

Nom du candidat : BROSSET

Prénoms : Lisa

**N° Candidat** : A BCPST - 49987

Noms des auteurs en cas de travail commun

- BOUFDI
- SAVORGNANO

Dominante BIOLOGIE
Dominante GÉOLOGIE
MIXTE
<i>Surligner la dominante du TIPE</i>

**BANQUE AGRO-VETO – Session 2025**

**T.I.P.E.**

Maximum 8 pages (illustrations comprises), Times New Roman 12 ou Arial 10, interligne simple.

20 000 caractères maximum

**IMPORTANT** : n'inscrire sur cette couverture aucune référence à l'établissement scolaire

**TITRE :**

**RÉSUMÉ** (en six lignes) :

Dans un contexte de transition écologique, la valorisation des déchets organiques par méthanisation suscite un intérêt croissant. Ce TIPE vise à étudier l'impact agronomique et écologique du digestat issu de ce procédé.

La démarche combine une expérimentation en plein champ sur la croissance de l'orge et une analyse en laboratoire de l'effet du digestat sur l'activité des paramécies.

Les résultats suggèrent un effet stimulant du digestat sur les plantes, tandis que son influence sur la microfaune reste à approfondir.

**Nombre de caractères** (espaces compris) : 18 808

Le document doit être constitué au format A4 avec en couverture cette présentation.

Les déchets organiques, en se décomposant en milieu anoxique, génèrent du méthane, un gaz à effet de serre qui contribue au réchauffement climatique. Leur recyclage, permet de réduire cet impact et de valoriser ces matières en sources d'énergie ou en amendements pour les sols [1]. Dans le cadre de la **transition** écologique, la gestion durable des déchets organiques représente un enjeu majeur pour limiter les impacts environnementaux et promouvoir une agriculture plus respectueuse des ressources naturelles. Parmi les solutions envisagées, la méthanisation s'impose comme un procédé prometteur pour **convertir** ces déchets en ressources utiles. La Méthanisation est un processus biologique permettant de décomposer partiellement la matière organique en l'absence de dioxygène pour produire du biogaz, une énergie renouvelable, et un résidu appelé **digestat** [2]. Ce dernier riche en nutriments et en matière organique est potentiellement intéressant pour les sols agricoles. Le digestat est souvent valorisé comme amendement agricole, en raison de son potentiel à améliorer la fertilité des sols. Cependant, la méthanisation suscite également des controverses. Certaines critiques soulignent les risques associés à l'épandage du digestat, notamment la contamination des sols par des métaux lourds ou par des pathogènes présent dans le digestat [3]. Un autre sujet de débat concerne les effets de l'épandage de digestat sur la biodiversité des sols [4]. : le sol est un écosystème complexe et dynamique, abritant une faune et une flore essentielles au maintien des cycles biogéochimiques et des fonctions écosystémiques. Des travaux récents ont montré que l'application du digestat peut perturber les communautés microbiennes, leur diversité fonctionnelle ou modifier les interactions entre micro-organismes et plantes [2]. Ces perturbations pourraient affecter la productivité agricole à long terme et remettre en question les bénéfices environnementaux attendus de la méthanisation. Ces préoccupations justifient la nécessité d'une évaluation approfondie des effets du digestat sur les écosystèmes terrestres, en équilibrant les bénéfices agronomiques qu'il peut offrir en tant que fertilisant et les impacts qu'il pourrait engendrer sur les plantes et la biocénose du sol. **Nous avons cherché à déterminer l'influence de l'épandage d'un digestat sur la croissance des plantes et sur l'activité biologique de la microfaune ?**

Notre démarche consiste à caractériser en champ, la croissance d'une plante agricole en présence de différentes doses de digestats de fumier. Cette approche est complétée par une étude *in vitro* de l'effet du digestat sur le comportement d'un cilié, un être vivant appartenant à la microfaune des sols.

## **I) Effet du digestat sur une culture agricole**

### **A-Protocole**

Trois parcelles de 5 mètres sur 1 mètre ont été désherbées, puis semées avec de l'orge d'hiver (*Hordeum Vulgare*). Nous avons laissé pousser les plantes pendant 30 jours avant d'épandre le digestat le 2 décembre 2024. Ce digestat provient du méthaniseur de la ferme Gaec Petit, obtenu 1 mois avant. Pour respecter un volume d'application de 10 m<sup>3</sup>/ha, 50 cl de digestat ont été répartis sur les 50 premiers centimètres de chaque parcelle, créant ainsi un gradient de concentration sur la longueur des terrains cultivés par diffusion dans le sol.

Après l'application, nous avons laissé l'orge se développer pendant 122 jours avant de récolter la partie aérienne des plantes. La sécher 10 jours dans une étuve à 50°C, et enfin mesurer la masse sèche.

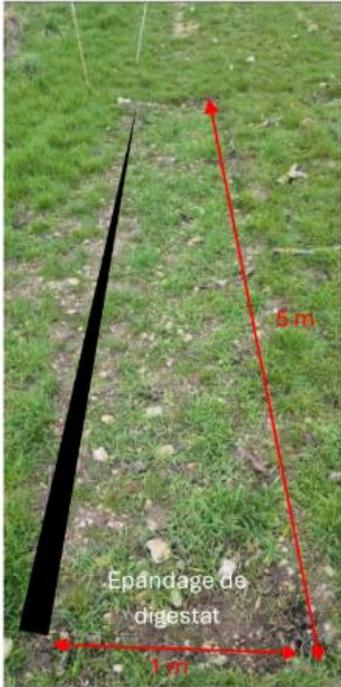


Figure 1 : Photographie d'une des 4 parcelles



Figure 2 : Photographie du méthaniseur d'où provient le digestat

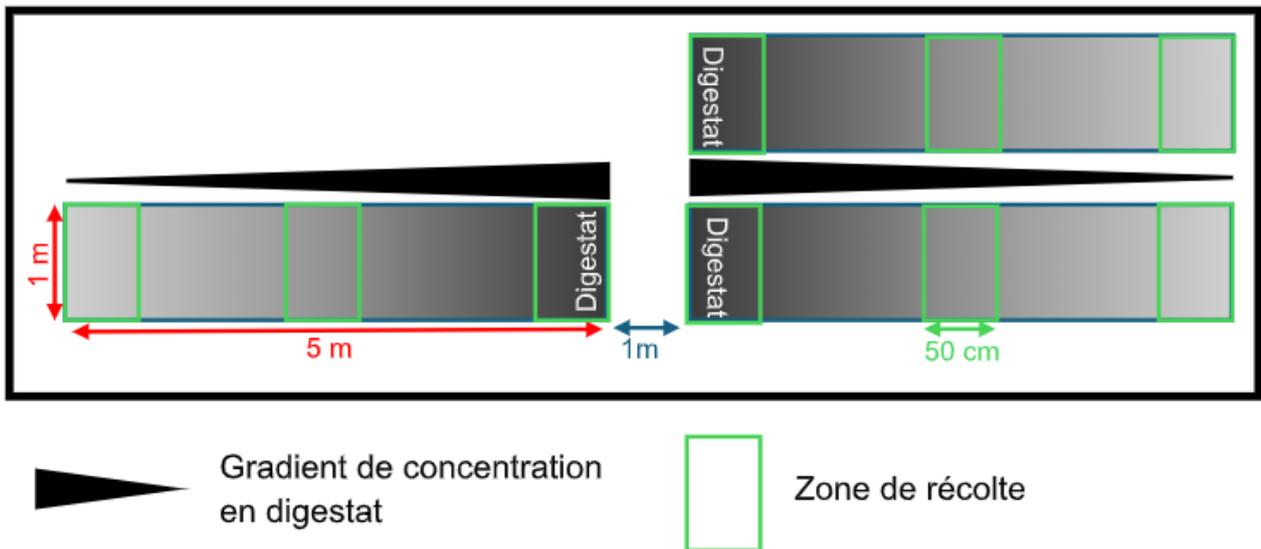
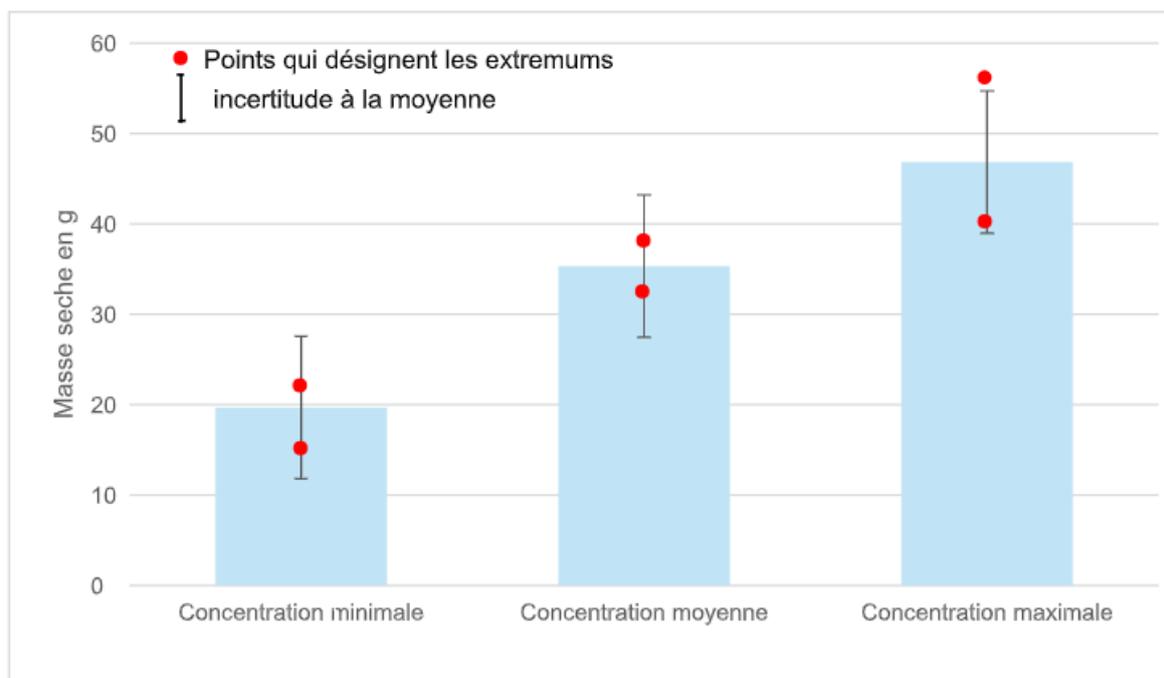


Figure 3 : Schéma de la disposition des parcelles

## **B-Résultats et interprétations**



**Figure 4** : Masse sèche de la partie colinéaire de l'orge sur les 3 parcelles en fonction de la concentration en digestat présent dans le sol

La masse sèche des parties aérienne de l'orge est d'autant plus importante que les plantes sont proches de la zone d'épandage du digestat. Elle est en moyenne plus de 2 fois plus importante dans la zone d'épandage qu'à 4,5 m de celle-ci. Le digestat que nous avons utilisé semble donc bien stimuler la croissance végétale.

Cette amélioration peut être expliquée par la richesse du digestat en nutriments essentiels tels que l'azote (N), le phosphore (P) et le potassium (K), qui sont indispensables à la croissance des végétaux. L'azote, en particulier, joue un rôle clé dans la synthèse des protéines et de la chlorophylle, ce qui stimule la photosynthèse et favorise un développement rapide des tissus végétaux. De plus, le phosphore contribue à la formation des racines et au métabolisme énergétique, tandis que le potassium améliore la résistance des plantes au stress hydrique et aux maladies.

Une croissance plus vigoureuse des plantes grâce au digestat se traduit par une production accélérée et/ou une augmentation du nombre de grains (caryopses) à maturité. Cela peut directement impacter le rendement des cultures en permettant une récolte plus abondante sur une même surface agricole. Cependant, bien que le digestat présente des avantages indéniables, son utilisation doit être optimisée. Une concentration excessive peut entraîner des déséquilibres nutritionnels, une accumulation de sels ou encore une libération excessive d'azote ammoniacal, pouvant être toxique pour les plantes et affecter la qualité des sols à long terme. Il est donc crucial d'ajuster les doses et les méthodes d'application pour maximiser les bénéfices tout en évitant les effets négatifs.

Le digestat que nous avons utilisé présente un effet sur les plantes cohérent avec ce qui est publié [5] ce qui valide notre modélisation en champ et nous permet de confirmer la qualité du digestat de fumier utilisé. Nous allons à présent tester l'effet de ce digestat sur l'activité biologique de la microfaune du sol.

## II) Effet du digestat sur la microfaune

La microfaune du sol et des eaux douces est constituée de divers unicellulaires dont des Ciliés. Les ciliés sont des organismes unicellulaires dotés de nombreux cils mobiles qui leur servent à se déplacer et à capturer leur nourriture. Nous avons choisi de travailler sur la paramécie, un cilié présent dans les eaux douces, pour mettre au point notre protocole. On se propose d'estimer l'activité des paramécies en mesurant leur vitesse de déplacement en fonction de différentes doses de digestats.

### A-Procédure

Deux cultures de paramécie ont été commandées à Sordalab et diluées par 3 dans du liquide physiologique (NaCl 0,084 %). Un échantillon de notre digestat a été stérilisé 30 min à la cocotte-minute.

3 incubations sont réalisées en ajoutant dans 4,5mL de culture de paramécie, 500µL de digestat pur, dilué par 10 et dilué par 100 avec du liquide physiologique. Un tube témoin sans digestat est aussi réalisé.

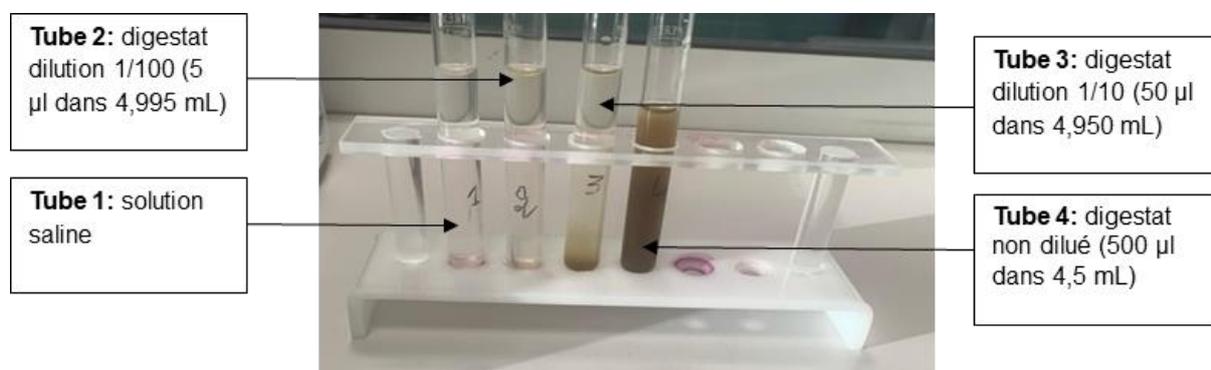


Figure 6 : tubes d'incubations de paramécie avec différentes dilutions de digestat

Les paramécies sont observées et filmées au microscope optique entre 5 min et 1 heure après le début de l'incubation. Les tubes sont ensuite conservés à 4°C et de nouveau observés après 7 jours.

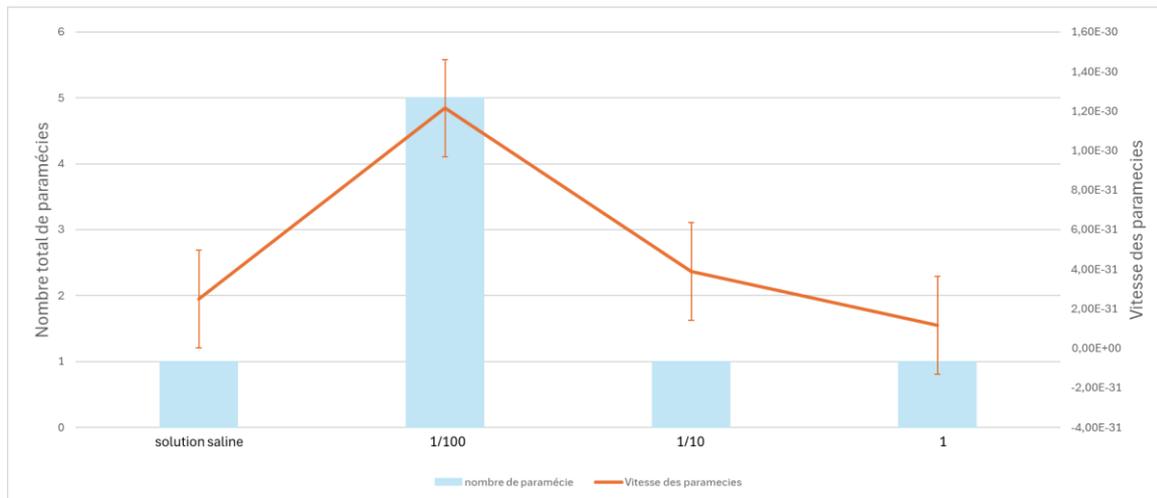
Les vitesses des paramécies sont analysées à l'aide du logiciel Tracker. L'analyse des vitesses des paramécies a présenté plusieurs défis. Tout d'abord, la qualité de l'image et le suivi des paramécies dépend de l'éclairage et la mise au point du microscope, rendant parfois difficile la détection précise des individus. De plus, la superposition des paramécies et leurs déplacements en groupes ont compliqué leur identification individuelle. La variabilité de leurs mouvements, marquée par des changements brusques de direction, a également perturbé l'analyse automatisée des trajectoires. Nous avons dû nous limiter à l'analyse d'une fraction des individus filmés.

### B-Résultats et interprétations

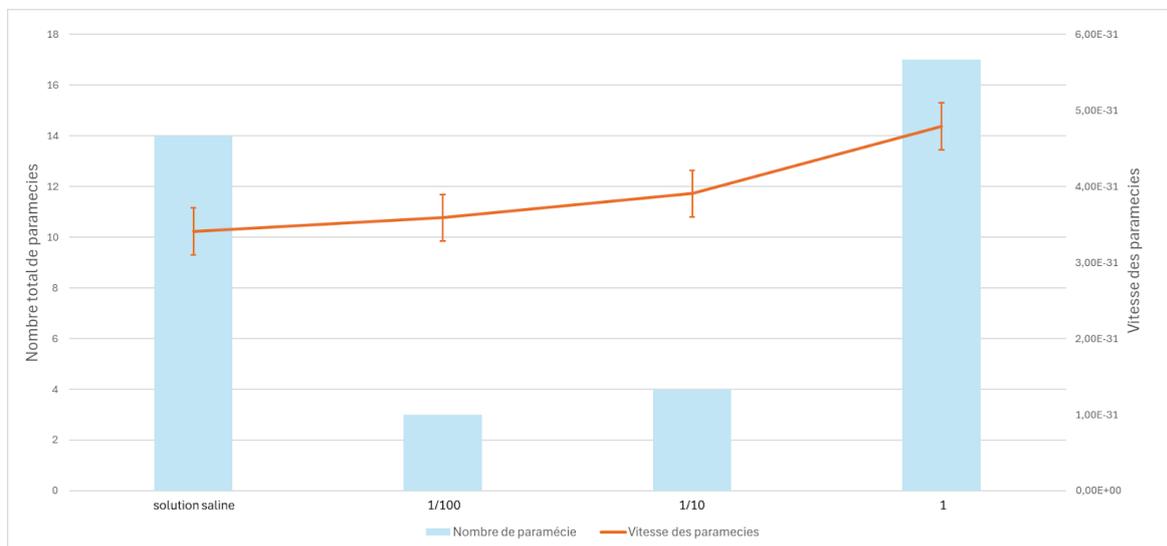
#### B1 : Effet à court terme

Nous avons relevé le nombre total de paramécies observées et la vitesse moyenne d'une fraction de ces paramécies.

Pour chaque tube, nous avons mesuré la vitesse de déplacement de plusieurs paramécies (entre 1 et 16 par tube) afin d'évaluer la variabilité des mesures.



**Figure 7** : Évolution de la vitesse moyenne et du nombre de paramécies de la population 1 en fonction de différentes concentrations de digestat.

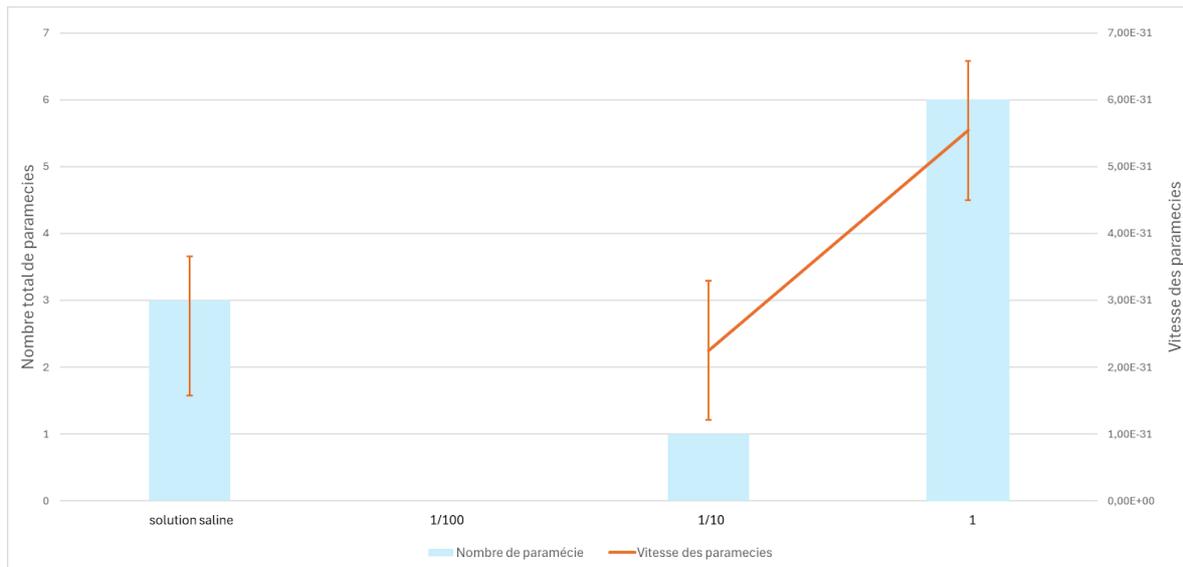


**Figure 8** : Évolution de la vitesse moyenne et du nombre de paramécies de la population 2 en fonction de différentes concentrations de digestat.

Pour la population 1, il a été observé que la vitesse des paramécies est cinq fois plus élevée lorsque le digestat est dilué par 100 par rapport aux conditions sans digestat. Cette augmentation significative suggère que cette dilution particulière favorise l'activité des paramécies, peut-être en améliorant leur environnement sans introduire une concentration trop élevée de composés pouvant être inhibiteurs ou toxiques. Cependant ces observations n'ont pas pu être reproduites dans la population 2 aussi nous devons envisager la présence de biais expérimentaux : par exemple l'utilisation de la micropipette.

Le faible nombre initial de paramécies n'a pas permis de répéter l'expérience sur chaque population, nous ne pouvons donc pas établir s'il existe un niveau de toxicité du digestat. Cependant nous remarquons que dans les 2 populations testées, les paramécies incubées avec l'une des dilutions de digestat semblent présenter une vitesse plus importante qu'en absence de digestat. Ceci suggère la possibilité que le digestat stimule l'activité des paramécies. Une mise au point plus aboutie de notre protocole est nécessaire pour pouvoir conclure.

## **B2-Effet à long terme**



**Figure 9** : Graphique représentant la vitesse moyenne et le nombre des paramécies de la population 1 après une semaine de conservation à 4°C

Les barres sur les figures correspondent à l'erreur standard à la moyenne. Cinq mesures ont été réalisées afin de calculer l'erreur standard.

On observe une augmentation de la vitesse moyenne des paramécies en présence de digestat (dilué au 1/10). Le digestat semble donc stimuler l'activité biologique des paramécies.

Il faudrait s'assurer que cette différence n'est pas due à des variations naturelles. Si l'effet est reproductible, cela suggère que le digestat stimule bien l'activité biologique des paramécies, possiblement en améliorant leur milieu ou en leur fournissant des nutriments favorisant leur mobilité. Il reste une incertitude sur la validité de cette observation. Une tendance similaire est observée après 2 semaines ce qui pourrait confirmer cet effet au cours du temps.

Cette augmentation de vitesse peut s'expliquer par plusieurs facteurs. Le digestat est riche en matière organique et en nutriments essentiels, qui peuvent favoriser la croissance et l'activité des micro-organismes présents dans le milieu. Les paramécies pourraient prélever ces nutriments ce qui pourrait stimuler leur métabolisme et, ainsi leur motilité.

Cependant le faible nombre de paramécie observable laisse penser que nos conditions de conservation n'étaient pas satisfaisantes. Nous n'avons pas eu la possibilité de conserver les paramécies entre 13°C et 15°C comme conseillé et notre culture n'étant pas stérile, nous avons préféré la conserver à 4°C pour éviter la prolifération de bactéries. Une culture stérile à 15°C est nécessaire pour étudier à long terme l'effet du digestat.

## **Conclusion**

L'objectif de cette étude était de comprendre l'impact de l'épandage de digestat, notamment de fumier de vache, sur la croissance des plantes et l'activité de la microfaune du sol. Nos résultats montrent que l'application de digestat stimule effectivement la croissance de l'orge d'hiver, avec une augmentation significative de la masse sèche des parties aériennes des plantes proches des zones d'épandage.

Cette observation est cohérente avec les propriétés nutritives du digestat, riche en azote, phosphore et potassium, qui favorisent la croissance végétale.

Les résultats concernant l'effet du digestat sur la microfaune aquatique en particulier les paramécies, sont difficiles à interpréter mais suggèrent la possibilité d'un impact positif sur leur activité biologique.

Bien qu'il présente un potentiel agronomique intéressant, nécessite une évaluation plus approfondie et contrôlée pour mieux comprendre ses effets à long terme sur la biodiversité du sol et la santé des écosystèmes.

### **Perspectives**

Une piste d'approfondissement de notre étude consisterait à comparer l'impact du digestat issu de la méthanisation des microalgues avec celui du fumier, en tenant compte de leurs avantages énergétiques [6 (page 6)] et des enjeux toxicologiques [7 (pages 26-34)]. Le rendement énergétique des microalgues est nettement supérieur à celui du fumier, ce qui en fait une ressource prometteuse pour la production de biogaz. De plus, leur digestat est plus riche en nutriments lipidiques [6 (page 31-33)].

Cependant, ce potentiel ne doit pas occulter la présence possible de cyanotoxines (microcystine-LR, anatoxine-a, cylindrospermopsine) dans le digestat de microalgues, connues pour leur forte toxicité. Ces composés pourraient affecter la microfaune du sol, notamment les paramécies, indicatrices de la qualité écologique des sols.

Il serait donc pertinent de mener des études comparatives, en exposant des populations de paramécies à différentes concentrations de digestats de microalgues et de fumier, afin de déterminer leurs seuils de tolérance et les effets biologiques (croissance, mobilité, stress cellulaire).

Par ailleurs, [a] bien que nous ayons été en contact avec une équipe spécialisée dans les microalgues, qui proposait l'envoi d'échantillons pour une analyse par fractionnement, nous n'avons pas pu en obtenir. Malgré des retours initiaux positifs, certaines entreprises productrices, comme Fermentalg, ont finalement refusé de collaborer en raison de la confidentialité liée à leurs procédés. De plus, l'absence de recherches actuelles en laboratoire sur ce type spécifique de digestat, y compris dans des instituts spécialisés tels qu'AgroParisTech, l'INRAE ou ONIRIS, constitue un frein supplémentaire à son étude approfondie. Cette analyse permettrait d'identifier les composants toxiques et leurs effets sur la microfaune. L'intégration de ces données dans des modèles prédictifs permettrait d'anticiper les effets à long terme de ces digestats sur les sols.

Allier les performances énergétiques des microalgues à une évaluation rigoureuse de leurs impacts écotoxicologiques pourrait ouvrir la voie à une valorisation durable de ces ressources, dans une optique de transition énergétique et de préservation de la biodiversité [b].

Enfin, une autre perspective serait d'étudier l'impact du digestat sur la décomposition de la matière organique, le cycle des nutriments et la diversité du microbiome du sol [c]. En élargissant l'analyse au-delà des paramécies, cette approche permettrait de mieux comprendre les interactions entre apports nutritionnels et risques toxiques, et ainsi optimiser l'usage du digestat pour la fertilité et l'énergie.

### **SOURCES BIBLIOGRAPHIQUES, WEB et CONTACTS**

[1] MENoud, Malika, et al. (2024, 25 septembre). La bonne nouvelle, c'est qu'il est possible d'agir sur les émissions de méthane d'origine humaine, Le Monde. Consulté le 3 octobre 2024. [https://www.lemonde.fr/idees/article/2024/09/25/la-bonne-nouvelle-c-est-qu-il-est-possible-d-agir-sur-les-emissions-de-methane-d-origine-humaine\\_6332761\\_3232.html](https://www.lemonde.fr/idees/article/2024/09/25/la-bonne-nouvelle-c-est-qu-il-est-possible-d-agir-sur-les-emissions-de-methane-d-origine-humaine_6332761_3232.html).

[2] MORA SALGUERO, Francisco. (2024). Impact des apports répétés de digestats de méthanisation sur les communautés microbiennes du sol : approches métagénomiques et fonctionnelles. Thèse de doctorat, Université de Lorraine, Nancy. Consulté le 15 novembre 2024. Pages 49 et 56-62 [https://theses.hal.science/tel-04977134v1/file/140638\\_MORA\\_SALGUERO\\_2024\\_archivage.pdf](https://theses.hal.science/tel-04977134v1/file/140638_MORA_SALGUERO_2024_archivage.pdf)

[3] Institut Agro Dijon. (s.d.). Impact des digestats de méthanisation sur la qualité biologique des sols agricoles : nécessité de générer de nouvelles données pour objectiver, Institut Agro Dijon. Consulté le 18 octobre 2024. <https://www.institut-agro-dijon.fr/impact-digestats-sols-agricoles>.

[4] INRAE. (2021, 30 août). Que sait-on vraiment de l'impact des digestats de méthanisation sur la biodiversité des sols ? INRAE. Consulté le 25 octobre 2024. <https://www.inrae.fr/actualites/que-sait-impact-digestats-biodiversite-sols>.

[5] INFOMÉTHA. (s.d.). Effets des digestats utilisés en agriculture sur les sols et les cultures, INFOMÉTHA. Consulté le 2 novembre 2024. <https://www.infometha.org/effets-digestats-agriculture>.

[6] ROCHA, Nascimento. (2024). Optimisation structurelle et opératoire de procédés de valorisation thermochimique de biomasse algale. Thèse de doctorat, Université de Pau et des Pays de l'Adour, École doctorale des Sciences Exactes et leurs Applications. Consulté le 7 novembre 2024. Pages 6 et 31-33. <https://theses.hal.science/tel-04548336v1/document>.

[7] DERONGS, Lorine. (2021). Impact de la méthanisation agricole mésophile voie liquide sur le devenir de Clostridia pathogènes et de gènes de résistance aux antibiotiques. Thèse de doctorat, Institut national d'enseignement pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement – École interne AGROCAMPUS OUEST. Consulté le 14 décembre 2024. Pages 28-34. [https://hal.inrae.fr/tel-03543775/file/Thèse%20de%20doctorat\\_Lorine\\_Derongs\\_23-07-21.pdf](https://hal.inrae.fr/tel-03543775/file/Thèse%20de%20doctorat_Lorine_Derongs_23-07-21.pdf).

## **CONTACTS :**

[a]: P.Y PONTALIER, Professeur de l'ENSIACET, Président de comité d'organisation WFC14, de la SF2P et de l'INDEFI [pierreyves.pontalier@ensiacet.fr](mailto:pierreyves.pontalier@ensiacet.fr) et son collègue Mr J.D. BAILLY [jean-denis.bailly@envt.fr](mailto:jean-denis.bailly@envt.fr)

[b] : Mme Mereille BETERMIER, Directrice de Recherche – CNRS- [mireille.betermier@i2bc.paris-saclay.fr](mailto:mireille.betermier@i2bc.paris-saclay.fr)

[c] : Nicolas DAGORN, ingénieur bioressources — 0670315783, [n.dagorn@arvalis.fr](mailto:n.dagorn@arvalis.fr)

## **Remerciements**

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui nous ont accompagnés, soutenus et conseillés tout au long de la réalisation de ce Travail d'Initiative Personnelle Encadré.

Nous remercions tout particulièrement Auriane EISENBERG, qui a eu la gentillesse de nous fournir un champ pour nos expérimentations. Son engagement et sa disponibilité ont été déterminants pour la mise en place de notre dispositif d'étude sur le terrain. Grâce à elle, nous avons pu travailler dans des conditions réelles, ce qui a fortement enrichi la portée de notre projet.

Nous tenons également à exprimer notre gratitude à Mr PETIT, qui nous a fourni le digestat utilisé dans nos expérimentations. Son aide précieuse nous a permis d'avoir accès à une ressource essentielle pour nos travaux, tout en nous sensibilisant à ses enjeux pratiques et environnementaux.

Nous remercions aussi vivement le technicien du laboratoire, dont l'assistance a été particulièrement précieuse. Il nous a mis à disposition le matériel nécessaire, notamment la verrerie de chimie, et nous a guidés dans son utilisation avec professionnalisme et bienveillance. Son soutien technique a grandement facilité la partie expérimentale de notre projet.