

EFFICACITÉ DE LA PAILLE D'ORGE POUR LE TRAITEMENT DES PROLIFÉRATIONS ALGALES

Mars 2009



Étude réalisée par Martin Laviale

Etude réalisée dans le cadre de la convention de coopération n° 64556 entre l'Agence de l'Eau Artois-Picardie et l'Université des Sciences et Technologies de Lille I pour la période 2008 - 2010.

Etude réalisée par Martin LAVIALE

Référence bibliographique :

LAVIALE M., 2009. Efficacité de la paille d'orge pour le traitement des proliférations algales. Rapport scientifique. Agence de l'Eau Artois-Picardie et Université des Sciences et Technologies de Lille I, UMR CNRS 8016, 26 p.

Efficacité de la paille d'orge pour le traitement des proliférations algales

Rapport final



Martin LAVIALE

Laboratoire Génétique et Evolution des Populations végétales
GEPV – UMR CNRS 8016
Université des Sciences et Technologies de Lille – Lille 1
Contact : anne.creach@univ-lille1.fr

Mars 2009

Remerciements

Ce travail a été réalisé dans le cadre d'un stage post-doctoral financé à 50% par l'Agence de l'Eau Artois-Picardie dans le cadre de la convention de coopération 64556 avec l'Université Lille 1.

Je remercie Joël CUGUEN, directeur du laboratoire de Génétique et Evolution des Populations Végétales (UMR CNRS 8016, Université Lille 1), pour avoir bien voulu m'y accueillir.

Je remercie Frédéric RIMET (Station INRA de Thonon les Bains, UMR CARRTEL 042) et Sébastien LEMIERE (Laboratoire d'Ecologie Numérique et Ecotoxicologie LENE, Université Lille 1) pour m'avoir gracieusement fourni certaines des cultures algues étudiées.

Enfin, mes remerciements s'adressent à Anne CREACH (UMR CNRS 8016), Alain LEPRETRE (LENE) et Jean PRYGIEL (Agence de l'Eau Artois-Picardie) qui ont permis la mise au point de ce projet.

Résumé

Ces dernières années, plusieurs épisodes de proliférations de cyanobactéries toxiques ont été relevés au niveau de la base nautique des Prés du Hem. La présente étude visait à mieux cerner en conditions contrôlées au laboratoire les effets de la paille d'orge, préalable indispensable à une éventuelle mise en place sur le terrain de cette technique comme moyen préventif de lutte contre la prolifération d'algues et de cyanobactéries. Des tests écotoxicologiques ont été réalisés sur des cultures monospécifiques représentatives des grands taxons retrouvés en milieu naturel : les diatomées *Navicula accomoda* et *Navicula* sp., les cyanobactéries *Anabaena flos-aquae* et *Microcystis aeruginosa* et les algues vertes *Chlorella vulgaris* et *Pseudokirchneriella subcapitata*. Les cultures ont été incubées pendant 10 jours (20°C, 200 $\mu\text{mol photons m}^2 \text{ s}^{-1}$, 14h:10h) en présence d'extraits filtrés plus ou moins concentrés (5 et 10 g de paille sèche par litre d'eau) de paille d'orge ayant macérée au préalable en condition aérobie pendant 2, 4 et 6 semaines.

Nos résultats montrent que la paille d'orge a eu un effet algistatique statistiquement significatif sur la croissance ([chl *a*]) de *N. accomoda*, *Navicula* sp. et *M. aeruginosa* quels que soient la dose et le temps de macération testés. En revanche, le traitement a fortement stimulé la croissance de *A. flos-aquae* et dans une moindre mesure celle de *P. subcapitata*. Enfin ce traitement a été sans effet sur la croissance de *C. vulgaris*. Ces résultats sont encourageants mais nécessite d'être complétés en vue de la mise au point d'un protocole d'intervention sur le terrain dont les grandes lignes sont proposées (conditions environnementales et doses requises).

Table des matières

I.	Introduction	5
	a) <i>Contexte de l'étude</i>	5
	b) <i>Objectifs de l'étude</i>	5
II.	Synthèse bibliographique	6
	a) <i>Les nuisances liées aux algues</i>	6
	b) <i>Prévention, contrôle et élimination</i>	6
	c) <i>Utilisation de la paille d'orge sur le terrain</i>	7
	d) <i>Mode d'action de la paille d'orge</i>	8
	e) <i>Sélectivité de la paille d'orge</i>	9
III.	Matériels et Méthodes	10
	a) <i>Préparation des cultures de microalgues</i>	10
	b) <i>Préparation des extraits de paille</i>	10
	c) <i>Bioessais écotoxicologiques</i>	12
	d) <i>Statistiques</i>	13
IV.	Résultats	14
	a) <i>Effet de la paille d'orge : comparaison par rapport aux témoins</i>	14
	b) <i>Effet de la dose</i>	16
	c) <i>Effet du temps de macération</i>	16
V.	Discussion	18
VI.	Conclusion et perspectives	20
VII.	Bibliographie	23
VIII.	Résultats bruts	26

I. Introduction

a) Contexte de l'étude

Ces dernières années, plusieurs épisodes de proliférations de cyanobactéries toxiques ont été relevés au niveau de la base nautique des Prés du Hem. Conformément à la réglementation en vigueur, les effets nocifs potentiels en termes de santé publique ont conduit les gestionnaires du site à en interdire son accès au public en 2007, habituellement très important en période estivale. C'est dans ce contexte que l'Espace Naturel Lille Métropole a sollicité l'aide de l'Agence de l'Eau Artois-Picardie pour la mise en œuvre de traitements préventifs et curatifs contre le développement de ces efflorescences au niveau du chenal d'amenée des eaux. Parmi les traitements envisagés (chaux, bioadditifs), la paille d'orge a été testée.

b) Objectifs de l'étude

Parallèlement à des expérimentations menées *in situ* par le syndicat Mixte, la présente étude visait à mieux cerner les effets de la paille d'orge sur le développement de microalgues et de cyanobactéries cultivées au laboratoire. Pour ce faire, une synthèse bibliographique a été effectuée sur la base des tests menés en milieu naturel et en laboratoire et sur les retours d'expérience disponibles dans la littérature. Puis des tests écotoxicologiques ont été réalisés sur des cultures monospécifiques représentatives des grands taxons retrouvés en milieu naturel (algues vertes, diatomées, cyanobactéries). La mise au point d'un protocole expérimental facilement reproductible ultérieurement a permis de tester différentes conditions de dégradation de la paille (durée, dose). Les objectifs de cette étude étaient d'une part de vérifier l'efficacité du produit sur les communautés algales, et d'autre part de préciser les conditions optimales d'utilisation de la paille d'orge (conditions environnementales et doses requises) de façon à pouvoir proposer les grandes lignes d'un protocole d'intervention.

II. Synthèse bibliographique

a) Les nuisances liées aux algues

Les problèmes liés aux efflorescences sont multiples et peuvent aller de l'asphyxie causée par la consommation excessive d'oxygène par les microorganismes décomposeurs à des problèmes d'ordre esthétique dans des aires récréatives quand il y a formation d'écumes malodorantes. En outre, les efflorescences peuvent aussi amener à une augmentation considérable des coûts de traitement d'eau pour en éliminer la couleur et les odeurs dans le cas de la production d'eau potable, ou à cause de l'obstruction des filtres dans les stations de pompage. Lorsque les efflorescences sont dominées par des espèces de cyanobactéries, d'autres problèmes liés au fait qu'elles sont potentiellement toxiques peuvent apparaître (Paerl & Huisman 2008).

b) Prévention, contrôle et élimination

L'utilisation d'algicides chimiques constitue une méthode très efficace pour éliminer tous types d'algues. (planctoniques, filamenteuses...). Ce sont le plus souvent des produits à base de cuivre qui agissent par contact (sulfate de cuivre). Néanmoins, l'impact de ces produits sur le reste de l'environnement n'est pas négligeable. Il existe également des colorants organiques de synthèse, qui ne sont pas des algicides mais qui permettent de limiter la prolifération des algues en bloquant la pénétration de la lumière dans l'eau et ainsi l'activité photosynthétique nécessaire à la croissance des algues (Morin 2007). De manière générale, les coûts pour éliminer des blooms d'algues nuisibles une fois qu'ils se sont développés peuvent être énormes et dans la plupart des cas se limiteront à l'élimination des cyanobactéries mais pas des toxines déjà libérées dans l'eau (Khorus et al. 1999). Pour les contrôler il est donc préférable d'agir avant que ceux-ci ne se forment. Différentes options sont proposées (Morin 2007) :

- limiter l'eutrophisation du milieu en contrôlant les apports en éléments nutritifs au niveau des eaux de surface ;
- supprimer la stratification de la masse d'eau par le mélange artificiel (ex. par injection d'air comprimé dans le fond du lac) ;
- mettre en place un traitement préventif biologique (bioadditifs, paille d'orge).

c) Utilisation de la paille d'orge sur le terrain

Les premières preuves démontrant l'efficacité de l'utilisation de la paille d'orge pour le contrôle des algues en milieu dulçaquicole remontent au début des années 1980 (Welch et al. 1990). L'intérêt envers cette technique s'est accentué au début des années 1990, en particulier au Royaume-Uni où elle a été élaborée et appliquée dans la majorité des cas avec succès pour traiter des lacs et étangs de taille variable, des rivières, des réservoirs ou encore des fossés de drainage (Welch et al. 1990 ; Barrett & Newman 1993 ; Everall & Lees 1996, 1997 ; Harriman et al. 1997 ; Barrett et al. 1999 ; Caffrey & Monahan 1999 ; Ridge et al. 1999 ; mais voir Kelly & Smith 1996 et Ferrier et al. 2005). Aux Etats-Unis et au Canada, les résultats obtenus ont été plus contrastés (Nicholls et al. 1995 ; Lembi 2002 ; Boylan & Morris 2003 ; Butler et al. 2005 ; Geiger et al. 2005 ; Spencer & Lembi 2007). Les conclusions tirées de ces travaux montrent que l'efficacité de ce traitement dépend de plusieurs facteurs et que son application nécessite une mise au point spécifique en fonction des conditions physicochimiques rencontrées sur le terrain (température, turbidité...). D'après des travaux réalisés dans des réservoirs au Royaume-Uni, Newman (1999) propose un excellent résumé de cette technique notamment en ce qui concerne les quantités, les fréquences et autres facteurs de réussite essentiels. Il insiste tout particulièrement sur les points suivants :

- La paille d'orge n'a pas l'efficacité d'un algicide et ne peut pas éliminer les algues d'un milieu fortement envahi, elle s'utilise davantage comme moyen préventif qui affecte leur croissance (algistatique). Ce traitement doit donc démarrer en amont de la période habituelle de développement du bloom.
- La dose de paille ($10 \text{ à } 500 \text{ g/m}^2$) doit être adaptée en fonction de la surface (et non du volume) du plan d'eau à traiter. Même si le rôle joué par la lumière reste à élucider, il semble primordial. De plus, les produits de dégradation sont efficacement adsorbés par les particules sédimentaires vaseuses, limitant ainsi l'action de la paille en milieu turbide ou bien lorsqu'elle se trouve au contact du sédiment. Dans cette logique, il est recommandé de disposer la paille dans des filets équipés de flotteurs de manière à être maintenue en surface.
- La décomposition de la paille doit s'effectuer en condition aérobie (i.e. milieu oxygéné) et une circulation d'eau minimale doit permettre la diffusion des produits de dégradation.
- La fréquence du renouvellement de la paille doit être ajustée en fonction de la vitesse de sa dégradation. Liée à l'activité microbienne, celle-ci est principalement influencée

par la température. Au dessus de 20°C, la paille est dégradée plus rapidement, son action pouvant se faire sentir dès 4 à 5 semaines. L'auteur recommande alors de renouveler le stock de paille au bout de 4 à 6 mois. A température plus basse, le traitement est plus long à se mettre en place (8-10 semaines) mais nécessite un renouvellement moins fréquent (8-10 mois). A noter que ce processus peut également être influencé par la disponibilité en nutriments.

Plusieurs études ont par ailleurs démontré que ce traitement ne présentait pas d'effet nocif à court terme sur les autres composants de l'écosystème : macrophytes, invertébrés benthiques, poissons (Everall & Lees 1996 ; Boylan & Morris 2003 ; Barkoh et al. 2008) ... La paille d'orge apparait donc comme un outil efficace de lutte biologique contre les algues dans les eaux de surface, justifiant que bon nombre d'universités et d'agences gouvernementales aient produit des documents d'information sur son utilisation (*e.g.* Lembi 2002 ; Morin 2007) et que certaines entreprises vendent de la paille sous forme d'extrait ou en sacs.

d) Mode d'action de la paille d'orge

Parallèlement aux expérimentations menées sur le terrain, un certain nombre d'études ont été réalisées en conditions contrôlées au laboratoire sur des cultures de microalgues monospécifiques pour préciser le mode d'action de cette méthode (Geiger et al. 2005). Suite à la dégradation de la paille par les bactéries et les champignons, des composés phénoliques initialement localisés dans les parois des cellules végétales seraient libérés dans le milieu (Gibson et al. 1990 ; Pillinger et al. 1992). Un certain nombre de ces composés ont été identifiés et sont connus pour leur action inhibitrice de la croissance des algues (Pillinger et al. 1994 ; Everall & Lees 1996 ; Nakai et al. 2001). Néanmoins, la seule présence de ces composés phénoliques simples, qui sont en général faiblement concentrés, ne permet pas d'expliquer l'action prolongée de la paille (Ridge & Pillinger 1996). En revanche, la photooxydation de la lignine, un polyphénol majoritaire des parois végétales, en acides humiques et fulviques pourrait aboutir à la synthèse de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), une molécule hautement phytotoxique (Pillinger et al. 1994 ; Ridge & Pillinger 1996 ; Everall & Lees 1997). Le type particulier de lignine présente dans l'orge pourrait expliquer les différences d'efficacité constatées avec d'autres pailles (riz, blé... : Newman 1999 ; Ball et al. 2001 ; Choe et al. 2002 ; Park et al. 2006) ou encore suite à la dégradation de litières végétales (Pillinger et al. 1995 ; Ridge et al. 1999).

Une autre hypothèse a été avancée pour expliquer le succès de cette méthode. Au cours de sa dégradation, la paille constituerait une source de carbone qui serait utilisée par des

microorganismes jusque là limités par cet élément. Leur croissance entraînerait l'utilisation du phosphore présent dans l'eau et diminuerait ainsi sa disponibilité pour la croissance des microalgues et cyanobactéries (Geiger et al. 2005).

e) Sélectivité de la paille d'orge

L'efficacité de la paille d'orge a été vérifiée essentiellement en eau douce, mais on rapporte également quelques études en milieu saumâtre, voire salé (Terlizzi et al. 2002 ; Grover et al. 2007; Barkoh et al. 2008). Ces études ont montré que la paille d'orge possède un large spectre d'action puisqu'elle permet d'inhiber significativement la croissance de microalgues aussi bien planctoniques que benthiques, qu'elles soient unicellulaires, filamenteuses ou coloniales (Gibson et al. 1990 ; Martin & Ridge 1999). De même, il a été prouvé que la paille pouvait agir indifféremment d'un groupe taxonomique à l'autre, qu'ils s'agissent de cyanobactéries (*e.g. Microcystis aeruginosa* : Newman & Barrett 1993), de diatomées (*e.g. Asterionella* sp. et *Tabellaria* sp. : Barrett et al. 1996 ; Martin & Ridge 1999), d'algues vertes (*e.g. Cladophora glomerata* : Welch et al. 1990) ou de desmides (Martin & Ridge 1999). Du fait de la diversité des protocoles utilisés (quand ils sont clairement expliqués par les auteurs), les résultats obtenus sont difficilement comparables, rendant incertaine la détermination de manière absolue d'espèces plus sensibles que d'autres (Geiger et al. 2005).

III. Matériels et Méthodes

a) Préparation des cultures de microalgues

Six espèces représentatives ont été choisies. Elles ont déjà été étudiées car elles constituent une source potentielle de désagrément en cas d'efflorescence (tableau 1). La diatomée *Navicula accomoda* (SHL-107), les cyanobactéries *Anabaena flos-aquae* (SHL-79), et *Microcystis aeruginosa* (SHL-80), ont été obtenues auprès de l'algothèque de l'INRA de Thonon les Bains. La diatomée *Navicula* sp. a été isolée au laboratoire à partir d'un échantillon de périphyton prélevé au niveau du canal de la Deûle (Nord, France). Les algues vertes *Chlorella vulgaris* et *Pseudokirchneriella subcapitata* ont été fournies par Sébastien Lemièrre (Université Lille 1).

Chaque espèce a été mise en culture plusieurs semaines avant le début de l'expérience à 20°C en chambre de culture thermostatée à 200 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en cycle jour-nuit de 14h-10h. Elles ont été régulièrement repiquées dans du milieu WC (Guillard & Lorenzen 1972) afin d'être maintenues en phase exponentielle de croissance.

b) Préparation des extraits de paille

Des extraits ont été préparés à partir de paille d'orge (*Hordeum vulgare*) sèche préalablement découpée en morceaux de 2cm de long environ. La paille a été introduite dans un erlenmeyer en pyrex de 5L contenant 2,5L d'eau osmosée, le tout étant alors placé à l'obscurité en chambre de culture thermostatée.

8 extraits ont été préparés de manière indépendante dans le but de tester différentes conditions de décomposition de la paille :

- DOSE : la quantité de paille sèche initialement introduite,
- TEMPS : la durée de la période durant laquelle la paille se décompose,

Tableau 1 : Liste des 6 espèces étudiées et des dommages potentiels recensés sur le terrain en cas d'efflorescence. Les principaux travaux portant sur l'effet de la paille d'orge (paille, extrait, composés allélopathiques...) sur la croissance d'espèces appartenant au moins au même genre sont également indiqués (– : inhibition ; + : stimulation ; SE : sans effet significatif).

Classe	Genre - espèce	Nuisance(s) potentielle(s)	Effet de la paille d’orge sur la croissance		
Chlorophycées	<i>Chlorella vulgaris</i>	Réduction de l’accès à la lumière pour les autres producteurs primaires	<i>C. vulgaris</i>	–	Gibson <i>et al.</i> 1990
			<i>C. vulgaris</i>	–	Ridge & Pillinger 1996
			<i>C. vulgaris</i>	–	Holz <i>et al.</i> 2001
			<i>C. vulgaris</i>	SE	Ferrier <i>et al.</i> 2005
			<i>Chlorella</i> sp.	–	Pillinger <i>et al.</i> 1992
			<i>Chlorella</i> sp.	–	Ridge <i>et al.</i> 1999
		<i>Chlorella capsulata</i>	–	Brownlee <i>et al.</i> 2003	
		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> (<i>ex Selenastrum capricornutum</i>)		<i>S. capricornutum</i>	–
			<i>S. capricornutum</i>	+	Ferrier <i>et al.</i> 2005
Diatomophycées	<i>Navicula accomoda</i>	Obstruction des filtres	<i>Navicula</i> sp.	+	Ferrier et al. 2005
	<i>Navicula</i> sp.				
Cyanophycées	<i>Anabaena flos-aquae</i>	Obstruction des filtres Toxique Goût et odeur	<i>A. flos-aquae</i>	–	Martin & Ridge 1999
			<i>A. flos-aquae</i>	SE	Ferrier <i>et al.</i> 2005
			<i>A. cylindrica</i>	+	Martin & Ridge 1999
			<i>A. cylindrica</i>	SE	Holz <i>et al.</i> 2001
	<i>Microcystis aeruginosa</i>	Toxique Goût et odeur de l’eau	<i>M. aeruginosa</i>	–	Pillinger <i>et al.</i> 1992
			<i>M. aeruginosa</i>	–	Newman & Barret 1993
			<i>M. aeruginosa</i>	–	Ridge & Pillinger 1996
			<i>M. aeruginosa</i>	–	Martin & Ridge 1999
			<i>M. aeruginosa</i>	–	Ridge <i>et al.</i> 1999
			<i>M. aeruginosa</i>	–	Nakai <i>et al.</i> 2001
			<i>M. aeruginosa</i>	–	Ferrier <i>et al.</i> 2005
			<i>M. aeruginosa</i>	–	Waybright <i>et al.</i> 2008
			<i>Microcystis</i> sp.	–	Ball <i>et al.</i> 2001
			<i>Microcystis</i> sp.	–	Choe & Jung 2002

Afin d'inoculer les algues en apportant un même volume quelle que soit la dose d'extrait de paille étudiée, 2 concentrations nominales de paille, 10 et 20g L⁻¹, ont été testées en introduisant respectivement 25g et 50g de paille sèche dans 2,5L d'eau osmosée. Pour chaque dose, des erlenmeyers ont été maintenus à l'obscurité et à 20°C en chambre de culture thermostatée pendant 2, 4 ou 6 semaines. Un bullage constant et une agitation manuelle vigoureuse quotidienne ont permis de bien homogénéiser et oxygéner les solutions, quelle que soit la quantité de paille (*i.e.* le volume qu'elle occupait dans l'erlenmeyer) introduite. Au bout de 2, 4 ou 6 semaines selon les cas, la macération a été recueillie après filtration successive sur tamis, papier en microfibres de verre (GF/A puis GF/F Whatman) et enfin sur 0,2µm. Le filtrat obtenu a été conservé à 20°C jusqu'au lendemain.

c) Bioessais écotoxicologiques

Au cours de sa dégradation, la paille libère des composés phénoliques colorés qui pourraient influencer la croissance des algues en agissant comme un écran. Suivant les recommandations préconisées dans le cadre de la mise en place d'essais d'inhibition de la croissance algale, l'intensité lumineuse (200µmol photons m⁻² s⁻¹) a été choisie de manière à garantir une intensité lumineuse saturante (AFNOR 2006).

Chaque tube contenait initialement un volume final de 40mL comprenant : 20ml d'extrait de paille (soit une concentration finale de 5 ou 10g L⁻¹), 18mL de milieu WC préalablement stérilisé par autoclavage et 2mL de pré-culture de l'espèce étudiée. Pour les témoins, les 20mL d'extrait de paille ont été remplacés par du milieu WC.

Pour que l'essai soit valide, la durée de l'incubation doit être adaptée de manière à ce que l'augmentation de la densité cellulaire soit suffisante (AFNOR 2005). Les 6 cultures étudiées ne se divisant pas au même rythme, il aurait été trop contraignant de choisir une durée spécifique à chaque espèce. L'observation du comportement des pré-cultures a montré qu'une durée de 10 jours constituait un bon compromis puisque celles-ci se trouvaient toujours en phase exponentielle de croissance, quelle que soit l'espèce étudiée. Après l'inoculation, les tubes ont donc été incubés pendant 10 jours dans les mêmes conditions que celles utilisées pour la préparation des pré-cultures (20°C, 200µmol photons m⁻² s⁻¹ en cycle jour-nuit de 14h-10h) en agitant légèrement chaque tube 2 fois par jour.

Au bout de 10 jours, les cellules ont été récoltées sur GF/F par filtration sous vide léger (P<100mm Hg) de 5 à 20mL selon les cultures. Chaque filtre a été immédiatement placé dans un cryotube (Nunc) et le tout plongé dans l'azote liquide (-196°C) jusqu'au moment de l'analyse. La veille de l'analyse, les filtres ont été broyés à l'aide d'une tige en verre effilée

dans des tubes à essais jetables en verre contenant un volume final de 5mL d'acétone à 90%. Puis les broyats ont été placés au réfrigérateur (+4°C). Le lendemain, les tubes ont été centrifugés pendant 6min à 3000rpm. Les surnageants (contenant les chlorophylles et caroténoïdes solubilisés) ont été récupérés et filtrés à l'aide d'un filtre-seringue (0,2µm, Uptidisc PTFE). L'ensemble des étapes détaillées ci-dessus ont été effectuées en lumière faible ou tout du moins en protégeant l'échantillon de toute exposition directe à la source lumineuse et en le conservant dans la glace.

La concentration en chlorophylle *a* dans chaque surnageant a été calculée à partir de mesures d'absorption sur un spectrophotomètre (Shimadzu UV-VIS 1605) et des équations suivantes établies d'après Jeffrey et Humphrey (1975) :

- Microalgues vertes :
$$[Chl\ a] = \frac{v}{(V \times L)} \times (11,93DO_{664} - 1,93DO_{647})$$

- Diatomées :
$$[Chl\ a] = \frac{v}{(V \times L)} \times (11,47DO_{664} - 0,40DO_{630})$$

- Cyanobactéries :
$$[Chl\ a] = \frac{v}{(V \times L)} \times (DO_{664} \times \frac{1}{87,67})$$

Où [Chl *a*] = concentration en chl *a* (µg mL⁻¹)

v = volume de solvant initial (5mL)

V = volume de culture filtrée (5 à 20mL)

L = longueur du trajet optique (1cm)

DO₆₆₄ = densité optique du surnageant à 664nm

d) Statistiques

Les moyennes (± écarts types) ont été calculées à partir de 3 réplicats. L'analyse statistique des résultats a été effectuée en utilisant le logiciel R (v 2.6.1 : Ihaka & Gentleman 1996). L'effet des différents traitements (DOSE, TEMPS) a été vérifié à l'aide d'ANOVA (fonction *gls* de la librairie *nlme* : Pinheiro & Bates 2000) après avoir testé la normalité (test de Shapiro et Wilk) et l'homogénéité des variances (test de Levène). Si besoin, les données ont été transformées. Lorsque le test était significatif (p<0,05), des comparaisons multiples ont été effectuées à l'aide du test post-hoc de Tukey.

IV. Résultats

a) Effet de la paille d'orge : comparaison par rapport aux témoins

Les figures 1, 2, et 3 représentent, pour chacune des 6 espèces étudiées, les concentrations en chl *a* estimées au bout de 10 jours de culture pour chaque traitement appliqué (3 temps de macération × 2 doses d'extrait de paille) ainsi que les témoins correspondants. La paille d'orge a permis d'inhiber significativement par rapport au témoin la croissance des 2 diatomées étudiées (*Navicula* sp. et *N. accomoda*) quels que soient la concentration (5 et 10 g L⁻¹) et le temps de macération (2, 4 et 6 semaines) testés (figure 1). La croissance de la cyanobactérie *M. aeruginosa* a également été inhibée quelle que soit la dose après incubation avec un extrait de paille ayant macéré pendant 2 et 4 semaines (figure 1).

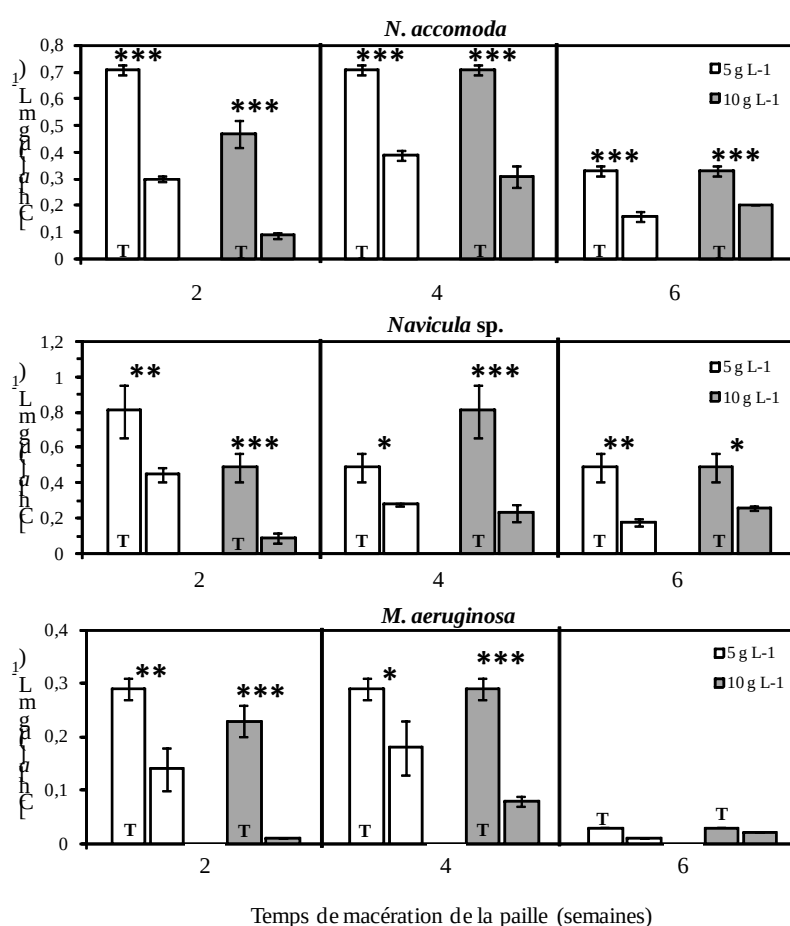


Figure 1 : Valeurs moyennes ($\pm$ écart type, $n=3$) des concentrations en chl *a* (µg mL⁻¹) en présence de différentes doses de paille d'orge (0, 5 et 10 g L⁻¹) en fonction de son temps de macération (2, 4 et 6 semaines) pour les espèces inhibées après 10 jours d'incubation. Pour chaque temps de macération, les différences significatives par rapport au témoin sont indiquées : * ($p < 0,05$), ** ($p < 0,01$), *** ($p < 0,001$).

Pour les échantillons traités avec un extrait de paille ayant macéré pendant 6 semaines, les résultats obtenus (pas d'effet significatif par rapport au témoin) sont difficilement interprétables du fait de la faible croissance observée chez les cultures témoins.

Au contraire, la croissance de la cyanobactérie *A. flos-aquae* a été significativement stimulée à 10g L⁻¹ quel que soit le temps de macération testé (figure 2). A 5g L⁻¹, le traitement n'a permis de stimuler la croissance qu'au bout des 6 semaines de macération (figure 2 : p<0,05). Les résultats obtenus pour l'algue verte *P. subcapitata* sont plus contrastés : la paille ayant macéré pendant 2 et 4 semaines a permis de stimuler significativement sa croissance, alors que celle-ci a été significativement inhibée lorsque la paille avait macéré pendant 6 semaines de macération, ceci quelle que soit la dose testée (figure 2).

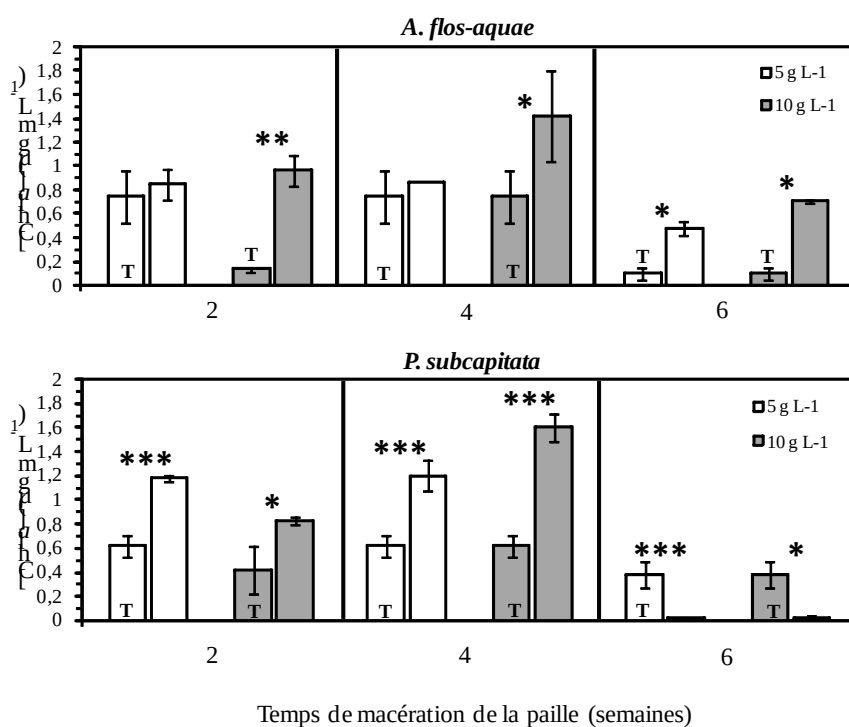


Figure 2 : Valeurs moyennes ($\pm$ écart type, n=3) des concentrations en chl a ($\mu\text{g mL}^{-1}$) en présence de différentes doses de paille d'orge (0, 5 et 10g L⁻¹) pour les espèces stimulées après 10 jours d'incubation en fonction de son temps de macération (2, 4 et 6 semaines). Pour chaque temps de macération, les différences significatives par rapport au témoin sont indiquées : * (p<0,05), ** (p<0,01), *** (p<0,001).

Enfin la croissance de l'algue verte *C. vulgaris* a été légèrement stimulée en présence de paille, mais les différences observées n'étaient pas significatives quels que soient la dose ou le temps de macération testés (figure 4).

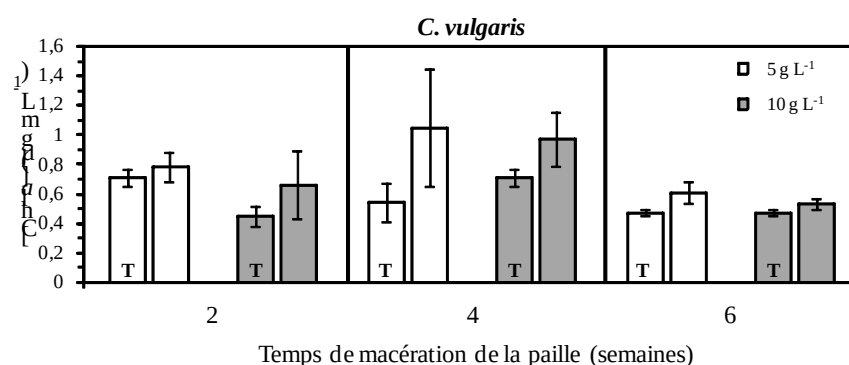


Figure 3 : Valeurs moyennes ($\pm$ écart type, $n=3$) des concentrations en chl *a* ($\mu\text{g mL}^{-1}$) en présence de différentes doses de paille d'orge (0, 5 et 10 g L^{-1}) en fonction de son temps de macération (2, 4 et 6 semaines) pour l'espèce indifférente *Chlorella vulgaris* après 10 jours d'incubation.

b) Effet de la dose

La figure 4 représente pour chacune des 6 espèces étudiées, les concentrations en chl *a* estimées au bout de 10 jours de culture exprimées par rapport au témoin (% réponse). A l'exception de *C. vulgaris* ($p=0,58$), les résultats obtenus pour 5 g L^{-1} d'extrait de paille d'orge différaient significativement par rapport aux cultures traitées avec 10 g L^{-1} ($p<0,001$ ou $0,01$ pour *N. accomoda* et *P. subcapitata*). Pour un temps de macération donné, lorsque les différences étaient significatives, l'effet observé (stimulation ou inhibition) sur la croissance était alors plus marqué après application de 10 g L^{-1} .

c) Effet du temps de macération

De même, la croissance des cultures a été affectée de manière significativement différente selon le temps de macération choisi ($p<0,001$ ou $p<0,05$ pour *M. aeruginosa*), excepté pour *C. vulgaris* ($p=0,23$) (figure 4). En ce qui concerne *N. accomoda*, *Navicula* sp. et *M. aeruginosa*, on constate qu'à 10 g L^{-1} , l'effet de la paille a diminué avec le temps de macération. Par exemple la croissance des cultures traitées avec de la paille ayant macéré pendant 2 semaines était moins inhibée qu'après application de paille ayant macéré 6 semaines ($p<0,001$ pour les 3 espèces). A 5 g L^{-1} , cette tendance était inversée pour *Navicula* sp. ($p<0,001$), ou bien l'inhibition de la croissance restait comparable quel que soit le temps de macération testé pour *N. accomoda* et *M. aeruginosa* ($p\geq 0,88$). Aucune tendance claire ne se dégage pour *A. flos-aquae*. Enfin pour *P. subcapitata*, l'effet inhibiteur de la paille ne s'est fait sentir que pour les cultures incubées avec un extrait de paille ayant macéré pendant 6 semaines ($p<0,001$).

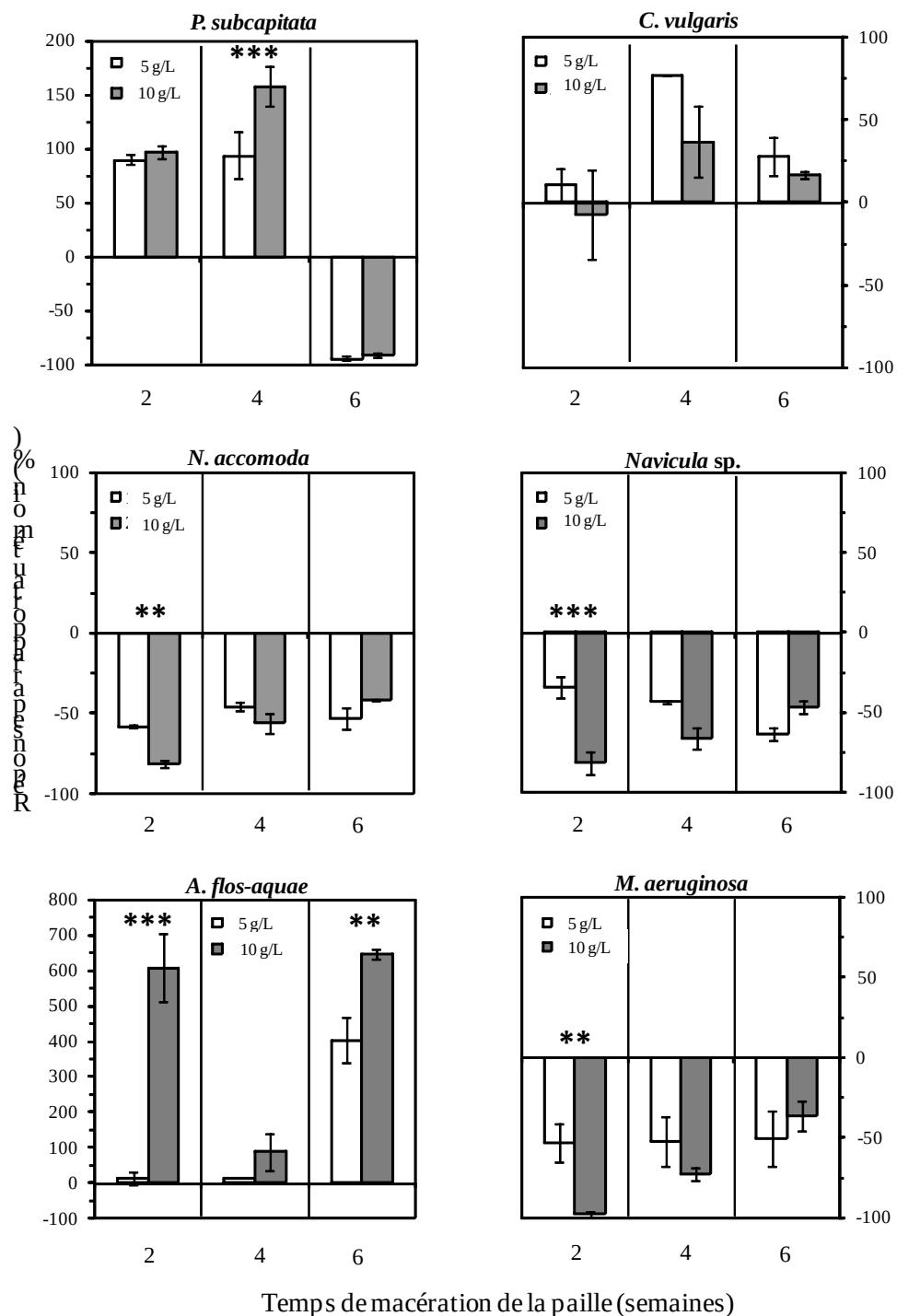


Figure 4 : Valeurs moyennes ($\pm$ écart type, $n=3$) des concentrations en chl *a* (% de réponse par rapport au témoin) pour les 6 espèces étudiées après 10 jours d'incubation en présence de paille d'orge (5 et 10g L⁻¹) en fonction de son temps de macération (2, 4 et 6 semaines). Pour chaque temps de macération, les différences significatives entre les 2 doses de pailles sont indiquées : ** ($p<0,01$), *** ($p<0,001$)

V. Discussion

Selon les espèces étudiées, l'effet de la paille d'orge sur la croissance peut-être classé en 3 catégories –inhibition, stimulation, sans effet significatif – confirmant ainsi les travaux antérieurs traitant de ce sujet (*e.g.* Martin & Ridge 1999 ; Ferrier et al. 2005 ; Geiger et al. 2005). Cet effet était variable d'un groupe taxonomique à l'autre (inhibition très significative chez les diatomées *Navicula* sp. et *N. accommoda* et la cyanobactérie *M. aeruginosa*, stimulation chez la cyanobactérie *A. flos-aquae* ; sans effet chez l'algue verte *C. subcapitata*) mais également au sein d'un même groupe (exemple des cyanobactéries *A. flos-aquae* vs *M. aeruginosa*) voire même au sein d'une même espèce (cf. l'algue verte *P. subcapitata*). Cette étude confirme donc également que l'action de la paille est, au minimum, spécifique d'une espèce donnée (Ball et al. 2001 ; Ferrier et al. 2005). Martin & Ridge (1999) ont ainsi mis en évidence des sensibilités variables d'un clone à l'autre de *M. aeruginosa* ; tandis que Geiger et al. (2005) suggèrent de tester la sensibilité de la cyanobactérie toxique *Aphanizomenon flos-aquae* en fonction de son mode de vie (filaments coloniaux ou solitaires).

Au cours de cette étude, les cultures ont été incubées à 20°C pendant 10 jours en lumière considérée comme saturante ($200 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, cycle jour:nuit - 14h:10h) en présence d'extraits filtrés plus ou moins concentrés (5 et 10 g de paille sèche par litre d'eau) de paille d'orge préalablement macéré. Les doses testées sont considérées comme suffisantes pour agir efficacement sur la croissance des algues et des cyanobactéries, même sur les espèces les plus résistantes (Martin & Ridge 1999). De plus, les conditions de macération de la paille (2 à 6 semaines à 20°C dans de l'eau déminéralisée correctement oxygénée) étaient conformes aux recommandations préconisées par différents auteurs quant à l'utilisation de cette technique (*e.g.* Newman 1999 ; Geiger et al. 2005). Dans ces conditions, cette étude semble confirmer que la technique de la paille d'orge constitue un traitement algistatique efficace pour limiter le développement de *M. aeruginosa*, une cyanobactérie potentiellement toxique fréquemment impliquée dans des problèmes de dégradation de la qualité de l'eau (Pillinger et al. 1992 ; Newman & Barret 1993 ; Ridge & Pillinger 1996 ; Martin & Ridge 1999 ; Ridge et al. 1999 ; Nakai et al. 2001 ; Ferrier et al. 2005). Néanmoins, l'hétérogénéité des protocoles expérimentaux proposés dans la littérature, notamment en ce qui concerne le type de milieu de culture (eau du robinet déminéralisée ou non, milieux de cultures artificiels, eau prélevée sur le site...), les conditions de macération de la paille (température, oxygénation, durée...) ou encore les conditions de son application (paille entière, extrait de paille filtré ou non...) rend

délicate la comparaison de ces résultats avec les données disponibles (Geiger et al. 2005). En utilisant un protocole comparable (macération aérobie pendant 2 mois puis incubation des cultures pendant 24 jours en présence d'extrait de paille filtré), Ferrier et al. (2005) ont obtenu des résultats similaires concernant *M. aeruginosa* (inhibition) et les algues vertes *C. vulgaris* (sans effet) et *P. subcapitata* (stimulation). En revanche, nos résultats montrent que la paille a permis d'inhiber la croissance des deux diatomées étudiées (*N. accommoda* et *Navicula* sp. : inhibition), ce qui contredit ces travaux (Ferrier et al. 2005). Enfin concernant la cyanobactérie *A. flos-aquae* (stimulation), la paille avait permis de stimuler la croissance mais de manière non significative (Ferrier et al. 2005).

Cette étude apporte un certain nombre d'informations utiles en vue de l'application de cette technique sur le terrain. A 5 g L^{-1} , l'effet de la paille s'est fait sentir dès 2 semaines de macération. Les différents documents d'information disponibles recommandent généralement une dose environ 1000 fois moins élevée pour une application sur le terrain (e.g. Newman 1999 ; Lembi 2002 ; Geiger et al. 2005), ce qui peut expliquer que l'effet de la paille *in situ* soit plus lent à se mettre en place. Par exemple, une dose de 9 mg L^{-1} (soit 9 g m^{-3}) était suffisante pour limiter la biomasse des diatomées, algues vertes et cyanobactéries se développant habituellement dans un réservoir d'eau potable en Ecosse (Barrett et al. 1999).

Par ailleurs, il semble difficile de dégager une tendance générale concernant le mode d'action de la paille en fonction du temps de macération. Par exemple à 10 g L^{-1} , l'effet inhibiteur semble s'atténuer au bout de 6 semaines de macération pour *M. aeruginosa*, *N. accommoda* et *Navicula* sp. ce qui n'est pas toujours le cas à 5 g L^{-1} (inhibition plus forte dans le cas de *Navicula* sp.). Cette action sélective au laboratoire (inhibition ou stimulation plus ou moins forte selon les espèces étudiées) laisse à penser que la paille pourrait agir *in situ* en modifiant les équilibres préexistants entre les différentes espèces de la communauté phytoplanctonique (microalgues et cyanobactéries). C'est notamment ce qu'ont mis en évidence Brownlee et al. (2003) en étudiant la réponse d'échantillons de phytoplancton naturel incubés au laboratoire en présence de paille d'orge. En revanche, des expérimentations menées sur le terrain ont fait état, lorsque ce traitement s'est montré efficace, d'une diminution de la biomasse algale sans modification notable de la composition spécifique des communautés (Ferrier et al. 2005). L'application régulière de paille d'orge pourrait donc permettre de prévenir le développement d'efflorescences sans affecter à plus ou moins long terme (par exemple dans le cas d'un traitement sur plusieurs années) l'équilibre de l'écosystème étudié (Barrett et al. 1999).

VI. Conclusion et perspectives

La présente étude visait à mieux cerner en conditions contrôlées au laboratoire les effets de la paille d'orge, préalable indispensable à une éventuelle mise en place sur le terrain de cette technique comme moyen préventif de lutte contre la prolifération d'algues et de cyanobactéries. Les résultats obtenus confirment que la paille d'orge entraîne une réduction statistiquement significative du développement de *M. aeruginosa*, dont des efflorescences ont déjà été signalées au niveau de l'étang des Prés du Hem (cf. relevés 2007). Il serait intéressant d'évaluer l'effet de la paille sur la croissance d'une souche de cette espèce isolée à partir d'un échantillon naturel de phytoplancton prélevé sur ce site. De même, la réponse d'autres espèces proliférantes également signalées (la cyanobactérie *Coelosphaerium kutzingianum*, l'algue verte *Pandorina morum*) pourraient être étudiées. A noter qu'une fois isolées, certaines souches peuvent se montrer très sensibles aux conditions de laboratoire, rendant délicat leur maintien en culture.

Le protocole choisi pour cette étude nécessiterait d'être amélioré afin de pouvoir mieux interpréter les résultats des études menées sur le terrain. Un certain nombre de nos conditions expérimentales pourraient être modifiées pour être plus représentatives des conditions environnementales. En particulier, la composition chimique du milieu de culture utilisé (ici milieu WC) et la nature des microorganismes contribuant à la dégradation de la paille sont probablement très différentes par rapport aux conditions naturelles (Geiger et al. 2005). De même, les conditions de dégradation de la paille ne sont pas comparables puisque la paille est introduite intacte dans la colonne d'eau où elle est soumise aux variations des conditions physicochimiques (température, éclairage...) du milieu. Plusieurs auteurs suggèrent ainsi que le rôle joué par les UV dans la photoxydation des composés phénoliques n'est pas à négliger (Geiger et al. 2005). A terme, l'utilisation de mésocosmes mis en place aussi bien au laboratoire que sur le terrain, offrent des perspectives intéressantes notamment pour permettre un suivi à plus long terme des effets de la paille d'orge à des doses plus réalistes (mg L^{-1} vs g L^{-1} dans cette étude) sur des échantillons naturels de phytoplancton mais également en intégrant d'autres maillons de l'écosystème (macrophytes, invertébrés benthiques, zooplancton et poissons).

Compte-tenu de ces résultats mais également des conclusions tirées des travaux publiés dans la littérature (cf. synthèse bibliographique), il apparaît que l'application de cette technique au plan d'eau des Prés du Hem nécessite une mise au point particulière adaptée aux caractéristiques de ce milieu. Certaines des recommandations suivantes ont été adaptées d'après Newman (1999) :

- **Définir un témoin** afin de pouvoir attribuer les causes des éventuelles variations de biomasse algale à la paille ou bien aux conditions environnementales. Idéalement, la zone traitée pourrait être cloisonnée en 2 cellules distinctes -l'une traitée, l'autre non- par exemple à l'aide d'une membrane imperméable. Dans un premier temps, il peut être envisagé de réaliser de simples comparaisons amont/aval par rapport à la zone traitée.
- **Démarrer le traitement avant le pic de développement des algues**, idéalement au début du printemps.
- **Adapter la dose de paille** aux conditions physicochimiques de la zone traitée. Dans le cas d'une colonne d'eau peu chargée en particules sédimentaires, il est recommandé de démarrer le traitement avec 50g de paille par m² de surface d'eau (50g m⁻², soit 500 kg ha⁻¹), puis de renouveler le stock à hauteur de 25g m⁻². Puis une dose de 10g m⁻² peut être maintenue en routine. Dans le cas d'une eau plus turbide, les doses doivent être augmentées en veillant à ne pas dépasser 500g m⁻² le risque étant d'augmenter la demande en oxygène des microorganismes responsables de la dégradation de la paille et donc d'asphyxier le milieu. La température de l'eau est probablement le principal facteur influençant la vitesse de décomposition de la paille et donc sa fréquence de renouvellement.
- **Disposer la paille en surface** dans des sacs en filet régulièrement espacés munis de flotteur. Pour assurer une dégradation totale de la paille mise à l'eau, il est conseillé de répartir la paille dans plusieurs petits sacs plutôt que dans quelques gros.
- **S'assurer de la décomposition aérobie de la paille** en ne bourrant pas les sacs et en maintenant une circulation d'eau continue à travers la paille.

- **Effectuer un suivi régulier des conditions physicochimiques et écologiques** sur l'ensemble de la période d'application, au niveau des zones témoin et traitée (plusieurs points de mesure) :
 - Relevés bimensuels des paramètres usuels tels que pH, conductivité, teneur en oxygène, éléments nutritifs (N, P), turbidité, profondeur de Secchi, matière organique et éventuellement des composés phénoliques ;
 - Plus ponctuellement, réalisation de profils verticaux pour l'oxygène dissous ;
 - Evaluations mensuelles quantitatives de la composition du phytoplancton (espèces présentes, dénombrement cellulaire) et éventuellement du zooplancton ou d'autres indicateurs de l'état du plan d'eau ;

VII. Bibliographie

AFNOR 2005. Essai d'inhibition de la croissance des algues d'eau douce avec des algues vertes unicellulaires. NF EN ISO 8692

AFNOR 2006. Lignes directrices pour essais d'inhibition de la croissance algale avec des matières peu solubles, des composés volatils, des métaux et des eaux résiduaires. NF ISO 1442

Ball, A. S., Williams, M., Vincent, D. & Robinson, J. 2001. Algal growth control by a barley straw extract. *Bioresource Technology* **77**:177-81.

Barkoh, A., Paret, J. M., Lyon, D. D., Begley, D. C., Smith, D. G. & Schlechte, J. W. 2008. Evaluation of barley straw and a commercial probiotic for controlling *Prymnesium parvum* in fish production ponds. *North American Journal of Aquaculture* **70**:80-91.

Barrett, P. R. F., Curnow, J. C. & Littlejohn, J. W. 1996. The control of diatom and cyanobacterial blooms in reservoirs using barley straw. *Hydrobiologia* **340**:307-11.

Barrett, P. R. F., Littlejohn, J. W. & Curnow, J. 1999. Long-term algal control in a reservoir using barley straw. *Hydrobiologia* **415**:309-13.

Barrett, P. R. F. & Newman, J. R. 1993. The control of algae with barley straw. *PIRA Conference Proceedings*. pp. Paper 41.

Boylan, J. D. & Morris, J. E. 2003. Limited effects of barley straw on algae and zooplankton in a midwestern pond. *Lake and Reservoir Management* **19**:265-71.

Brownlee, E. F., Sellner, S. G. & Sellner, K. G. 2003. Effects of barley straw (*Hordeum vulgare*) on freshwater and brackish phytoplankton and cyanobacteria. *Journal of Applied Phycology* **15**:525-31.

Butler, R., Reedyk, S., Murrell, S. & Mah, B. 2005. L'utilisation de la paille d'orge pour la lutte contre les algues dans les étangs-réservoirs des Prairies. Agriculture et Agroalimentaire Canada, Administration du rétablissement agricole des Prairies, Regina (Saskatchewan), pp. 43.

Caffrey, J. M. & Monahan, C. 1999. Filamentous algal control using barley straw. *Hydrobiologia* **415**:315-18.

Choe, S. & Jung, I. H. 2002. Growth inhibition of freshwater algae by ester compounds released from rotted plants. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* **8**:297-304.

Everall, N. C. & Lees, D. R. 1996. The use of barley-straw to control general and blue-green algal growth in a Derbyshire reservoir. *Water Research* **30**:269-76.

Everall, N. C. & Lees, D. R. 1997. The identification and significance of chemicals released from decomposing barley straw during reservoir algal control. *Water Research* **31**:614-20.

- Ferrier, M. D., Butler, B. R., Terlizzi, D. E. & Lacouture, R.** 2005. The effects of barley straw (*Hordeum vulgare*) on the growth of freshwater algae. *Bioresource Technology* **96**:1788-95.
- Geiger, S., Henry, E., Hayes, P. & Haggard, K.** 2005. Barley straw algae control: literature analysis. Aquatic Scientific Resources, Portland, OR (USA), pp. 25.
- Gibson, M. T., Welch, I. M., Barrett, P. R. F. & Ridge, I.** 1990. Barley straw as an inhibitor of algal growth II: laboratory studies. *Journal of Applied Phycology* **2**:241-48.
- Grover, J. P., Baker, J. W., Urena-Boeck, F., Brooks, B. W., Errera, R. M., Roelke, D. L. & Kiesling, R. L.** 2007. Laboratory tests of ammonium and barley straw extract as agents to suppress abundance of the harmful alga *Prymnesium parvum* and its toxicity to fish. *Water Research* **41**:2503-12.
- Guillard, R. R. L. & Lorenzen, C. J.** 1972. Yellow-green algae with chlorophyllide *c*. *Journal of Phycology* **8**:10-14.
- Harriman, R., Adamson, E. A., Shelton, R. G. J. & Moffett, G.** 1997. An assessment of the effectiveness of straw as an algal inhibitor in an upland Scottish loch. *Biocontrol Science and Technology* **7**:287-96.
- Holz, J. C., Fessler, C. J., Severn, A. A. & Hoagland, K. D.** 2001. Effect of barley straw extract on growth of five species of planktonic algae. *Journal of Phycology* **37**:24-25.
- Ihaka, R. & Gentleman, R.** 1996. R: a language for data analysis and graphics. *Journal of Computational and Graphical Statistics* **5**:299-314.
- Jeffrey, S. W. & Humphrey, G. F.** 1975. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls *a*, *b*, *c*₁, and *c*₂ in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochimie und Physiologie der Pflanzen* **167**:191-194.
- Khorus, I. & Bartam, J.** 1999. *Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management*. Spon Press on behalf World Health Organization (WHO), pp. 416.
- Kelly, L. A. & Smith, S.** 1996. The nutrient budget of a small eutrophic loch and the effectiveness of straw bales in controlling algal blooms. *Freshwater Biology* **36**:411-18.
- Lembi, C.** 2002. Barley straw for algae control. Purdue University, USA, pp. 8.
- Martin, D. & Ridge, I.** 1999. The relative sensitivity of algae to decomposing barley straw. *Journal of Applied Phycology* **11**:285-91.
- Morin, R.** 2007. Contrôle et élimination des algues dans les étangs piscicoles. Direction de l'aquaculture et du développement durable, Québec, Québec, Canada, pp. 5.
- Nakai, S., Inoue, Y. & Hosomi, M.** 2001. Algal growth inhibition effects and inducement modes by plant-producing phenols. *Water Research* **35**:1855-59.

- Newman, J. R.** 1999. Control of algae using straw. Information sheet 3. IACR Centre for Aquatic Plant Management, Sonning, Reading, Berkshire, UK, pp. 15.
- Newman, J. R. & Barrett, P. R. F.** 1993. Control of Microcystis-Aeruginosa by Decomposing Barley Straw. *Journal of Aquatic Plant Management* **31**:203-06.
- Nicholls, K. H., Taylor, R. G., Bachmann, R. W., Jones, J. R., Peters, R. H. & Soballe, D. M.** 1995. Experimental use of barley straw for algae control in Ontario ponds. *Lake and Reservoir Management* **11**:175-.
- Park, M. H., Han, M. S., Ahn, C. Y., Kim, H. S., Yoon, B. D. & Oh, H. M.** 2006. Growth inhibition of bloom-forming cyanobacterium Microcystis aeruginosa by rice straw extract. *Letters in Applied Microbiology* **43**:307-12.
- Pearl, H. W. & Huisman, J.** 2008. Blooms like it hot. *Science* **320**:57-58.
- Pillinger, J. M., Cooper, J. A. & Ridge, I.** 1994. Role of Phenolic-Compounds in the Antialgal Activity of Barley Straw. *Journal of Chemical Ecology* **20**:1557-69.
- Pillinger, J. M., Cooper, J. A., Ridge, I. & Barrett, P. R. F.** 1992. Barley Straw as an Inhibitor of Algal Growth .3. The Role of Fungal Decomposition. *Journal of Applied Phycology* **4**:353-55.
- Pillinger, J. M., Gilmour, I. & Ridge, I.** 1995. Comparison of Antialgal Activity of Brown-Rotted and White-Rotted Wood and in-Situ Analysis of Lignin. *Journal of Chemical Ecology* **21**:1113-25.
- Pinheiro, J. C. & Bates, D. M.** 2000. *Mixed-Models in S and S-PLUS*, 1st ed. Springer Verlag, New York, USA, 528 pp.
- Ridge, I. & Pillinger, J. M.** 1996. Towards understanding the nature of algal inhibitors from barley straw. *Hydrobiologia* **340**:301-05.
- Ridge, I., Walters, J. & Street, M.** 1999. Algal growth control by terrestrial leaf litter: a realistic tool? *Hydrobiologia* **395**:173-80.
- Spencer, D. & Lembi, C.** 2007. Evaluation of barley straw as an alternative algal control method in northern california rice fields. *Journal of Aquatic Plant Management* **45**:84-90.
- Terlizzi, D. E., Ferrier, M. D., Armbruster, E. A. & Anlauf, K. A.** 2002. Inhibition of dinoflagellate growth by extracts of barley straw (*Hordeum vulgare*). *Journal of Applied Phycology* **14**:275-80.
- Waybright, T. J., Terlizzi, D. E. & Ferrier M. D.** 2008. Chemical characterization of the algistatic fraction of barley strax (*Hordeum vulgare*) inhibiting *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Applied Phycology* In press: DOI 10.1007/s10811-008-9373-x.
- Welch, I. M., Barrett, P. R. F., Gibson, M. T. & Ridge, I.** 1990. Barley straw as an inhibitor of algal growth I: studies in the Chesterfield Canal. *Journal of Applied Phycology* **2**:231-39.

VIII. Résultats bruts

Concentrations en chl *a* ($\mu\text{g mL}^{-1}$) estimées au spectrophotomètre d'absorption au bout de 10 jours d'incubation (20°C , $200 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 14h-10h) en présence d'extrait de paille (5 et 10 g L^{-1}) ayant macéré pendant 2, 4 et 6 semaines.

<i>N. accomoda</i>	macération (sem.)		
	2	4	6
5 g L ⁻¹		0,714	0,714
	témoin	0,714	0,350
		0,725	0,725
		0,310	
		0,689	0,689
		0,338	
10 g L ⁻¹		0,301	0,373
		0,174	
	paille	0,292	0,398
		0,164	
			0,132
		0,419	0,714
10 g L ⁻¹		0,350	
	témoin	0,499	0,725
		0,310	
		0,502	0,689
		0,338	
		0,091	0,281
paille		0,197	
		0,076	0,295
		0,193	
		0,098	0,358

<i>A. flos-aquae</i>	macération (sem.)		
	2	4	6
5 g L ⁻¹		0,995	0,995
	témoin	0,063	
		0,582	0,582
		0,067	
		0,676	0,676
		0,156	
10 g L ⁻¹		0,890	0,753
		0,473	
	paille	0,707	0,827
		0,422	
		0,952	0,964
		0,542	
10 g L ⁻¹		0,995	0,063
	témoin	0,148	0,582
		0,067	
		0,125	0,676
		0,156	
		1,009	1,118
paille		0,724	
		1,078	1,283
		0,707	
		0,821	1,848

<i>C. vulgaris</i>	macération (sem.)		
	2	4	6
5 g L ⁻¹		0,746	0,469
	témoin	0,524	
		0,640	0,496
		0,640	
		0,735	0,454
		0,440	
10 g L ⁻¹		0,708	1,293
		0,597	
	paille	0,853	1,237
		0,542	
			1,215
		0,679	
10 g L ⁻¹		0,524	0,746
	témoin	0,377	0,640
		0,496	
		0,440	0,735
		0,454	
		0,476	0,941
paille		0,493	
		0,920	1,164
		0,565	
		0,574	0,798

<i>Navicula sp.</i>	macération (sem.)		
	2	4	6
5 g L ⁻¹		0,706	0,568
	témoin	0,568	
		0,913	0,479
		0,479	
		0,413	0,413
		0,409	0,264
10 g L ⁻¹		0,199	
	paille	0,498	0,275
		0,168	
		0,441	0,291
		0,161	
		0,568	0,706
10 g L ⁻¹		0,568	
	témoin	0,479	0,913
		0,479	
		0,413	0,413
		0,102	0,215
		0,261	
paille		0,119	0,194
		0,274	
		0,052	0,281
		0,246	

<i>M. aeruginosa</i>	macération (sem.)		
	2	4	6
5 g L ⁻¹		0,311	0,311
	témoin	0,028	
		0,277	0,277
		0,024	
			0,029
		0,148	0,214
10 g L ⁻¹		0,011	
	paille	0,168	0,137
		0,010	
		0,100	0,019
		0,257	0,311
	témoin	0,028	
10 g L ⁻¹		0,205	0,277
		0,024	
		0,217	0,029
		0,006	0,080
		0,016	
	paille	0,009	0,091
		0,020	
		0,001	0,068
		0,015	

<i>P. subcapitata</i>	macération (sem.)		
	2	4	6
5 g L ⁻¹		0,706	0,706
	témoin	0,510	
		0,519	0,519
		0,351	
		0,633	0,633
		0,291	
10 g L ⁻¹		1,207	1,295
		0,026	
	paille	1,168	1,108
		0,014	
		1,151	0,024
		0,480	0,706
10 g L ⁻¹		0,510	
	témoin	0,360	0,519
		0,351	
		0,093	0,633
		0,291	
		1,531	
paille		0,845	1,532
		0,040	
		0,809	1,735
		0,027	