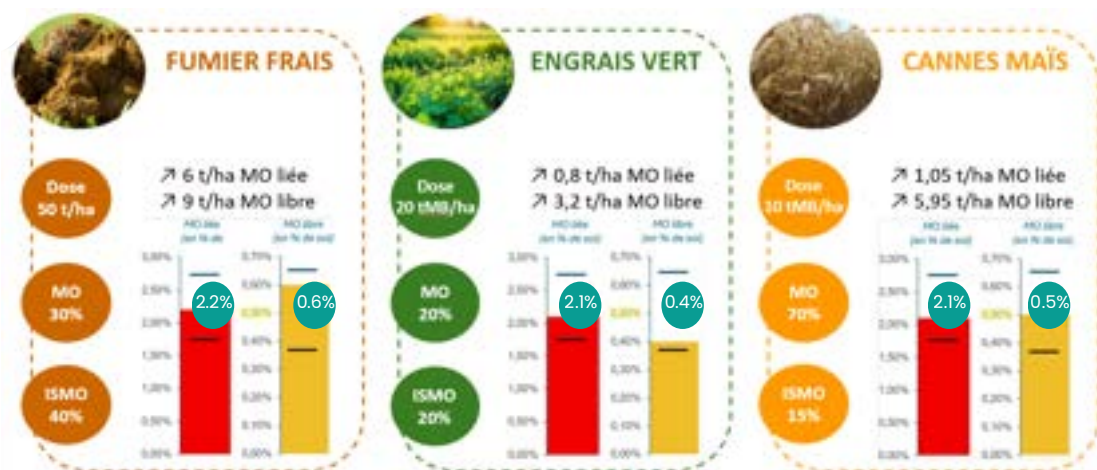
Quel serait l'effet d'autres pratiques ?

On propose de comparer les 5 scénarii suivants :

- le système actuel.
- un apport de fumier frais en remplacement d'un apport de digestat.
- un engrais vert en remplacement d'une CIVE d'Hiver.
- un maïs grain avec restitution des cannes de maïs en remplacement d'un maïs ensilage.
- l'introduction d'une prairie temporaire de 3 ans, entre le blé et le maïs fourrage.

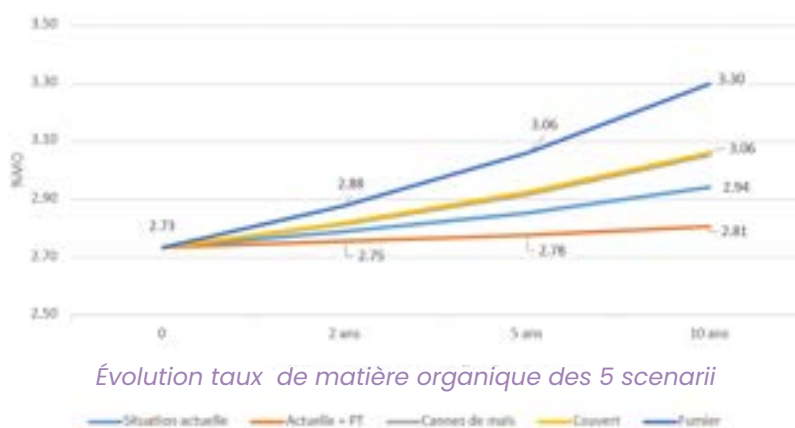


Le fumier semble le produit le plus adapté pour remonter la MO libre tout en continuant de fournir de la MO liée.



Comparaison de trois pratiques

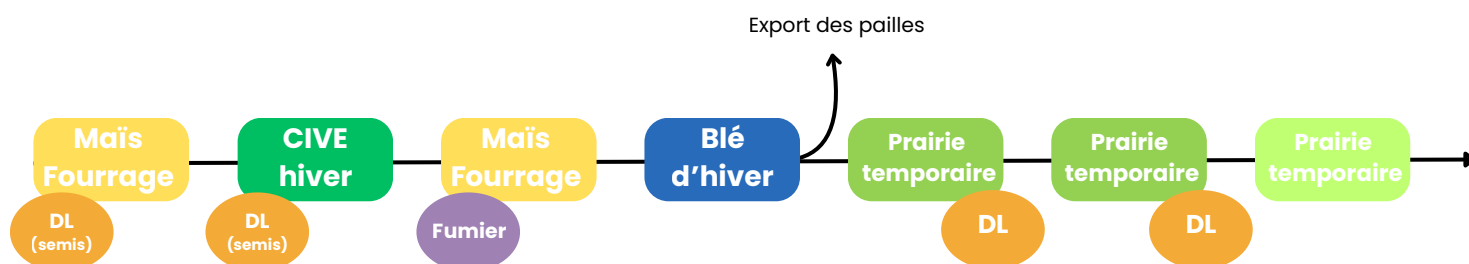
Les différents scénarii ont été testés avec l'outil SIMEOS-AMG qui permet de modéliser la dynamique du carbone dans le sol sur une période de 30 ans. On remarque que les 5 scénarii permettent de stocker du carbone. Le scénario fumier est de loin le plus performant pour stocker du carbone.



Évolution taux de matière organique des 5 scénarii

Valeurs à relativiser : toutes les simulations ne sont pas équivalentes ; certaines (prairie temporaire) ont une fréquence moins importante d'apports de digestat. Les rendements et les doses d'apport peuvent faire varier les résultats.

Rotation et apports organiques mis en place par l'exploitation



Quel est l'impact de l'apport de digestat sur la vie du sol ?

Biomasse microbienne

Les microorganismes jouent un rôle des plus importants dans la fertilité du sol. Ils participent en effet à la biodégradation et la minéralisation de la MO et donc la libération d'éléments minéraux nécessaires à la nutrition des plantes. Ce sont principalement les MO libres qui apportent l'énergie nécessaire à la minéralisation par les micro-organismes.

Ainsi l'évaluation de la taille du « compartiment » microbien du sol renseigne directement sur la vie du sol et son fonctionnement. Mais la valeur de la biomasse microbienne est également liée à la texture des sols, leur teneur en carbone organique et leur pH.

Essai Cantal : prairie permanente destinée à la fauche tardive, Cantal, digestat brut bovin, voie sèche sur sol riche en MO (8%)

La biomasse microbienne par mesure de la respiration microbienne des sols (après 4 ans d'essai) ne semble pas ou peu affectée par rapport à un sol non amendé ou recevant du fumier de bovin.

La diversité microbienne ne semble pas avoir été impactée (après un an d'essai) : indice de Schannon >3 (résultats d'issus de la quantification de l'ADNr16S par PCR en temps réel)

La flore fongique cultivable (part des champignons du sol cultivables en boîte de Pétri) semble plus sensible aux pratiques de fertilisation organique comme minérale.

-la nématofaune

L'analyse des communautés de nématodes du sol (ou nématofaune) permet de caractériser l'impact des pratiques sur l'activité et/ou le fonctionnement biologique d'un sol de par leurs régimes alimentaires variés (bactérovores, fongivores, omnivores, prédateurs, phytophages ou entomopathogènes).

-> Grande variabilité des données d'abondance pour un même sol entre 2 années quel que soit le type d'apport y compris pour les témoins sans apport. Mais la proportion entre libres et phytophages sur l'abondance totale a peu varié entre les 2 années (% nématodes libres en 2022 = 54,4% et 2025=53,4% et % de nématodes phytophages en 2022 : 45,6% et en 2025 : 46,6%). D'autres facteurs que les pratiques d'épandage sont à rechercher pour expliquer les différences entre 2 années.

Une grande variabilité est également observée sur la parcelle d'essai quel que soit le traitement reçu et l'année, d'où l'importance de bien échantillonner les parcelles à étudier pour être représentatif.

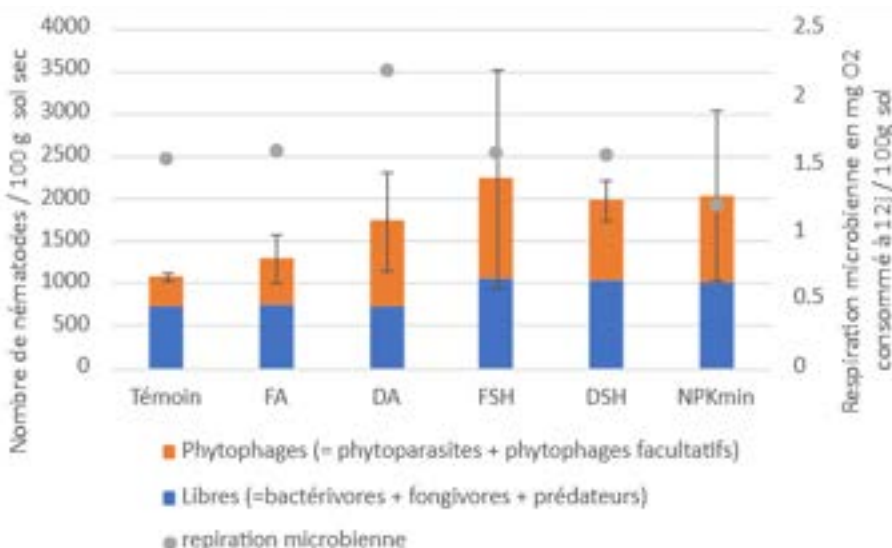


Figure : Proportion moyenne (n=3) des nématodes libres et phytophages dans l'abondance totale (en nombre de nématodes/100g sol sec) et respiration microbienne moyenne (n=3) (en O₂ consommé pour 100g sol). Après 4 années d'essais (Cantal, prairie permanente destinée à la fauche tardive, sol riche en MO) : Témoin : parcelle sans épandage ; FA ou DA : épandage de fumier de bovin allaitant ou digestat de fumier bovin allaitant voie sèche à l'automne ; FSH ou DSH : épandage de fumier ou digestat fumier voie sèche en sortie hiver ; NPK min : épandage d'engrais minéral 30-60-90 en sortie d'hiver. Les doses d'apports organiques (fumier ou digestat) ont été calculées sur la base des pratiques des agriculteurs de la zone et en fonction de la valeur N des produits soit 80 Unités d'N total.

L'apport de digestat brut voie sèche sur prairie ne modifie pas de façon significative l'abondance de la nématofaune par rapport au témoin. Bien que des apports organiques ou minéraux tendent à faire augmenter l'abondance totale et notamment les phytophages en favorisant la pousse de l'herbe. Il n'y a pas d'impact significatif sur la respiration microbienne (O₂ consommé par tous les micro organismes du sol : nématodes, bactéries, champignons) quel que soit le traitement reçu.

Tous les paramètres majeurs renseignant sur l'état biologique du sol et son fonctionnement montrent un bon état biologique des sols quels que soient les traitements reçus.

Dynamiques microbiennes et risques sanitaires en grandes cultures et prairies

Panel de marqueurs sanitaires utilisé

Le suivi des risques microbiologiques repose sur un panel de 30 marqueurs ciblant à la fois des genres/espèces bactériennes (*Escherichia coli* entérotoxigènes, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica*, etc.), des gènes de virulence, (*gspD*, *irp2*, *ybtA*, *cpe*, *ces*) des éléments génétiques mobiles (tels que IncFIC, IncN rep, IncP oriT, IncQ oriT

– marqueurs de plasmides conjugatifs ou mobilisables fréquemment associés à des résistomes environnementaux) et des gènes de résistance aux antibiotiques (*sulI*, *tetA*, *ermB*, *blaCTX-M*, *oqxA*, etc.). Ce panel permet d'identifier non seulement la présence de bactéries potentiellement pathogènes, mais aussi leur capacité à exprimer des facteurs de virulence et à disséminer des gènes d'antibiorésistance dans les agro-écosystèmes.

Que se passe-t-il dans le système méthanisation avec utilisation de CIVE ?

Les CIVEs contribuent à la production d'énergie renouvelable. Cependant, leur cycle de production fermé (culture → ensilage → méthanisation → digestat → épandage sur CIVEs) soulève des questions concernant la dissémination de marqueurs microbiens à risque, notamment des bactéries pathogènes, des facteurs de virulence, et des éléments génétiques mobiles porteurs d'antibiorésistance. La compréhension des flux microbiens à travers les étapes d'ensilage, de méthanisation, et d'épandage est essentielle pour limiter ces risques.

Ce qui a été suivi sur le terrain :

- Suivi des indicateurs microbiens pathogènes dans le sol et la végétation des CIVEs après épandage,
- Effets de l'ensilage préalable et du passage en méthaniseur sur la qualité sanitaire,
- Effets saisonniers (CIVEs d'hiver vs d'été) avec quantifications par qPCR et ddPCR de marqueurs sanitaires.

Quels sont les effets de l'épandage de digestat sur la végétation ?

CIVEs d'hiver épandage sur feuille À court terme (24 h)

- Apparition uniquement sur cultures amendées de *intI1*, *intI2* (intégrons de classes I et 2) et IncQ oriT (plasmides IncQ) → **transfert direct depuis le digestat**.
- Persistance, mais sans apport par le digestat, de marqueurs déjà présents sur les feuilles : IS26 (séquence d'insertion impliquée dans la réorganisation des îlots de résistance chez les entérobactéries), *tetA* (résistance tétracycline), *sulI* (résistance aux sulfamides), IncP oriT (plasmides IncP).

= Des éléments génétiques mobiles à la surface des plantes.

CIVEs d'hiver épandage sur feuille À moyen terme (pré-récolte)

- Plus aucune différence significative entre parcelles témoins et amendées.
- Trois marqueurs détectés uniquement après double apport sans effet significatif statistiquement : *gyrB* (indicateur de *Bacillus cereus* groupe sporulés potentiellement toxigènes), *gspD* (composant clé du système de sécrétion de type II impliqué dans la libération d'entérotoxines diarrhéiques chez *E. coli* entérotoxigènes), *ystB* (gène spécifique de *Yersinia enterocolitica* codant une entérotoxine thermostable impliquée dans les entérites humaines).

Atténuation nette de l'impact dans la végétation au cours du temps

CIVEs d'été épandage sur feuilles

- Aucun effet significatif de l'épandage sur les 30 marqueurs suivis.
- Persistance dans les deux modalités (amendée et témoin) de *sulI*, *gyrB*, *intI1*, IncP oriT et disparition de *tetA* avant récolte.

Les conditions estivales semblent limiter le transfert du digestat vers la végétation.

Quels sont les effets de l'épandage de digestat sur le sol ?

- **Pas de détection de pathogènes** majeurs après épandage.
- Forte résilience du sol : les marqueurs préexistants **restent dominants**.
- Présence chronique de *sulI*, *intI1*, *IS26*, *IncP oriT* dans sols amendés et témoins, indiquant :
 - une **ubiquité élevée** de ces gènes en milieu agricole ;
 - une **persistance largement indépendante** d'un épandage récent.

Pas de signal d'introduction durable de nouveaux pathogènes via le digestat.

Quels sont les effets de l'ensilage sur la qualité sanitaire des CIVEs ?

Effets globaux (toutes CIVEs amendées et témoins confondues):

Enrichissement significatif après ensilage :

- **Facteurs de virulence** : *gspD* (*E. coli* entérotoxigènes), *Irp2* et *ybtA* (composants de l'îlot de haute pathogénicité associés à une virulence accrue chez plusieurs bactéries telles que *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. pestis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*),
- **Gènes de résistance aux antibiotiques** : *oqxA* (résistance aux fluoroquinolones), *blaCTX-M* (résistance aux céphalosporines), *tetA*
- **Éléments génétiques mobiles** : *IntI2*
- **Enterococcus faecalis/faecium** : *ddl* (entérocoques intestinaux fréquemment porteurs de gènes d'antibiorésistance).

L'ensilage est une étape **très sélective**, susceptible **d'enrichir des marqueurs** présentant un enjeu sanitaire.



Recommandations pratiques pour les CIVEs

a) Épandage de digestat

- Intervenir de préférence sur sol et végétation secs pour limiter la projection sur les feuilles.
- Respecter les doses agronomiques classiques ($\approx 30 \text{ m}^3/\text{ha}$).
- Surveiller l'évolution de quelques marqueurs clés notamment en cas de CIVEs d'hiver (*B. cereus* groupe, *E. coli* entérotoxigènes et *Y. enterocolitica*).

b) Ensilage

- Respecter un temps minimal d'ensilage de 70–80 jours.
- Viser un pH de 4–5 pour réduire la majorité des indicateurs.
- Surveiller spécifiquement : *ybtA*, *gspD*, *oqxA*, *tetA*, *intI2*, qui peuvent être enrichis.

Que se passe-t-il quand on valorise dans le méthaniseur des matières stercoraires et du lactosérum sur prairie permanente ? site de Grandris (69)

Si les digestats conventionnels sont relativement bien caractérisés, ceux issus de substrats émergents (comme les matières stercoraires d'abattoir et de lisier enrichi en lactosérum) sont encore peu étudiés en termes d'effet sanitaire, en particulier dans les systèmes prairiaux.

Ce qui a été suivi sur le terrain :

- Comparer les communautés microbiennes et les profils sanitaires des matières brutes (stercoraire, lactosérum, CIVEs) et suivre leur devenir dans le digestat correspondant,
- Comparer le microbiote et les risques sanitaires des contenus ruminiaux et des échantillons rectaux de bovins,
- Suivre, en conditions réelles de prairie pâturée, la dynamique de 30 marqueurs microbiens dans le sol et la végétation après épandage.

Profil microbiologique des matières brutes : stercoraire / lisier enrichi en lactosérum / CIVEs

- Lisier enrichi en lactosérum (SCW) :

Le SCW présente le profil sanitaire le plus riche et distinctif parmi les trois intrants.

Il contient des gènes de résistance et de virulence spécifiques, absents des autres substrats :

- *ddl* (*Enterococcus faecium*) et *gltA* (*Klebsiella pneumoniae*) détectés dans 100 % des échantillons SCW.
- *plc* (*Clostridium perfringens*), *intI2* et *IncQ oriT* présents à 100 % dans SCW, comparativement à 0–75 % dans les autres substrats ($p < 0,05$).

Les éléments génétiques mobiles tels que *IS26*, *intI1* et le gène de résistance *sulI* sont détectés dans tous les échantillons, mais SCW présente également *ybtA* (îlot de haute pathogénicité) et *IncFIC*, absents du contenu ruminal et présents à des niveaux intermédiaires dans les CIVEs.

→ **Conclusion : SCW est l'intrant avec le spectre de risque microbiologique le plus large et le plus spécifique.**

- CIVEs ensilées (EC) :

Présentent moins de marqueurs sanitaires que le SCW.

Partagent certains éléments génétiques mobiles avec le SCW : *IncFIC* détecté dans 25 % des échantillons.

Le facteur de virulence *ybtA* est présent dans 75 % des échantillons de CIVEs.

Le gène de résistance *oqxA* est présent dans tous les échantillons de CIVEs et de SCW, mais absent des matières stercoraires.

- Matières stercoraires (contenu ruminal, RC) :

Profil sanitaire plus restreint, centré sur *gspD* (facteur de virulence ETEC) et *ermB* (résistance aux macrolides), présents respectivement dans 25 % et 75 % des échantillons.

Contribution disproportionnée à la communauté microbienne finale du digestat : bien qu'elles représentent seulement 2,5 % de la masse totale des intrants, elles constituent 14,4 % de la communauté microbienne finale.



Synthèse générale

Les trois matières organiques étudiées présentent des profils microbiologiques très contrastés :

Le SCW est l'intrant présentant le plus grand nombre de marqueurs de risque et des éléments génétiques mobiles spécifiques.

Les CIVEs ensilées présentent un profil intermédiaire, partageant certains marqueurs du SCW.

Le contenu ruminal a un profil limité mais contribue significativement à la communauté microbienne finale du digestat.

→ **Implication : Ces différences soulignent l'importance de considérer la composition spécifique des intrants lors de l'évaluation des risques sanitaires dans les digesteurs et pour les pratiques agricoles post-méthanisation.**

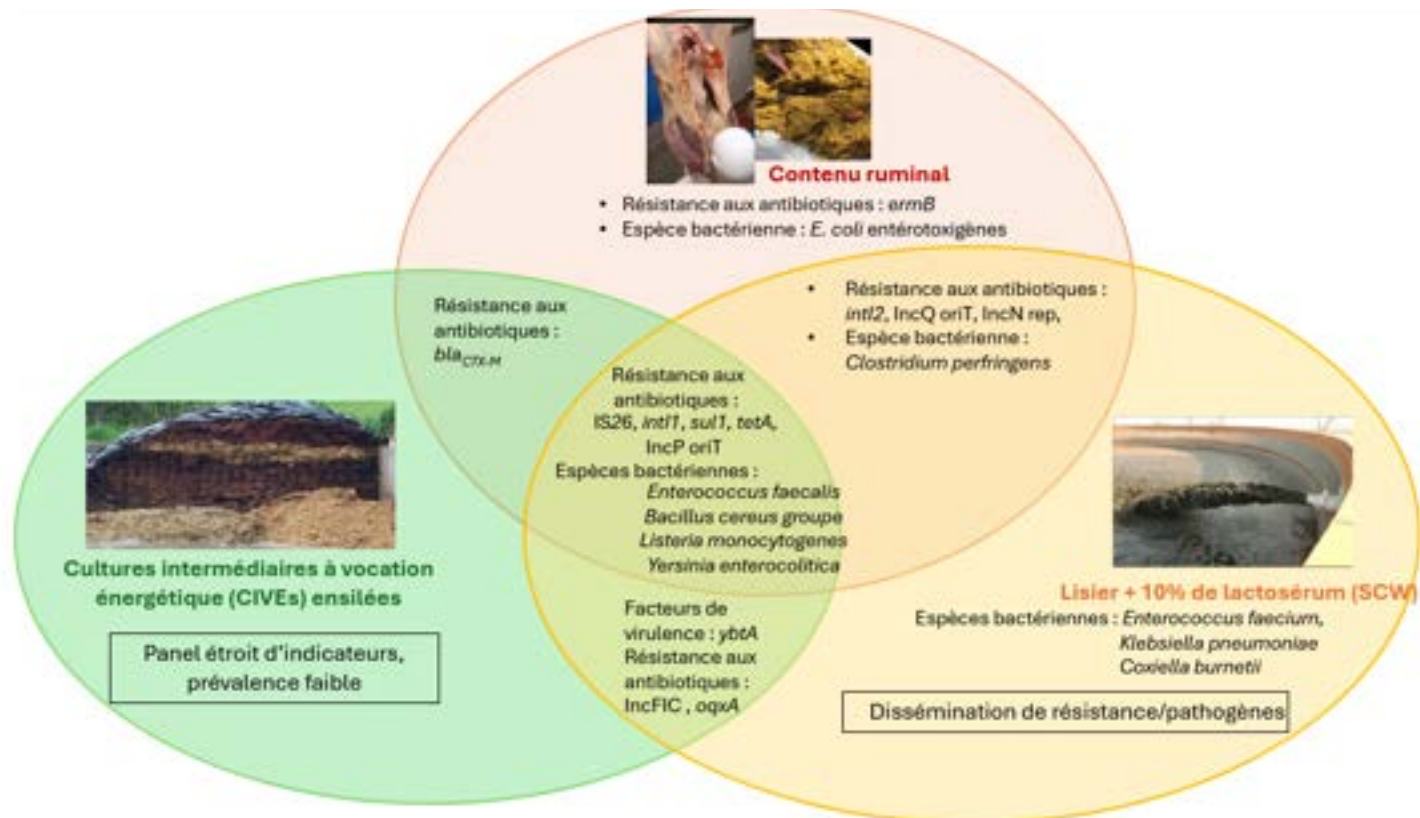


Figure 1 : Représentation schématique des profils microbiologiques associés à trois types d'intrants émergents : CIVEs ensilées, contenu ruminal et lisier enrichi en lactosérum (SCW).

La figure 1 illustre la complémentarité de leurs microbiotes et les zones de recouvrement concernant les pathogènes, les résistances et les capacités de dissémination.

Ces résultats soulignent l'importance cruciale des intrants dans la structuration du microbiote final des digestats.

➤ La nature des intrants influence davantage le profil microbiologique du digestat que leur simple quantité.

Rôle de la jonction recto-anale comme réservoir :

- La jonction recto-anale contient davantage de marqueurs de virulence et de résistance que le rumen.
- *ybtA*, *gspD* et *IS26* y sont fréquemment détectés, indiquant un réservoir local d'Enterobacteriaceae pathogènes ou résistantes.

La figure 2 compare la prévalence de plusieurs indicateurs sanitaires dans le contenu ruminal et au niveau de la jonction recto-anale chez des bovins (> 8 mois).

La partie distale du tube digestif bovin est un point critique pour l'introduction de bactéries à surveiller dans les intrants.

Ce ne sont pas les matières stercoraires qui présentent un risque sanitaire important dans le méthaniseur.

Prévalence rectale plus marquée : réservoir

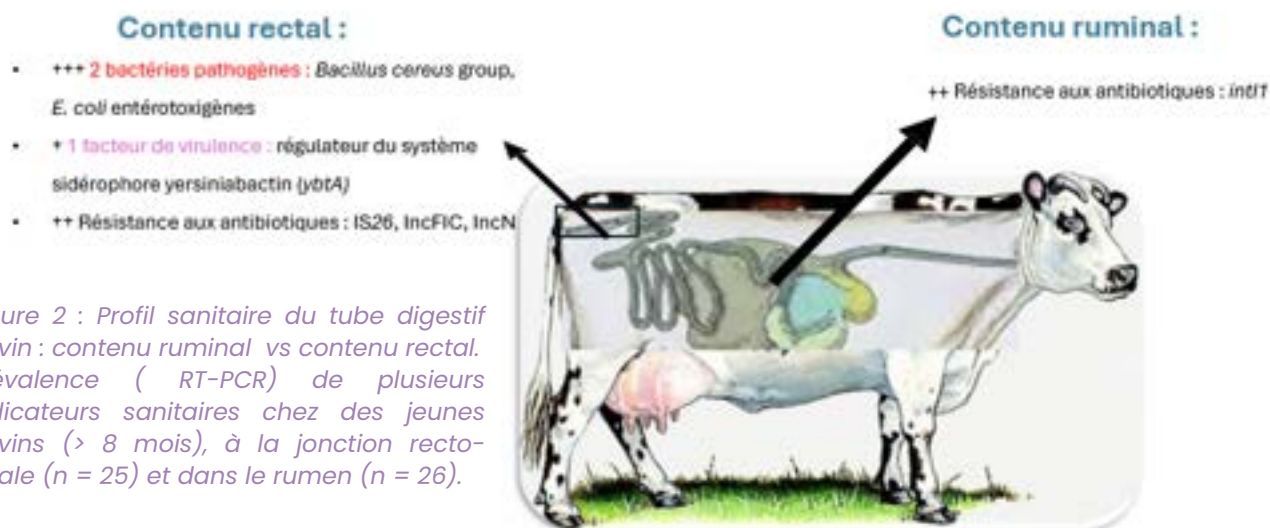


Figure 2 : Profil sanitaire du tube digestif bovin : contenu ruminal vs contenu rectal. Prévalence (RT-PCR) de plusieurs indicateurs sanitaires chez des jeunes bovins (> 8 mois), à la jonction recto-anale (n = 25) et dans le rumen (n = 26).

Digestat de méthanisation

- Réduction globale des charges microbiologiques.
- Contribution limitée aux pathogènes et gènes de résistance détectés à long terme dans le sol et la végétation.

Lisier enrichi en lactosérum

- Effets durables sur la végétation, avec persistance des marqueurs de résistance *int11*, *int12*, *tetA* et *ermB*.
- Persistance de pathogènes sur la végétation, tels que *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Coxiella burnetii* et *Klebsiella pneumoniae*.
- Risque accru de dissémination de gènes porteurs de résistances dans l'environnement.

Impacts sur prairies permanentes

Végétation

- Risque élevé et persistant sur les feuilles des prairies amendées par digestat ou par lisier enrichi en lactosérum.
- Détection de *Coxiella burnetii* et *Klebsiella pneumoniae*, ainsi que de marqueurs de résistance et éléments génétiques mobiles (*int11*, *int12*, *IS26*, *ermB*, *tetA*) sur les feuillages amendés.

Sol

- Effets plus transitoires, avec décroissance rapide des marqueurs pathogènes et de résistance en quelques semaines après l'épandage.



Recommandations opérationnelles pour les prairies

a) Surveillance microbiologique :

- Renforcer les contrôles surtout lorsque du lisier enrichi en lactosérum est épandu, et privilégier son passage en méthaniseur chaque fois que possible.
- Cibler en priorité les marqueurs de *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Coxiella burnetii* et *Klebsiella pneumoniae*, en concentrant les analyses sur la végétation plutôt que sur le sol.

b) Délai d'interdiction du pâturage après épandage :

- Rappel réglementaire : en France, le délai classique avant retour au pâturage après épandage de digestat est d'environ 3 semaines, afin de limiter l'exposition directe des animaux aux micro-organismes potentiellement pathogènes et résistants.

• Recommandation spécifique dans les zones où du lisier enrichi en lactosérum est épandu :

- allonger le délai à 6 semaines avant le retour au pâturage, pour permettre la décroissance des pathogènes et des gènes de résistance dans la végétation
 - laisser le temps au microbiote naturel des feuilles de se réinstaller ;
 - réduire les risques pour la santé animale et la sécurité sanitaire des produits issus de ces pâturages.
- Cette recommandation, plus stricte que le cadre réglementaire classique, se justifie par la persistance plus importante des marqueurs microbiens dans les prairies recevant des lisiers enrichis en lactosérum et appelle à une vigilance accrue ainsi qu'à une gestion différenciée selon le type d'effluent épandu.

Auteurs : Dynamiques microbiennes et risques sanitaires en grandes cultures et prairies

Caroline Wybraniec¹, Benoit Cournoyer¹, Joanna Barbe¹, Ylana Mourier¹, Laetitia Canonier², Stéphanie Chaverot³, Mehdi Hamel³, Cécile Moussard⁴, Françoise Leriche⁴, Geneviève Gagne⁴, Wessam Galia¹

¹ Laboratoire d'Ecologie Microbienne, Université Claude Bernard Lyon 1, INRAE, VetAgro Sup, Marcy l'étoile, France

² Chambre d'Agriculture du Rhône

³ Chambre d'agriculture de l'Ain

⁴ UMR, Université Clermont Auvergne, INRAE, VetAgro Sup, Aurillac, France

*Auteur pour correspondance : Wessam Galia (wessam.galia@vetagro-sup.fr)



NOTES

Handwriting practice lines consisting of 40 horizontal dotted lines.



Contacts

Stéphanie CHAVEROT: stephanie.chaverot@ain.chambagri.fr Chambre d'Agriculture de l'Ain

Christophe CHABALIER : christophe.chabalier@cantal.chambagri.fr Chambre d'Agriculture du Cantal

Elisabeth JACQUET: elisabeth.jacquet@isere.chambagri.fr Chambre d'Agriculture de l'Isère

Laetitia CANONIER: laetitia.canonier@rhone.chambagri.fr Chambre d'Agriculture du Rhône

Wessam GALIA: wessam.galia@vetagro-sup.fr Vet Agro Sup

Geneviève GAGNE: genevieve.gagne@uca.fr Université Clermont Auvergne

Cécile MOUSSARD: cecile.moussard@uca.fr Université Clermont Auvergne

Justin DE REKENEIRE: j.derekeneire@groupe-oxyane.fr Groupe Oxyane

Remerciements

NOUS REMERCIONS TOUS LES PARTENAIRES QUI ONT CONTRIBUE A CE PROGRAMME :

Tous les agriculteurs qui se sont investis pour mettre en place les essais sur leurs parcelles

Les organismes et programmes qui ont contribué localement à une partie des actions

- Le Conseil Départemental de l'Ain
- La Communauté de Communes de l'Ouest Rhodanien
- L'ADEME
- GRDF

Des comptes rendus complets des essais seront disponibles sur les sites internet des partenaires.

