

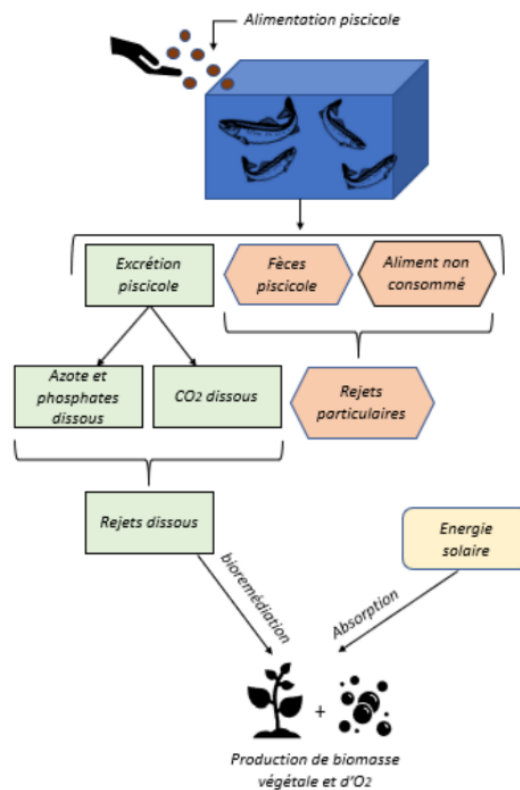
L'aquaculture peut se définir comme étant la culture d'espèces aquatiques comme les poissons, les crustacés, les mollusques et les plantes aquatiques dans un environnement choisi et contrôlé (Bouelet Ntsama et al., 2018). Ce mode de culture est apparu en Chine il y a plus de 4 000 ans avec l'élevage de la carpe. En 2018, il représentait 46 % de la production mondiale de produits aquatiques avec 82 millions de tonnes produites (Food and Agriculture Organization, 2018; Ahmad et al., 2021). Selon les experts de la FAO (Food and Agriculture Organization), ce chiffre devrait atteindre 109 millions de tonnes d'ici 2030. Le contexte de croissance démographique et l'augmentation de la demande en produits de la mer a accentué cette évolution. L'aquaculture apparaît également comme une alternative à la surexploitation des ressources halieutiques par l'industrie de la pêche (Ahmad et al., 2021).

Le développement de l'aquaculture à l'échelle mondiale est donc confronté à de nombreux enjeux d'ordres économiques, sociaux et environnementaux. L'intensification des systèmes aquacoles a conduit à une augmentation de la densité de poissons dans les bassins et à une distribution plus importante d'aliments. En conséquence, la production de déchets métaboliques et de matières en suspension (MES) a augmenté (Kwei Lin & Yi, 2003). Ces rejets piscicoles sont issus de la fixation partielle des nutriments. Les molécules inorganiques solubles que l'on peut retrouver dans l'eau comprennent les produits du cycle de l'azote (nitrates, nitrites, ammoniacque et ammonium), les orthophosphates et le CO₂ provenant du métabolisme de respiration des poissons (Dolomatov et al., 2011). Le rejet de ces éléments dans l'environnement a un impact direct sur l'eutrophisation du milieu naturel, notamment par la baisse de la teneur en dioxygène dissous dans l'eau et l'augmentation de la turbidité (Famoofo & Adeniyi, 2020; Kwei Lin & Yi, 2003; Vazirzadeh et al., 2022).

En France, la pisciculture fait l'objet d'une réglementation environnementale très stricte. Une étude d'impact doit notamment être menée avant installation et des règles d'exploitation encadrent la qualité des rejets. Des prescriptions générales applicables aux piscicultures sont données par l'arrêté ICPE (Installation Classée pour la protection de l'environnement) du 1er avril 2008. Le pH et la température des rejets doivent être conformes à la rivière. Le taux de saturation en dioxygène doit être au minimum de 70% dans le rejet. Des valeurs de concentration en moyenne sur 24h en différentiel amont/aval à ne pas dépasser sont données pour l'ammonium (0,5 mg/L), les nitrites (0,3 mg/L) et les phosphates (0,5 mg/L). De plus, les MES ne doivent pas dépasser une concentration moyenne sur 24h de 15 mg/L. Les nitrates, quand à eux, ne sont pas excrétés directement par les poissons. Ils sont issus de la métabolisation de l'ammoniacque excrété, par des bactéries présentes dans l'eau. Les nitrates sont réglementés par la "Directive Nitrates" qui s'applique à l'échelle de l'union européenne.

Pour réduire son impact environnemental et améliorer son image, le groupe Aqualande qui est le leader européen de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) a décidé de mettre en place un projet autour des problématiques de bioremédiation. La bioremédiation correspond à l'utilisation d'organismes vivants pour biotransformer les sels nutritifs dissous et le CO₂ présents dans les eaux usées. En effet, les algues et les plantes utilisent le CO₂ excrété par les poissons pour leur activité photosynthétique. Elles absorbent également les phosphates, les nitrates, l'ammoniacque et les oligoéléments présents dans l'eau, dont elles se servent comme nutriments. Cette phytoremédiation s'accompagne d'une production de biomasse (Ahmad et

al., 2021). Lorsque ces cultures de plantes sont associées à de l'aquaculture, il s'agit d'AMTI (Aquaculture Multitrophique Intégrée). L'enjeu principal de ces systèmes est de permettre le développement d'une aquaculture durable et de pérenniser les exploitations piscicoles.



Principe de la phyto-rémediation en aquaculture

Le projet “Algues” est un programme de recherche appliquée, qui est géré par le pôle innovation du groupe Aqualande. L'équipe de recherche et développement (R&D) est implantée sur plusieurs sites, notamment la Ferme Marine du Soleil (FMDS) situé sur l'île d'Oléron en Charente-Maritime et les Truites de la Côte d'Argent (LTCA) basé à Mézos dans les Landes.

Dans le cadre de la spécialisation “Sciences halieutiques et aquacoles” d'Agrocampus Ouest Rennes, j'ai effectué mon stage de fin d'étude pendant six mois au sein de l'équipe R&D du site de Mézos, lors duquel j'ai participé à l'entretien et au développement d'une pépinière de callitriches et testé le potentiel de bioremédiation de cette macrophyte d'eau douce en bassin de décantation. Aqualande souhaite à long terme que ce système AMTI soit transposable aux autres sites piscicoles du groupe. Nous pourrions donc nous demander comment optimiser la culture de la callitriche en pépinière et en bassin de décantation et quels moyens peuvent être mis en oeuvre pour améliorer le processus de bioremédiation en circuit ouvert.

L'entreprise Aqualande est issue de la création d'une coopérative par un groupe de pisciculteurs landais en 1981. Le territoire landais était idéal pour l'aquaculture d'eau douce en raison de la qualité d'eau et des débits des rivières présentes. L'entreprise est devenue en

quelques décennies le premier éleveur-transformateur de truites arc-en-ciel en Europe et a développé ses activités pour acquérir la maîtrise complète de la filière : la reproduction, la sélection génétique, l'élevage, la transformation, la commercialisation. Le groupe produit environ 15 000 tonnes de truites par an, soit près de 37% de la production française en 2018. Il est également le premier producteur mondial de truites fumées avec 4 000 tonnes produites par an et représente 75 % de la truite fumée commercialisée en France. Le groupe comprend aujourd'hui 48 sites de production basés essentiellement dans le sud-ouest de la France et en Espagne. En 2020, Aqualande a réalisé un chiffre d'affaires de 147 millions d'euros, dont 11 millions par Les Truites de la Côte d'Argent. Plus de 1 000 personnes sont employées dans l'entreprise dont 166 sur les sites piscicoles et 700 dans les usines et les bureaux.

La pisciculture de Mézos est organisée en 13 lignes. La majorité est composée de 3 bassins d'élevage, suivis de 2 bassins de décantation. Les poissons sont triés en fonction de leur poids dans les différents bassins. La rivière Le Courlis assure l'approvisionnement en eau du circuit ouvert. L'eau est d'abord oxygénée, grâce à des tubes en U, avant de circuler dans le canal d'entrée pour être distribuée aux différentes lignes. En sortie de pisciculture, le canal de sortie renvoie l'eau utilisée dans le lit de la rivière. Le débit de la pisciculture varie entre 2 000 et 3 500 L/s en fonction de la saison. 1 000 tonnes de poissons sont produites par an sur une surface de bassins d'environ 33 000 m². Plus ou moins 500 000 poissons sont actuellement présents sur le site et représentent un stock d'environ 500 tonnes. Les poissons arrivent sur la pisciculture avec un poids moyen de 150 g et sont nourris pendant 18 mois pour atteindre un poids moyen de 2,2 kg. Les poissons sont ensuite abattus et fumés dans les usines de Roquefort et de Sarbazan.

La macrophyte d'eau douce *Callitriche obtusangula* a été choisie en 2019 pour la bioremédiation car elle était présente naturellement autour de la pisciculture et dans d'autres sites piscicoles du Sud-Ouest, ce qui évitait l'importation de plantes non endémiques. Elle se caractérise également par sa robustesse car elle est capable de grandir sans support et se maintient durant la saison hivernale.

Les callitriches sont des macrophytes qui appartiennent au groupe des Angiospermes et à la famille des *Callitrichaceae* (INPN, 2022). Ce sont généralement des espèces aquatiques, mais la plupart ont une forme amphibie (Erbar & Leins, 2004). Il existe environ 50 espèces de callitriches dans le monde, qui sont préférentiellement présentes dans l'hémisphère Nord (Philbrick & Les, 2000 ; Augustynowicz et al., 2010). Elles sont généralement caractérisées par leur hétérophylie, c'est-à-dire qu'elles peuvent présenter des feuilles d'au moins deux types différents (Koga et al., 2020). Ce phénomène dépend essentiellement des conditions environnementales. A faible profondeur, la plante a tendance à s'étendre, cherchant à occuper toute la surface disponible. Lorsque la densité est trop élevée, cet étalement peut être limité par le manque de surface ou de lumière. A plus grandes profondeurs, la plante a tendance à coloniser la colonne d'eau en essayant de remonter à la surface. Dans les rivières, elle peut former des coussins denses monospécifiques ou se développer avec d'autres espèces aquatiques, comme les lentilles d'eau. Dans le cas de *Callitriche obtusangula*, les plants immergés ont souvent des feuilles lancéolées ou linéaires et de longs entre-nœuds. Les plantes dont la tige principale pousse au-dessus de l'eau ont des entrenœuds plus courts ; les feuilles ont une forme

elliptique formant des rosettes. La ramification importante des feuilles immergées permet aux callitriches d'augmenter la surface de contact avec la colonne d'eau et donc de maximiser les échanges de gaz et d'éléments dissous (Euzen et al., 2015). Les callitriches sont des plantes phanérogames ; elles présentent des organes de reproduction apparents et peuvent former des fleurs et des graines. La reproduction se fait par hydrogamie, c'est-à-dire que la fécondation a lieu dans l'eau ou à la surface de l'eau. Les fleurs sont unisexuées et se présentent soit individuellement soit en paire avec une fleur mâle et une fleur femelle (aquaportail, 2022).

Plusieurs paramètres influencent la croissance des callitriches. La température est un facteur important, notamment car elle influence la distribution des organismes dans l'environnement. Les callitriches sont des plantes sensibles à la température. Une étude menée par Torben L. Lauridsen et ses collaborateurs a permis de mettre en évidence l'influence de la température sur la croissance de *Callitriche hamulata* (2019). Différentes températures de croissance ont été testées (5, 10, 15 et 20°C). Il a été montré que la température de croissance n'a pas d'effet significatif sur le taux de croissance relatif entre 5 et 10°C. En revanche, le taux de croissance relatif était significativement plus élevé à 20°C. Le taux d'allongement de la tige a quant à lui connu une augmentation significative entre 5 et 15 °C. Les jeunes pousses étaient d'autant plus sensibles à ces variations de température. Le taux de croissance relatif était plus élevé pour une forte intensité lumineuse. En outre, aucune interaction entre la lumière et la température n'a été observée. Ces résultats viennent confirmer les conclusions faites par Olesen et Madsen en 2001. Ces derniers ont étudié les effets interactifs de la température et de la disponibilité du carbone inorganique sur l'acclimatation photosynthétique et la croissance de *Callitriche cophocarpa*. La croissance des plantes a été testée à 7, 15 et 25°C avec des concentrations en CO₂ différentes allant de 0,06 à 22,4 mg/L. Les résultats obtenus montrent que le taux de croissance relatif peut augmenter jusqu'à 4,5 fois avec l'augmentation de la température et de la disponibilité du carbone inorganique. Les sensibilités à la température et au carbone organique sont donc corrélées positivement. Des effets significatifs de la température et du carbone inorganique ont également été observés sur la capacité photosynthétique des plantes.

L'objectif à long terme de la pépinière est d'alimenter en plants de callitriches les bassins de décantation pour permettre une bioremédiation des effluents d'élevage. Celle-ci est installée dans un hangar de la pisciculture de Mézos, ce qui permet un contrôle des conditions de croissance. Les plantes peuvent se multiplier indépendamment des saisons et des conditions piscicoles (stock, alimentation). Une partie de mon stage a porté sur la recherche des conditions optimales de croissance pour la production de callitriches : la qualité de l'eau, le mode de culture, la fertilisation, la lumière. Une fois les conditions optimales trouvées, l'objectif a été de les stabiliser pour permettre une standardisation puis un agrandissement du système.

Deux modes de culture ont été testés en pépinière pour le développement des callitriches : les auges et le NFT (Nutrient Film Technique ou technique de culture sur film nutritif). Le système hydraulique de la pépinière fonctionne en circuit fermé. L'eau est recirculée en continu dans les différents réservoirs et l'apport d'eau neuve à chaque cycle doit être minimisé pour ne pas diluer le milieu de culture. Le volume total du système est d'environ 2500 L. A chaque début de cycle, le système est rempli d'eau neuve provenant d'un forage creusé à 30 m de

profondeur. L'eau neuve coule directement dans un réservoir tampon puis dans une cuve de réserve. Elle est ensuite redistribuée vers les auges et le système NFT. La distribution de l'eau dans les auges est gravitaire et la recirculation de l'eau se fait par pompe. Une pompe de recirculation est placée dans un bac tampon pour envoyer l'eau dans la cuve de réserve et une autre pompe permet d'alimenter la boucle NFT.

Un cycle de culture en pépinière dure deux semaines. Au début de chaque expérience, l'eau de la pépinière est purgée et le système est entièrement nettoyé puis rempli d'eau neuve. L'ensemencement des auges et des gouttières se fait avec des callitriches prélevées directement sur le site de Mézos. Elles sont collectées soit dans la rivière Le Courlis à l'entrée de la pisciculture, soit dans les autres bassins de décantation. Elles sont lavées pour éliminer les sédiments puis essorées à l'aide d'une centrifugeuse. Elles sont ensuite pesées et réassemblées en bouquets. A la fin de chaque cycle, les bouquets sont collectés, essorés et pesés. La surface de l'auge occupée par les callitriches est également suivie pendant l'expérience. Ce suivi a pour but d'utiliser une autre grandeur qualitative que la masse pour décrire la croissance des plantes et de vérifier s'il y a une corrélation entre le gain de masse et le gain de surface.

D'après les résultats obtenus, nous pouvons conclure que les auges sont les réservoirs les plus adaptés pour la culture indoor de callitriches. Elles offrent une plus grande surface pour le déploiement des plantes dans l'eau. En ce qui concerne le type d'éclairage utilisé, l'objectif était de déterminer si les plantes poussaient mieux sous une lampe HPS ou des lampes LED. Les expériences ont montré que les meilleures croissances ont été obtenues en utilisant des lampes HPS. Cependant, ce type d'éclairage consomme de l'énergie et produit une chaleur inutile. Il a donc été décidé de poursuivre les expériences avec des lampes LED Sunlight. Plusieurs paramètres physico-chimiques ont également pu être stabilisés au cours de nos expériences. Nous concluons que l'engrais adapté pour la croissance des callitriches est le Novamax Grow car il a davantage comblé les besoins nutritionnels de plantes que l'Universol purple. Nous avons également pu stabiliser le KH en utilisant un système de goutte-à-goutte pour ajouter des carbonates. Ainsi, nous avons évité les grandes variations de pH qui auraient pu affecter la croissance des callitriches. Il a également été décidé de rajouter quotidiennement au milieu de l'acide citrique pour éviter les augmentations de pH.

En plus de la production de callitriches en pépinière, notre équipe a développé de nouveaux supports de culture pour l'ensemencement et la culture de callitriches dans le bassin de décantation de la ligne 1. Ces supports sont constitués de poches à huîtres remplies de substrat. Ces poches sont maintenues entre la surface et le sol grâce à un système de flotteurs et de cordes. Au total, 600 poches à huîtres ont été préparées pour ensemer une surface totale de 320 m². La surface totale occupée par les flotteurs et les poches à huîtres s'élève à 640 m², ce qui correspond à 67% de la surface des bassins. D'après les premiers résultats, nous pouvons conclure que l'ensemencement du bassin a été un succès. La surface de recouvrement des supports de culture est passé de 17,3 % à 83,7 % entre le 22/04 et le 27/06. Les callitriches avaient alors largement colonisé la surface de l'eau. Plusieurs fauches ont donc été décidées en juillet pour améliorer la bioremédiation et éviter une dégradation des plantes dans les bassins.

Un suivi journalier de la qualité de l'eau est réalisé en amont et en aval des bassins de décantation. Pour chaque échantillon, une quantification de l'azote ammoniacal (N-NH₃), de

l'azote nitreux (N-NO₃) et du phosphore (P-PO₄³⁻) est réalisée. Concernant les résultats, on peut conclure que la bioremédiation est maximisée lorsque les callitriches sont en croissance. Les deltas de concentration obtenus sont hétérogènes. Les concentrations d'ammoniaque, de nitrates et de phosphates ont été réduites dans l'eau pendant les mois d'avril et de mai. Les résultats ont été également encourageants pour le mois de juillet. Nous nous demandons si ces résultats sont davantage liés à la méthode d'échantillonnage qu'à un effet de la temporalité. Il est nécessaire de continuer les analyses d'eau à plus long terme pour confirmer une tendance. Les résultats d'août et de septembre seront intéressants à analyser puisqu'ils permettront de confirmer l'effet des fauches sur la bioremédiation.