



HAL
open science

Review of the impact of biogas digestates on the microbiological quality of agricultural soils

Battle Karimi, Sophie Sadet-Bourgeteau, Mario Cannavacciuolo, Camille Chauvin, Cyril Flamin, Adeline Haumont, Vincent Jean-Baptiste, Aurélie Reibel, Grégory Vrignaud, Lionel Ranjard

► To cite this version:

Battle Karimi, Sophie Sadet-Bourgeteau, Mario Cannavacciuolo, Camille Chauvin, Cyril Flamin, et al.. Review of the impact of biogas digestates on the microbiological quality of agricultural soils. *Étude et Gestion des Sols*, 2023, 30, pp.169-194. hal-03969854

HAL Id: hal-03969854

<https://institut-agro-dijon.hal.science/hal-03969854v1>

Submitted on 12 Oct 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Impact des digestats de méthanisation sur la qualité microbiologique des sols agricoles : État des connaissances

B. Karimi^(1*), S. Sadet-Bourgeteau⁽²⁾, M. Cannavacciuolo⁽³⁾, C. Chauvin⁽⁴⁾, C. Flamin⁽⁵⁾, A. Haumont⁽⁶⁾, V. Jean-Baptiste⁽⁷⁾, A. Reibel⁽⁸⁾, G. Vrignaud⁽⁹⁾ et L. Ranjard⁽²⁾

- 1) Novasol Experts, Maison Régionale de l'Innovation, 64a Rue Sully, 21000 Dijon, France
- 2) INRAE UMR Agroécologie, Institut Agro, Univ. Bourgogne, Univ. Bourgogne Franche-Comté, F-21000 Dijon, France
- 3) USC 1432 LEVA, Ecole Supérieure d'Agricultures (ESA), INRA, SFR 4207 QUASAV, Angers, France
- 4) ELISOL environnement, 10, avenue du midi, ZA des Tourels, 30111 Congénies, France
- 5) CEIGAR, GBU Networks, ENGIE SA, 1 place Samuel de Champlain, 92930 Paris la Défense Cedex, France
- 6) AILE, 19B Boulevard Nominoë, 35470 Pace, France
- 7) GRDF, 6 rue Condorcet, 75009 Paris, France
- 8) Geres, 2 cours Foch, 13400 Aubagne, France
- 9) ACE Méthanisation 79100 Thouars, France

* Auteur correspondant : battle.karimi@novasol-experts.com

RÉSUMÉ

Au cours des deux dernières décennies, la production mondiale de biogaz a triplé avec pour objectif de remplacer une partie des combustibles fossiles. Cette production réalisée par digestion anaérobie génère d'importants volumes de sous-produits appelés digestats. Ces derniers peuvent être recyclés dans les sols afin de fertiliser les cultures et de séquestrer du carbone. Leurs répercussions sur la biologie du sol restent toutefois méconnues. Nous proposons une synthèse des connaissances scientifiques actuelles concernant l'impact des digestats de méthanisation sur la biodiversité du sol, et plus particulièrement sur le compartiment microbien. Cinquante-six articles publiés depuis 2008 ont été recensés et analysés afin de tirer des tendances générales et des pistes de recherche qui nécessitent d'être explorées. Ils renseignent les effets des digestats sur 23 paramètres microbiens. La moitié des résultats

Comment citer cet article :

Karimi B., Sadet-Bourgeteau S., Cannavacciuolo M., Chauvin C., Flamin C., Haumont A., Jean-Baptiste V., Reibel A., Vrignaud G. et Ranjard L., 2023 - Impact des digestats de méthanisation sur la qualité microbiologique des sols agricoles : état des connaissances, *Étude et Gestion des Sols*, 30, 169-194

Comment télécharger cet article :

<https://www.afes.fr/publications/revue-etude-et-gestion-des-sols/volume-30/>

Comment consulter/télécharger

tous les articles de la revue EGS :
<https://www.afes.fr/publications/revue-etude-et-gestion-des-sols/>

recensés indiquent un effet neutre des digestats, et 7 % un effet négatif. Un quart des résultats montre un effet plus stimulant des digestats sur la qualité microbiologique du sol que d'autres fertilisations organiques, alors que 17 % signalent une stimulation inférieure. Au-delà de ces résultats, notre étude a mis en évidence un manque important d'études à long terme et au terrain dans des conditions agro-pédologiques variées. Certaines questions, comme l'effet du type d'intrants ou la vulnérabilité de certains types de sol, restent en suspens et nécessitent des efforts de recherche.

Traduit avec la permission de Springer Nature Customer Service Centre GmbH à partir de Karimi B., Sadet-Bourgeteau S., Cannavacciuolo M. et al., Impact of biogas digestates on soil microbiota in agriculture: a review. *Environ Chem Lett* (2022), Springer. <https://doi.org/10.1007/s10311-022-01451-8>.

Mots-clés

Digestat, biogaz, sol, micro-organismes, agriculture, méta-analyse

SUMMARY

REVIEW OF THE IMPACT OF BIOGAS DIGESTATES ON THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF AGRICULTURAL SOILS

The global production of biogas has increased threefold during the last decade to partly replace fossil fuels, yet biogas production by anaerobic digestion generates substantial amounts of by-products named digestates. These biogas digestates can be recycled in soils to fertilize crops and to sequester carbon. However, the impact of digestates on the soil biological is actually poorly known. Here we reviewed the impact of digestates published in 56 articles reporting 23 microbial parameters. Half of the articles show neutral effects of biogas digestates and 7% showed negative effects. 25% of the articles show more stimulation of biogas digestates for the soil microbial quality, compared to other organic fertilizers; whereas 17% of the articles show less stimulation. Beyond these general results, our study pointed the lack of long-term and field experiments, including a large range of agro-pedological contexts. Some questions, such as the effect of feedstock type or the vulnerability of specific soil types, remain unsolved and need more intense research effort.

Translated by the permission of Springer Nature Customer Service Centre GmbH from Karimi B., Sadet-Bourgeteau S., Cannavacciuolo M. et al., Impact of biogas digestates on soil microbiota in agriculture: a review. *Environ Chem Lett* (2022), Springer. <https://doi.org/10.1007/s10311-022-01451-8>.

Key-words

Anaerobic digestate, biogas, soil, microorganism, agriculture, meta-analysis

RESUMEN

EFFECTOS DE LOS DIGESTATOS DE METANIZACIÓN SOBRE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LOS SUELOS AGRÍCOLAS: Estado de los conocimientos

En las dos últimas décadas, la producción mundial de biogás se triplicó con el objetivo de sustituir una parte de los combustibles fósiles. Esta producción realizada por digestión anaeróbica genera grandes volúmenes de subproductos llamados digestatos. Estos últimos pueden reciclarse en los suelos para fertilizar los cultivos y secuestrar carbono. Sin embargo, se desconocen sus repercusiones en la biología del suelo. Proponemos una síntesis de los conocimientos científicos actuales sobre el impacto de los digestatos de metanización sobre la biodiversidad del suelo, y más particularmente en el compartimento microbiano. Se han identificado y analizado 56 artículos publicados desde 2008 para extraer tendencias generales y pistas de investigación que es necesario explorar. Ellos informan los efectos de los digestatos en 23 parámetros microbianos. La mitad de los resultados registrados indican un efecto neutro de los digestatos, y el 7% un efecto negativo. Una cuarta parte de los resultados muestra un efecto más estimulante de los digestatos sobre la calidad microbiológica del suelo que otras fertilizaciones orgánicas, mientras que el 17 % indica una estimulación inferior. Más allá de estos resultados, nuestro estudio puso de manifiesto una falta importante de estudios a largo plazo y en el terreno en condiciones agro-edafológicas variadas. Algunas cuestiones, como el efecto del tipo de insumos o la vulnerabilidad de algunos tipos de suelo, siguen pendientes y requieren esfuerzos de investigación.

Traducido con la permisión de Springer Nature Customer Service Centre GmbH a partir de Karimi B., Sadet-Bourgeteau S., Cannavacciuolo M. et al. Impact of biogas digestates on soil microbiota in agriculture: a review. *Environ Chem Lett* (2022), Springer. <https://doi.org/10.1007/s10311-022-01451-8>.

Palabras clave

Digestatos, biogás, suelo, microorganismos, agricultura, meta-análisis

1. INTRODUCTION

Le secteur du biogaz s'est fortement développé dans le monde depuis les années 2000 avec un double objectif : produire une énergie renouvelable (électricité, chaleur, biométhane) et gérer les déchets organiques (Rawoof *et al.*, 2021). Dans le contexte actuel du changement climatique et de la transition écologique, cela peut permettre à la fois de réduire les émissions de gaz à effet de serre et d'optimiser la séquestration du carbone dans le sol via l'épandage des sous-produits de méthanisation. Le biogaz est majoritairement produit dans trois grandes régions du monde : l'Europe en est le principal producteur avec plus de 18 millions de tonnes d'équivalent pétrole (Mtep) en 2018, suivie de la Chine et des États-Unis avec respectivement ~7 Mtep et ~4 Mtep (IEA, 2018). Les deux tiers des unités de méthanisation européennes sont situées en Allemagne, ce qui représente de loin le plus gros marché en Europe. Depuis une dizaine d'années, d'autres pays comme le Royaume-Uni, la France, la Suisse, le Danemark et les Pays-Bas ont progressivement accéléré leur développement dans ce secteur (International Energy Agency (IEA), 2019).

Le biogaz est produit par la digestion anaérobie des matières organiques. Le large éventail des biomasses organiques entrantes est réparti en quatre catégories principales : les résidus de culture, les effluents d'élevage, les coproduits et déchets organiques des industries agroalimentaires et des collectivités, les boues d'épuration (IEA, 2020). Cette digestion anaérobie génère certes du biogaz, mais également un sous-produit composé de résidus liquides et solides que l'on appelle « digestat ». Compte tenu de l'importante biomasse et du grand volume que cela représente (*Figure 1*), les résidus de méthanisation constituent en fin de compte le principal sous-produit généré.

En Europe, les digestats sont historiquement classés parmi les déchets, mais une récente révision de la réglementation par la Commission européenne autorise désormais les fertilisants agricoles à contenir des digestats (European Commission, 2019). Cette nouvelle réglementation facilite ainsi leur épandage sur les terres cultivées, qui constitue la voie de valorisation principale des importants volumes générés par la filière méthanisation. Dans le contexte actuel de transition agroécologique et de réduction de l'impact environnemental de l'agriculture, cette pratique pourrait représenter une alternative aux engrais minéraux pour les agriculteurs et une solution de recyclage des matières organiques. Toutefois, comme pour d'autres produits résiduels organiques, les impacts potentiels des digestats sur l'environnement, qu'ils soient bénéfiques ou nocifs, doivent être caractérisés pour piloter durablement leur utilisation en faveur de la protection de l'environnement et de la qualité des sols (Thangarajan *et al.*, 2013 ; Urra *et al.*, 2019).

Depuis une dizaine d'années, de nombreuses études rendent compte d'une augmentation de la quantité de carbone organique

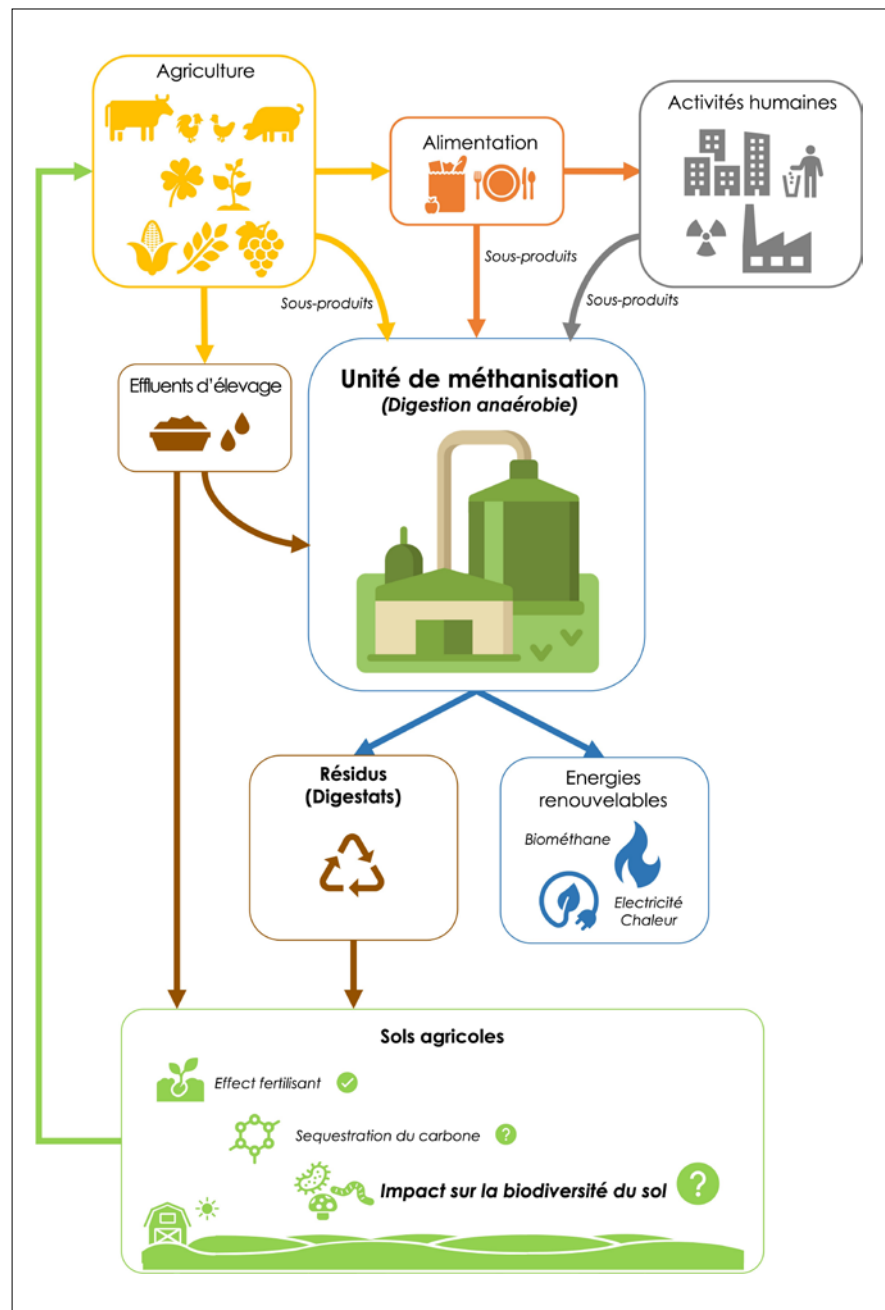
dans le sol et d'une stimulation des communautés biologiques du sol suite à l'utilisation récurrente d'une large gamme de fertilisants organiques (Sabir *et al.*, 2021). Concernant les digestats, même si leur efficacité comme fertilisants ou amendements a souvent été démontrée, des études soulignent certains risques environnementaux. Parmi eux, on peut noter une hausse potentielle des émissions de NH_3 par rapport à l'application de matières organiques non digérées (Nkoa, 2014). De même, la concentration d'oligo-éléments (Cu, Zn, Mn) issus des effluents porcins et bovins est susceptible d'avoir des effets secondaires toxiques sur les sols agricoles (Nkoa, 2014). En revanche, l'effet des digestats sur la qualité biologique des sols n'est pas clairement établi et leur innocuité pour les sols en tant que réservoirs de biodiversité reste à démontrer. La qualité biologique d'un sol est définie comme sa capacité à héberger de grandes quantités et diversités d'organismes vivants impliqués dans son fonctionnement et dans les services écosystémiques qu'il rend (Karimi *et al.*, 2020). Une biodiversité des sols satisfaisante procure de nombreux bénéfices pour la production agricole : facilitation de la dégradation des matières organiques (Baumann *et al.*, 2012), création d'un effet barrière limitant le développement des populations de pathogènes (Vivant *et al.*, 2013), préservation de la structure des sols (Le Guillou *et al.*, 2012), réduction de la sensibilité des cultures à la sécheresse (Prudent *et al.*, 2020), régulation de la pollution atmosphérique (Abis *et al.*, 2020) et, d'une manière plus générale, préservation de la stabilité du fonctionnement des sols (Tardy *et al.*, 2014 ; Maron *et al.*, 2018).

Apporter une réponse claire à cette question de l'impact des digestats sur la qualité biologique des sols n'est pas une tâche aisée en raison de la diversité des organismes du sol, du large éventail des paramètres biologiques pouvant être évalués (Karimi *et al.*, 2020) et de la grande variété des digestats (Guilayn *et al.*, 2019). En effet, il existe une multitude de digestats différents en termes de type, de composition et de qualité. Ces caractéristiques sont fortement liées à la qualité et à la quantité des intrants et à la technologie utilisée pour la production du biogaz, qui elles-mêmes dépendent du type et de la taille de l'unité de méthanisation, ainsi que de la disponibilité des différents intrants (Guilayn *et al.*, 2019). À ce jour, il manque une vision globale de l'impact des digestats sur la qualité biologique des sols, limitant ainsi notre capacité à établir des conclusions fiables et génériques sur le sujet.

Par conséquent, il est nécessaire de réaliser un bilan des connaissances scientifiques disponibles afin d'acquiescer cette vision globale et objective sur les effets des digestats sur la biodiversité des sols agricoles. Nous avons ainsi réalisé une méta-analyse visant à caractériser l'impact des digestats sur la qualité biologique des sols agricoles en effectuant un inventaire systématique de la littérature scientifique internationale publiée au cours des 20 dernières années. Contre toute attente, la biodiversité des sols a majoritairement été étudiée du point

Figure 1 : Représentation schématique des relations entre agriculture, industrie du biogaz et sols. Les intrants des unités de méthanisation proviennent de l'agriculture (résidus de culture et bétail), ainsi que des déchets alimentaires et de la société. La digestion anaérobie de ces intrants dans l'unité de méthanisation produit une énergie renouvelable comme l'électricité, la chaleur et/ou le biométhane, ainsi que des digestats. Les digestats sont épandus sur les sols agricoles qui bénéficient ainsi de leur effet fertilisant. Ils pourraient également participer à la séquestration du carbone. L'impact des digestats sur la biodiversité des sols reste toutefois flou et, compte tenu du développement rapide de l'industrie du biogaz ces dernières années, doit être précisé.

Figure 1: Schematic representation of the relationships between agriculture, biogas industry and soils. The feedstock of biogas plant come from agriculture, i.e., crop residues and livestock, and from food and human societies waste. The anaerobic digestion of these feedstocks in the biogas plant produces renewable energy such as electricity, heat and/or biomethane, and digestates. The digestates are spread on the agricultural soil for their fertilizing effect. They could also help to carbon sequestration. However, the impact of digestate on the soil biodiversity remain unclear and it urge to be answered with the acceleration of the biogas industry development.



de vue des microorganismes. Très peu d'études se focalisent sur les nématodes et la faune du sol (Web of Science, mars 2021). Notre méta-analyse s'est donc concentrée sur la qualité microbiologique du sol.

Dans cette présente revue, nous présenterons tout d'abord quelques éléments de bibliométrie, avec une analyse de l'évolution du nombre d'études au cours du temps et de l'origine géographique de ces études. Ensuite, nous analyserons les stratégies expérimentales mises en œuvre par les chercheurs

pour étudier l'impact des digestats sur les communautés microbiennes des sols. Ceci permettra de cadrer clairement le contexte des résultats qui seront présentés par la suite, ainsi que les forces et les limites des études. Afin d'évaluer l'impact écologique global des digestats, nous quantifierons la proportion d'études signalant des effets nocifs, neutres et bénéfiques à la suite de l'utilisation de digestats en comparaison soit à un témoin sans apport (eau), soit à une fertilisation minérale, soit à une autre fertilisation organique. Pour compléter ceci,

nous résumerons les résultats relatifs aux questions les plus fréquemment traitées dans la littérature pour les 23 paramètres microbiologiques les plus mesurés et relatifs à l'abondance, à la diversité et à l'activité microbiennes. Comme résultat à part entière de ce travail de synthèse, nous avons également identifié des axes de recherche orphelins, c'est-à-dire restant sans réponse à ce jour et devant faire l'objet d'études afin d'établir des recommandations opérationnelles et objectives à destination des parties prenantes et des politiques environnementales nationales et européennes.

La version anglaise de cet article est publiée dans *Environmental Chemistry Letters* (Karimi *et al.*, 2022)

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

La démarche méthodologique de cette revue est présentée sur la *figure 2*. La combinaison des mots-clés utilisés pour la recherche était la suivante :

Digestate* ET soil* ET
(*diversity OU microb* OU faun* OU nematode*
OU earthworms)

où « ET » indique que les termes doivent apparaître simultanément dans les résultats de recherche, « OU » indique qu'au moins l'un des termes doit être présent dans les résultats, et « * » indique que la recherche ciblait tous les termes contenant la suite de lettres donnée associée à un préfixe si « * » précède la suite de lettres et/ou associée à un suffixe si « * » suit la suite de lettres (ex. : *diversité inclut biodiversité, microb* inclut microbien ou microbiologique). Cette recherche bibliographique a été réalisée sur la base de données Web of Science en mars 2021 et aucune restriction n'a été appliquée quant à la date ou à l'origine géographique des articles.

Les articles scientifiques faisant référence à la thématique de manière pertinente ont été identifiés à l'aide de plusieurs filtres :

- i- Les thèmes du titre, des mots-clés et du résumé sont-ils en adéquation avec la thématique de la méta-analyse ?
- ii- L'article contient-il des données originales sur les digestats et la biodiversité du sol ?
- iii- La stratégie expérimentale ou les modalités testées sont-elles adaptées pour répondre à la question ?

Le corpus final d'articles sélectionnés a ensuite fait l'objet d'une analyse approfondie afin de constituer 3 différentes bases de données composées respectivement des métadonnées des articles, des données contextuelles des études et des effets mesurés. Elles ont été utilisées pour l'analyse bibliométrique, l'analyse des stratégies expérimentales et l'analyse des impacts.

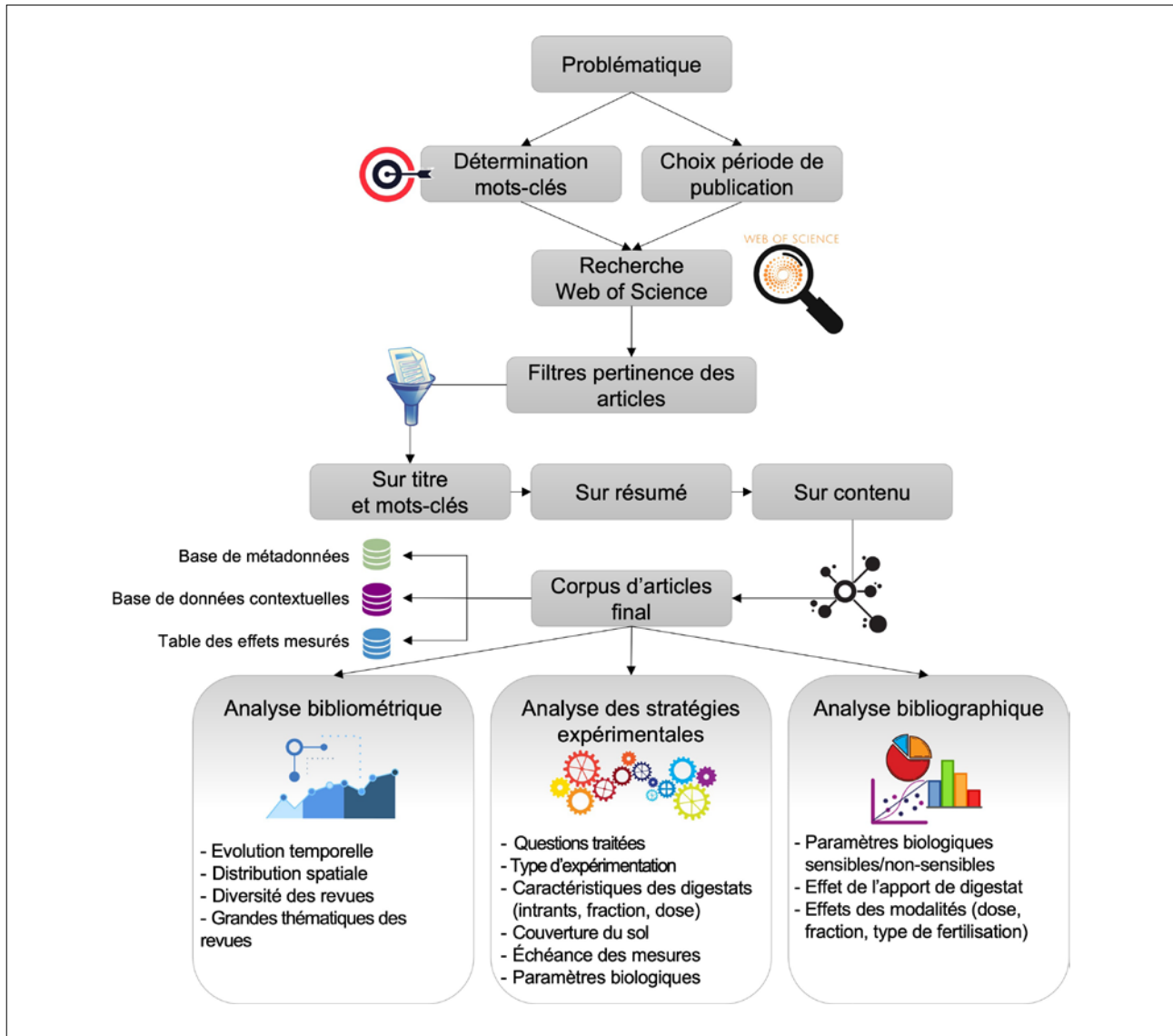
3. ANALYSE BIBLIOMÉTRIQUE

Une recherche des mots-clés a permis d'identifier 222 articles portant sur les digestats et la biologie du sol. Parmi ce pool de 222 articles, 200 s'intéressent aux microorganismes, 4 aux nématodes et 17 à la faune du sol. Les 4 articles sur les nématodes se préoccupent exclusivement du contrôle des nématodes phytoparasites, sans étudier la communauté écologique dans son ensemble. En ce qui concerne la faune du sol, deux articles contiennent des données sur les collemboles et sept sur les vers de terre. Ces 9 articles abordent toutes différentes questions liées aux digestats. Le faible nombre d'articles et de données scientifiques disponibles sur les nématodes et la macrofaune du sol ne suffit pas pour effectuer une méta-analyse dont l'objectif est de statuer de manière fiable et objective sur l'impact des digestats sur ces groupes biologiques. Par conséquent, notre étude s'est focalisée sur les communautés microbiennes des sols, qui ont été étudiées de manière plus approfondie par la communauté scientifique internationale.

Les premiers filtres mis en place ont eu pour objectif de vérifier l'adéquation des thèmes contenus dans le titre, les mots-clés et le résumé des articles avec la problématique et les objectifs de la méta-analyse. Appliqués aux 200 articles portant sur les micro-organismes, ces filtres ont permis de conserver 66 articles proposant des données sur l'impact des digestats. L'analyse bibliométrique, qui consiste à étudier les métadonnées des articles, a été conduite sur ce corpus. Dans un premier temps, nous avons établi une cartographie mondiale des études afin d'identifier les pays d'origine des équipes scientifiques intéressées par ce sujet de recherche. Plus de 80 % des études ont ainsi été menées en Europe, principalement en Allemagne et en Italie (15 % des études pour chaque pays), les autres pays européens représentant 50 % des études. Les 20 % d'études restantes proviennent de pays asiatiques comme la Chine et le Japon. Un très faible pourcentage d'études provient de l'Afrique ou de l'Amérique (*Figure 3a*). Ensuite, une analyse de la date de publication des articles a permis d'évaluer l'évolution de l'intérêt de la communauté scientifique pour le sujet au cours des 20 dernières années. Les premiers articles recensés ont été publiés en 2008. Depuis, le taux de publication est de 1 à 6 articles par an, sauf en 2015 et en 2020 qui ont connu deux pics importants de publication. De plus, 83 % des articles ont été publiés entre 2015 et 2021, ce qui indique un intérêt croissant pour cette thématique de recherche (*Figure 3b*). Enfin, le type de revue ainsi que leur domaine d'expertise ont été analysés afin de comprendre le contexte dans lequel la communauté scientifique s'est intéressée à la question. Ainsi, les 66 articles ont été publiés dans 40 revues différentes qu'il est possible de catégoriser en 6 grandes thématiques : Microbiologie, Pollution et déchets, Énergie, Alimentation, Sols et agriculture, Écologie et environnement. La *figure 3c* montre que les revues et leurs thématiques se diversifient avec l'augmentation du nombre d'articles. Une

Figure 2 : Démarche méthodologique mis en œuvre pour cette revue systématique. Les boîtes finales détaillent toutes les informations relevées dans les articles.

Figure 2: Methodological process implemented for this systematic review. The final box details all the information recorded from the articles.



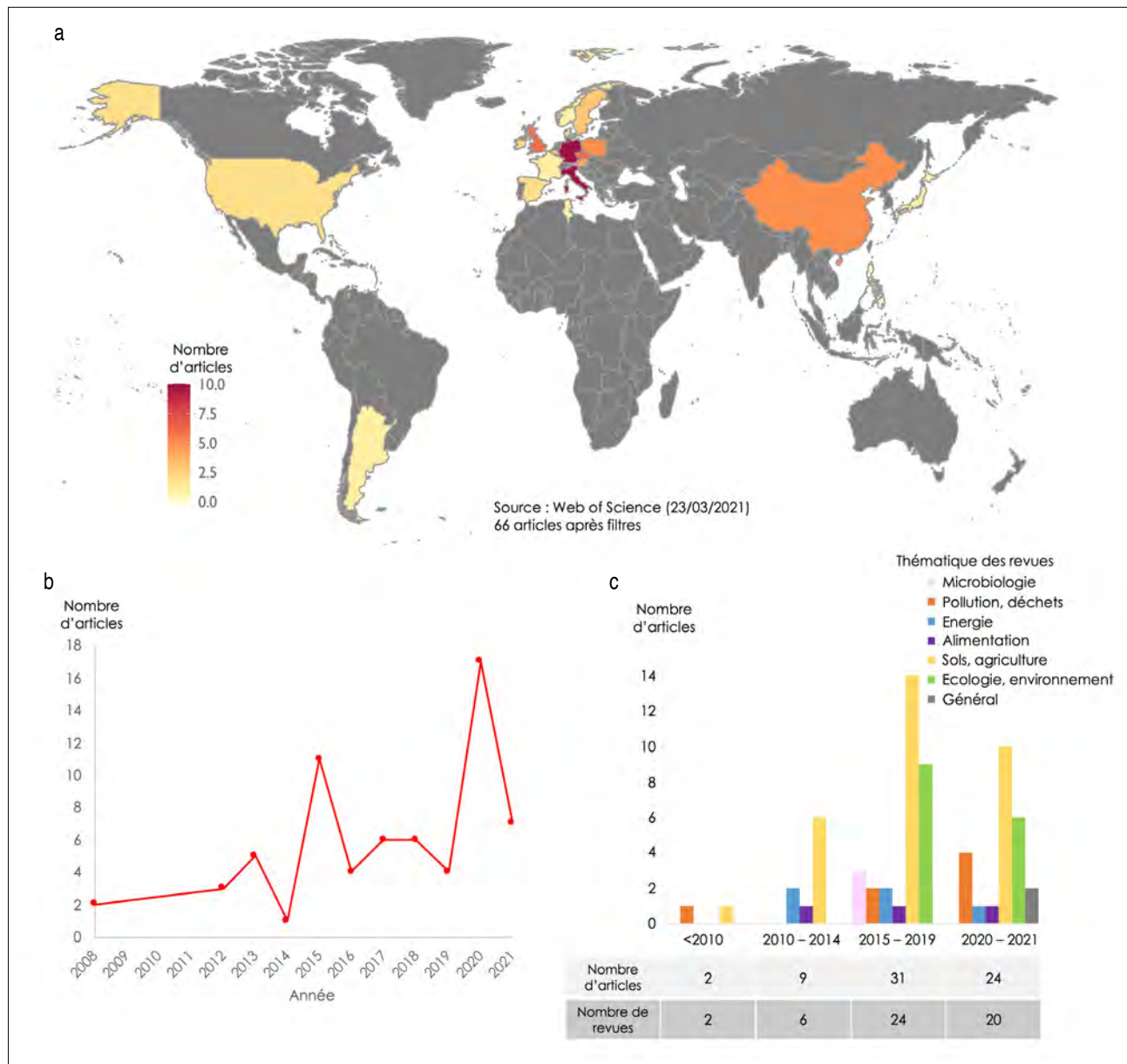
grande partie des articles sont publiés dans des revues traitant de « Sols et agriculture » et « Écologie et environnement ». En revanche, les thématiques « Pollution et déchets », « Énergie » et « Alimentation » sont présentes depuis les années 2010 mais peu représentées. Depuis 2020, des revues généralistes publient également des recherches sur l'impact des digestats sur la biodiversité du sol. Elles ciblent un public plus vaste et proposent des articles sur des questions scientifiques et sociétales. Cela suggère que ces questions intéressent désormais un public plus large que les spécialistes des sols et de la biodiversité.

4. ANALYSE DES STRATÉGIES EXPÉRIMENTALES

L'analyse des stratégies expérimentales utilisées dans les études porte sur : i- le type de stratégie : expériences en microcosme, en serre ou au terrain ; ii- la durée des expériences ; iii- le type de sol ; iv- le type de digestat et la fraction appliquée ; v- les paramètres microbiologiques mesurés. La synthèse de ces caractéristiques a permis d'évaluer la diversité des résultats, mais aussi de souligner les forces et les faiblesses de l'état de la connaissance scientifique actuelle.

Figure 3 : Analyse bibliométrique de l'impact des digestats sur la qualité microbiologique du sol : a- Distribution géographique des études ; b- Dynamique temporelle du nombre d'articles sur les 15 dernières années ; c- Évolution des thématiques des revues ayant publié les articles. Une grande partie des études a été conduite en Europe, principalement en Allemagne et en Italie, ainsi qu'en Chine. Les premiers articles sont parus en 2008, mais 83 % d'entre eux ont été publiés entre 2015 et 2021 dans des revues s'intéressant principalement à deux grandes thématiques : Sols et agriculture, et Écologie et environnement. Depuis 2020, des revues généralistes s'intéressent à la publication d'articles de recherche sur l'impact des digestats sur la biodiversité du sol.

Figure 3: Bibliometric analysis of the impact of digestates on the soil microbiological quality: a- Mapping of the geographical origin of the studies. b- Temporal dynamics of the number of articles for 15 years. c- Evolution of the scopes of the journals publishing the studies. Large part of studies was conducted in European countries, mostly in Germany and Italy, and in China. The first articles were published in 2008, but 83% of the articles were issued between 2015 and 2021 in journals with two main scopes: Soil and agriculture, and Ecology and Environment. From 2020, generalist journals became interested in the publication of research articles about the impact of digestates on soil biodiversity.



Types d'expériences

L'analyse a mis en évidence l'utilisation de deux principales approches expérimentales : l'expérimentation en laboratoire et l'expérimentation *in situ*. La première approche repose sur un dispositif en microcosmes ou en mésocosmes créé au laboratoire à partir d'un sol (parfois deux) prélevé au terrain. Les modalités d'apport de digestats sont alors réalisées en conditions contrôlées et les mesures sont effectuées à court terme, quelques jours, quelques semaines ou quelques mois au plus après apport. L'approche *in situ* repose sur des expérimentations en plein champ. Les modalités d'apport sont généralement appliquées sur trois ou quatre blocs expérimentaux (répétitions) sur une même parcelle, dans une ou deux exploitations. Cette méthode est généralement mise en œuvre sur le moyen ou le long terme, avec des mesures après plusieurs mois ou plusieurs années après l'apport, qui dans certains cas peut être récurrent.

Plus de 70 % des études utilisent une approche en laboratoire, et seulement 25 % l'approche *in situ* (Figure 4a). Une seule étude a mis en place les deux types d'approches. Il faut noter qu'aucune étude ne fournit de données issues d'un réseau de parcelles, dans lequel chaque parcelle présente des caractéristiques agronomiques et pédoclimatiques qui lui sont propres et reçoit des digestats différents.

Durée des études

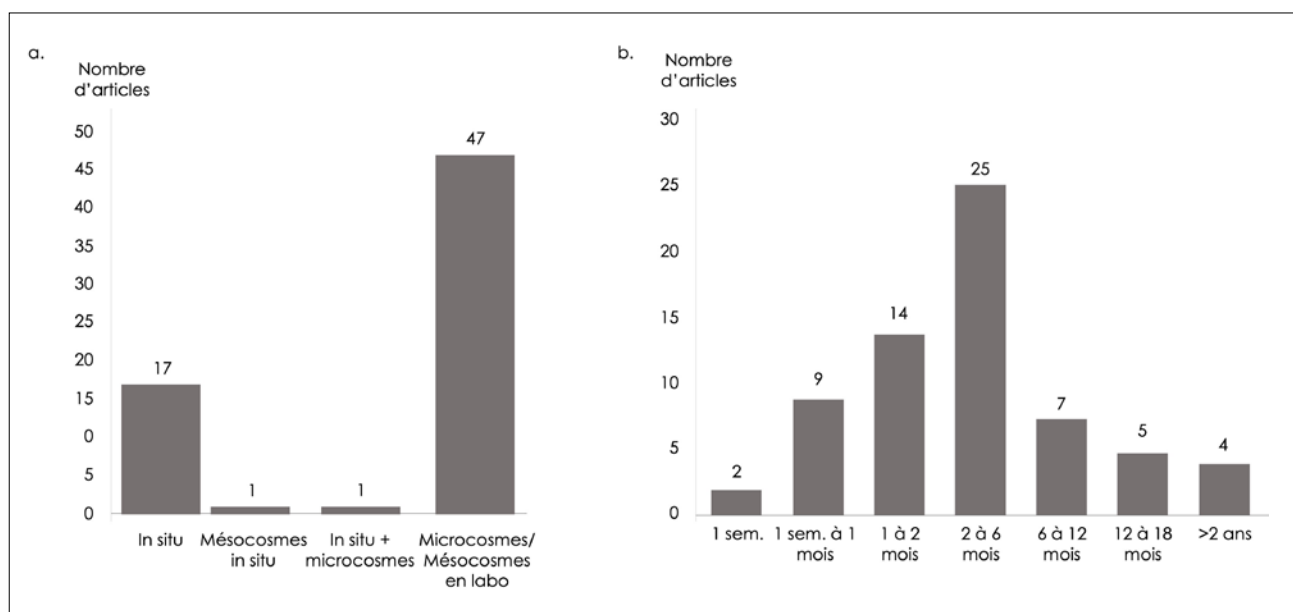
La durée des expérimentations, c'est-à-dire le temps entre le 1er épandage des digestats et la mesure des paramètres biologiques, varie de quelques jours ou une semaine pour la plus brève, à deux ans pour la plus longue. Dans les études de moins d'un an, un seul apport de digestats est réalisé. Les études mesurant les paramètres biologiques 6 à 24 mois après l'épandage des digestats sont considérées comme des évaluations d'impact à moyen terme. Les études d'une durée supérieure à 2 ans évaluent l'impact à long terme des digestats. La figure 4b indique que 60 % des expériences durent entre 1 semaine et 6 mois, c'est-à-dire que la majorité des études renseignent sur l'impact à court terme des digestats. Pour 88 % des expériences à court terme, une approche en microcosmes ou mésocosmes est utilisée. Les études de plus de 6 mois représentent 40 % des expériences et 75 % d'entre elles ont été conduites *in situ*.

Types de sols étudiés

Soixante-quatorze pourcents des études portaient sur un seul type de sol, et 20 % d'entre elles sur deux sols différents. Seul un faible nombre d'études incluent une diversité de sols, avec au maximum 8 sols différents étudiés dans un même article.

Figure 4 : Nombre d'articles scientifiques étudiant l'impact des digestats sur la qualité microbiologique du sol selon (a) le type d'approche expérimentale et (b) la durée des études. Deux tiers des études sont réalisées en laboratoire, la plupart dans le cadre d'expériences à court terme. Les expériences à long terme se déroulent généralement sur le terrain, en conditions pédoclimatiques réelles.

Figure 4: Number of scientific articles on the impact of digestates on the soil microbiological quality according to (a) the type of experiment (experimental strategy developed) and (b) the time scale of the studies. Two third of studies set up in laboratory and most of them are short-term experiments. The long-term experiments generally take place on the field, in realistic pedoclimatic conditions.



Dans 57 % des cas, les études portent sur des sols agricoles tels que des prairies, des cultures, des vergers ou des jachères. Dans 24 % des études, le sol étudié est nu au moment de l'expérimentation ou du prélèvement. L'information sur l'usage du sol n'est pas renseignée pour 18 % des études. Bien que toutes les études s'intéressent à la couche superficielle du sol, la profondeur d'échantillonnage varie : les 10 premiers centimètres du sol dans 23 % des études, les 20 premiers centimètres dans 42 % d'entre elles et les 30 premiers centimètres dans 17 % des cas. Cette information n'est pas disponible dans 18 % des cas.

Types de digestats utilisés

Les intrants utilisés pour la digestion anaérobie ont été répertoriés et classés en 3 groupes selon leur composition principale (Figure 5) :

- i- intrants d'origine animale appelés « effluents d'élevage »,
- ii- intrants d'origine végétale appelés « matières végétales »,
- iii- intrants issus de déchets divers (industries agroalimentaires et collectivités) appelés « déchets ».

Un tiers des études utilisent des digestats constitués principalement d'effluents d'élevage, la plupart étant du fumier bovin. Des effluents d'autres élevages comme les porcs, les volailles ou encore les ovins sont également utilisés. Les digestats principalement constitués de matières végétales

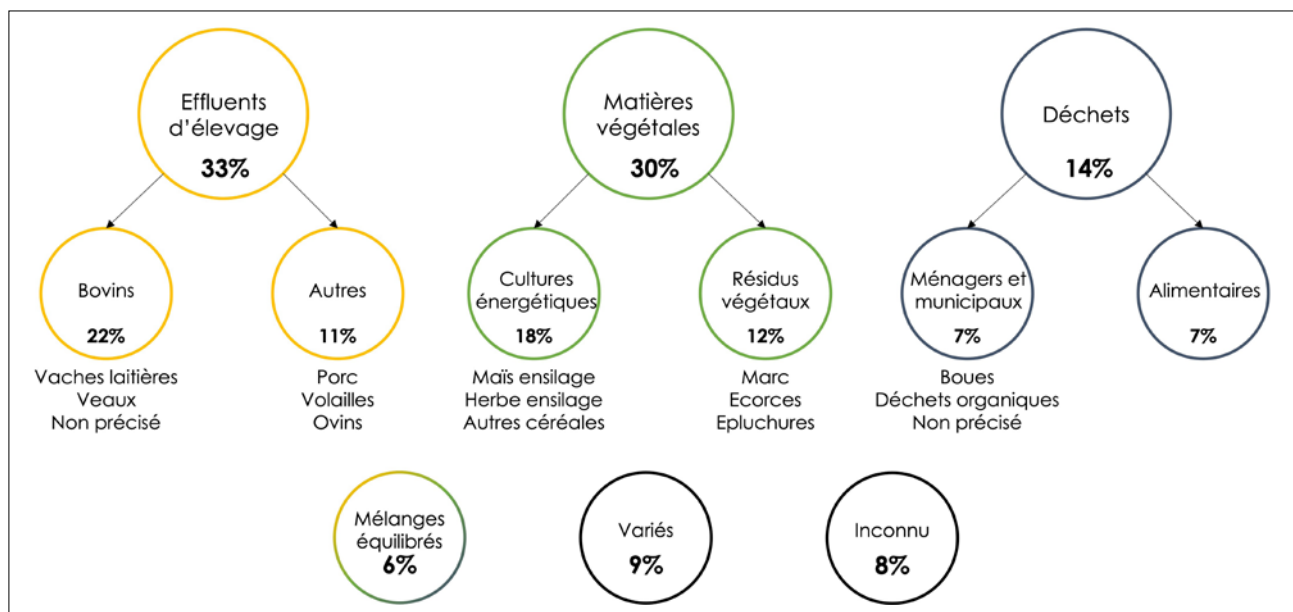
sont épanchés dans 30 % des études. Ces matières végétales proviennent de cultures énergétiques comme le maïs ou les graminées, ou de résidus végétaux comme le marc de raisin, l'écorce ou les épluchures de fruits et légumes. Des digestats de déchets ne sont employés que dans 14 % des études et sont constitués de déchets alimentaires dans plus de la moitié des cas. Des digestats basés sur un mélange équilibré de différents types d'intrants ont été utilisés dans 6 % des études, et 9 % d'entre elles ont testé une gamme variée de digestats.

Le procédé de digestion anaérobie a été précisé dans seulement 40 % des études. Les auteurs ont indiqué avoir eu recours à la digestion mésophile dans 36 % des cas, et avec des températures comprises entre 35 °C et 48 °C. Les 4 % restants ont appliqué une digestion thermophile.

L'analyse des fractions de digestats utilisés a été infructueuse en raison de la diversité des terminologies employées dans les études. Les digestats peuvent être désignés par plusieurs termes, par exemple « slurry », « manure », « digestate » ou « résidues », mais un même mot peut renvoyer à différents produits. Par exemple, « slurry » a pu être utilisé pour définir les digestats bruts, principalement sous forme liquide, ou bien la fraction liquide après séparation. Dans certaines études, le terme « manure » désigne également la fraction liquide, mais il est principalement utilisé pour caractériser la fraction solide ou le digestat brut solide. Ces observations soulignent la nécessité

Figure 5 : Analyse des types d'intrants utilisés pour la digestion anaérobie dans les études portant sur l'impact des digestats sur la qualité microbologique du sol. Généralement, les études utilisent des digestats constitués de matières animales ou végétales. Les digestats de déchets sont moins souvent testés.

Figure 5: Analysis of the types of feedstocks used for anaerobic digestion in the studies on the impact of digestates on the soil microbiological quality. Generally, in the studies, applied digestate are composed of animal or vegetal matter. Digestate based on waste are less frequently tested.



de préciser la terminologie au niveau international et d'en établir une commune basée sur certaines caractéristiques du produit comme le processus de production ou la teneur en matière sèche du produit final.

Paramètres microbiologiques du sol

Comme défini dans Karimi *et al.* (2020), la qualité biologique d'un sol est sa capacité à héberger une grande quantité et diversité d'organismes vivants, impliqués dans son fonctionnement et dans les services écosystémiques qu'il fournit. La qualité microbiologique d'un sol désigne donc la quantité et la diversité des micro-organismes vivant et interagissant dans le sol et participant à son fonctionnement écologique. Tous les paramètres microbiologiques (plus de 55 au total) étudiés dans le corpus des 66 articles sélectionnés ont donc été répertoriés, analysés et classés selon le type d'information proposée sur la qualité microbiologique du sol (*Tableau 1*): i – biomasse ou abondance de communautés microbiennes, ii- diversité taxonomique microbienne, iii- activité métabolique microbienne, iv- abondance de gènes ou groupes fonctionnels, v- diversité fonctionnelle microbienne, vi- réseau microbien et vii- état sanitaire du sol.

Sur ces 55 paramètres, certains sont rarement évalués. Vingt-trois ont fait l'objet de mesures plus fréquentes, ce qui facilite leur interprétation en termes de qualité microbiologique du sol. Ces paramètres reflètent l'état de l'ensemble de la communauté microbienne, ou bien plus spécifiquement de la communauté bactérienne, de la communauté fongique ou de la communauté des archées. Ils quantifient la biomasse et l'abondance, la diversité taxonomique en termes de richesse ou de structure des communautés, ainsi que l'activité métabolique mesurée par les activités enzymatiques, le quotient métabolique et la diversité métabolique. La présente synthèse s'appuie sur ces 23 paramètres microbiologiques pour analyser l'impact écologique des digestats et établir des conclusions robustes et génériques.

Parmi ces 23 paramètres, certains ont été plus mesurés que d'autres. La biomasse microbienne, qui quantifie l'abondance de l'ensemble des micro-organismes présents dans le sol, est le paramètre le plus mesuré et le plus répertorié (32 études sur 66 soit 48 %). Le deuxième paramètre le plus évalué est l'activité déshydrogénase qui a été mesurée dans 18 études (27 %). Les déshydrogénases sont des oxydoréductases dont la mesure quantifie l'activité globale de décomposition des matières organiques par les communautés microbiennes. Ensuite, les 4 paramètres les plus mesurés (dans environ 10 études) sont les abondances bactérienne et fongique, la richesse bactérienne et l'activité des phosphatases alcalines. Cette dernière est une activité microbienne dépendant des ions PO_4^- disponibles dans le sol. Tous les autres paramètres ont été évalués dans moins de 10 études, ce qui peut être expliqué par le caractère récent

de certaines techniques, comme les méthodes moléculaires de caractérisation des communautés microbiennes, ou encore par l'absence de références, qui complique l'interprétation des résultats.

L'analyse des questions et des stratégies expérimentales a réduit le corpus d'articles de 66 à 56. Les 10 articles écartés fournissent des données sur des questions non abordées dans cette revue, comme l'impact du biochar produit à partir de digestats, ou sur des paramètres microbiens non analysés ici (*Tableau 1*).

5. IMPACT GLOBAL DES DIGESTATS SUR LA QUALITÉ MICROBIOLOGIQUE DU SOL

Pour évaluer l'impact global des digestats sur la biodiversité microbienne du sol, nous avons inventorié tous les effets positifs, neutres et négatifs rapportés pour les 23 principaux paramètres microbiologiques mesurés, dans les 56 articles finalement sélectionnés. Dans un souci de cohérence avec les points de vue écologique et agronomique, nous avons relevé ces effets en considérant 3 niveaux de références différents : i- un témoin sans apport ; ii- un fertilisant inorganique de synthèse appliqué à une dose d'azote similaire ; iii- un autre fertilisant ou amendement organique. Dans chaque cas, la proportion d'effets strictement positifs, positifs ou neutres, strictement neutres, négatifs ou neutres, et strictement négatifs signalés dans les articles a été calculée. Un effet a été considéré comme significatif lorsque l'analyse statistique indiquait une *p-value* inférieure à 0,05. Certaines études présentent deux résultats différents : par exemple, un effet positif et un effet nul en fonction du sol étudié. Dans ce cas, le résultat global a alors été comptabilisé dans la catégorie « Effet positif ou neutre » (ou « Effet négatif ou neutre » dans le cas d'impact négatif). Ces décomptes ont été reportés sur des diagrammes synthétisant l'impact global des digestats (*Figure 6*).

Il est intéressant de constater que le volume de données est deux fois plus important lorsque la référence est le témoin sans apport comparé à une fertilisation inorganique (146 vs 69). Cette observation s'explique en partie par la réalisation d'expérimentations en laboratoire, qui sont rarement liées aux conditions agronomiques réelles et aux préoccupations des agriculteurs. En revanche ces données présentent l'avantage de mesurer l'effet direct des digestats sur les micro-organismes du sol, ce qui correspond aux critères d'une évaluation écologique.

Tous niveaux de référence confondus, entre 43 et 65 % des résultats produits par les études indiquent l'absence d'effet des digestats par rapport à la référence (*Figure 6*). Des effets positifs ont été constatés dans 25 à 41 % des résultats, tandis que des effets négatifs sont apparus dans 3 à 17 % des résultats, selon la référence.

Type	Paramètres microbiologiques	Nombre d'articles recensés	Paramètres analysés dans cette étude
Biomasse - Abondance	Biomasse microbienne	32	X
	Abondance microbienne	3	X
	Abondance bactérienne	11	X
	Abondance fongique	12	X
	Abondance archées	4	X
	Ratio champignons/bactéries	3	
Diversité taxonomique	Diversité bactérienne (richesse)	10	X
	Diversité fongique (richesse)	5	X
	Diversité archée (richesse)	2	X
	Structure de la communauté microbienne	5	X
	Structure de la communauté bactérienne	8	X
	Structure de la communauté fongique	4	X
	Structure de la communauté archéale	2	X
Activité métabolique	Quotient métabolique (qCO ₂)	9	X
	Activité hydrolytique fluoresceine diacétate	4	X
	Activité déshydrogénase	18	X
	Activité phosphatase alcaline	12	X
	Activité phosphatase acide	6	X
	Activité bêta-glucosidase	8	X
	Activité protéase	5	X
	Activité uréase	3	X
	Activité arylsulfatase	3	X
	Activité catalase	2	X
	Diversité métabolique (richesse, indice de Shannon, structure)	7	X
	Activité bêta-glucosaminidase	1	
	Activité O-diphénol oxydase	1	
	Activité cellobiohydrolase	1	
	Activité xylanase	1	
	Activité chitinase	1	
	Activité leucine aminopeptidase	1	
Croissance bactérienne	1		
Croissance fongique	1		
Abondance des gènes ou groupes fonctionnels	Abondance amoA-AOA	4	
	Abondance amoA-AOB	4	
	Abondance nifH	2	
	Abondance nrfA	1	
	Abondance nirK	2	
	Abondance nirS	2	
	Abondance nosZ	3	
	Abondance mcrA	1	
	Abondance pmoA	1	
	Abondance des bactéries ammonifiantes	1	
	Abondance des bactéries copiotrophes	1	
	Abondance des bactéries oligotrophes	1	
	Abondance des champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA)	1	
	Abondance des micro-organismes protéolytiques	1	
Diversité fonctionnelle	Richesse bactérienne rhizosphérique	1	
	Richesse bactérienne dénitrifiante	1	
	Structure des communautés bactériennes rhizosphériques	2	
	Structure de la communauté AOA	1	
	Structure des communautés bactériennes dénitrifiantes	1	
Réseau microbien	Réseau bactérien	1	
	Réseau fongique	1	
État sanitaire	Indice d'infection par <i>R. solani</i>	1	
	Gènes de résistance aux antibiotiques	1	

Tableau 1 : Liste des paramètres microbiologiques répertoriés dans les 66 études analysées dans cette revue et classés en fonction du type d'information fournie. Pour chaque paramètre, le tableau indique le nombre d'articles fournissant des données et leur éventuelle inclusion dans cette revue. Les paramètres mesurés dans un nombre trop restreint d'études ont été ignorés.

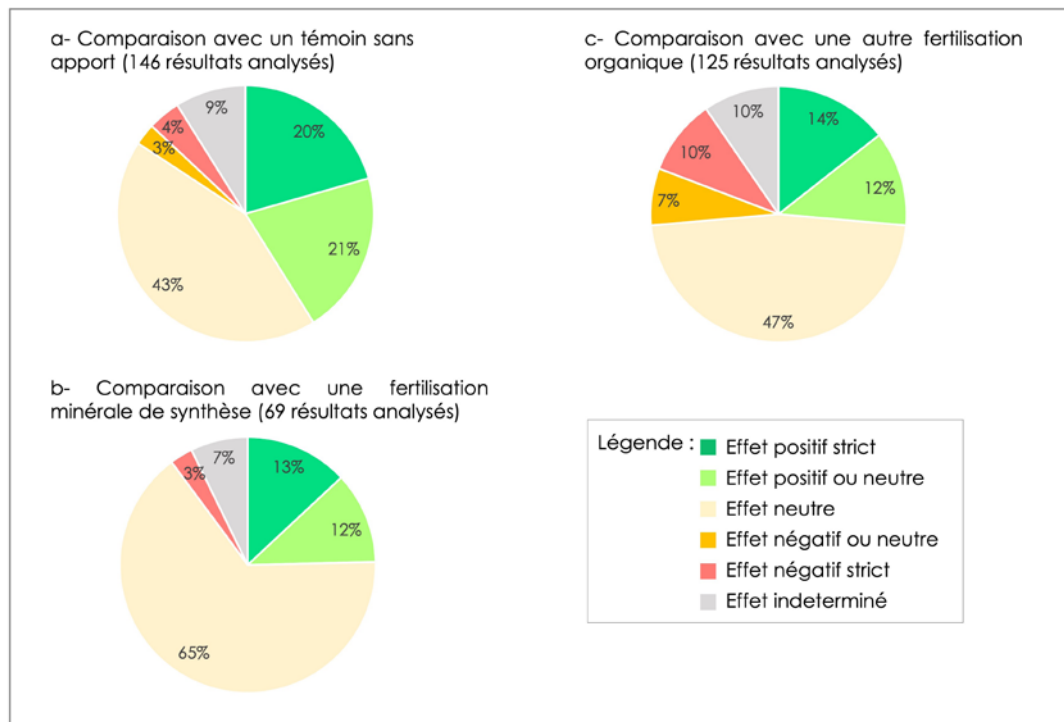
Table 1: List of the microbiological parameters monitored in the 66 studies analyzed in this review, classified according to the type of information they provide. For each parameter, the table indicates the number of articles provided data and if it was included in this review. Parameters with too few studies providing data were discarded.

Comparés au témoin sans apport (Figure 6), les paramètres microbiens ont réagi négativement à l'apport de digestats dans 7 % des cas toutes conditions expérimentales confondues, ce qui suggère un impact écologique global possiblement nocif. Les digestats ont eu un effet stimulant direct sur les communautés microbiennes du sol pour plus de 40 % des résultats. Comparés au témoin avec fertilisant inorganique, les digestats ont généralement eu le même effet, voire un effet plus stimulant dans 25 % des cas. Les paramètres microbiens ont subi une baisse dans seulement deux cas. Lors de la comparaison avec d'autres fertilisants organiques, les communautés microbiennes étaient moins stimulées par les digestats dans 17 % des cas, notamment en ce qui concerne la biomasse et l'activité microbiennes.

Globalement, environ la moitié des résultats analysés ici indiquent un effet neutre des digestats sur la qualité microbiologique du sol quelle que soit la référence. Des effets négatifs ont toutefois été observés dans 7 % des cas, ce qui ne permet pas de conclure à l'absence de tout risque écologique pour les sols. De plus, la comparaison avec d'autres fertilisants organiques a fait apparaître un effet positif moindre des digestats sur les communautés microbiennes du sol dans 17 % des cas.

Figure 6 : Diagrammes résumant l'impact écologique global de l'apport de digestats sur la qualité microbiologique du sol en comparaison avec : a- un témoin sans apport ; b- un fertilisant minéral inorganique classique ; c- d'autres fertilisants organiques classiques. Cette synthèse englobe les résultats de 56 études mesurant 23 paramètres microbiens. Le nombre de résultats indiqué entre parenthèses correspond au nombre de comparaison des paramètres microbiens du sol entre les digestats et les groupes témoins. Les digestats présentent, dans l'ensemble, des effets neutres ou positifs par rapport aux 3 groupes témoins. Des effets négatifs ont néanmoins été constatés dans 7 % des résultats par rapport au témoin sans apport et dans 17 % des résultats par rapport aux autres fertilisants organiques.

Figure 6: Pie-charts summarizing the global ecological impact of digestates application on the soil microbiological quality in comparison with: a- fertilizer-free control; b- with a classical inorganic mineral fertilizer; c- other classical organic fertilizers. The results from 56 studies measuring 23 microbial parameters are summarized. The number of results indicated in parentheses correspond to the number of comparisons of any soil microbial parameters between the digestates and the controls. Digestate present globally neutral or positive effects compared to the 3 different controls. However, negative effects have been recorded for 7% of results compared to fertilizer-free control and for 17% of results compared to other organic fertilizers.



6. IMPACT DES CARACTÉRISTIQUES DES DIGESTATS SUR LA QUALITÉ MICROBIOLOGIQUE DU SOL

Caractéristiques étudiées dans la littérature

Dans la présente étude, nous avons relevé et classé par fréquence d'apparition toutes les questions relatives à l'impact des digestats sur la biodiversité microbienne du sol investiguées par la littérature scientifique à ce jour. Cela a permis d'identifier les questions déjà bien étudiées et celles nécessitant plus d'effort de recherche. Le corpus d'articles analysés a permis de distinguer 16 questions, caractérisées par différents niveaux d'étude (*Figure 12*). Six questions majeures ont été mises en évidence et ont fait l'objet d'une littérature scientifique non négligeable :

- i- la comparaison des matières organiques digérées et non digérées (18 articles)
- ii- la comparaison des digestats à d'autres produits organiques (15 articles)
- iii- l'effet du type d'intrant (14 articles)
- iv- l'effet de l'épandage des digestats, quelle que soit leur forme : bruts, liquides ou solides (11 articles)
- v- l'effet des doses de digestats (11 articles)
- vi- les effets différentiels des fractions liquides et solides des digestats (9 articles).

Les effets du processus de digestion, de la séparation des phases ou du processus de stabilisation sur la qualité microbienne du sol ont été peu étudiés jusque-là, voire pas du tout, de même que les effets du type de sol, de l'historique de fertilisation et des interactions avec d'autres pratiques agricoles.

Tous les résultats associés à chacune des grandes questions identifiées ont été analysés et synthétisés, puis présentés sur un diagramme en radar pour chaque question. Le groupe témoin sans apport, le plus fréquemment utilisé dans les études, a servi de niveau de référence pour les diagrammes. Pour permettre l'évaluation de la généralité des résultats, le nombre d'articles traitant la même combinaison [condition x paramètre microbienne] est également représenté sur les diagrammes.

Effet de l'apport de digestats

Neuf articles rapportent l'effet simple de l'apport de digestats, sans question plus précise (*Tableau 2*). Leurs résultats sont synthétisés dans la *figure 7*. Comme pour l'impact écologique global, la plupart des données montrent des effets positifs ou nuls des digestats sur les paramètres microbiens du sol par rapport au témoin sans apport, quels que soient les paramètres, le type et la fraction de digestats. Les digestats utilisés dans ces études sont principalement basés sur des matières végétales ou des effluents d'élevage, et les expériences ont été réalisées sur une courte durée. Comme illustré sur la *figure 7*, un apport de

digestat liquide d'origine animale induit une baisse de l'activité déshydrogénase comparé au témoin (Fernández-Delgado Juárez *et al.*, 2015).

D'une manière générale, l'apport de digestats a surtout eu un effet positif sur la qualité microbienne du sol, quels que soient la fraction et le type d'intrant. La plupart de ces résultats ont été obtenus pour un seul type de sol ou un faible nombre de types de sols. Il est nécessaire de les confirmer d'une part dans une plus grande variété de conditions pédoclimatiques et d'autre part dans le cadre d'études à long terme.

Effet de la fraction de digestat

L'effet de la fraction de digestat a été étudié dans 9 articles qui ont produit des résultats sur quelques paramètres microbiens seulement. Ces études comparent généralement les fractions solides et liquides, et seules quelques-unes incluent les matières brutes dans la comparaison. Principalement conduites sur de courtes durées (6 mois maximum), la plupart de ces expériences ont montré des effets positifs ou nuls sur les activités et l'abondance microbiennes par rapport au témoin sans apport. La comparaison des digestats bruts, de la fraction solide et de la fraction liquide n'a pas permis de mettre en évidence de différences importantes, quels que soient le paramètre microbien et le type d'intrant. Comme indiqué sur la *figure 8*, aucune donnée n'est à ce jour disponible quant à la réponse des paramètres de diversité microbienne (*Figure 8*).

Concernant l'abondance fongique et l'activité déshydrogénase, les résultats ne sont pas clairs. L'impact de la fraction de digestat sur l'abondance fongique a été évalué dans deux études (Barduca *et al.*, 2021 ; Panuccio *et al.*, 2021) qui ont donné des résultats contradictoires. La première étude a démontré que la fraction liquide et les digestats bruts réduisaient l'abondance fongique par rapport à la fraction solide et au témoin sans apport (Barduca *et al.*, 2021). La deuxième étude a, quant à elle, décrit une abondance fongique supérieure après apport de la fraction liquide par rapport à la fraction solide. Cette même étude a également montré que les deux fractions (solide et liquide) avaient un effet stimulant en comparaison du témoin sans apport (Pannuccio *et al.*, 2021). Cette différence de résultats n'est pas due au type de digestats, ces derniers ayant été obtenus dans les 2 cas à partir d'un mélange d'effluents d'élevage et de matières végétales (cultures ou herbe ensilées).

En ce qui concerne l'activité déshydrogénase, dans 2 études, il apparaît que la fraction liquide provenant de digestats d'origine animale a un effet plus stimulant que la fraction solide (Nielsen *et al.*, 2020 ; Panuccio *et al.*, 2021). Des résultats opposés ont été observés dans 2 cas où les intrants étaient des effluents d'élevage ou un mélange de d'effluent d'élevage et de végétaux (Muscolo *et al.*, 2017 ; Nielsen *et al.*, 2020). Ajouté à cela, 2 études n'ont montré aucune différence en ce qui concerne les effets induits par chaque fraction ; elles ont été réalisées

Figure 7 : Synthèse des résultats de la littérature scientifique concernant les effets de l'apport de digestats sur les paramètres microbiologiques d'abondance, de diversité et d'activité des sols : Biom mic = biomasse microbienne, Ab Mic = abondance microbienne, Ab Bac = abondance bactérienne, Ab Fon = abondance fongique, Ab Arch = abondance des archées, Div Bac = diversité bactérienne, Div Fon = diversité fongique, Div Arch = diversité des archées, Str Mic = structure de la communauté microbienne, Str Bac = structure de la communauté bactérienne, Str Fon = structure de la communauté fongique, Str Arch = structure de la communauté archées, qCO₂ = quotient métabolique, FDA = activité hydrolytique diacétate de fluorescéine, DHA = activité déshydrogénase, Ph Alk = activité phosphatase alcaline, Ph Acid = activité phosphatase acide, b-Gluc = activité bêta-glucosidase, Prot = activité protéase, Urease = activité uréase, Aryl-S = activité aryl-sulfatase, Cat = activité catalase, Div Metab = diversité métabolique. Le témoin sans apport est utilisé comme niveau de référence. Les cercles placés sur la ligne médiane en gras (signe =) signalent les résultats des études montrant des effets similaires entre digestat et groupe témoin. Les cercles placés au-dessus (ou en dessous) de cette ligne médiane correspondent aux résultats des études montrant un effet positif (ou négatif) des digestats par rapport au groupe témoin. Plus le cercle est proche du centre du diagramme, plus l'effet du digestat est négatif par rapport au groupe témoin. Plus le cercle est proche de la périphérie du diagramme, plus l'effet du digestat est positif par rapport au groupe témoin. La taille du cercle dépend de la généralité des résultats : plus le cercle est grand, plus le résultat est générique. La couleur indique le type d'intrant utilisé pour la production de digestat : jaune pour les effluents d'élevage, vert pour les matières végétales, gris pour les déchets. La synthèse de 9 articles indique que les digestats ont tendance à avoir un effet positif ou neutre sur l'abondance, la diversité et l'activité microbiennes.

Figure 7: Summary of academic literature results about the effect of digestates application on the microbiological parameters of abundance, diversity and activity in soils : Mic Biom = Microbial biomass, Mic Ab = Microbial abundance, Bac Ab = Bacterial abundance, Fun Ab = Fungal abundance, Arch Ab = Archaeal abundance, Bac Div = Bacterial diversity, Fun Div = Fungal diversity, Arch Div = Archaeal diversity, Mic Str = Microbial community structure, Bac Str = Bacterial community structure, Fun Str = Fungal community structure, Arch Str = Archaeal community structure, qCO₂ = Metabolic quotient, FDA = Fluorescein Diacetate hydrolytic Activity, DHA = Dehydrogenase activity, Alk Ph = Alkaline phosphatase activity, Acid Ph = Acid phosphatase activity, b-Gluc = Beta-glucosidase activity, Prot = Protease activity, Urease = Urease activity, Cat = Catalase activity, Metab Div = Metabolic diversity). The reference is the fertilizer-free control. The results of the studies showing similar effects between digestate and control are indicated by circles on the median bold line (= sign). Circles placed above (or below) the median bold line indicate the results of the studies showing a positive (or negative) effect of digestate compared with the control. The closer the circle is to the center of the diagram, more negative the effect of the digestate is compared to the control. The closer the circle is to the periphery of the diagram, more positive the effect of the digestate is compared to the control. The circle size is related to the genericity of the results: greater the circle, more generic the result. The color indicates the feedstock type used for digestate production: yellow for animal manure, green for vegetal matter and grey for waste. Synthesis from 9 references shows that digestates tends to have a positive or neutral effect on microbial abundance, diversity and activity.

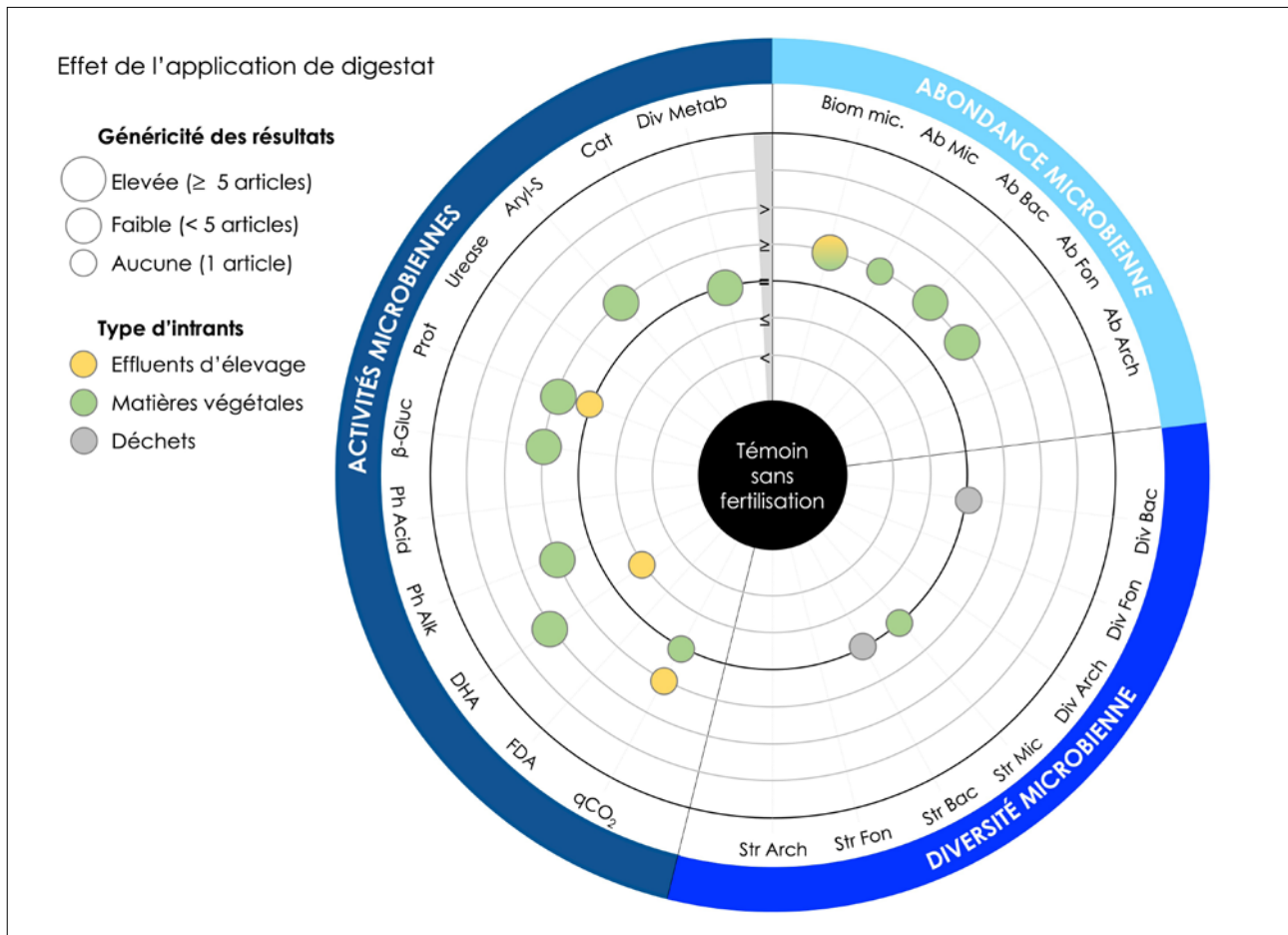


Figure 8 : Synthèse des résultats de la littérature scientifique concernant les effets de la fraction de digestat sur les paramètres microbiologiques d'abondance, de diversité et d'activité des sols : Biom mic = biomasse microbienne, Ab Mic = abondance microbienne, Ab Bac = abondance bactérienne, Ab Fon = abondance fongique, Ab Arch = abondance des archées, Div Bac = diversité bactérienne, Div Fon = diversité fongique, Div Arch = diversité des archées, Str Mic = structure de la communauté microbienne, Str Bac = structure de la communauté bactérienne, Str Fon = structure de la communauté fongique, Str Arch = structure de la communauté archées, qCO₂ = quotient métabolique, FDA = activité hydrolytique diacétate de fluorescéine, DHA = activité déshydrogénase, Ph Alk = activité phosphatase alcaline, Ph Acid = activité phosphatase acide, β-Gluc = activité bêta-glucosidase, Prot = activité protéase, Urease = activité uréase, Aryl-S = activité aryl-sulfatase, Cat = activité catalase, Div Metab = diversité métabolique. Le témoin sans apport est utilisé comme niveau de référence. Les cercles placés sur la ligne médiane en gras (signe =) signalent les résultats des études montrant des effets similaires entre digestat et groupe témoin. Les cercles placés au-dessus (ou en dessous) de cette ligne médiane correspondent aux résultats des études montrant un effet positif (ou négatif) des digestats par rapport au groupe témoin. Plus le cercle est proche du centre du diagramme, plus l'effet du digestat est négatif par rapport au groupe témoin. Plus le cercle est proche de la périphérie du diagramme, plus l'effet du digestat est positif par rapport au groupe témoin. La taille du cercle dépend de la généralité des résultats : plus le cercle est grand, plus le résultat est générique. La lettre contenue dans le cercle indique la fraction de digestat apportée au sol : L pour la fraction liquide, S pour la fraction solide, B pour le digestat brut. La synthèse de 9 articles n'a pas permis de mettre en évidence une différence significative d'impact entre les digestats solides, liquides et bruts sur l'abondance et l'activité microbiennes. Aucune donnée n'a été trouvée concernant la diversité microbienne.

Figure 8: Summary of academic literature results about the effect of the digestate fraction applied on the microbiological parameters of abundance, diversity and activity in soils : Mic Biom = Microbial biomass, Mic Ab = Microbial abundance, Bac Ab = Bacterial abundance, Fun Ab = Fungal abundance, Arch Ab = Archaeal abundance, Bac Div = Bacterial diversity, Fun Div = Fungal diversity, Arch Div = Archaeal diversity, Mic Str = Microbial community structure, Bac Str = Bacterial community structure, Fun Str = Fungal community structure, Arch Str = Archaeal community structure, qCO₂ = Metabolic quotient, FDA = Fluorescein Diacetate hydrolytic Activity, DHA = Dehydrogenase activity, Alk Ph = Alkaline phosphatase activity, Acid Ph = Acid phosphatase activity, b-Gluc = Beta-glucosidase activity, Prot = Protease activity, Urease = Urease activity, Cat = Catalase activity, Metab Div = Metabolic diversity). The reference is the fertilizer-free control. The results of the studies showing similar effects between digestate and control are indicated by circles on the median bold line (= sign). Circles placed above (or below) the median bold line indicate the results of the studies showing a positive (or negative) effect of digestate compared with the control. The closer the circle is to the center of the diagram, more negative the effect of the digestate is compared to the control. The closer the circle is to the periphery of the diagram, more positive the effect of the digestate is compared to the control. The circle size is related to the genericity of the results: greater the circle, more generic the result. The letter in the circle indicates the fraction of digestate applied on the soil: L for liquid fraction, S for solid fraction, B for the raw digestate. Synthesis from 9 references did not evidence a significant difference between the impact of solid, liquid and raw digestates on microbial abundance and activity. No data was found about the microbial diversity.

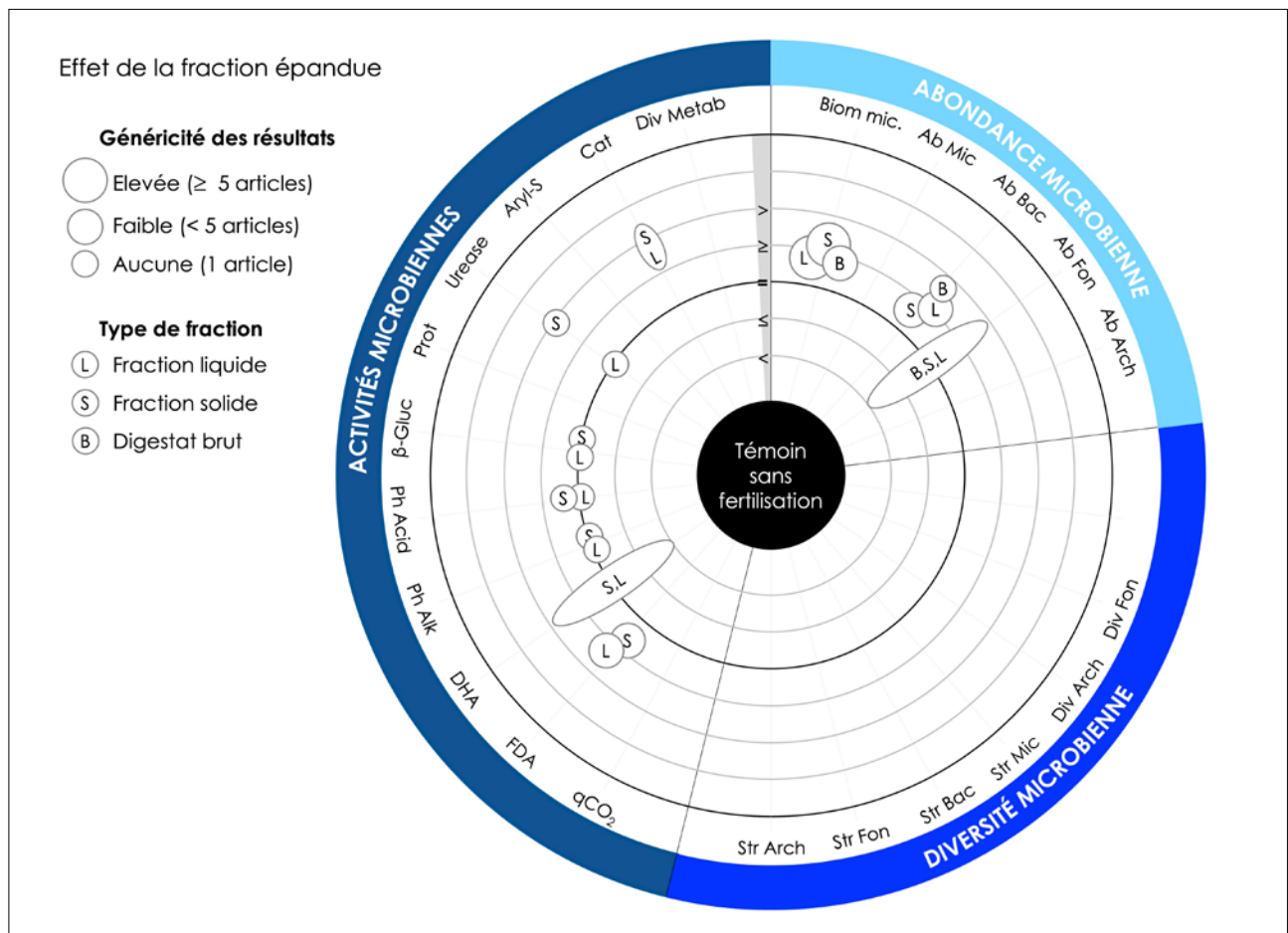
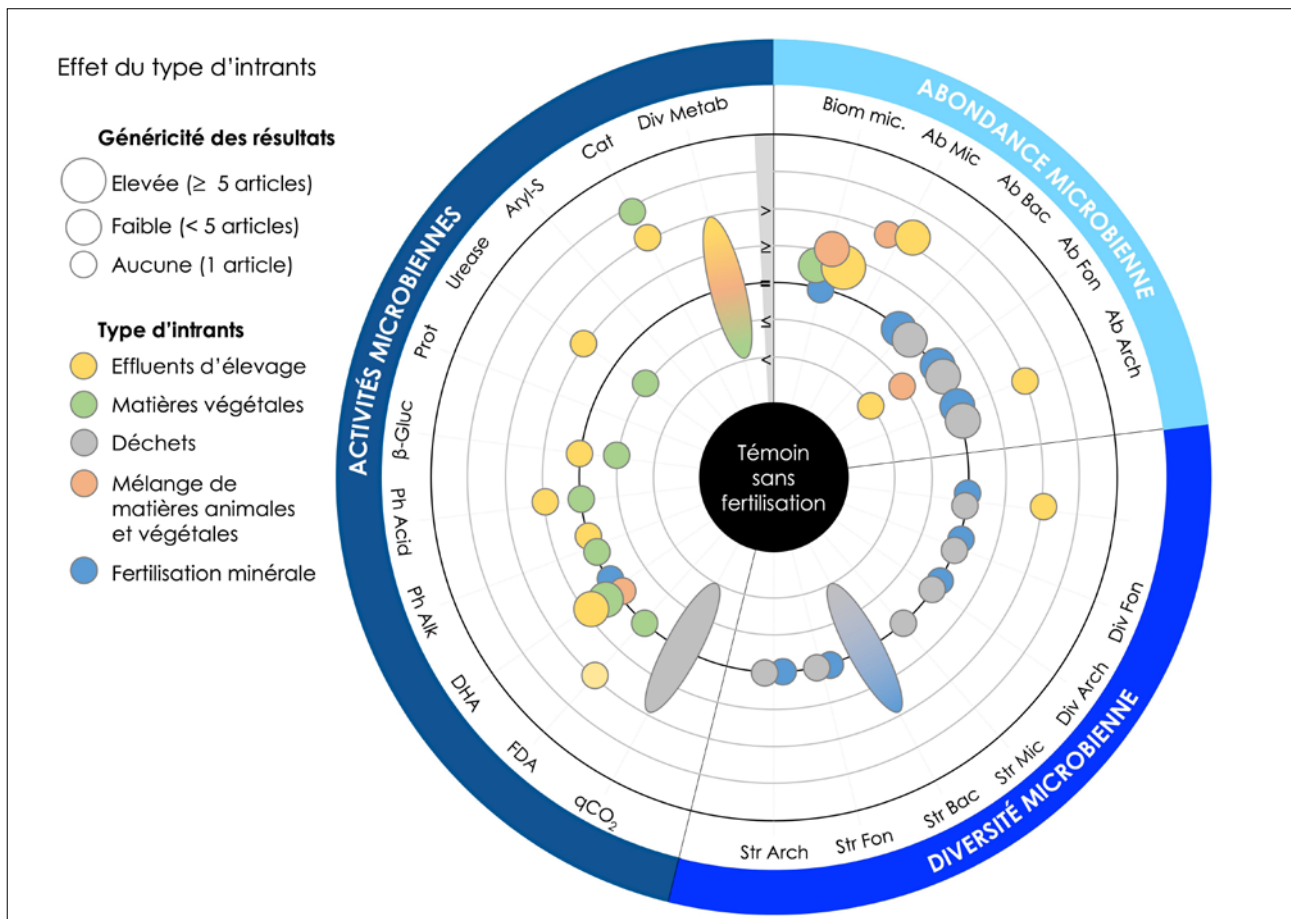


Figure 9 : Synthèse des résultats de la littérature scientifique concernant les effets du type d'intrant sur les paramètres microbiologiques d'abondance, de diversité et d'activité des sols : Biom mic = biomasse microbienne, Ab Mic = abondance microbienne, Ab Bac = abondance bactérienne, Ab Fon = abondance fongique, Ab Arch = abondance des archées, Div Bac = diversité bactérienne, Div Fon = diversité fongique, Div Arch = diversité des archées, Str Mic = structure de la communauté microbienne, Str Bac = structure de la communauté bactérienne, Str Fon = structure de la communauté fongique, Str Arch = structure de la communauté archées, qCO₂ = quotient métabolique, FDA = activité hydrolytique diacétate de fluorescéine, DHA = activité déshydrogénase, Ph Alk = activité phosphatase alcaline, Ph Acid = activité phosphatase acide, b-Gluc = activité bêta-glucosidase, Prot = activité protéase, Urease = activité uréase, Aryl-S = activité aryl-sulfatase, Cat = activité catalase, Div Metab = diversité métabolique. Le témoin sans apport est utilisé comme niveau de référence. Les cercles placés sur la ligne médiane en gras (signe =) signalent les résultats des études montrant des effets similaires entre digestat et groupe témoin. Les cercles placés au-dessus (ou en dessous) de cette ligne médiane correspondent aux résultats des études montrant un effet positif (ou négatif) des digestats par rapport au groupe témoin. Plus le cercle est proche du centre du diagramme, plus l'effet du digestat est négatif par rapport au groupe témoin. Plus le cercle est proche de la périphérie du diagramme, plus l'effet du digestat est positif par rapport au groupe témoin. La couleur du cercle indique le type d'intrant utilisé pour la production de digestat : jaune pour les effluents d'élevage, vert pour les matières végétales, gris pour les déchets et orange pour le mélange de matières animales et végétales. La couleur bleue désigne un témoin avec fertilisant minéral. La taille du cercle dépend de la généralité des résultats : plus le cercle est grand, plus le résultat est générique. La synthèse de 14 articles ne permet pas de mettre en évidence une différence systématique en matière d'impact du type d'intrant sur les paramètres microbiologiques. Les impacts sont variables d'un paramètre à l'autre et sont généralement rapportés par une seule étude.

Figure 9: Summary of academic literature results about the effect of the feedstock type on the microbiological parameters of abundance, diversity and activity in soils : Mic Biom = Microbial biomass, Mic Ab = Microbial abundance, Bac Ab = Bacterial abundance, Fun Ab = Fungal abundance, Arch Ab = Archaeal abundance, Bac Div = Bacterial diversity, Fun Div = Fungal diversity, Arch Div = Archaeal diversity, Mic Str = Microbial community structure, Bac Str = Bacterial community structure, Fun Str = Fungal community structure, Arch Str = Archaeal community structure, qCO₂ = Metabolic quotient, FDA = Fluorescein Diacetate hydrolytic Activity, DHA = Dehydrogenase activity, Alk Ph = Alkaline phosphatase activity, Acid Ph = Acid phosphatase activity, b-Gluc = Beta-glucosidase activity, Prot = Protease activity, Urease = Urease activity, Cat = Catalase activity, Metab Div = Metabolic diversity). The reference is the fertilizer-free control. The results of the studies showing similar effects between digestate and control are indicated by circles on the median bold line (= sign). Circles placed above (or below) the median bold line indicate the results of the studies showing a positive (or negative) effect of digestate compared with the control. The closer the circle is to the center of the diagram, more negative the effect of the digestate is compared to the control. The closer the circle is to the periphery of the diagram, more positive the effect of the digestate is compared to the control. The circle size is related to the genericity of the results: greater the circle, more generic the result. The circle color indicates the feedstock type used for digestate production: yellow for animal manure, green for vegetal matter, grey for waste and orange for mix between animal and vegetal matter. The blue color indicates a mineral fertilizer control. Synthesis from 14 references does not evidence a systematic difference in the impact of feedstock type on the microbiological parameters. The impacts, which are different from one parameter to another, were generally reported by only one reference.



respectivement sur des digestats à base d'olives et d'effluents d'élevage (Muscolo *et al.*, 2017; Valentinuzzi *et al.*, 2020). Les divers résultats relatifs à l'abondance fongique et à l'activité déshydrogénase ont démontré qu'aucune tendance générale ne se dégage quant à l'effet de la fraction du digestat sur ces deux paramètres microbiens.

Dans l'ensemble, aucune différence forte n'a été observée au niveau de la qualité microbiologique du sol entre les fractions solide et liquide des digestats. Des données complémentaires, notamment concernant la diversité microbienne, sont donc nécessaires pour établir des conclusions fiables et objectives.

Effet du type d'intrant

Des résultats relatifs à l'effet du type d'intrant ont été rapportés par 14 articles mesurant un large éventail de paramètres microbiens à court ou moyen terme, c'est-à-dire sur 6 ou moins et jusqu'à 18 mois maximum. La *figure 9* montre qu'à l'exception de l'abondance fongique et de l'abondance archéenne, les autres paramètres d'abondance microbienne ne sont pas affectés par le type d'intrants. Parmi les paramètres de diversité microbienne, seules la diversité et la structure de la communauté bactérienne sont sensibles au type d'intrant. Les activités microbiennes sont plus fortement impactées, avec 7 paramètres sensibles au type d'intrant : le quotient métabolique, l'activité hydrolytique du diacétate de fluorescéine, l'activité phosphatase acide, l'activité bêta-glucosidase, l'activité uréase, l'activité catalase et la diversité métabolique.

L'analyse de l'ensemble des résultats n'a pas permis d'identifier un type d'intrant spécifiquement néfaste ou favorable à l'ensemble des paramètres microbiens. Les effluents d'élevage produisent des digestats stimulant l'activité hydrolytique du diacétate de fluorescéine, l'activité uréase et la diversité bactérienne, mais ont un impact négatif sur l'abondance fongique par rapport aux intrants mixtes ou à base de déchets (Barra Caracciolo *et al.*, 2015; Wentzel et Joergensen 2016; Muscolo *et al.*, 2017; Coelho *et al.*, 2019, 2020; Pagiaccia *et al.*, 2020). Les digestats issus de matières végétales réduisent l'activité hydrolytique du diacétate de fluorescéine et les activités phosphatase acide, bêta-glucosidase et uréase comparés aux digestats d'effluents d'élevage (Muscolo *et al.*, 2017). À l'inverse, ils semblent stimuler l'activité catalase plus fortement (Muscolo *et al.*, 2017). En ce qui concerne les digestats basés sur des déchets, différents digestats ont montré des résultats similaires au témoin sans apport pour la plupart des paramètres microbiens à l'exception du quotient métabolique sur lequel les effets étaient hautement variables en fonction du déchet (Manfredini *et al.*, 2021).

Dans l'ensemble, il est difficile de mettre en avant un effet fort du type d'intrant sur la qualité microbiologique du sol en raison du manque de généralité des résultats pour certains paramètres microbiens. Les connaissances disponibles suggèrent que les différentes compositions des digestats peuvent induire des

réponses microbiologiques du sol différentes, mais aucune tendance ne peut être dégagée quant aux effets spécifiques des types d'intrants.

Effet de la dose de digestat

L'effet dose des digestats a été étudié dans 11 articles et mesuré à court ou moyen terme, soit jusqu'à 18 mois, sur la quasi-totalité des paramètres microbiens, à l'exception des communautés archées et de l'activité arylsulfatase. Les résultats ont montré que l'effet dose était plus souvent étudié sur la fraction solide que sur la fraction liquide et le digestat brut. Lorsqu'un effet dose est observé, c'est généralement la dose supérieure qui stimule les paramètres microbiens : abondance microbienne, activité hydrolytique du diacétate de fluorescéine, activité déshydrogénase, activité phosphatase alcaline. Dans certains cas, la dose la plus élevée est moins stimulante que les doses inférieures, suggérant l'existence d'une dose optimale, *a minima* pour la diversité bactérienne, l'activité phosphatase acide, l'activité bêta-glucosidase, l'activité uréase et l'activité catalase (Barra Caracciolo *et al.*, 2015; Muscolo *et al.*, 2017; Telesiński *et al.*, 2017; Rózyło & Bohacz, 2020). Enfin, seules deux études ont démontré un effet négatif d'une augmentation de la dose de digestat, comparé à un témoin sans apport. L'activité phosphatase acide a baissé en augmentant la dose d'un digestat mélangeant intrants animaux et végétaux, 56 jours après apport (Telesiński *et al.*, 2017). Un effet similaire a été observé sur l'activité uréase et bêta-glucosidase 3 mois après l'utilisation d'un digestat à base d'olives (Muscolo *et al.*, 2017).

Ainsi les effets dose peuvent être strictement positifs ou présenter un optimum, ce qui peut s'expliquer par la variabilité des doses testées dans les études. Selon l'étude, les doses sont sélectionnées en fonction de l'équivalence de la teneur en azote minéral, de la teneur en carbone, de la quantité massique ou du volume des digestats, ce qui complique toute comparaison de l'impact des doses testées entre études.

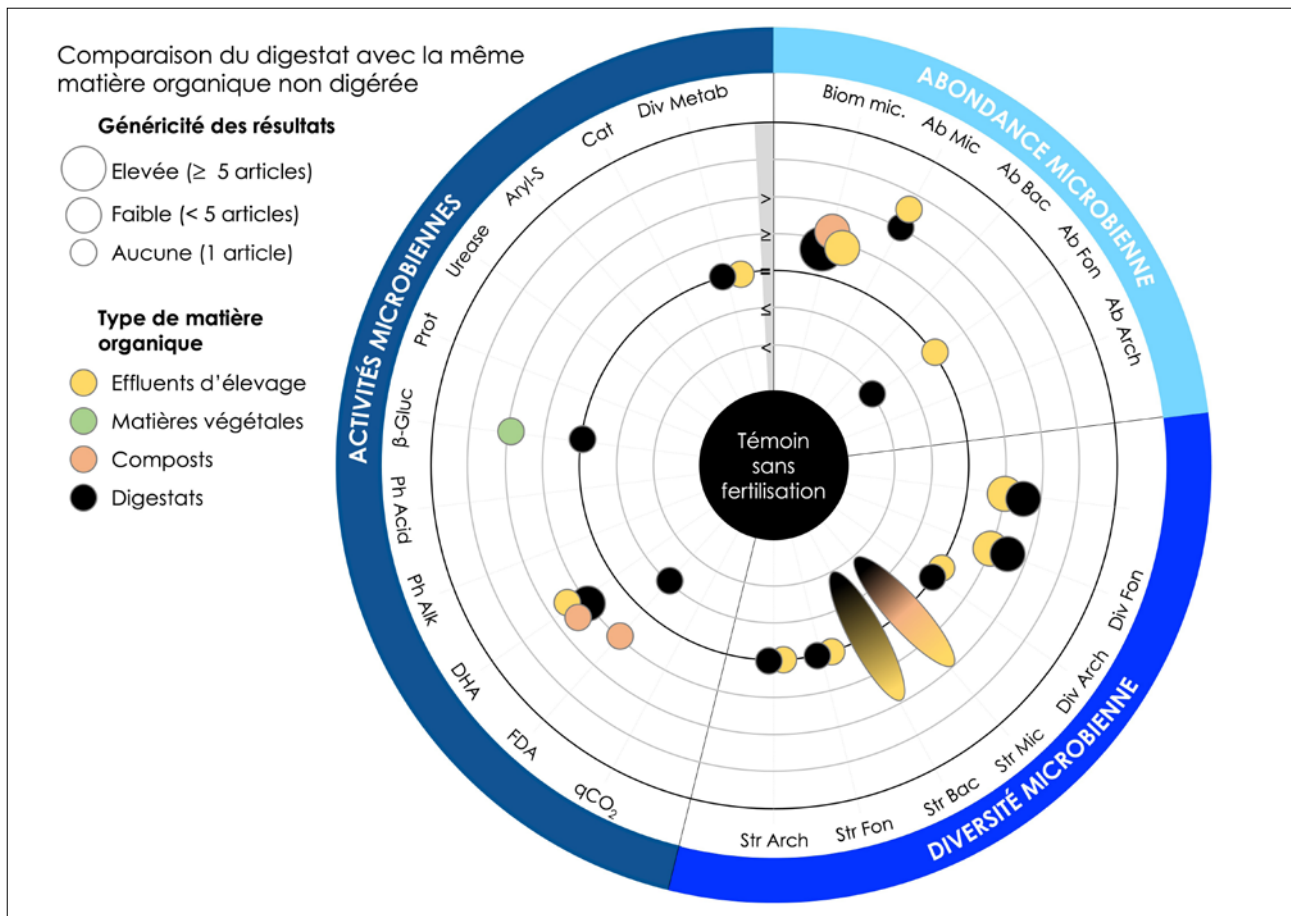
Un effet général positif ou neutre d'une augmentation de la dose de digestat a souvent été identifié sur la qualité microbiologique du sol, quel que soit le type de digestat. En revanche, l'effet sur certains paramètres microbiologiques est moins bénéfique à doses trop élevées, ce qui met en évidence l'existence d'un optimum. Ce résultat soulève la question des effets à long terme induits par l'accumulation répétée de digestats dans le sol et des risques associés pour les communautés microbiennes.

Comparaison du digestat avec les matières organiques non digérées

La *figure 10* compare l'apport de matières organiques digérées en anaérobiose avec l'apport de la même matière organique sous une autre forme, comme le fumier brut, les engrais verts, les résidus végétaux, le compost et le biochar. Cette question a été étudiée

Figure 10 : synthèse des résultats de la littérature scientifique au sujet de la comparaison des effets des matières organiques digérées et non digérées sur les paramètres microbiologiques d'abondance, de diversité et d'activité des sols : Biom mic = biomasse microbienne, Ab Mic = abondance microbienne, Ab Bac = abondance bactérienne, Ab Fon = abondance fongique, Ab Arch = abondance des archées, Div Bac = diversité bactérienne, Div Fon = diversité fongique, Div Arch = diversité des archées, Str Mic = structure de la communauté microbienne, Str Bac = structure de la communauté bactérienne, Str Fon = structure de la communauté fongique, Str Arch = structure de la communauté archées, qCO₂ = quotient métabolique, FDA = activité hydrolytique diacétate de fluoescéine, DHA = activité déshydrogénase, Ph Alk = activité phosphatase alcaline, Ph Acid = activité phosphatase acide, β-Gluc = activité bêta-glucosidase, Prot = activité protéase, Urease = activité uréase, Aryl-S = activité aryl-sulfatase, Cat = activité catalase, Div Metab = diversité métabolique. Le témoin sans apport est utilisé comme niveau de référence. Les cercles placés sur la ligne médiane en gras (signe =) signalent les résultats des études montrant des effets similaires entre digestat et groupe témoin. Les cercles placés au-dessus (ou en dessous) de cette ligne médiane correspondent aux résultats des études montrant un effet positif (ou négatif) des digestats par rapport au groupe témoin. Plus le cercle est proche du centre du diagramme, plus l'effet du digestat est négatif par rapport au groupe témoin. Plus le cercle est proche de la périphérie du diagramme, plus l'effet du digestat est positif par rapport au groupe témoin. La couleur du cercle indique le type de matière organique appliqué : jaune pour les effluents d'élevage, vert pour les matières végétales, orange pour le compost et noir pour les digestats. Le digestat est systématiquement composé des mêmes intrants que les matières organiques non digérées utilisées. La taille du cercle dépend de la généralité des résultats : plus le cercle est grand, plus le résultat est générique. La synthèse de 16 articles montre que le digestat a un effet négatif ou un effet moins positif par rapport à la matière organique non digérée sur l'abondance fongique, l'activité hydrolytique du diacétate de fluoescéine et l'activité bêta-glucosidase. Les autres paramètres microbiologiques sont moins impactés par la forme de la matière organique apportée aux sols.

Figure 10: Summary of academic literature results about the comparison of the effects of digested and undigested organic matters on the microbiological parameters of abundance, diversity and activity in soils : Mic Biom = Microbial biomass, Mic Ab = Microbial abundance, Bac Ab = Bacterial abundance, Fun Ab = Fungal abundance, Arch Ab = Archaeal abundance, Bac Div = Bacterial diversity, Fun Div = Fungal diversity, Arch Div = Archaeal diversity, Mic Str = Microbial community structure, Bac Str = Bacterial community structure, Fun Str = Fungal community structure, Arch Str = Archaeal community structure, qCO₂ = Metabolic quotient, FDA = Fluorescein Diacetate hydrolytic Activity, DHA = Dehydrogenase activity, Alk Ph = Alkaline phosphatase activity, Acid Ph = Acid phosphatase activity, β-Gluc = Beta-glucosidase activity, Prot = Protease activity, Urease = Urease activity, Cat = Catalase activity, Metab Div = Metabolic diversity). The reference is the fertilizer-free control. The results of the studies showing similar effects between digestate and control are indicated by circles on the median bold line (= sign). Circles placed above (or below) the median bold line indicate the results of the studies showing a positive (or negative) effect of digestate compared with the control. The closer the circle is to the center of the diagram, more negative the effect of the digestate is compared to the control. The closer the circle is to the periphery of the diagram, more positive the effect of the digestate is compared to the control. The circle size is related to the genericity of the results: greater the circle, more generic the result. The circle color indicates the organic matter type applied: yellow for animal manure, green for vegetal matter, orange for compost and black for digestates. The digestate is systematically composed of the same feedstock than the undigested organic matter applied. Synthesis from 16 references shows that digestate has negative effect, or lower positive effect, compared with the undigested organic matter on fungal abundance, fluorescein diacetate hydrolytic activity and beta-glucosidase activity. Other parameters are less impacted by the form of the organic matter applied on soils.



dans 18 articles et les effets ont principalement été mesurés à court terme sur les paramètres de biomasse microbienne et de diversité microbienne. Par rapport aux sols non fertilisés et à d'autres types de matières organiques, les digestats diminuent l'abondance fongique et l'activité hydrolytique du diacétate de fluorescéine du sol (Wentzel et Joergensen, 2016; Muscolo *et al.*, 2019). L'activité bêta-glucosidase est par ailleurs moins stimulée par les digestats que par les résidus végétaux bruts, mais sans pour autant avoir un impact néfaste (Chen *et al.*, 2012): En revanche, pour de nombreux paramètres microbiens, les digestats semblent avoir des effets proches de ceux d'autres types de matières; c'est le cas pour la biomasse microbienne, l'abondance microbienne, la diversité bactérienne, fongique et archée, la structure des communautés fongiques et archées, l'activité déshydrogénase et la diversité métabolique (de la Fuente *et al.*, 2013; Fernández-Delgado Juárez *et al.*, 2013; Johansen *et al.*, 2013; Pezzolla *et al.*, 2013; Wentzel et Joergensen 2016; Viaene *et al.*, 2017; Wolters *et al.*, 2018; Muscolo *et al.*, 2019; Podmirseg *et al.*, 2019; Monard *et al.*, 2020; Nielsen *et al.*, 2020). Aucune étude n'a démontré un effet stimulant supérieur des digestats par rapport aux autres types de matières organiques sur un quelconque paramètre microbien du sol.

Dans l'ensemble, les matières organiques ayant subi une digestion anaérobie ont un effet similaire à celui des matières organiques non digérées sur la qualité microbiologique du sol. Toutefois, plusieurs effets négatifs ont également été observés sur quelques paramètres microbiens essentiels qui régulent le fonctionnement biologique du sol, à savoir l'abondance fongique et l'activité microbienne globale.

Comparaison des digestats avec d'autres fertilisants organiques

Dans les exploitations agricoles, les digestats peuvent être utilisés en substitution d'autres types de fertilisants organiques. En conséquence, une comparaison entre les digestats et d'autres types de fertilisants organiques ou minéraux est nécessaire afin d'évaluer l'impact du changement de pratique de fertilisation sur la qualité microbiologique du sol. Quinze articles comparent les digestats avec du fumier, de l'engrais vert fabriqué à partir de résidus végétaux, du compost, du biochar et des engrais minéraux. La plupart des paramètres microbiens ont été analysés, à l'exception de l'abondance microbienne, de l'activité phosphatase acide et de l'activité arylsulfatase. Les mesures ont été réalisées sur les court, moyen et long termes lors d'expériences en microcosme et sur le terrain.

La *figure 11* souligne peu d'effets nocifs significatifs des digestats par rapport au témoin non fertilisé. Globalement, les digestats ont un effet bénéfique sur les paramètres d'abondance microbienne par rapport aux engrais minéraux, et un effet similaire aux différents types de fertilisants organiques. Plus

précisément, les digestats ont un effet positif similaire à celui d'autres fertilisants organiques sur la biomasse microbienne, à l'exception du biochar dont l'effet est nul (Ernst *et al.*, 2008; Odlare *et al.*, 2008; Albuquerque *et al.*, 2012; Šimon *et al.*, 2015; Bhogal *et al.*, 2018; Cardelli *et al.*, 2018; Gebremikael *et al.*, 2020; Manasa *et al.*, 2020a; Valentinuzzi *et al.*, 2020). Les digestats ont un effet similaire ou supérieur au fumier de ferme et au compost sur l'abondance bactérienne, fongique et archée (Walsh *et al.*, 2012; Brenzinger *et al.*, 2018; Siebielec *et al.*, 2018; Coelho *et al.*, 2019, 2020). En revanche, les matières organiques végétales brutes ont un effet plus stimulant que les digestats sur la biomasse microbienne, l'abondance bactérienne et l'abondance fongique (Brenzinger *et al.*, 2018; Gebremikael *et al.*, 2020).

Les paramètres de diversité microbienne sont peu influencés par le type de fertilisation (un fertilisant minéral et plusieurs fertilisants organiques différents ont été testés) (Coelho *et al.*, 2020; Gebremikael *et al.*, 2020). Seule la structure de la communauté bactérienne varie selon le sol et le type d'apport (digestats versus résidus de premières distillations de distilleries de whisky versus témoin sans apport, Ramezani *et al.*, 2015). Enfin, les paramètres d'activité microbienne ont montré des résultats similaires quel que soit le type de fertilisation, à l'exception de la diversité métabolique (Ernst *et al.*, 2008; Albuquerque *et al.*, 2012; Ramezani *et al.*, 2015; Cardelli *et al.*, 2018; Siebielec *et al.*, 2018; Gebremikael *et al.*, 2020; Gryta *et al.*, 2020; Manasa *et al.*, 2020b; Valentinuzzi *et al.*, 2020).

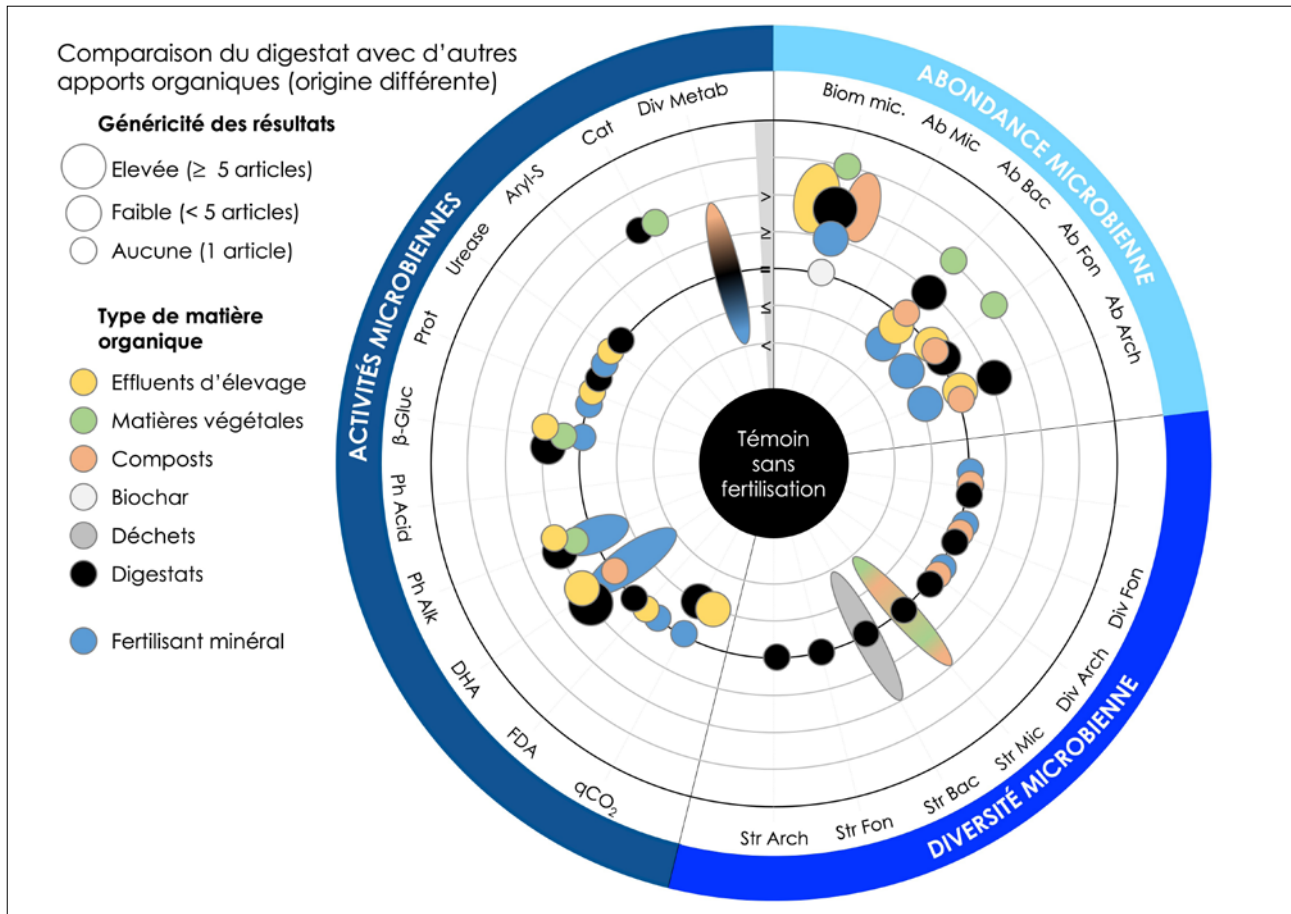
Dans l'ensemble, les effets des digestats comparés aux autres fertilisants sont variables et dépendent des paramètres microbiens du sol. L'effet stimulant des digestats est soit plus élevé soit plus faible que celui d'autres fertilisants organiques sur la biomasse microbienne et l'abondance microbienne. Ces conclusions doivent être considérées avec prudence car chaque résultat reste peu générique en raison de la faible diversité des types de sols étudiés. En effet, des études précédentes relatives à l'impact de divers fertilisants organiques sur un large éventail de types de sols ont démontré que des produits similaires peuvent avoir des effets différents en fonction du type de sol (Sadet-Bourgeteau *et al.*, 2019).

7. VUE D'ENSEMBLE DE L'IMPACT DES DIGESTATS SUR LA QUALITÉ MICROBIOLOGIQUE DU SOL

Nous avons évalué l'impact écologique global des digestats de méthanisation sur la qualité microbiologique du sol en répertoriant le nombre d'effets positifs, négatifs et neutres sur 23 paramètres microbiens trouvés dans 56 articles traitant du sujet. Basée sur 146 comparaisons expérimentales entre un apport de digestats sur des sols et l'absence de tout type d'apport,

Figure 11 : Synthèse des résultats de la littérature scientifique concernant la comparaison des effets des digestats avec d'autres fertilisants organiques sur les paramètres microbiologiques d'abondance, de diversité et d'activité des sols : Biom mic = biomasse microbienne, Ab Mic = abondance microbienne, Ab Bac = abondance bactérienne, Ab Fon = abondance fongique, Ab Arch = abondance des archées, Div Bac = diversité bactérienne, Div Fon = diversité fongique, Div Arch = diversité des archées, Str Mic = structure de la communauté microbienne, Str Bac = structure de la communauté bactérienne, Str Fon = structure de la communauté fongique, Str Arch = structure de la communauté archées, qCO₂ = quotient métabolique, FDA = activité hydrolytique diacétate de fluorescéine, DHA = activité déshydrogénase, Ph Alk = activité phosphatase alcaline, Ph Acid = activité phosphatase acide, β-Gluc = activité bêta-glucosidase, Prot = activité protéase, Urease = activité uréase, Aryl-S = activité aryl-sulfatase, Cat = activité catalase, Div Metab = diversité métabolique. Le témoin sans apport est utilisé comme niveau de référence. Les cercles placés sur la ligne médiane en gras (signe =) signalent les résultats des études montrant des effets similaires entre digestat et groupe témoin. Les cercles placés au-dessus (ou en dessous) de cette ligne médiane correspondent aux résultats des études montrant un effet positif (ou négatif) des digestats par rapport au groupe témoin. Plus le cercle est proche du centre du diagramme, plus l'effet du digestat est négatif par rapport au groupe témoin. Plus le cercle est proche de la périphérie du diagramme, plus l'effet du digestat est positif par rapport au groupe témoin. La couleur du cercle indique le type de fertilisant organique appliqué : jaune pour les effluents d'élevage, vert pour les matières végétales, orange pour le compost, gris clair pour le biochar, gris foncé pour les déchets et noir pour les digestats. Les intrants composant le digestat diffèrent des matières organiques non digérées utilisées. La taille du cercle dépend de la généralité des résultats : plus le cercle est grand, plus le résultat est générique. La synthèse de 17 références indique que les digestats ont généralement un effet similaire aux autres fertilisants organiques sur l'abondance, la diversité et l'activité microbiennes.

Figure 11: Summary of academic literature results about the comparison of the effects of digestate with other organic fertilizers on the microbiological parameters of abundance, diversity and activity in soils : Mic Biom = Microbial biomass, Mic Ab = Microbial abundance, Bac Ab = Bacterial abundance, Fun Ab = Fungal abundance, Arch Ab = Archaeal abundance, Bac Div = Bacterial diversity, Fun Div = Fungal diversity, Arch Div = Archaeal diversity, Mic Str = Microbial community structure, Bac Str = Bacterial community structure, Fun Str = Fungal community structure, Arch Str = Archaeal community structure, qCO₂ = Metabolic quotient, FDA = Fluorescein Diacetate hydrolytic Activity, DHA = Dehydrogenase activity, Alk Ph = Alkaline phosphatase activity, Acid Ph = Acid phosphatase activity, β-Gluc = Beta-glucosidase activity, Prot = Protease activity, Urease = Urease activity, Cat = Catalase activity, Metab Div = Metabolic diversity). The reference is the fertilizer-free control. The results of the studies showing similar effects between digestate and control are indicated by circles on the median bold line (= sign). Circles placed above (or below) the median bold line indicate the results of the studies showing a positive (or negative) effect of digestate compared with the control. The closer the circle is to the center of the diagram, more negative the effect of the digestate is compared to the control. The closer the circle is to the periphery of the diagram, more positive the effect of the digestate is compared to the control. The circle size is related to the genericity of the results: greater the circle, more generic the result. The circle color indicates the organic fertilizer type: yellow for animal manure, green for vegetal matter, orange for compost, light grey for biochar, dark grey for waste, black for digestates. The mineral fertilizer control is in blue. The synthesis from 17 references shows that the digestates have currently a similar effect on the microbial abundance, diversity and activity than other organic fertilizers.



cette méta-analyse met en évidence un impact écologique global sur les microorganismes du sol dans un faible nombre de cas. La plupart des études ont montré des effets neutres ou positifs (Figure 6a), alors que 7 % des résultats montrent une altération des paramètres microbiens, ce qui indique qu'il existe un risque faible mais significatif lié à l'apport de digestats sur les communautés microbiennes du sol. Il est par conséquent nécessaire de mener de nouvelles études visant à mieux comprendre les conditions de sol, climatiques et d'apport de digestats propices à ce risque.

Pour compléter cette évaluation, il était nécessaire de déterminer si les intrants qui ont subi une digestion anaérobie ont un effet similaire aux mêmes intrants non digérés, sur la qualité microbiologique du sol. Notre méta-analyse a démontré que les deux types d'apport ont le même impact sur plusieurs paramètres de la communauté microbienne. En revanche, l'abondance fongique et l'activité microbienne générale, mesurée par l'activité hydrolytique du diacétate de fluorescéine et l'activité bêta-glucosidase, sont moins stimulées, voire inhibées, lors de l'apport de digestats par rapport à l'apport des matières non-digérées. Cela suggère que le processus de digestion anaérobie génère une matière organique moins bénéfique aux communautés microbiennes du sol et à la régulation du fonctionnement biologique du sol. Cette conclusion demande à être confirmée en mesurant d'autres indicateurs environnementaux comme les nématodes ou la faune du sol, la séquestration du carbone dans le sol, le taux d'azote du sol ou les contaminants concentrés pendant le processus de digestion.

Pour les agriculteurs, l'apport de digestats issus d'une unité de méthanisation locale peut représenter une alternative à l'utilisation d'autres fertilisants commerciaux, qu'ils soient minéraux ou organiques. Dans ce cas, la digestion des intrants n'est pas le seul changement, mais le type et l'origine des matières organiques (animales, végétales, déchets, mélange et autres) peut également varier. La méta-analyse n'a montré aucune différence significative en matière de qualité microbiologique du sol entre l'apport de digestats et l'utilisation d'autres fertilisants dans la moitié des cas. La comparaison des digestats avec des fertilisants minéraux a montré que seuls 28 % des effets sont différents, avec presque systématiquement une plus forte stimulation des micro-organismes. Lorsque les digestats sont comparés à d'autres fertilisants organiques, les communautés microbiennes sont plus stimulées dans 26 % des cas et moins stimulées dans 17 % des cas.

Ces effets étaient essentiellement observés sur les paramètres d'abondance microbienne, à savoir la biomasse microbienne, l'abondance bactérienne, l'abondance fongique, l'abondance archéenne, alors que peu d'études fournissent des résultats en termes de diversité et d'activité microbiennes. Dans l'ensemble, cela corrobore le fait que l'apport de digestats à la place de fertilisants minéraux est plutôt bénéfique pour la qualité microbiologique du sol (Sabit *et al.*, 2021). En ce qui concerne le

remplacement d'autres fertilisants organiques par des digestats, de nouvelles études au cas par cas, en fonction du type de sol et du type d'intrant disponible, sont nécessaires pour identifier les produits les plus intéressants pour les micro-organismes du sol en termes d'abondance, de diversité et d'activité.

D'autres questions portent sur les conditions spécifiques d'apport dans lesquelles les digestats sont néfastes ou bénéfiques. La littérature scientifique a principalement fourni des données sur 3 critères : le type d'intrant, la fraction et la dose. Cette méta-analyse montre qu'une augmentation mesurée des doses a un impact positif sur la qualité microbiologique du sol, mais que des doses trop élevées peuvent être moins bénéfiques. Les données disponibles ne permettent toutefois pas de conclure à un effet du type d'intrant ou de la fraction de digestat sur les sols. Bien que ces résultats s'appuient sur plus de 50 articles, ils se caractérisent par une généralité faible voire inexistante et doivent être considérés avec prudence. Dans de nombreux cas, les effets constatés sont le fruit d'une unique étude (cinq maximum). Par ailleurs, chaque étude est souvent réalisée sur un seul type de sol, ce qui limite les possibilités d'extrapolation à d'autres types de sols. Comme cela a été démontré précédemment pour d'autres types de matières organiques, l'impact d'un produit organique sur les communautés microbiennes peut varier en fonction du type de sols (Ho *et al.*, 2017 ; Sadet-Bourgeteau *et al.*, 2019).

En conclusion, les données disponibles à ce jour révèlent que :

- les digestats de méthanisation ont un effet neutre sur la qualité microbiologique du sol dans la moitié des cas ;
- l'observation d'effets négatifs dans 7 % des évaluations expérimentales ne permet pas de conclure à l'absence de tout risque écologique des digestats sur les sols ;
- les digestats se sont montrés moins bénéfiques que d'autres fertilisants organiques pour les communautés microbiennes du sol dans 17 % des cas, surtout lorsque la comparaison porte sur un même intrant digéré et non digéré ;
- il existe une dose optimale qui semble varier en fonction du type d'intrant, de la fraction du digestat et du type de sol. Cela révèle un risque écologique potentiel lié à l'application récurrente des digestats sur les sols à moyen ou long terme ;
- aucune différence forte et générale n'a été observée sur la qualité microbiologique du sol, en fonction de la fraction du digestat apportée,
- les différentes compositions des digestats pourraient induire différentes réponses microbiologiques du sol, mais aucune tendance n'a pu être dégagée en ce qui concerne les effets spécifiques du type d'intrant.

Tableau 2 : Liste des articles inclus dans cette revue, triés par question.**Table 2** : List of articles referenced in this review, sort by question.

Questions		Références
Effet de l'apport de digestats	Bruts	Sapp <i>et al.</i> , 2015 ; García-Sánchez <i>et al.</i> , 2016 ; Rózyło & Bohacz 2020
	Solides	García-Sánchez <i>et al.</i> , 2016 ; Száková <i>et al.</i> , 2016 ; Badagliacca <i>et al.</i> , 2020
	Liquides	Fernández-Delgado Juárez <i>et al.</i> , 2015 ; Zhao <i>et al.</i> , 2017 ; Tang <i>et al.</i> , 2021
Effet de la fraction de digestat		de la Fuente <i>et al.</i> , 2013 ; Hupfauf <i>et al.</i> , 2016 ; Muscolo <i>et al.</i> , 2017 ; Ibetó <i>et al.</i> , 2020 ; Nielsen <i>et al.</i> , 2020 ; Valentinuzzi <i>et al.</i> , 2020 ; Barduca <i>et al.</i> , 2021 ; Cattin <i>et al.</i> , 2021 ; Panuccio <i>et al.</i> , 2021
Effet du type d'intrant		Johansen <i>et al.</i> , 2013 ; Martin <i>et al.</i> , 2014 ; Barra Caracciolo <i>et al.</i> , 2015 ; Sawada & Toyota 2015 ; Wentzel <i>et al.</i> , 2015 ; Wentzel & Joergensen 2016 ; Hupfauf <i>et al.</i> , 2016 ; Viaene <i>et al.</i> , 2017 ; Muscolo <i>et al.</i> , 2017 ; Coelho <i>et al.</i> , 2019, 2020 ; Nielsen <i>et al.</i> , 2020 ; Pagliaccia <i>et al.</i> , 2020 ; Manfredini <i>et al.</i> , 2021
Effet de la dose de digestat	Bruts	Brenzinger <i>et al.</i> , 2018 ; Cardelli <i>et al.</i> , 2018 ; Gryta <i>et al.</i> , 2020 ; Rózyło & Bohacz, 2020 ; Pastorelli <i>et al.</i> , 2021
	Solides	Barra Caracciolo <i>et al.</i> , 2015 ; Muscolo <i>et al.</i> , 2017 ; Telesiński <i>et al.</i> , 2017 ; Valentinuzzi <i>et al.</i> , 2020
	Liquides	Johansen <i>et al.</i> , 2015 ; Muscolo <i>et al.</i> , 2017 ; Mortola <i>et al.</i> , 2019 ; Gryń <i>et al.</i> , 2020 ; Valentinuzzi <i>et al.</i> , 2020
Effet de la digestion anaérobie de la matière organique		Chen <i>et al.</i> , 2012 ; Pezzolla <i>et al.</i> , 2013 ; de la Fuente <i>et al.</i> , 2013 ; Fernández-Delgado Juárez <i>et al.</i> , 2013 ; Johansen <i>et al.</i> , 2013, 2015 ; Bachmann <i>et al.</i> , 2014 ; Wentzel & Joergensen, 2016 ; Hupfauf <i>et al.</i> , 2016 ; Viaene <i>et al.</i> , 2017 ; Wolters <i>et al.</i> , 2018 ; Podmirseg <i>et al.</i> , 2019 ; Muscolo <i>et al.</i> , 2019 ; Zicker <i>et al.</i> , 2020 ; Monard <i>et al.</i> , 2020 ; Nielsen <i>et al.</i> , 2020
Comparaison des digestats avec d'autres types de fertilisants organiques		Odlare <i>et al.</i> , 2008 ; Ernst <i>et al.</i> , 2008 ; Albuquerque <i>et al.</i> , 2012 ; Walsh <i>et al.</i> , 2012 ; Martin <i>et al.</i> , 2014 ; Ramezani <i>et al.</i> , 2015 ; Šimon <i>et al.</i> , 2015 ; Bhogal <i>et al.</i> , 2018 ; Siebielec <i>et al.</i> , 2018 ; Brenzinger <i>et al.</i> , 2018 ; Cardelli <i>et al.</i> , 2018 ; Coelho <i>et al.</i> , 2019, 2020 ; Valentinuzzi <i>et al.</i> , 2020 ; Gebremikael <i>et al.</i> , 2020 ; Gryta <i>et al.</i> , 2020 ; Manasa <i>et al.</i> , 2020a

8. PERSPECTIVES

Au-delà des grandes tendances établies dans le paragraphe précédent, cet état des lieux permet d'identifier les thématiques et les questions largement étudiées par la recherche scientifique, celles qui nécessitent un approfondissement par de nouvelles études et les questions sans aucune réponse à ce jour. Cette évaluation constitue ainsi une opportunité pour proposer des perspectives de recherche susceptibles de combler les lacunes des connaissances actuelles et de mieux comprendre une pratique agricole qui se démocratise à grand pas.

Ces perspectives sont notamment liées au type d'expérimentation. Sous-représentées dans notre méta-analyse, les expériences au terrain, les plus proches de conditions agro-pédo-climatiques réalistes, ne constituent que 25 % des études. Sur le terrain, l'effet des digestats est modulé par les conditions météorologiques au moment de l'épandage et après l'épandage, le sol n'est pas totalement nu et l'apport des digestats est souvent répété au fil du temps selon une fréquence adaptée aux besoins des cultures et des sols. De plus, ces expériences sont les plus compatibles avec un suivi de l'impact des digestats de

méthanisation à court, moyen et long termes. Elles présentent également l'intérêt de lisser d'éventuels effets transitoires. Des essais au terrain incluant plusieurs apports de digestats devraient être mis en place et suivis pendant plus de deux ans afin d'avoir une évaluation à plus long terme des impacts environnementaux. Une autre approche, celle du réseau de parcelles, est une bonne alternative pour obtenir des résultats intéressants en mesurant l'impact des digestats sur un large éventail de sols et dans des systèmes agricoles variés. Cette approche n'a pour l'heure pas été observée dans la littérature scientifique. Il s'agit pourtant d'un moyen efficace de tirer des conclusions génériques si le nombre de parcelles est suffisant. Avec la hausse du nombre d'unités de méthanisation et d'agriculteurs intéressés par l'utilisation de digestats à l'échelle européenne, la création de ce type de réseau devrait être envisagée et permettrait d'évaluer l'impact de différents types de digestats.

Le deuxième axe à développer concerne les bio-indicateurs étudiés. Parmi les résultats présentés dans cette méta-analyse, les plus génériques sont associés aux paramètres d'abondance microbienne, plus particulièrement à la biomasse

microbienne. Les études mesurant les paramètres d'activité et de diversité microbiennes sont moins fréquentes et donnent ainsi des résultats à genericité faible ou nulle. Pourtant, la diversité microbienne est une composante essentielle des cycles de l'azote et du carbone car elle assure la décomposition des matières organiques et la minéralisation du carbone, et par conséquent le fonctionnement durable du sol (Maron *et al.*, 2018). L'évaluation des changements en matière de diversités fongique et bactérienne et de structure des communautés devrait donc apporter des informations sur la durabilité de l'apport de digestats sur les sols agricoles.

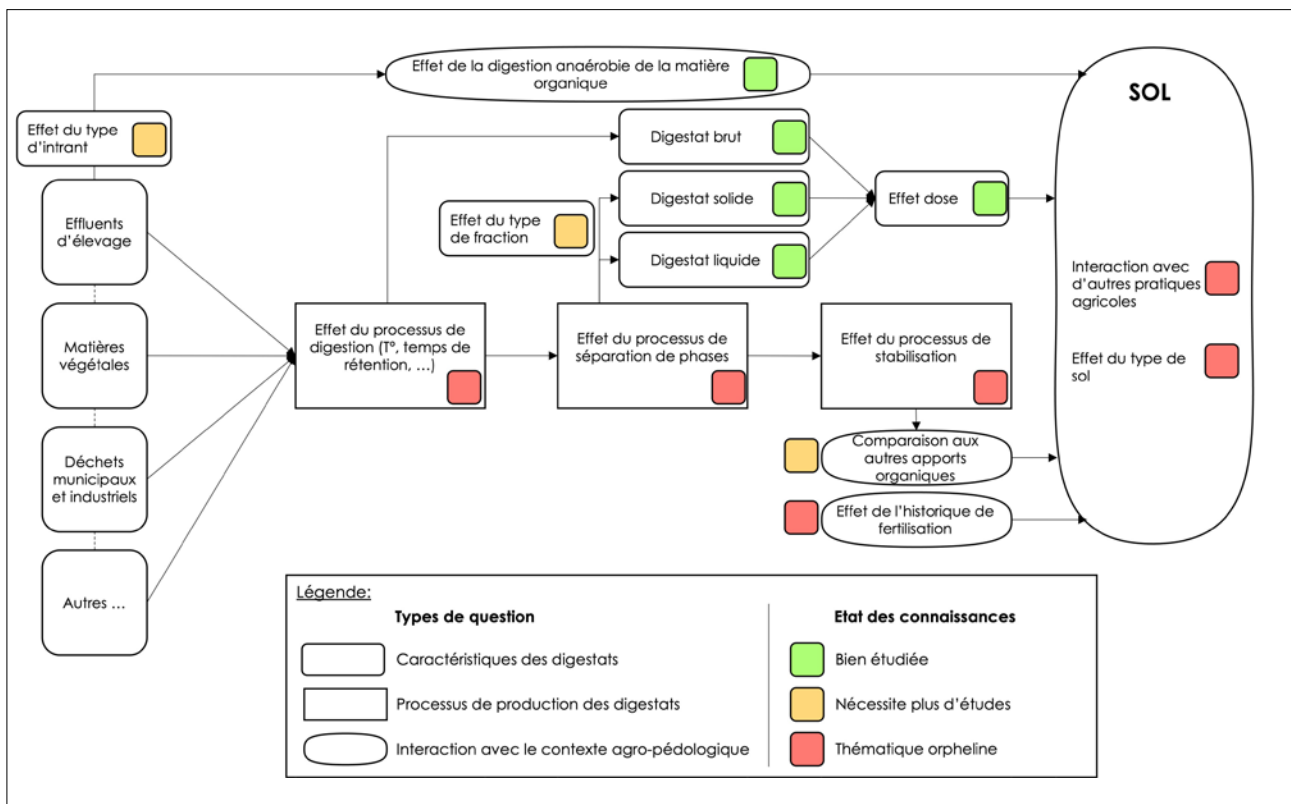
En dehors des micro-organismes, les autres groupes taxonomiques du sol restent peu, voire pas, étudiés. Cette revue souligne le manque de données relatives à la macro-et à la méso-faune du sol, incluant les nématodes, les collemboles, les vers de terre et tous les macro-arthropodes. Avec moins de 10 articles disponibles, il s'est avéré impossible de tirer de solides

conclusions à propos de l'impact écologique des digestats de méthanisation sur ces compartiments de la biodiversité du sol. Bien entendu, en plus de la réponse des communautés microbiennes, celle de la macrofaune et de la mésofaune du sol aux digestats doit être analysée à l'aide d'expériences en microcosme/mésocosme et sur le terrain à court et long termes, comme proposé par le dernier article publié à ce sujet (Moinard *et al.*, 2021).

Enfin, les perspectives de recherche incluent les questions qui doivent être analysées plus en profondeur et celles qui n'ont pour l'heure pas de réponse. Les effets du type d'intrant et de la fraction de digestat n'ont pas été clairement établis dans cette méta-analyse en raison d'un manque d'études. D'autres études et résultats relatifs aux différents types de digestats et de sols sont nécessaires pour conclure objectivement et de manière fiable quant à l'impact des caractéristiques du digestat sur la

Figure 12 : Synthèse de toutes les questions liées à l'impact des digestats sur la qualité biologique des sols. La forme de l'encadré indique le type de question analysée par les scientifiques : caractéristiques du digestat, processus de production du digestat ou interactions entre le digestat et le contexte agronomique et pédologique. Les cases vertes, orange et rouges signalent l'état des connaissances actuelles pour chaque question.

Figure 12: Summary diagram of all the questions related to the impact of digestates on the biological quality of soils. The form type indicates the type of question investigated by the scientists, relying on the characteristics of digestate, the production processes of digestate or on the interaction between digestate and the agronomical and pedological context. Green, amber, and red boxes inform on the state of current knowledge for each question.



biodiversité du sol. D'autres questions sont peu ou pas abordées dans la littérature scientifique: effet des différents processus utilisés pour transformer des matières organiques brutes en digestat (processus de digestion, principalement caractérisé par la température de digestion et le temps de rétention), processus de séparation des phases et processus de stabilisation (Figure 12). Tous ces aspects déterminent la qualité organique et sanitaire des digestats produits et sont susceptibles de modifier l'impact écologique des digestats sur la biodiversité du sol.

Les questions relatives aux interactions entre l'apport des digestats et le contexte agro-pédologique sont également en attente de réponse. Elles concernent le type de sol, mais aussi l'historique de fertilisation et les interactions avec d'autres pratiques agricoles comme la fertilisation additionnelle, le labour et le couvert végétal (type de culture ou de culture de couverture, rotation ou diversité végétale). En comprenant mieux toutes ces interactions, il sera possible d'identifier les conditions d'apport de digestats les plus favorables à la biodiversité du sol et de limiter ou éviter les pratiques agricoles à risques et non durables.

FINANCEMENT

Cette étude a été réalisée grâce au soutien financier de GRDF et ENGIE SA.

BIBLIOGRAPHIE

- Abis L., Loubet B., Ciuraru R., Lafouge F., Houot S., Nowak V., Tripied J., Dequiedt S., Maron P.-A., Bourgeteau S. (2020). Reduced microbial diversity induces larger volatile organic compound emissions from soils. *Sci. Rep.*, 10, 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63091-8>
- Albuquerque J.A., de la Fuente C., Campoy M., Carrasco L., Nájera I., Baixauli C., Caravaca F., Roldan A., Cegarra J., Bernal M.P. (2012). Agricultural use of digestate for horticultural crop production and improvement of soil properties. *Eur. J. Agron.*, 43, 119–128. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2012.06.001>
- Bachmann S., Gropp M., Eichler-Löbermann B. (2014). Phosphorus availability and soil microbial activity in a 3 year field experiment amended with digested dairy slurry. *Biomass and Bioenergy*, 70, 429–439. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.08.004>
- Badagliacca G., Petrovičová B., Pathan S.I., Roccotelli A., Romeo M., Monti M., Gelsomino A. (2020). Use of solid anaerobic digestate and no-tillage practice for restoring the fertility status of two Mediterranean orchard soils with contrasting properties. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 300. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2020.107010>
- Barduca L., Wentzel S., Schmidt R., Malagoli M., Joergensen R.G. (2021). Mineralisation of distinct biogas digestate qualities directly after application to soil. *Biol. Fertil. Soils*, 57, 235–243. <https://doi.org/10.1007/s00374-020-01521-5>
- Barra Caracciolo A., Bustamante M.A., Nogues I., Di Lenola M., Luprano M.L., Grenni P. (2015). Changes in microbial community structure and functioning of a semiarid soil due to the use of anaerobic digestate derived composts and rosemary plants. *Geoderma*, 245–246, 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.01.021>
- Baumann K., Dignac M.F., Rumpel C., Bardoux G., Sarr A., Steffens M., Maron P.-A. (2012). Soil microbial diversity affects soil organic matter decomposition in a silty grassland soil. *Biogeochemistry*, 114, 1–12. <https://doi.org/10.1007/s10533-012-9800-6>
- Bhogal A., Nicholson F.A., Rollett A., Taylor M., Litterick A., Whittingham M.J., Williams J.R. (2018). Improvements in the Quality of Agricultural Soils Following Organic Material Additions Depend on Both the Quantity and Quality of the Materials Applied. *Front. Sustain. Food Syst.*, 2, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00009>
- Brenzinger K., Drost S.M., Korhals G., Bodelier P.L.E. (2018). Organic residue amendments to modulate greenhouse gas emissions from agricultural soils. *Front. Microbiol.*, 9, 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03035>
- Cardelli R., Giussani G., Marchini F., Saviozzi A. (2018). Short-term effects on soil of biogas digestate, biochar and their combinations. *Soil Res.*, 56, 623–631. <https://doi.org/10.1071/SR18017>
- Cattin M., Semple K.T., Stutter M., Romano G., Lag-Brotons A.J., Parry C., Surridge B.W.J. (2021). Changes in microbial utilization and fate of soil carbon following the addition of different fractions of anaerobic digestate to soils. *Eur. J. Soil Sci.*, 72, 2398–2413. <https://doi.org/10.1111/ejss.13091>
- Chen R., Blagodatskaya E., Senbayram M., Blagodatsky S., Myachina O., Dittert K., Kuzyakov Y. (2012). Decomposition of biogas residues in soil and their effects on microbial growth kinetics and enzyme activities. *Biomass and Bioenergy*, 45, 221–229. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.06.014>
- Coelho J.J., Hennessy A., Casey I., Bragança C.R.S., Woodcock T., Kennedy N. (2020). Biofertilisation with anaerobic digestates: A field study of effects on soil microbial abundance and diversity. *Appl. Soil Ecol.*, 147, 103403. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103403>
- Coelho J.J., Hennessy A., Casey I., Woodcock T., Kennedy N. (2019). Responses of ryegrass, white clover, soil plant primary macronutrients and microbial abundance to application of anaerobic digestates, cattle slurry and inorganic N-fertiliser. *Appl. Soil Ecol.*, 144, 112–122. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.07.011>
- Ernst G., Müller A., Göhler H., Emmerling C. (2008). C and N turnover of fermented residues from biogas plants in soil in the presence of three different earthworm species (*Lumbricus terrestris*, *Aporrectodea longa*, *Aporrectodea caliginosa*). *Soil Biol. Biochem.*, 40, 1413–1420. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.12.026>
- European Commission (2019). Règlement (UE) 2019/1009 du Parlement Européen et du Conseil du 5 juin 2019 établissant les règles relatives à la mise à disposition sur le marché des fertilisants UE, modifiant les Règlements (CE) n° 1069/2009 et (CE) n° 1107/2009 et abrogeant le Règlement.
- Fernández-Delgado Juárez M., Gómez-Brandón M., Knapp A., Stöhr D., Insam H. (2015). Chemical and microbiological properties of alpine forest soils: Effects of pelletized ashes in a short-term trial. *For. Ecol. Manage.*, 357, 42–49. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2015.08.014>
- Fernández-Delgado Juárez M., Waldhuber S., Knapp A., Partl C., Gómez-Brandón M., Insam H. (2013). Wood ash effects on chemical and microbiological properties of digestate- and manure-amended soils. *Biol. Fertil. Soils*, 49, 575–585. <https://doi.org/10.1007/s00374-012-0747-5>
- García-Sánchez M., Klouza M., Holečková Z., Tlustoš P., Száková J. (2016). Organic and inorganic amendment application on mercury-polluted soils: effects on soil chemical and biochemical properties. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 23, 14254–14268. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6591-7>
- Gebremikael M.T., Ranasinghe A., Hosseini P.S., Laboan B., Sonneveld E., Pipan M., Oni F.E., Montemurro F., Höfte M., Sleutel S., De Neve S. (2020). How do novel and conventional agri-food wastes, co-products and by-products improve soil functions and soil quality? *Waste Manag.*, 113, 132–144. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.05.040>
- Gryń G., Paluszak Z., Olszewska H., Keutgen A.J. (2020). Chemical and microbiological properties of luvisol after addition of post-fermentation residue. *J. Elem.*, 25, 701–716. <http://dx.doi.org/10.5601/jelem.2019.24.3.1872>

- Gryta A., Frac M., Oszust K. (2020). Genetic and metabolic diversity of soil microbiome in response to exogenous organic matter amendments. *Agronomy*, 10. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040546>
- Guilayn F., Jimenez J., Martel J.L., Rouez M., Crest M., Patureau D. (2019). First fertilizing-value typology of digestates: A decision-making tool for regulation. *Waste Manag.*, 86, 67–79. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.01.032>
- Le Guillou C., Angers D.A., Maron P.A., Leterme P., Menasseri-Aubry S. (2012). Linking microbial community to soil water-stable aggregation during crop residue decomposition. *Soil Biol. Biochem.*, 50, 126–133. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.03.009>
- Ho A., Lonardo D.P., Bodelier P.L.E. (2017). Revisiting life strategy concepts in environmental microbial ecology, 1–14. <https://doi.org/10.1093/femsec/fix006>
- Hupfauf S., Bachmann S., Fernández-Delgado Juárez M., Insam H., Eichler-Löbermann B. (2016). Biogas digestates affect crop P uptake and soil microbial community composition. *Sci. Total Environ.*, 542, 1144–1154. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.09.025>
- Ibeto C., Omoni V., Fagbohunge M., Semple K. (2020). Impact of digestate and its fractions on mineralization of 14C-phenanthrene in aged soil. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 195, 110482. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110482>
- IEA (2018). Biogas production by region and by feedstock type, IEA, Paris <https://www.iea.org/data-and-statistics/charts/biogas-production-by-region-and-by-feedstock-type-2018>
- IEA (2020). Outlook for biogas and biomethane: Prospects for organic growth, IEA, Paris <https://www.iea.org/reports/outlook-for-biogas-and-biomethane-prospects-for-organic-growth>
- IEA (2019). IEA Bioenergy Task 37 - Country Report Summaries 2019. IEA Bioenergy.
- Johansen, A., Carter, M.S., Jensen, E.S., Hauggard-Nielsen, H. & Ambus, P. (2013). Effects of digestate from anaerobically digested cattle slurry and plant materials on soil microbial community and emission of CO₂ and N₂O. *Appl. Soil Ecol.*, 63, 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.09.003>
- Johansen A., Pommeresche R., Riley H., Loes A.-K. (2015). Anaerobic digestion of animal manure - implications for crop yields and soil biota in organic farming. "Nordic View to Sustain. Rural Dev. Proc. 25th NJF Congr. Riga, Latv. 16-18 June 2015, 97–102.
- Karimi B., Cahurel J.Y., Gontier L., Charlier L., Chovelon M., Mahé H., Ranjard L. (2020). A meta-analysis of the ecotoxicological impact of viticultural practices on soil biodiversity. *Environ. Chem. Lett.*, 18, 1947–1966. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01050-5>
- Karimi B., Sadet-Bourgeteau S., Cannavacciuolo M., Chauvin C., Flamin C., Haumont A., Jean-Baptiste V., Reibel A., Vrignaud G., Ranjard L. (2022). Impact of biogas digestates on soil microbiota in agriculture: a review. *Env. Chem. Letters*. <https://doi.org/10.1007/s10311-022-01451-8>
- de la Fuente C., Albuquerque J.A., Clemente R., Bernal M.P. (2013). Soil C and N mineralisation and agricultural value of the products of an anaerobic digestion system. *Biol. Fertil. Soils*, 49, 313–322. <https://doi.org/10.1007/s00374-012-0719-9>
- Manasa M.R.K., Katukuri N.R., Darveekaran Nair S.S., Haojie Y., Yang Z., Guo R.B. (2020a). Role of biochar and organic substrates in enhancing the functional characteristics and microbial community in a saline soil. *J. Environ. Manage.*, 269, 110737. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110737>
- Manasa M.R.K., Katukuri N.R., Xu X., Guo R. (2020b). Rehabilitation of saline soil with biogas digestate, humic acid, calcium humate and their amalgamations. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 51, 1707–1724. <https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1763388>
- Manfredini A., Chiariotti A., Santangelo E., Rossi E., Renzi G., Dell'Abate M.T. (2021). Assessing the Biological Value of Soluble Organic Fractions from Tomato Pomace Digestates. *J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 21, 301–314. <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00361-4>
- Maron P.-A., Sarr A., Kaisermann A., Lévêque J., Mathieu O., Guigue J., Karimi B., Bernard L., Dequiedt S., Terrat S., Chabbi A., Ranjard L. (2018). High Microbial Diversity Promotes Soil Ecosystem Functioning. *Appl. Environ. Microbiol.*, 84, e02738-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.02738-17>
- Martin S.L., Clarke M.L., Othman M., Ramsden S.J., West H.M. (2014). Biochar-mediated reductions in greenhouse gas emissions from soil amended with anaerobic digestates. *Biomass and Bioenergy*, 79, 39–49. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.04.030>
- Moinard V., Redondi C., Etiévant V., Savoie A., Duchene D., Pelosi C., Houot S., Capowiez Y. (2021). Short- and long-term impacts of anaerobic digestate spreading on earthworms in cropped soils. *Appl. Soil Ecol.*, 168. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104149>
- Monard C., Jeanneau L., Le Garrec J.L., Le Bris N., Binet F. (2020). Short-term effect of pig slurry and its digestate application on biochemical properties of soils and emissions of volatile organic compounds. *Appl. Soil Ecol.*, 147, 103376. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103376>
- Mortola N., Romaniuk R., Cosentino V., Eiza M., Carfango P., Rizzo P., Bres P., Riera N., Roba M., Butti M., Sainz D., Brutti L. (2019). Potential Use of a Poultry Manure Digestate as a Biofertiliser: Evaluation of Soil Properties and Lactuca sativa Growth. *Pedosphere*, 29, 60–69. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(18\)60057-8](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(18)60057-8)
- Muscolo A., Papalia T., Settineri G., Romeo F., Mallamaci C. (2019). Three different methods for turning olive pomace in resource: Benefits of the end products for agricultural purpose. *Sci. Total Environ.*, 662, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.210>
- Muscolo A., Settineri G., Papalia T., Attinè E., Basile C., Panuccio M.R. (2017). Anaerobic co-digestion of recalcitrant agricultural wastes: Characterizing of biochemical parameters of digestate and its impacts on soil ecosystem. *Sci. Total Environ.*, 586, 746–752. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.051>
- Nielsen K., Roß C.L., Hoffmann M., Muskulus A., Ellmer F., Kautz T. (2020). The chemical composition of biogas digestates determines their effect on soil microbial activity. *Agric.*, 10, 1–19. <https://doi.org/10.3390/agriculture10060244>
- Nkoa R. (2014). Agricultural benefits and environmental risks of soil fertilization with anaerobic digestates: A review. *Agron. Sustain. Dev.*, 34, 473–492. <https://doi.org/10.1007/s13593-013-0196-z>
- Odlare M., Pell M., Svensson K. (2008). Changes in soil chemical and microbiological properties during 4 years of application of various organic residues. *Waste Manag.*, 28, 1246–1253. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2007.06.005>
- Pagliaccia D., Bodaghi S., Chen X., Stevenson D., Deyett E., De Francesco A., Borneman J., Ruegger P., Peacock B., Ellstrand N., Rolshausen P.E., Popa R., Ying S., Vidalakis G. (2020). Two Food Waste By-Products Selectively Stimulate Beneficial Resident Citrus Host-Associated Microbes in a Zero-Runoff Indoor Plant Production System. *Front. Sustain. Food Syst.*, 4, 1–25. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.593568>
- Panuccio M.R., Romeo F., Mallamaci C., Muscolo A. (2021). Digestate Application on Two Different Soils: Agricultural Benefit and Risk. *Waste and Biomass Valorization*, 12, 4341–4353. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01318-5>
- Pastorelli R., Valboa G., Lagomarsino A., Fabiani A., Simoncini S., Zaghi M., Vignozzi N. (2021). Recycling biogas digestate from energy crops: Effects on soil properties and crop productivity. *Appl. Sci.*, 11, 1–20. <https://doi.org/10.3390/app11020750>
- Pezzolla D., Said-Pullicino D., Raggi L., Albertini E., Gigliotti G. (2013). Short-term variations in labile organic C and microbial biomass activity and structure after organic amendment of arable soils. *Soil Sci.*, 178, 474–485. <https://doi.org/10.1097/SS.0000000000000012>
- Podmirseg S.M., Waldhuber S., Knapp B.A., Insam H., Goberna M. (2019). Robustness of the autochthonous microbial soil community after amendment of cattle manure or its digestate. *Biol. Fertil. Soils*, 55, 565–576. <https://doi.org/10.1007/s00374-019-01371-w>

- Prudent M., Dequiedt S., Sorin C., Girodet S., Nowak V., Duc G., Salon C., Maron P.-A. (2020). The diversity of soil microbial communities matters when legumes face drought. *Plant Cell Environ.*, 43, 1023–1035. <https://doi.org/10.1111/pce.13712>
- Ramezani A., Dahlin A.S., Campbell C.D., Hillier S., Öborn I. (2015). Assessing biogas digestate, pot ale, wood ash and rockdust as soil amendments: effects on soil chemistry and microbial community composition. *Acta Agric. Scand. Sect. B Soil Plant Sci.*, 65, 383–399. <https://doi.org/10.1080/09064710.2015.1014831>
- Rawoof S.A.A., Kumar P.S., Vo D.V.N., Subramanian S. (2021). Sequential production of hydrogen and methane by anaerobic digestion of organic wastes: a review. *Environ. Chem. Lett.*, 19, 1043–1063. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01122-6>
- Rózyło K., Bohacz J. (2020). Microbial and enzyme analysis of soil after the agricultural utilization of biogas digestate and mineral mining waste. *Int. J. Environ. Sci. Technol.*, 17, 1051–1062. <https://doi.org/10.1007/s13762-019-02522-0>
- Sabir M.S., Shahzadi F., Ali F., Shakeela Q., Niaz Z., Ahmed S. (2021). Comparative Effect of Fertilization Practices on Soil Microbial Diversity and Activity: An Overview. *Curr. Microbiol.*, 78, 3644–3655. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02634-2>
- Sadet-Bourgeteau S., Houot S., Karimi B., Mathieu O., Mercier V., Montenach D., et al. (2019). Microbial communities from different soil types respond differently to organic waste input. *Appl. Soil Ecol.*, 143. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.05.026>
- Sapp M., Harrison M., Hany U., Charlton A., Thwaites R. (2015). Comparing the effect of digestate and chemical fertiliser on soil bacteria. *Appl. Soil Ecol.*, 86, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.10.004>
- Sawada K., Toyota K. (2015). Effects of the application of digestates from wet and dry anaerobic fermentation to Japanese paddy and upland soils on short-term nitrification. *Microbes Environ.*, 30, 37–43. <https://doi.org/10.1264/jmsme2.ME14080>
- Siebielec G., Siebielec S., Lipski D. (2018). Long-term impact of sewage sludge, digestate and mineral fertilizers on plant yield and soil biological activity. *J. Clean. Prod.*, 187, 372–379. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.03.245>
- Šimon T., Kunzová E., Friedlová M. (2015). The effect of digestate, cattle slurry and mineral fertilization on the winter wheat yield and soil quality parameters. *Plant, Soil Environ.*, 62, 522–527. <https://doi.org/10.17221/530/2015-PSE>
- Szákóvá J., Burešová A., Praus L., Garcá-Sánchez M., Holečková Z., Gabriel J., et al. (2016). The response of mercury (Hg) transformation in soil to sulfur compounds and sulfur-rich biowaste application. *Environ. Earth Sci.*, 75. <https://doi.org/10.1007/s12665-016-5387-x>
- Tang Y., Luo L., Carswell A., Misselbrook T., Shen J., Han J. (2021). Changes in soil organic carbon status and microbial community structure following biogas slurry application in a wheat-rice rotation. *Sci. Total Environ.*, 757, 143786. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143786>
- Tardy V., Mathieu O., Lévêque J., Terrat S., Chabbi A., Lemanceau P., et al. (2014). Stability of soil microbial structure and activity depends on microbial diversity. *Environ. Microbiol. Rep.*, 6, 173–183. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12126>
- Telesiński A., Cybulska K., Płatkowski M., Stręk M., Jarnuszewski G., Wrońska I., et al. (2017). Integrated assessment of soil quality after application of the biogas fermentation residues - A laboratory experiment. *E3S Web Conf.*, 22, 1–8. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/20172200176>
- Thangarajan R., Bolan N.S., Tian G., Naidu R., Kunhikrishnan A. (2013). Role of organic amendment application on greenhouse gas emission from soil. *Sci. Total Environ.*, 465, 72–96. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.01.031>
- Urra J., Alkorta I., Garbisu C. (2019). Potential benefits and risks for soil health derived from the use of organic amendments in agriculture. *Agronomy*, 9, 1–23. <https://doi.org/10.3390/agronomy9090542>
- Valentinuzzi F., Cavani L., Porfido C., Terzano R., Pii Y., Cesco S., et al. (2020). The fertilising potential of manure-based biogas fermentation residues: pelleted vs. liquid digestate. *Heliyon*, 6. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03325>
- Viaene J., Agneessens L., Capito C., Ameloot N., Reubens B., Willekens K., et al. (2017). Co-ensiling, co-composting and anaerobic co-digestion of vegetable crop residues: Product stability and effect on soil carbon and nitrogen dynamics. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*, 220, 214–225. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.03.015>
- Vivant A.L., Garmyn D., Maron P.A., Nowak V., Piveteau P. (2013). Microbial Diversity and Structure Are Drivers of the Biological Barrier Effect against *Listeria monocytogenes* in Soil. *PLoS One*, 8, 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076991>
- Walsh J.J., Rousk J., Edwards-Jones G., Jones D.L., Williams A.P. (2012). Fungal and bacterial growth following the application of slurry and anaerobic digestate of livestock manure to temperate pasture soils. *Biol. Fertil. Soils*, 48, 889–897. <https://doi.org/10.1007/s00374-012-0681-6>
- Wentzel S., Joergensen R.G. (2016). Effects of biogas and raw slurries on grass growth and soil microbial indices. *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 179, 215–222. <https://doi.org/10.1002/jpln.201400544>
- Wentzel S., Schmidt R., Piepho H.P., Semmler-Busch U., Joergensen R.G. (2015). Response of soil fertility indices to long-term application of biogas and raw slurry under organic farming. *Appl. Soil Ecol.*, 96, 99–107. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.06.015>
- Wolters B., Jacquiod S., Sørensen S.J., Widyasari-Mehta A., Bech T.B., Kreuzig R., et al. (2018). Bulk soil and maize rhizosphere resistance genes, mobile genetic elements and microbial communities are differently impacted by organic and inorganic fertilization. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 94, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143699>
- Zhao M., Jones C.M., Meijer J., Lundquist P.O., Fransson P., Carlsson G., et al. (2017). Intercropping affects genetic potential for inorganic nitrogen cycling by root-associated microorganisms in *Medicago sativa* and *Dactylis glomerata*. *Appl. Soil Ecol.*, 119, 260–266. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.06.040>
- Zicker T., Kavka M., Bachmann-Pfabe S., Eichler-Löbermann B. (2020). Long-term phosphorus supply with undigested and digested slurries and their agronomic effects under field conditions. *Biomass and Bioenergy*, 139. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105665>