

## **Projet Pieux Bois**





## Etude de la dégradation biologique des pieux de fondation en bois

Grillage et plate-forme de fondation d'une ple Pieux et grillage de fondation d'une pile.

Pieux el grillage de fondation d'une Galee et d'un mur en relour. Avril 2014

PLAN SUPERIEUR

8

Page laissée intentionnellement blanche

# Etude de la dégradation biologique des pieux de fondation en bois

### Livrable du projet Pieux Bois

### 2010-2013

Ce document de 78 pages a été élaboré dans le cadre du projet C2D2 Pieux Bois avec le soutien du Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie, en charge des technologies vertes et des négociations sur le climat (DGITM).

Les informations contenues dans ce livrable n'engagent que son auteur et ses co-auteurs. Ces derniers ne sont pas responsables de l'usage qui pourrait en être fait.

Auteur		
Quentin KLEINDIENST	LERMAB	quentin.kleindienst@hotmail.fr
Co-auteurs		
Jean-François Bocquet	LERMAB	jean-francois.bocquet@univ-lorraine.fr
Laurent Bléron	LERMAB	laurent.bleron@univ-lorraine.fr
Marie-Christine Trouy	LERMAB	marie-christine.trouy@univ-lorraine.fr
Romain Rémond	LERMAB	romain.remond@univ-lorraine.fr
Arnaud Besserer	LERMAB	arnaud.besserer@univ-lorraine.fr

Les auteurs remercient le Conseil Général des Vosges, la Région Lorraine, la DRRT, le FNADT et le FEDER qui ont permis dans le cadre du CPER 2007-2013 "Structuration du Pôle de Compétitivité Fibres Grand'Est", l'acquisition sur le Campus Fibres du tomographe et du microscope électronique à balayage largement utilisés dans le cadre de cette étude.

### Suivi des modifications

Date	Modification	Responsable	Pages
02/2014	Version initiale	GKL, JFB, LBL, MCT, RRE, ABE	
06/2014	Intégration remarques du MEDDE	RFK	9, 18

Page laissée intentionnellement blanche

## Sommaire

Intro	duction	8
Partie	e 1. Synthèse bibliographique	10
1.	Etat des connaissances sur la dégradation des pieux de fondation	10
2.	La dégradation bactérienne	11
3.	La dégradation par les champignons lignivores	12
3.1	Les champignons de pourriture molle	13
3.2	Les champignons de pourriture brune	14
3.3	Les champignons de pourriture blanche	15
4. dégrac	L'état des connaissances sur les interactions bactéries-champignons dar dation du bois	ns la 16
Partie	e 2. Evaluation de la cinétique de dégradation du matériau boi	s au
conta	act de la terre	18
1.	Objectifs et dispositif expérimental	18
2.	Les bois étudiés	19
2.1.	Anatomie	19
2.2.	Densité, durabilité et imprégnabilité	23
3.	Pertes de masse	24
3.1.	Méthode	24
3.2.	Résultats	25
4.	Tomographie Rayons X	29
4.1.	Méthode	29
4.2.	Résultats	30
5.	Perçage (résistographe)	35
5.1.	Méthode	35
5.2.	Résultats	37
5.3.	Corrélation Critère de perçage / Perte de masse	38
6.	Essais de compression	40
6.1.	Méthode	40
6.2.	Résultats	40
6.3.	Corrélation Contrainte à rupture / Critère de perçage	42

6.4.	Corrélation Contrainte à rupture / Perte de masse	
7.	Conclusion de la partie 2	45
Partie Balay	e 3. Observation du bois attaqué en Microscopie age	Electronique à 48
Partie biolog	e 4. Suivi de la cinétique d'humidification et de gique de mini-pieux bois partiellement immergés	<i>la dégradation</i> 56
1.	Méthodes	
2.	Cinétique d'humidification des pieux	
3.	Dégradation biologique des pieux	62
3.1.	Tomographies et des humidités réelles	
3.2.	Caractérisation des éprouvettes	
4.	Conclusion de la partie 4	72
Litté	rature citée	74

#### Introduction

Les ouvrages dont les fondations sont constituées par des pieux en bois sont nombreux et ce procédé a été largement utilisé dans le passé. Dans le contexte d'une réduction des émissions de CO<sub>2</sub>, le remplacement de pieux béton par des pieux bois constitue une bonne alternative (Klaassen, 2008). Cependant le bois est un matériau constitué de matière organique et susceptible d'être dégradé par des microorganismes qui utilisent ses constituants comme source de nourriture. Lorsque des pieux sont mis en œuvre dans des sols ils sont exposés à une multitude d'attaques par différents agents biologiques. Le développement des microorganismes est dépendant de la présence d'eau et d'oxygène. Aussi, le fait que les pieux de fondation soient souvent en partie immergés dans une nappe phréatique ou le lit d'une rivière dont le niveau fluctue va influer sur le taux d'humidité du bois et donc la probabilité de développer des pathologies.

Dans ce contexte, le projet présenté ici se propose :

- d'établir la cinétique de dégradation de différentes essences utilisées pour la réalisation de pieux de fondation en condition d'immersion partielle,

- d'établir un lien entre activité biologique de dégradation, perte de densité du matériau et perte de résistance mécanique,

- de proposer des méthodologies permettant d'établir précisément le type de dégradation biologique,

- de proposer une méthode de diagnostic qui peut être appliquée sur site qui s'appuie sur les résultats obtenus.

Dans une première partie, nous présenterons l'état de l'art des connaissances bibliographiques relatives aux phénomènes de dégradation biologique des pieux de fondation. Puis nous présenterons les différentes expériences réalisées afin de répondre aux problématiques posées ci-dessus ainsi que les résultats qui en découlent. Nous analyserons les dégradations mesurées dans le cadre d'expériences réalisées en système miniaturisé dans un environnement semi-contrôlé avec un inoculum complexe puis nous développerons les approches effectuées sur des mini-pieux afin de se rapprocher progressivement au plus près des conditions réelles de mise en œuvre des pieux de fondation.

Pour l'ensemble du projet, il a été choisi d'étudier trois essences : hêtre, pin sylvestre et chêne. Le chêne est l'essence historiquement utilisée en France pour les pieux de fondation, de par sa relative résistance aux agents de dégradation. Le pin a été choisi pour représenter les résineux, largement utilisés dans ce domaine à l'étranger (en particulier au Pays-Bas, et aux États-Unis). Le hêtre est une essence susceptible de convenir, de par sa grande disponibilité, ses propriétés mécaniques intéressantes et son imprégnabilité, qui rend un traitement de préservation en profondeur possible, bien que l'utilisation d'un bois suffisamment durable naturellement pour être utilisé sans traitement soit sans doute préférable. Le hêtre a surtout été choisi comme matériau d'étude pour sa faible durabilité et la possibilité d'observer des changements rapides en termes de dégradation.

Remarques émises par la DRI du MEDDE lors de l'audit d'avril 2014 : « L'état de l'art nous invite à considérer que la durabilité naturelle du bois à prendre en compte concerne les bois immergés (à quelques mètres sous le niveau de l'eau) en eau stagnante (dans le sol). Il serait intéressant dans ces conditions d'étudier la dégradation bactérienne des bois français dans leur diversité à partir d'excavation de pieux anciens (issus de chantiers de réhabilitation des sites/monuments historiques par exemple). »

Réponses des auteurs : « Cette démarche a été envisagée par les partenaires dés les premières revues de projet. A cette fin, des échantillons bois ont été récupérés sur des fouilles archéologiques en rivière réalisées dans l'Yonne (fournis par la DRASSM-UMR5594 du MCC) et testés partiellement, toutefois les difficultés du partenaire LERMAB n'ont pas permis de mener à terme cette action. Lors de l'étude de cette piste, il s'est avéré que la population concernée allant de l'époque romaine à l'ère industrielle (-50 Av. JC à 1900) est trop ancienne pour que son étude soit instructive. La plage de temps qui nous intéresse pour construire un référentiel normatif applicable par les praticiens est de l'ordre de la dizaine d'année à 100 ans. Cette difficulté a été également soulevée dans le récent article de Klaassen (Klaassen R.K.W.M. (2013) Speed of bacterial decay in waterlogged wood in soil and open water, International Biodeterioration & Biodegradation, 7 pages).

Une deuxième tentative a été réalisée (d'autres ont avorté entre temps : pont Eiffel à Cubzac, quai port de Rouen, etc.) avec succès lors de l'inspection du Viaduc des cents Arches sur la commune d'Arveyres. Les résultats sont détaillés dans le document 5 qui traite spécifiquement de l'inspection.

Après un tour d'horizon du potentiel de ces fouilles et chantiers de réhabilitation, on constate qu'un panel très réduit d'essence peut être observé (chêne) alors que notre objectif était de comparer une essence durable disponible localement comme le robinier aux autres espèces moins durables. Ceci justifie pleinement l'étude paramétrique entreprise dans le cadre du projet et synthétisée dans ce document.

Note : cette démarche et ses réorientations ont été décrites dans les comptes rendus de réunion de suivi du projet fournis à la DGITM en mai 2010, janvier 2011, mai 2011, janvier 2012 et décembre 2012. »

#### Partie 1. Synthèse bibliographique

#### 1. Etat des connaissances sur la dégradation des pieux de fondation

Les pieux de fondation bois constituent une cible de choix pour une gamme de microorganismes variés. En effet une partie du pieu va souvent être immergé et en contact avec les sédiments, une autre partie peut n'être en contact qu'avec de l'eau libre et finalement la partie supérieure du pieu sera soit en contact avec le sol, soit avec l'air. De plus, le niveau d'eau dans lequel le pieu est immergé peut fluctuer en fonction des saisons, ce qui fait varier le risque de dégradation par les microorganismes. La figure 1 résume les conditions de développement et les risques biologiques auxquels est exposé un pieu de fondation en service.



## <u>Figure 1</u>: Conditions de développement, milieux et zones de développement des différents microorganismes susceptibles de dégrader le bois du pieu. Les gradients d'oxygène (O<sub>2</sub>) et d'humidité (H<sub>2</sub>O) sont représentés schématiquement.

L'étude de la dégradation des pieux de fondation constitue donc un système complexe qui fait interagir plusieurs compartiments (sol, eau et bois) dans lesquels les microorganismes sont en compétition pour les ressources du milieu. La nature du sol et des sédiments constituent des paramètres qui influent sur les espèces de microorganismes en présence (Kretschmar et al., 2008). Les pieux de fondation seraient donc à classer dans la classe d'emploi 4 définie dans la norme NF EN 335 (335, 2013).

Un consortium international regroupant des partenaires industriels et académiques a été réuni dans le cadre du projet européen BACPOLE (Klaassen et al., 2005). Ce projet européen avait pour objectifs i) de mieux comprendre l'impact et les mécanismes de la dégradation bactérienne sur des pieux de fondation et sur des bois archéologiques et ii) de développer des méthodes de préservation adaptées aux fondations bois. Les échantillonnages ont été réalisés sur des pieux de fondation en Allemagne, Angleterre, Italie, Hollande et Suède. Un des apports majeurs du projet a été le développement de méthodes d'isolation, d'identification et de culture de bactéries de dégradation des pieux. Ces bactéries sont ubiquistes dans les sols et sont également planctoniques dans l'eau. Elles requièrent un environnement pauvre en azote et en oxygène pour leur développement des techniques de métagénomique a depuis permis d'étendre les connaissances apportées par ce projet au milieu terrestre (Zhang et al., 2008). Aucune solution de préservation sur sites n'a été expérimentée dans le cadre de ce projet et seules des pistes possibles de stratégies de préservation sont données.

Cependant, bien que les apports du projet BACPOLE soient riches, ce projet ne concerne que la dégradation bactérienne. Les pieux de fondation comportent une partie émergée, au contact avec le sol, dont l'humidité varie en fonction des conditions environnementales. Cela fait donc de cette zone de marnage une cible d'attaque pour le développement de champignons lignocellulolytiques. La zone supérieure du pieu se retrouve donc dans la même situation d'emploi que des poteaux télégraphiques. Le groupe de recherche « utility pole research cooperative » a mené de très nombreuses études sur des poteaux en service depuis les années 1800 et a regroupé l'ensemble des résultats et méthodes utilisées dans une base de données hébergée par l'université de l'Oregon (USA) (http://www.cof.orst.edu/coops/utilpole/startpage.html). En Europe, la norme (NF\_EN-350-1, 1994) renvoie aux protocoles d'essai décrits dans les normes (NF\_EN-252, 1989) et (NF\_EN-113/A1, 2004) pour effectuer les tests de durabilité en laboratoire vis-à-vis des pourritures molles et des pourritures blanches et brunes, respectivement. La conduite d'essais en champ est prévue par la norme (XP\_ENV-807, 2001).

Les mécanismes de dégradation du bois mis en œuvre ainsi que les dégâts causés par les microorganismes lignocellulolytiques sont exposés ci-dessous.

#### 2. La dégradation bactérienne

Il a longtemps été considéré que le bois ne pouvait pas être dégradé lorsqu'il était totalement gorgé d'eau (Wilcox, 1970). Cependant, des études basées sur l'analyse microscopique de l'anatomie de bois qui avaient été immergés ont montré que les bactéries sont capables de dégrader les bois immergés (Liese, 1955; Kim and Singh, 2000). Cette dégradation se déroule également lorsque le bois est enterré dans des sédiments submergés donc en absence d'oxygène (Blanchette et al., 1990). Les bactéries sont capables de coloniser le bois lorsqu'il est saturé en eau en l'espace de quelques jours (Eriksson, 1990). Cependant comme elles ne peuvent pas se déplacer par elles-mêmes, il a été montré que les mouvements d'eau dans les pieux constituent un facteur important de la colonisation bactérienne. Il est intéressant de noter que les bois les plus imprégnables, tels que l'aulne, l'aubier de chêne ou l'aubier de pin, sont également ceux qui sont le plus colonisées par les bactéries (Klaassen, 2008). L'observation de pieux de fondation se trouvant sous les bâtiments d'Helsinki a pu mettre en évidence une dégradation majoritairement due aux bactéries (Paajanen, 1988) ce qui a été confirmé et précisé par une étude réalisée à Amsterdam (Klaassen, 2008).

Les dégradations bactériennes sont essentiellement de deux types : les bactéries d'érosion et les bactéries tunnelières (Kim and Singh, 2000). Les différences entre ces deux types d'altérations pariétales du bois sont illustrées sur la figure 2. Les bactéries d'érosion creusent des canaux dans la couche S3 de la paroi cellulaire et se développe en conditions anaérobies. En revanche les bactéries tunnelières creusent des tunnels dans la couche S2 de la paroi cellulaire et peuvent atteindre la couche S1, proche de la paroi primaire et de la lamelle moyenne. Les bactéries tunnelières sont plus tolérantes à l'oxygène et sont souvent associées à une dégradation causée par des pourritures molles (Kim and Singh, 2000). Cependant, la capacité des bactéries d'érosion à dégrader la lignine n'est pas encore élucidée (Blanchette, 2000). La dégradation de la paroi cellulaire du bois se fait grâce à la sécrétion par les bactéries d'enzymes appelée cellulases (Schwarz, 2001).



<u>Figure 2</u>: Profil de dégradation de la paroi du bois par (A) les bactéries d'érosion ou (B) les bactéries tunnelières. La photographie A est extraite de (Björdal et al., 2000) et la photographie B de (Kim and Singh, 2000).

Le processus de dégradation par les bactéries est relativement lent, l'avancement se fait à raison de quelques millimètres par an, permettant ainsi une durée de service moyenne des pieux de fondation de 150 ans (Klaassen, 2014). Cependant il est important de noter que dans cette étude, les pieux sont la plupart du temps immergés. En effet, si la quantité d'oxygène augmente très légèrement alors l'activité de dégradation est augmentée pour les bactéries d'érosion, principale microfaune présente dans le bois immergé (Björdal et al., 2000). Si l'humidité du bois est comprise entre 50 et 80%, le développement de bactéries sera associé à celui de pourritures molles, accélérant considérablement la biodétérioration du matériau.

En effet, la principale altération causée par les bactéries est une augmentation de la perméabilité à l'eau ce qui se traduit par une augmentation de l'humidité du bois. Après avoir pénétré dans le bois par les rayons ligneux, les bactéries vont principalement s'attaquer au bois de printemps et davantage dans l'aubier que dans le duramen (Ibach, 2005). Cela a pour conséquence notable dans les pieux d'augmenter la migration d'eau vers la zone supérieure du pieu située au-dessus de la nappe phréatique mais au contact avec le sol. Cela déplace le gradient d'humidité et réunit dans cette zone du pieu les conditions idéales pour le développement de champignons de pourriture molle (humidité élevée, 60% < H < 85%) et de champignons de pourritures brune et blanche (humidité moyenne, 30% < H < 80%). La dégradation par les champignons de pourriture sera développée dans les paragraphes suivants.

#### 3. La dégradation par les champignons lignivores

Les champignons de dégradation du bois sont des organismes uni- ou pluricellulaires filamenteux capables d'utiliser le bois comme source de nourriture. L'ensemble des filaments (hyphes) forme le mycélium du champignon i.e. l'organisme entier. La multiplication des champignons se fait soit par des spores qui sont disséminées par le vent ou les insectes soit par fragmentation du mycélium (Schmidt, 2006). La dégradation du bois se fait par une combinaison de mécanismes impliquant la production et la sécrétion par les hyphes de composés de faible poids moléculaire et d'enzymes qui vont conduire à une dégradation sélective des polymères structuraux du bois : la cellulose, les hémicelluloses et la lignine (Schmidt, 2006). En effet, ces macromolécules sont trop grosses pour être absorbées en l'état par les hyphes et doivent par conséquent être prédécoupées en éléments élémentaires. Les premiers polymères dégradés sont les hémicelluloses, ce qui a pour effet d'affaiblir

considérablement la résistance de la paroi (Curling et al., 2002). L'altération sélective des polymères du bois va conférer des aspects différents au matériau qui vont désigner *in fine* le type de pourriture impliquée (Triboulot and Trouy-Triboulot, 2012).

#### 3.1 Les champignons de pourriture molle

Ces champignons sont parmi les premiers colonisateurs du bois en milieu naturel (Rajala et al., 2012). Ils appartiennent au groupe des Ascomycètes, qui comprend les moisissures, ou à celui des Basidiomycètes (Schwarze, 2007). Ils sont présents dans les bois à très forte teneur en humidité (supérieure à 60%) et au contact avec le sol. Ces champignons ont en effet besoin d'une forte teneur en azote pour se développer. Le champignon le plus étudié de ce groupe et le plus fréquemment retrouvé dans le bois est *Chaetomium globosum*.

L'attaque débute en périphérie. Les bois attaqués deviennent noirâtres et la dégradation est généralement peu profonde, laissant intact le bois de cœur (figure 3A). Le bois est mou et spongieux en surface. Lorsque le bois est soumis à des alternances de cycles d'humidification et de séchage, des fentes apparaissent, facilitant la progression de l'attaque mais également l'entrée d'autres champignons de pourritures. La norme (NF\_EN-252, 1989) permet de tester la durabilité des bois en contact avec le sol en laboratoire mais ne se base que sur une mesure de perte de masse des éprouvettes. Afin d'évaluer la relation entre perte de masse et perte de résistance mécanique, une méthode de vieillissement accéléré en microcosme a été mise au point sur des éprouvettes d'aubier ou de duramen de Pin sylvestre.



<u>Figure 3</u> : A) Aspect des dégâts causés par un début d'attaque de pourriture molle sur un pieu bois, adapté de (lbach, 2005). B-C) Vues en microscopie électronique à balayage B) ou à transmission C) des dégâts causés dans la paroi par une attaque de type I. D) Illustration du mécanisme de progression des hyphes de pourriture molle dans le bois. En bleu, la paroi secondaire et en rouge la lamelle moyenne,

composée majoritairement de lignine, d'après (Schwarze, 2007). E-F) Vues en microscopie électronique à balayage E) ou à transmission F) des dégâts causés dans la paroi par une attaque de type II, d'après (Blanchette, 2000).

Les résultats obtenus montrent que la perte de masse n'est pas directement liée à la perte de résistance mécanique. En effet une perte de masse de 10% occasionne une perte de résistance mécanique en flexion de 50% sur l'aubier et, de manière similaire une perte de masse de 7% sur le duramen occasionne une diminution du module d'élasticité de 30% (Venalainen et al., 2014).

Au niveau ultrastructural, la dégradation de la paroi se caractérise par des tunnels creusés par les hyphes dans la couche S2 de la paroi (type I) (figure 3 B-C) ou une érosion progressive de la paroi (type II) (figure 3 E-F). La dégradation de la paroi se fait au voisinage immédiat des hyphes par action des enzymes (figure 3D).

#### 3.2 Les champignons de pourriture brune

Les champignons de pourriture brune sont également appelés agents de pourriture cubique en raison de l'aspect macroscopique des dommages causés au bois. Ils attaquent principalement la cellulose et les hémicelluloses présentes dans les parois mais ne peuvent que modifier partiellement la lignine sans toutefois pouvoir l'utiliser comme source de carbone. Bien qu'ils ne représentent que 6% des champignons décomposeurs du bois (Schwarze, 2007), ils sont fortement impliqués dans les dommages causés sur le bois matériau (Eriksson, 1990). Un exemple bien connu de champignon appartenant à ce groupe est la mérule (*Serpula lacrymans*). Les bois attaqués par ce type de champignons sont principalement des résineux. Les bois attaqués perdent rapidement leurs propriétés mécaniques et se caractérisent par un aspect friable et foncé avec des fractures en quadrillage d'où son appellation de « cubique » (figure 4).



<u>Figure 4</u>: A) Aspect des dégâts causés par une attaque de pourriture brune sur un pieu bois. B) Illustration du mécanisme de progression des hyphes de pourriture brune dans le bois. L'action combinée des molécules de faible poids moléculaire et des enzymes (en noir) conduit à la dégradation de

la paroi secondaire en bleu mais n'altère pas la lamelle moyenne, composée majoritairement de lignine (en rouge), d'après (Schwarze, 2007). C-D) Vues en microscopie électronique à balayage C) ou à transmission D) des dégâts causés dans la paroi par une attaque. ml= lamelle moyenne, S= paroi secondaire, H= hyphe, d'après (Blanchette, 2000).

La dégradation du bois par les pourritures brunes fait intervenir des mécanismes enzymatiques et oxydatifs tels que la réaction de Fenton et se déroule en plusieurs phases (Blanchette, 1995). La première phase est la sécrétion de molécules de faible poids moléculaire qui vont après réaction avec le fer présent dans le bois produire des radicaux libres à fort pouvoir oxydant. Un mécanisme type est la réaction de Fenton qui, après action des radicaux libres d'oxygène, aboutit à la dépolymérisation de la fraction lignocellulosique à distance de l'hyphe (Arantes et al., 2012). Les polymères sont alors accessibles aux enzymes de dégradation de la cellulose et des hémicelluloses, au voisinage des hyphes (van den Brink and de Vries, 2011).

Au niveau ultrastructural, la paroi se caractérise par une dégradation de la cellulose et des hémicelluloses de la paroi secondaire, ne laissant qu'un squelette mou de lignine de faible résistance (figure 4 C-D).

#### 3.3 Les champignons de pourriture blanche

Les champignons de pourriture blanche sont également appelés agents de pourriture fibreuse car ils sont capables de dégrader l'ensemble des constituants du bois. Cela fait de ces organismes, qui appartiennent principalement au groupe des Basidiomycètes, les décomposeurs les plus efficaces de la lignine, un biopolymère très récalcitrant à la dégradation (Eriksson, 1990). Le bois colonisé est fortement ramolli, de couleur blanchâtre et présente un aspect fibreux lié à la disparition de la cohésion des fibres du bois en elles (figure 5A). Un représentant typique de ce groupe est *Trametes versicolor*. Les bois attaqués sont surtout des feuillus en raison de la composition chimique de leur lignine, plus riche en unités syringyl et qui sera préférentiellement dégradée par les cocktails d'enzymes sécrétées par les hyphes (Wong, 2009). Plusieurs types de dégradation par les pourritures blanches sont possibles. La dégradation de la lignine peut être sélective ou peut se produire simultanément à une attaque de la cellulose. Il existe des champignons capables de produire les deux types d'attaques (Eriksson, 1990).

L'accès à la matière lignocellulosique est rendu possible par l'action d'enzymes oxydatives qui exercent leur activité au voisinage immédiat des hyphes. Au niveau ultrastructural, les cellules sont totalement désolidarisées les unes des autres (dégradation de la lamelle moyenne) et des trous apparaissent dans les parois secondaires (figure 5C-D).



<u>Figure 5</u>: A) Aspect des dégâts causés par une attaque de pourriture blanche sur un pieu bois. B) Illustration du mécanisme de progression des hyphes de pourriture molle dans le bois dans le cas d'une attaque simultanée des constituants pariétaux. L'action des enzymes d'oxydation et de dégradation de la cellulose et de la lignine (en noir) conduit à la dégradation de la paroi secondaire en bleu et à celle de la lamelle moyenne, composée majoritairement de lignine (en rouge), (d'après (Schwarze, 2007). C-D) Vues en microscopie électronique à balayage C) ou à transmission D) des dégâts causés dans la paroi par une attaque, (d'après (Blanchette, 2000).

## 4. L'état des connaissances sur les interactions bactéries-champignons dans la dégradation du bois

Si l'observation de la co-occurrence de bactéries au voisinage d'hyphes de champignon colonisant le bois n'est pas récente (Eriksson, 1990), la compréhension des mécanismes d'interaction et l'identification des communautés microbiennes ainsi que leurs relations fonctionnelles ont débuté récemment. Les interactions entre les bactéries tunnelières et les champignons de pourriture molle ont été décrites mais les communautés non identifiées (Kim and Singh, 2000). Des études récentes ont montrées que les bactéries présentes dans le bois pourraient jouer un rôle de fixateur d'azote atmosphérique qui serait ensuite transloqué au champignon, permettant à celui-ci de se développer (Weißhaupt et al., 2011, 2012; Hoppe et al., 2014). Enfin, il a été montré que l'essence de bois et les champignons colonisateurs pouvaient jouer un rôle dans la sélection du microbiome bactérien (Hervé et al., 2013).

Remarques émises par la DRI du MEDDE lors de l'audit d'avril 2014 : « Une première étape aurait pu consister à répertorier les principaux types de sols et les populations de champignons et de bactéries susceptibles d'y dégrader les bois. Cette étude aurait peut-être permis de distinguer des sols plus favorables que d'autres (acidité, compacité, capacité à retenir l'eau, etc.) et de reproduire en laboratoire un inoculum et des conditions d'essais plus réalistes. »

**Réponses des auteurs :** « L'accent a été mis sur le développement d'outils pratiques à destination des bureaux d'études. Il semble difficilement applicable d'exiger lors d'une étude en phase d'avant projet de compléter l'étude géotechnique par une étude de la population fongique et bactériologique du site. De plus, lors de la réalisation d'ouvrages, des travaux de terrassement, incluants le déplacement (apports ou enlèvements) des sols souvent sur une épaisseur indéterminée de 20 cm à 1 m est nécessaire pour des pistes pour l'accessibilité des engins de battage, la création des blocs techniques etc. Aucune certitude n'existe donc sur la nature et l'état du sol dans le premier mètre de sol. Un inoculum à spectre large étant jugé suffisamment défavorable, contrairement à celui défini dans les protocoles en vigueur, a été préféré pour initier cette recherche totalement inédite. »

Remarques émises par la DRI du MEDDE lors de l'audit d'avril 2014 : « Le rapport reste très elliptique sur les traitements préventifs. Quelques mots sont dits sur l'imprégnabilité de ces traitements selon les essences, mais rien n'est mentionné sur les produits utilisés, leur efficacité et leur compatibilité avec les exigences de respect de l'environnement. Par ailleurs, les techniques de traitement thermique telles que la rétification ne sont pas évoquées : la fragilisation du bois qui pourrait découler de ces traitements est-elle compatible avec le battage ? »

**Réponses des auteurs :** « Lors des premières réunions du projet, il a été décidé de ne pas envisager les traitements préventifs, considérant que la démarche du développement durable était de travailler sur les ressources disponibles en métropole et naturellement durables (l'acceptabilité, dans le futur, des traitements ayant été jugé nulle pour des bois en contact avec une nappe phréatique). De ce fait, il n'a pas été entrepris de faire l'état de l'art de ces techniques (voir les comptes rendus de réunion de suivi du projet fournis à la DGITM en mai 2010, janvier 2011, mai 2011, janvier 2012 et décembre 2012).

Quand à la solution particulière de la rétification, elle rend le bois fragile et inapte à être battu dans le sol, et elle nécessiterait l'équipement en fours de taille importante (on passerait de 6 m à 10 m minimum, ce qui semble peu envisageable). Si l'aboutement était privilégié et donc des tronçons de 2 m à 3 m produits industriellement, l'éclatement au niveau des aboutage demanderait la pose de manchon et l'usinage préalable.

Les partenaires du projet ont constaté en discutant avec les négociants que l'idée de mettre en œuvre toute méthode de traitement rend la solution pieux bois économiquement non viable (plus cher que le béton et proche de l'acier, ce qui ne permettra pas de créer une demande). Une étude économique réalisée par l'entreprise Sud-Fondation a confirmé ce constat.»

## Partie 2. Evaluation de la cinétique de dégradation du matériau bois au contact de la terre

#### 1. Objectifs et dispositif expérimental

Cette partie du projet vise à établir une relation entre la perte de masse et la perte de résistance mécanique, toutes deux provoquées par une attaque biologique, pour trois essences de bois : le hêtre, le chêne et le pin sylvestre.

Un autre objectif est d'élaborer un modèle de prédiction de la dégradation du bois en confrontant différentes méthodologies de mesure.

L'expérience consiste à mettre les éprouvettes de bois en présence d'un inoculum microbien composé d'un mélange de sol et de matière végétale en décomposition dans un système fermé de type composteur, formant ainsi un microcosme (figure 6). L'inoculum présent dans le microcosme soumet les éprouvettes à une agression biologique importante et permet donc de simuler les risques encourus par la zone supérieure d'un pieu de fondation au contact d'un sol très actif au niveau biologique. Les éprouvettes utilisées ont pour dimensions 25 x 25 x 30 mm (30 mm dans la direction longitudinale) et ont été prélevées dans le duramen pour les essences à aubier différencié (pin sylvestre et chêne).



<u>Figure 6</u> : Dispositif expérimental de dégradation semi-contrôlée. A) Exemple d'éprouvette placée en dégradation dans le microcosme terrestre B). L'insert montre une éprouvette en cours de dégradation, au contact avec l'inoculum.

La méthodologie mise en œuvre est résumée sur le diagramme de la figure 7. Des prélèvements de 20 éprouvettes par essence ont été effectués après 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 et 12 semaines passées dans le dispositif expérimental. Cela permet d'avoir une vision dynamique de la dégradation du matériau bois sur trois essences différentes. Les principales données recueillies sont la perte de masse obtenue par pesées, la variation de masse

volumique déduite des niveaux de gris observés en tomographie rayons X, et la résistance mécanique des éprouvettes mesurée selon deux méthodes, perçage et compression.





#### 2. Les bois étudiés

2.1. Anatomie

*Le hêtre* La figure 8 montre une coupe transversale de hêtre (*Fagus sylvatica*.L).



Figure 8 : Coupe transversale de hêtre

Les caractéristiques anatomiques de ce bois sont les suivantes (Jacquiot et al., 1973) :

Plan ligneux

- Bois homogène, à pores diffus, isolés ou accolés par 2 à 6, très nombreux : 50 à 100 par mm<sup>2</sup>, leur nombre décroissant régulièrement du bois initial au bois final.
- Rayons de largeurs différentes, nombreux, les plus épais élargis à la limite des cernes.
- Parenchyme abondant, juxtavasculaire ou apotrachéal dispersé.
- Limite des cernes visibles, relevés au niveau des rayons.

#### Vaisseaux

- Section elliptique ou polygonale. Diamètre assez fin : 50 à 75 µm.
- Perforations uniques ou scalariformes pouvant atteindre 20 barreaux.
- Parois minces.
- Ponctuations intervasculaires aréolées en rangées horizontales ou parfois scalariformes.
- Ponctuations rayon-vaisseau grandes, elliptiques, à grand axe horizontal, en rangées parallèles, nombreuses.

#### Rayons

- Largeur de 1 à 25 cellules. Hauteur pouvant atteindre 4 mm.
- Homogènes.
- Parois très épaisses à ponctuations nombreuses.

#### Fibres libriformes

- Parois épaisses. Longueur : 1500 µm environ.
- Ponctuations fines.

#### Fibres trachéides

- Peu nombreuses. Parois épaisses.

- Ponctuations assez nombreuses.
- On rencontre les formes intermédiaires entre fibres libriformes et fibres trachéides.

#### Parenchyme

- Parois épaisses.
- Ponctuations fines groupées en plages.

#### Le chêne

La figure 9 montre une coupe transversale de chêne blanc français (chêne sessile, Quercus petraea.L).



#### Figure 9 : Coupe transversale de chêne

Les caractéristiques anatomiques de ce bois sont les suivantes (Jacquiot et al., 1973)

#### Plan ligneux

- Bois à zone initiale poreuse
- Vaisseaux du bois initial nombreux, formant 2 à 4 rangs
- Les vaisseaux du bois final tendent vers une disposition en plages radiales, plus ou moins nettement délimitées, plus étroites et plus nettes dans les échantillons possédant des cernes annuels larges et un bois final important, moins distinctes dans les échantillons à cernes étroits, où elles peuvent devenir confluentes à la fin du cerne et même se transformer en une zone presque continue.
- Rayons de types distincts: la plupart unisériés, très fins; les autres larges, souvent fractionnés, homogènes en général.
- Parenchyme paratrachéal et apotrachéal diffus, abondant.

#### Vaisseaux

- Diamètre de 300 à 500 µm dans le bois initial.
- Dans le bois final, le diamètre diminue jusqu'à 20 µm.
- Perforations uniques
- Ponctuations intervasculaires assez grandes, elliptiques en rangées horizontales, parfois en files obligues
- Ponctuations rayon-vaisseau assez grandes et elliptiques

- Thylles abondants dans le duramen.

#### Rayons

- La plupart unisériés. Hauteur : 10 cellules en moyenne.
- Les autres (1 sur 15 à 20 environ) sont plurisériés, atteignent une largeur de 15 cellules. Hauteur de plusieurs centimètres.

#### Fibres libriformes

- Forment la masse des tissus fibreux dans le bois final, où elles sont groupées en zones radiales, entre les plages de vaisseaux.
- Parois épaisses, à ponctuations fines et nombreuses, à orifice en fente.

#### Fibres trachéides

- Mélangées aux vaisseaux.
- Ponctuations nombreuses, petites, à orifices en fentes et croisées.

#### Parenchyme

- Abondant, paratrachéal et apotrachéal en couches, à parois minces.
- Ponctuations nombreuses sur les faces radiales.
- Cellules cristallifères absentes ou occasionnelles.

On peut apporter quelques précisions concernant le parenchyme longitudinal. Le parenchyme paratrachéal enrobe les vaisseaux et le parenchyme apotrachéal forme de très fines lignes tangentielles au sein des plages de tissus fibreux (Venet 1986).

#### Le pin sylvestre

La figure 10 montre une coupe transversale de pin sylvsetre (Pinus sylvestris.L).



#### Figure 10 : Coupe transversale de pin sylvestre

Les caractéristiques anatomiques de ce bois sont les suivantes (Jacquiot, 1955)

Trachéides verticales :

- Pas d'épaississements spiralés.

- Grandes ponctuations aréolées unisériées sur les parois radiales des trachéides du bois initial.
- Petites ponctuations aréolées sur les parois radiales, rarement sur les parois tangentielles, des trachéides du bois final.

#### Rayons ligneux :

- Unisériés (sauf ceux contenant des canaux résinifères transversaux).
- Hauteur : une dizaine de cellules en moyenne, dépassant tapement 15 cellules.
- Hétérogènes : cellules de parenchyme à parois transversales tantôt minces, non ponctuées, tantôt assez épaisses et ponctuées, à parois tangentielles minces, non ponctuées. 1 à 2 grandes ponctuations pinoïdes par champ de croisement. Indentures en général absentes. Trachéides transversales en files marginales et intercalaires nombreuses (généralement plus nombreuses que les files de cellules de parenchyme), à parois très épaisses et dentées autour des nombreuses petites ponctuations aréolées. Dents en général aiguës.

#### Parenchyme vertical :

- Absent

Canaux sécréteurs :

- A cellules bordantes à parois minces. Pas de thylloïdes.
- Verticaux nombreux, assez fins à moyens (diamètre 100-150 μm), situés surtout dans le bois final.
- Horizontaux plus fins et contenus dans certains rayons.

#### 2.2. Densité, durabilité et imprégnabilité

Les propriétés du bois, importantes dans le cadre de cette étude, sont données dans le tableau 1. Les valeurs concernant la densité sont issues des fiches Tropix du CIRAD (http://tropix.cirad.fr/). Les indications de durabilité naturelle vis-à-vis des champignons et de l'imprégnabilité sont celles de la norme EN 350-2 (1994).

Tableau 1 : Densité, durabilité naturelle vis-	à-vis des champignons	et imprégnabilité de	s bois étudiés.
,			

Essence	Densité	Durabilité naturelle vis-à-vis des champignons		Imprégnabilité	
		Aubier	Bois parfait (duramen)	Aubier	Bois parfait (duramen)
Hêtre	0.55	5	5	1	1
		(non durable)	(non durable)	(imprégnable)	(imprégnable)
Chêne	0.74	5	2	1	4
		(non durable)	(durable)	(imprégnable)	(non imprégnable)
Pin sylvestre	0.55	5	3-4	1	3-4
		(non durable)	(moyennement à faiblement durable)	(imprégnable)	(peu à non imprégnable)

#### 3. Pertes de masse

#### 3.1. Méthode

Avant leur mise en dégradation, les éprouvettes ont été placées dans une chambre climatique où elles se sont stabilisées en humidité.

Cette humidité initiale a été déterminée par la méthode de la double pesée. Dix éprouvettes par essence ont été pesées (masse humide), puis mises à l'étuve à 103°C jusqu'à masse constante et de nouveau pesées (masse anhydre). La formule utilisée pour le calcul de l'humidité du bois est la suivante :

 $H(\%) = \frac{(masse humide - masse anhydre)}{masse anhydre} \times 100$ 

Les humidités initiales, calculées pour chaque essence, sont :

Hêtre : H<sub>i</sub> = 9%

Chêne : H<sub>i</sub> = 9.3%

Pin : H<sub>i</sub> = 10.2%

Le tableau 2 donne les notations correspondant aux différentes masses mesurées ou calculées pour chacune des éprouvettes.

|--|

m <sub>1</sub>	masse initiale stabilisée	mesurée	Humidité du bois : voisine de 10% (Hi)
<b>m</b> 01	masse initiale anhydre	calculée	Humidité du bois : 0 %
m <sub>H</sub>	masse finale humide	mesurée	Humidité du bois : inconnue, peut être
			calculée à partir de m <sub>H</sub> et m₀₂¹
<b>m</b> <sub>2</sub>	masse finale stabilisée	mesurée	Humidité du bois : voisine de 10% (Hi)
<b>m</b> 02	masse finale anhvdre	calculée	Humidité du bois : 0 %
	······································		
m <sub>3</sub>	masse finale stabilisée avec perçage	mesurée	Humidité du bois : voisine de 10% (Hi)
-	1,30		
m <sub>03</sub>	masse finale anhydre avec percage	mesurée	Humidité du bois : 0 %
	, , , , , , , , , , , , , , , , , , , ,		

Toutes les éprouvettes sont pesées dans leur état initial stabilisé (autour de 10% d'humidité). Cette **masse** initiale stabilisée est notée  $m_1$ . Les éprouvettes sont directement placées dans le composteur et leur masse

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Calculer cette humidité permet de vérifier que l'humidité du bois était propice au développement des champignons, au moins au moment du prélèvement.

anhydre initiale n'est donc pas déterminée expérimentalement. En effet la mise à l'état anhydre étant susceptible de fragiliser le bois, cet état ne sera obtenu expérimentalement sur les éprouvettes lorsque tous les essais mécaniques auront été réalisés.

Cependant, en généralisant l'humidité initiale propre à chaque essence à toutes les éprouvettes de la même essence, il est possible d'évaluer la masse anhydre de chaque éprouvette<sup>2</sup>. Cette **masse initiale anhydre** est noté  $\mathbf{m}_{01}$ . Elle est calculée de la manière suivante :

$$m_{01} = \frac{m_1}{Hi + 100} \times 100$$

Après un temps t de dégradation, les éprouvettes sont pesées immédiatement après la sortie du composteur. On note cette masse m<sub>H</sub>.

Les éprouvettes sont ensuite replacées dans la chambre climatique où on émet l'hypothèse qu'elles se stabilisent à leur humidité initiale (respectivement 9, 9.3 et 10.2%, pour le hêtre, le chêne et le pin). La **masse finale stabilisée** est notée  $m_2$ .

Puis l'essai de perçage est réalisé, et les éprouvettes sont à nouveau pesées. Cette **masse finale stabilisée avec perçage** est notée **m**<sub>3</sub>. Après l'essai de compression, les éprouvettes sont placées dans une étuve à 103°C pour déterminer leur masse anhydre. Cette **masse finale anhydre avec perçage** est notée **m**<sub>03</sub>.

On note  $m_{02}$  la masse anhydre avant perçage. Cette masse est inconnue mais nous pouvons la déterminer par le calcul.

L'humidité H de l'éprouvette, après dégradation et stabilisation, correspond à deux calculs différents pour lesquels on peut donc établir une égalité.

 $H=(m_3-m_{03})/m_{03}$ 

 $H = (m_2 - m_{02}) / m_{02}$ 

On peut en déduire la valeur de mo2 à partir des masses connues :

 $m_{02} = (m_{03} \times m_2) / m_3$ 

D'où la formule de la perte de masse anhydre due à l'attaque fongique :

 $\Delta m = m_{01} - m_{02} = m_{01} - (m_{03} \times m_2) / m$ 

3.2. Résultats

#### Contrôle de l'humidité en fin d'essai et de la masse volumique des éprouvettes

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Cette approximation nécessaire introduit une certaine incertitude, ce qui expliquera l'obtention de pertes de masse négatives, après un temps de dégradation court. Les tendances générales resteront valables.

Les figures 11 à 13 donnent les humidités finales des éprouvettes à la sortie du composteur ( $m_H$ ) en fonction du temps de séjour dans le composteur pour les trois bois étudiés.



<u>Figure 11</u> : Humidité finale des éprouvettes de hêtre à la sortie du composteur ( $m_H$ ) en fonction du temps de séjour dans le composteur



<u>Figure 12</u> : Humidité finale des éprouvettes de chêne à la sortie du composteur ( $m_H$ ) en fonction du temps de séjour dans le composteur



### <u>Figure 13</u> : Humidité finale des éprouvettes de pin sylvestre à la sortie du composteur ( $m_H$ ) en fonction du temps de séjour dans le composteur

L'humidité des éprouvettes à la sortie du composteur apparaît globalement propice au développement des champignons. Le bois est attaqué lorsque son humidité est comprise entre 20% et 80% ; en deçà, le champignon manque d'eau, au-delà, le champignon manque d'oxygène. Certaines éprouvettes montrent une humidité supérieure à 80% en fin d'essai mais nous pouvons considérer qu'avant d'atteindre une telle humidité, l'éprouvette s'est trouvée pendant un temps suffisamment long dans la bonne gamme d'humidité. Cette inévitable différence d'humidité entre les éprouvettes induit cependant une indéniable source de variabilité d'attaque.

Bien que toutes les éprouvettes d'une même essence proviennent d'un même plateau, une autre source de variabilité est la masse volumique des éprouvettes, mise en évidence sur les figures 14 à 16. Cette variabilité est plus importante dans le cas du chêne. Elle a été en partie neutralisée par le calcul pour la plupart de nos mesures.



Figure 14 : Masse volumique de toutes les éprouvettes de hêtre testées



Figure 15 : Masse volumique de toutes les éprouvettes de chêne testées



Figure 16 : Masse volumique de toutes les éprouvettes de pin sylvestre testées

#### Pertes de masse

LLes résultats obtenus pour les mesures de perte de masse sont illustrés par le graphique de la figure 17.



#### Figure 17 : Pertes de masse moyennes par essence et par temps de dégradation.

Comme on peut le remarquer, la seule essence présentant des pertes de masse significatives est le hêtre. L'absence de perte de masse pour le chêne et le pin peut s'expliquer d'une part par la durabilité naturelle de ces essences (éprouvettes débitées dans le duramen), et d'autre part par un inoculum insuffisamment agressif du point de vue des agents de dégradation. L'inoculum utilisé est un compost essentiellement composé de feuilles mortes à différents états de dégradation, la proportion de bois étant relativement faible. Il est probable que ce compost contienne majoritairement des agents de dégradation foliaire, et des pourritures blanches. Cela a déjà été observé auparavant (Liers et al., 2011) et pourrait expliquer les faibles pertes de masse observées sur un temps d'exposition pourtant relativement long. Le hêtre est susceptible d'avoir été dégradé par des pourritures blanches, dont la présence, dans l'inoculum est probable. Sa richesse en hémicelluloses et son faible contenu en extractibles rendent ce bois plus facilement dégradable que le chêne.

Les pertes de masse augmentent nettement avec le temps de dégradation dans le cas du hêtre. Pour le chêne et le pin sylvestre, les pertes de masse sont faibles et la variabilité du bois ne permet pas de mettre en évidence un effet « temps ».

#### 4. Tomographie Rayons X

#### 4.1. Méthode

Les acquisitions ont été réalisées sur le tomographe de la plate-forme Tracilogis du laboratoire CRAN localisé sur le Campus Fibres à Epinal (RX solutions). La résolution des images obtenues est de 40 µm. Nous avons réalisé un suivi par tomographie sur 5 éprouvettes de chaque essence, pour chaque temps de prélèvement. Le protocole consiste à scanner les éprouvettes stabilisées en humidité, avant et après dégradation. Environ 480 images sont réalisées par éprouvette ce qui équivaut à une image tous les 6 centièmes de millimètre sur toute la hauteur de l'éprouvette. Les images sont réalisées selon un plan transversal.

Pour traiter les données, nous avons calculé le niveau de gris moyen pour chaque image, c'est-à-dire pour chaque plan transversal, puis la différence entre la valeur initiale et la valeur finale. Nous avons ensuite calculé,

pour chaque éprouvette, la moyenne des différences de niveaux de gris pour tous les plans transversaux (figure 18). Le logiciel utilisé est *imagej*. Nous avons développé un programme sous ce logiciel pour effectuer le traitement d'image.



Niveaux de gris moyen, image par image, avant dégradation Niveaux de gris moyen, image par image, après dégradation Différences de niveaux de gris moyen, image par image.

#### Figure 18 : méthode de traitement des images de tomographie Rayons X

#### 4.2. Résultats

Les figures 19 à 21 montrent pour chacune des essences la tomographie 3D d'une éprouvette avant et après dégradation de 12 semaines dans le composteur, ainsi que les coupes transversales à 3, 9, 15, 21 et 27 mm de hauteur. Les niveaux de gris sont traduits en fausses couleurs.

Une proportion plus importante de zones bleues traduit une baisse de niveau de gris, donc une perte de masse. Sur ces représentations, seule l'éprouvette de hêtre montre une variation visuelle des niveaux de gris.



Figure 19: Tomographies Rayons X d'une éprouvette de hêtre, coupes à différentes hauteurs :Avant dégradation (gauche)Après dégradation de 12 semaines (droite)



Figure 20: Tomographies Rayons X d'une éprouvette de chêne, coupes à différentes hauteurs :Avant dégradation (gauche)Après dégradation de 12 semaines (droite)

3D	
3 mm	
9 mm	
15 mm	
21 mm	
27 mm	

 Figure 21
 : Tomographies Rayons X d'une éprouvette de pin, coupes à différentes hauteurs :

 Avant dégradation (gauche)
 Après dégradation de 12 semaines (droite)

La figure 22 montre les différences de niveau de gris moyen en fonction de la position axiale pour 3 éprouvettes de hêtre ayant subi une dégradation de 12 semaines. Elle montre que les différences de niveau de gris moyen sont plus importantes au niveau des extrémités transversales des éprouvettes. En effet la progression des microorganismes est facilitée à partir de ces coupes, où les sections ouvertes des cellules de bois sont autant de voies d'entrée.

L'analyse par tomographie s'est révélée particulièrement intéressante. Elle permet de mesurer avec beaucoup plus de finesse les variations de densité des éprouvettes que la perte de masse.

Cependant, si la technique permet de visualiser des différences de densité, la quantification reste complexe. En effet le calcul du niveau de gris moyen par plan ne permet pas de prendre en compte des différences de densité à l'échelle locale. La cartographie 3D de potentielles poches de dégradation est encore à optimiser.



### <u>Figure 22</u> : Différences de niveau de gris moyen avant et après dégradation, en fonction de la position axiale dans l'éprouvette, pour 3 éprouvettes de hêtre après 12 semaines de dégradation.

La tomographie permet d'observer comment les pertes de masse se répartissent dans l'éprouvette.

Afin d'optimiser les mesures, un protocole pourrait être développé pour cartographier la présence de poches de dégradation au sein de l'éprouvette.

#### 5. Perçage (résistographe)

#### 5.1. Méthode

Après stabilisation en humidité (vérification par pesées successives), les éprouvettes sont percées dans la direction radiale (figure 23A) à l'aide d'une fraise de type finition (Dormer C346) de diamètre 5mm. Ce perçage permet de localiser la rupture lors de l'essai de compression à suivre.

Le perçage permet aussi d'obtenir une caractérisation supplémentaire des propriétés mécaniques de l'éprouvette par mesure du courant lors du perçage (principe du résistographe). Le perçage dans la direction radiale permet de traverser plusieurs cernes, et de déterminer une valeur moyenne qui prend en compte l'hétérogénéité bois initial/bois final. De plus, le perçage radial correspond à ce qui pourrait être pratiqué dans le cas d'un essai sur un pieu réel dans le cadre d'un contrôle sur site.

В







Figure 23 : A) Eprouvette de pin sylvestre percée en son centre, dans la direction radiale. B) Dispositif de perçage.

L'outil choisi pour réaliser les essais de perçage est une fraise à défoncer. Les essais seront réalisés à l'aide d'une perceuse à commande numérique. Il est par conséquent possible de régler précisément la vitesse de rotation de l'outil ainsi que sa vitesse de descente dans la matière. En premier lieu, nous avons donc dû trouver les paramètres pour chaque essence, permettant de mesurer au mieux les propriétés mécaniques du matériau.

La diminution de la vitesse de rotation de la fraise a le même effet que l'augmentation de la vitesse de descente de celle-ci. Dans les deux cas on note une augmentation du courant mesuré dû à l'augmentation des efforts sur la fraise. Par conséquent, le profil de densité de l'éprouvette est détecté plus finement.

Les réglages optimaux ont été recherchés, dans une gamme de valeurs acceptables pour le matériel (risque de casse de l'outil), tout en évitant de comprimer le bois par une vitesse de descente trop rapide ou une vitesse de rotation trop lente de l'outil.

Les paramètres optimaux retenus pour les essences testées figurent dans le tableau 3.

Tableau 3 : Paramètres optimaux pour l'essai de perçage

Essence	Vitesse de descente de l'outil (mm/s)	Vitesse de rotation de l'outil (tours/min)
Hêtre	2	180
Chêne	2	180
Pin sylvestre	2	60

Pour limiter les frottements, nous avons installé un dispositif permettant de souffler de l'air au niveau de la fraise, en vue de permettre la meilleure évacuation possible des copeaux. La figure 24 présente quelques mesures réalisées avec ce dispositif. Sur environ 1.5 cm de perçage, le courant reste constant. Pour le pin, on note de fortes variations du courant, liées à l'importante différence de densité entre bois de printemps et bois d'été. Ce constat étant vérifié sur 10 essais pour chaque essence, nous avons choisi de considérer la moyenne du courant mesuré sur le premier centimètre de perçage.



Figure 24 : Mesure de courant lors du perçage d'éprouvettes de chêne, hêtre et pin

Pour pouvoir comparer les éprouvettes entre elles, nous avons défini un critère de perçage, qui intègre une correction de masse volumique et d'humidité.

En premier lieu, le courant est multiplié par la vitesse de rotation de l'outil pour avoir une puissance.
Nous avons considéré que la puissance de perçage varie de manière proportionnelle avec la masse volumique (quand la masse volumique augmente, la puissance de perçage augmente), et de manière inversement proportionnelle avec l'humidité (quand l'humidité augmente, la puissance de perçage diminue). Nous cherchons par ce calcul à ramener toutes nos valeurs à une masse volumique constante (la masse volumique moyenne de nos éprouvettes) et à une humidité constante (l'humidité de stabilisation moyenne). Ainsi, le critère de perçage est défini comme suit :

```
Crit{\rm \`ere} = courant \times vitesse \times \frac{Masse \ volumique \ moyenne}{Masse \ volumique \ éprouvette} \times \frac{Humidit{\rm \'e} \ éprouvette}{Humidit{\rm \'e} \ de \ stabilisation \ moyenne}
```

5.2. Résultats

Les résultats ont permis de tracer les graphiques des figures 25 à 27.



Figure 25 : Critères de perçage mesurés après différents temps de dégradation pour le hêtre.



Figure 26 : Critères de perçage mesurés après différents temps de dégradation pour le chêne.



Figure 27 : Critères de perçage mesurés après différents temps de dégradation pour le pin.

#### 5.3. Corrélation Critère de perçage / Perte de masse

Pour mettre en évidence la corrélation entre critère de perçage et attaque fongique, nous avons représenté le critère de perçage en fonction de la perte de masse pour chaque essence, tous temps de dégradation confondus. Les données obtenues ont permis de tracer les graphiques des figures 28 à 30.



Figure 28 : Critère de perçage en fonction de la perte de masse pour le hêtre



Figure 29 : Critère de perçage en fonction de la perte de masse pour le chêne.



Figure 30 : Critère de perçage en fonction de la perte de masse pour le pin.

Ces graphiques montrent visuellement une certaine corrélation entre perte de masse et critère de perçage : le critère de perçage diminue quand la perte de masse augmente. Cependant, les coefficients de corrélation sont faibles et non significatifs. Sur le chêne et le pin, les pertes de masse mesurées sont faibles et les pertes de masse négatives montrent l'imprécision de la mesure. Seuls les résultats obtenus sur le hêtre peuvent être exploités. Sur le tracé de la figure 28, nous pouvons remarquer une rupture de pente, pour une perte de masse mesurée correspondant à environ 4%. Le modèle linéaire appliqué sur l'ensemble de la plage de données pour évaluer la corrélation entre les deux grandeurs donne un coefficient de corrélation de 0,36. Si l'on applique deux régressions linéaires, de part et d'autre de la rupture de pente, une première sur la plage de valeurs allant de 0 à 4% de perte de masse, et une seconde sur celle allant de 4 à 20%, on obtient deux coefficients de corrélation, respectivement de 0,31 et 0,23, qui ne sont pas significatifs, malgré la rupture de pente observée. La variabilité du bois est telle que les résultats sont trop dispersés.

Le critère de perçage et la dégradation fongique semble montrer une certaine corrélation pour le hêtre, avec deux cinétiques distinctes de dégradation, la chute des propriétés mécaniques apparaissant plus rapide pour des pertes de masse inférieures à 4%.

Pour le chêne et le pin, la forte dispersion des valeurs et le faible état de dégradation du bois ne permettent pas d'obtenir une loi reliant perte de masse et courant de perçage, avec un degré de corrélation suffisant.

## 6. Essais de compression

#### 6.1. Méthode

Après avoir percé les éprouvettes, celles-ci sont testées en compression longitudinale.

La caractéristique mécanique déterminée par cet essai est la contrainte à rupture en compression longitudinale (figure 31).



Figure 31 : Courbe reliant la contrainte à la déformation lors d'un essai mécanique

#### 6.2. Résultats

Les figures 32 à 34 présentent les valeurs de contrainte à rupture obtenues pour chaque essence :



Figure 32 : Contrainte à rupture, en fonction du temps de dégradation, pour le hêtre



Figure 33 : Contrainte à rupture, en fonction du temps de dégradation, pour le chêne



Figure 34 : Contrainte à rupture, en fonction du temps de dégradation, pour le pin

Sur le graphique de la figure 34, un lot de valeurs n'est probablement pas à considérer, il s'agit du lot d'éprouvettes de pin dégradées 8 semaines. Une erreur expérimentale ayant sans doute été commise avec ce lot, il ne sera pas pris en compte dans nos analyses.

La contrainte à rupture diminue avec l'augmentation du temps de dégradation.

#### 6.3. Corrélation Contrainte à rupture / Critère de perçage

Pour établir une corrélation entre la contrainte à rupture et le critère de perçage, nous avons tracé les graphes des figures 35 à 37, par essence, tous temps de dégradation confondus.







Figure 36 : Contrainte à rupture, en fonction du critère de perçage, pour le chêne





Ces graphiques mettent en évidence une bonne corrélation entre la contrainte à rupture de l'éprouvette et la mesure de courant lors du perçage. Cette corrélation est particulièrement bonne pour le hêtre, où, si l'on applique un modèle linaire, on obtient un coefficient de corrélation de 0,82 entre les deux mesures. Compte tenu de la forte variabilité intrinsèque du bois, ce coefficient est tout à fait satisfaisant. En revanche, pour les deux autres essences, ce coefficient est beaucoup moins élevé, il est respectivement de 0,65 pour le chêne et de 0,12 pour le pin. Il n'est pas étonnant que la relation entre ces deux mesures soit difficile à établir pour ces deux essences, car elles ont subies peu de perte de masse et donc peu de dégradations sur l'ensemble de la durée de l'expérience. Par conséquent, la variabilité due aux éprouvettes masque en grande partie la tendance qui pourrait se dégager. De plus, le hêtre est également plus homogène, sur le plan de la structure anatomique, que les deux autres essences. Par conséquent, la variabilité intrinsèque des éprouvettes est probablement plus faible pour le hêtre.

#### 6.4. Corrélation Contrainte à rupture / Perte de masse

Compte tenu de ces résultats, il apparait intéressant de rechercher, pour le hêtre, une corrélation entre contrainte à rupture et perte de masse, celle-ci traduisant le degré d'attaque fongique de l'éprouvette (figures 38 à 40).



Figure 38 : Contrainte à rupture, en f Perte de masse (%) , pour le hêtre.



Figure 39 : Contrainte à rupture, en fonction de la perte de masse, pour le chêne.



Figure 40 : Contrainte à rupture, en fonction de la perte de masse, pour le pin.

Sur le tracé de la figure 38, nous pouvons remarquer une rupture de pente, pour une perte de masse correspondant à environ 4%, comme déjà observé dans la corrélation Perte de masse / Critère de perçage (figure 28).

Le modèle linéaire appliqué sur l'ensemble de la plage de données pour évaluer la corrélation entre les deux grandeurs n'est donc que peu satisfaisant. Il donne un coefficient de corrélation de 0,38. En revanche, si l'on applique deux régressions linéaires, de part et d'autre de la rupture de pente, une première sur la plage de valeurs allant de 0 à 4% de perte de masse, et une seconde sur celle allant de 4 à 20%, on obtient deux coefficients de corrélation, respectivement de 0,45 et 0,79.

La régression réalisée sur la première partie de la courbe n'a pas un coefficient de corrélation réellement significatif. Comme mentionné précédemment, la variabilité intrinsèque des éprouvettes masque plus facilement les tendances observables sur des éprouvettes non dégradées ou faiblement dégradées. Cette raison peut expliquer en partie le faible coefficient de corrélation. En revanche, pour la seconde partie de la courbe, la corrélation est assez bien établie, avec un coefficient de 0,79.

Les pertes de masse des deux autres essences, à savoir le pin et le chêne, ne sont pas suffisantes pour obtenir les mêmes relations que dans le cas du hêtre. Il apparait nécessaire de dupliquer l'expérience, avec un inoculum plus agressif, et une durée expérimentale plus importante pour pouvoir évaluer l'évolution des propriétés du matériau pour ces deux essences.

## 7. Conclusion de la partie 2

Dans cette première partie plusieurs méthodologies expérimentales ont pu être mises au point afin de caractériser le bois après dégradation biologique en environnement semi-contrôlé. Les mesures suivantes ont été réalisées :

- perte de masse
- niveau de gris moyen de plans transversaux successifs, mesuré par tomographie rayons X
- courant de perçage (résistographe) permettant de calculer un critère de perçage
- contrainte à rupture en compression longitudinale

Les mesures donnent des résultats cohérents. Lorsque le temps de dégradation augmente :

- la perte de masse augmente (figure 17),
- le courant de perçage diminue (figures 25 à 27)
- la contrainte à rupture en compression longitudinale diminue (figures 32 à 34)

Le hêtre présente la dégradation biologique la plus importante. Par ailleurs, de par son caractère homogène, la variabilité est moins importante que pour le chêne et le pin sylvestre.

Pour ces deux raisons, les corrélations suivantes ont été plus particulièrement mises en évidence sur le hêtre : entre la contrainte de rupture en compression longitudinale et le critère de perçage (figure 35) et entre la contrainte de rupture en compression longitudinale et la perte de masse, en particulier lorsque la perte de masse est supérieure à 4% (figure 38).

Pour de faibles pertes de masse, inférieures à 4 %, la variabilité, à la fois du bois et de l'attaque, fait que les essais mécaniques, que ce soit le perçage ou la compression, donnent des résultats dispersés. Cependant, il semblerait que les propriétés mécaniques chutent assez vite alors que la perte de masse est à peine amorcée.

D'après nos résultats, une perte de masse de 4 % entraîne une chute initiale importante des propriétés mécaniques. Les pertes de masse supérieures à 4% ont pour conséquence une baisse des propriétés mécaniques, mais avec une cinétique plus faible. Les premiers constituants du bois qui disparaissent les premiers lors d'une attaque fongique sont les substances pectiques dans un premier temps, puis les hémicelluloses. Curling et al. (2002) ont montré la relation entre la dégradation des hémicelluloses et la perte de résistance mécanique.

Cette dégradation des hémicelluloses peut être chimique ou thermique, avec les mêmes conséquences au niveau mécanique. La perte de résistance mécanique suite à un traitement du bois à haute température, qui affecte également les hémicelluloses (Candelier et al., 2013), montre est fortement accrue pour une perte de masse du bois de l'ordre de 5% (Candelier et al., 2011; Candelier et al., 2013). Notre point d'inflexion se situe à 4 % mais rappelons que nos mesures sont affectées par la nécessaire approximation faite sur l'humidité initiale. L'obtention de pertes de masses négatives allant jusqu'à -3 % montre d'ailleurs que nos valeurs de pertes de masse sont vraisemblablement décalées et sous-évaluées.

La variabilité observée est en partie due à la forte variation du degré d'attaque des éprouvettes par les champignons. En effet, la volonté de se rapprocher des conditions naturelles en introduisant les éprouvettes dans un microcosme composé de matière organique en décomposition ne nous donne qu'une maîtrise relative de l'inoculum des éprouvettes. Certaines peuvent se trouver en contact avec un consortium de microorganismes susceptibles de les dégrader et d'autres en contact avec des populations microbiennes totalement inadaptées. Il s'ensuit une forte variabilité quant à la dégradation des éprouvettes, surtout si l'on compare ce protocole à un essai de type EN 113, où l'inoculum est constitué par une souche pure de champignon basidiomycète dont la virulence est contrôlée tout comme les conditions de température et d'humidité.

Un autre facteur de variabilité provient des éprouvettes de bois elles-mêmes, car bien que les valeurs mesurées (module d'élasticité, courant,...) soient corrigées par rapport à la densité et à l'humidité des éprouvettes, et que les éprouvettes soient exemptes de singularités visibles, telles que les nœuds, il n'en subsiste pas moins une variabilité inhérente à tout matériau issu d'êtres vivants.

Une nouvelle campagne d'essais est en cours avec les modifications suivantes :

- Utilisation d'un inoculum plus agressif : utilisation d'un mélange de terre prélevée en milieu forestier et de bois fortement dégradé broyé (hêtre, chêne et pin sylvestre).
- Réduction du nombre d'éprouvette par temps de prélèvement : 10 éprouvettes par essence.
- Utilisation d'un outil modifié permettant de limiter les frottements lors du perçage, et de caractériser ainsi le bois sur une plus grande profondeur, alors que les essais présentés ici ne concernaient que le premier centimètre.
- Réalisation d'essais mécaniques de compression longitudinale avec mesure du déplacement grâce à des cibles extérieures à l'éprouvette.

Par ailleurs des méthodes de biologie moléculaire vont être appliquées sur les éprouvettes :

- Analyse génétique des populations de microorganismes bactériens et fongiques présents dans les éprouvettes en coursd e dégradation. Cette méthode de caractérisation s'appuie sur le protocole développé par (Jasalavich et al., 2000).
- Mesure de trois activités enzymatiques impliquées dans la dégradation des composés du bois. Les activités mesurées sont laccase, β-glucosidase et β-xylosidase. Les laccases oxydent les dérivés phénoliques et transforment la lignine en monolignol. Cette enzyme est donc plutôt caractéristique des pourritures blanches. Les β-glucosidases détruisent les liaisons β1-4 entre deux glucoses ou substituts. Elles dégradent donc principalement les glucanes de la cellulose ou des hémicelluloses. Les xylosidases sont similaires mais dégradent les xyloglucanes, plutôt présents dans les hémicelluloses. Ainsi ces trois enzymes devraient permettre de cerner le type de pourriture en présence à partir d'une faible quantité (quelques milligrammes) de sciures obtenues lors d'un perçage d'inspection. Cette méthodologie a été mise au point dans le cadre des expériences de la partie 4, et est décrite dans la suite de ce rapport.

Bien que les essais réalisés permettent dans des conditions expérimentales précises d'appréhender l'évolution des propriétés du matériau bois, ces résultats ne sont pas directement applicables pour des méthodes de diagnostic sur site. Le premier problème réside dans la correction qui est apportée aux différentes valeurs mesurées. En effet, les valeurs de courant et de contrainte sont corrigées par rapport à la densité des éprouvettes et à leur humidité lors de la réalisation des essais. Sans cette correction qui supprime une grande partie de la variabilité intrinsèque de chaque éprouvette, nous ne pourrions évaluer l'effet de la dégradation du matériau dans ses phases précoces. Cependant, lors d'essais de perçage sur un pieu en fonction, l'humidité du bois ainsi que sa masse volumique ne sont pas disponibles. Qui plus est, l'évolution de la dégradation dépend fortement du type d'organismes en présence.

Par conséquent, une augmentation des connaissances, particulièrement sur les populations fongiques et bactériennes, ainsi qu'une réflexion sur les méthodes permettant d'obtenir ou de s'affranchir de certaines données (humidité, densité) sur site sont nécessaires pour développer des protocoles d'analyse complets et applicables dans la pratique. Il est à noter que des recommandations similaires sont formulée pour les inspections sur site de poteaux télégraphiques (Morrell, 2012).

# Partie 3. Observation du bois attaqué en Microscopie Electronique à Balayage

Les observations ont été réalisées sur une éprouvette de hêtre ayant séjourné 12 semaines dans le dispositif expérimental type composteur (figures 41 à 48) et une éprouvette témoin de la même planche (figures 49 à 52). Les commentaires sont donnés dans les légendes des figures.



HL x1.0k 100 um

Figure 41 : Coupe transversale de hêtre dégradé

Présence de cristaux d'oxalate de calcium sur des hyphes mycéliens dans les vaisseaux (flèche blanche) ; formation de biofilm (flèche grise) ; cristaux d'oxalate de calcium collés en boule par du biofilm (flèche rayée).

Ponctuations ouvertes, dont la membrane semble manquer (flèches quadrillées), au niveau du parenchyme radial des rayons.





Présence de cristaux d'oxalate de calcium sur des hyphes mycéliens dans les vaisseaux.





Présence de spores et d'hyphes mycéliens, à l'intérieur d'un vaisseau, au niveau d'une perforation simple



## Figure 44 : Coupe radiale de hêtre dégradé

#### Présence d'hyphes mycéliens et ponctuations avec membranes dégradées



HL x2.5k 30 um

### Figure 45 : Coupe radiale de hêtre dégradé

Présence d'hyphes mycéliens et ponctuations avec membranes dégradées

Présence de bactéries de type bacilles (bâtonnets) et coques (sphères)



### Figure 46 : Coupe radiale de hêtre dégradé

Présence de bactéries de type bacilles (bâtonnets) et coques (sphères) correspondant à des actinomycètes (bactéries filamenteuses).



HL x2.0k 30 um

Figure 47 : Coupe radiale de hêtre dégradé

Présence de biofilm au niveau d'une perforation scalariforme dans un vaisseau



# Figure 48 : Coupe transversale de hêtre dégradé

Les fibres au contact du rayon montrent une dégradation de leur paroi.

(à comparer avec la figure 49 ci-dessous)



Figure 49 : Coupe transversale de hêtre non dégradé

Présence de grains d'amidon dans le parenchyme radial (flèche blanche)



### Figure 50 : Coupe transversale de hêtre non dégradé

Présence de grains d'amidon dans le parenchyme longitudinal (flèche blanche)



HL x600 100 um

Figure 51 : Coupe transversale de hêtre non dégradé

**Perforations scalariformes** 

Absence de cristaux d'oxalate de calcium et absence de biofilm



#### Figure 52 : Coupe radiale de hêtre non dégradé

#### Ponctuations avec membranes non dégradées (flèches blanches)

Nos observations ont montré la présence de mycélium et de spores de champignons, ainsi celle de bactéries de plusieurs types, bacilles et actinomycètes.

L'action des microorganismes semble encore peu prononcée sur le bois : on note la disparition des grains d'amidon, substrat facilement assimilable par les microorganismes, mais surtout la dégradation des membranes de ponctuations et la présence de cristaux d'oxalate de calcium et de biofilm.

L'attaque des membranes de ponctuation, riches en pectines, concordent avec l'apparition de cristaux d'oxalate de calcium.

En effet, l'hydrolyse de la pectine est considérée comme une étape essentielle de la colonisation du bois par les champignons (Green et al., 1996; Green and Highley, 1997; Green and Clausen, 1999)

La plupart des agents de pourritures brunes et blanches ont la capacité d'hydrolyser la pectine des membranes de ponctuations lors d'un début d'attaque, facilitant ainsi la colonisation (Schwarze et al., 2006; Schwarze, 2007).

La pectine est un bon chélateur du calcium. La production d'acide d'oxalique par le champignon permet de diminuer le pH et de chélater les ions calcium de la pectine, fragilisant ainsi la paroi et permettant aux polygalacturonases d'agir plus efficacement (Dutton and Evans, 1996; Rio et al., 2008).

La diminution des propriétés mécaniques du bois attaqué par les champignons peut s'observer alors que la perte de masse est encore insignifiante, notamment pour les agents de pourriture brune (Green and Highley, 1997).

Dans la partie 2, nous avons montré que les propriétés mécaniques étaient affectées dans le cas du hêtre ayant séjourné 12 semaines dans le composteur. Certains constituants structuraux de la paroi sont donc forcément attaqués. Il a été montré qu'une chute initiale des propriétés mécaniques du bois lors de l'attaque fongique était liée à l'hydrolyse des hémicelluloses (Curling et al., 2002). La photographie de la figure 48 montre que les agents de dégradation ont

attaqué la paroi de fibres situées à proximité d'un rayon ligneux, celui-ci, constitué de parenchyme radial, pouvant être un tissu attaqué préférentiellement de par sa composition chimique particulière (Schwarze, 2007), et une voie d'entrée dans le matériau de par son orientation dans le bois.

Les observations au MEB montrent les signes d'une attaque des pectines et de certains constituants structuraux de la paroi, que la littérature nous permet d'identifier comme les hémicelluloses.

# Partie 4. Suivi de la cinétique d'humidification et de la dégradation biologique de minipieux bois partiellement immergés

# 1. Méthodes

Des pieux de 50 cm de hauteur et de 15 cm de diamètre de hêtre, de chêne et de pin sylvestre sont roulés dans un inoculum composé de litière forestière, puis placés dans des caisses remplies d'eau jusqu'à une hauteur de 18 cm, selon le plan d'expériences de la figure 53.

Manip « dégradation » 144 pieux 24 bacs (8 par essence) 48 pieux de chaque essence Scan à temps 0 (tous, 144 scans) Inoculation des champignons de litière et installation dans les bacs (2 jours)						
3 bacs contrôle (1 par essence)	21 autres bacs					
18 pieux	Les pieux scannés sont récupérés après les					
Scan tous les 15 jours pendant 18 mois des 18	scans pour des essais destructifs.					
pieux pour déterminer t1, t2, t3, t4	Scan à 6 mois (3 bacs, 1 par essence, 18 scans)					
(18 scans tous les 15 jours pendant 18 mois)	Scan à 12 mois (3 bacs, 1 par essence, 18 scans)					
DCH1 à DCH6 : dégradation/contrôle/hêtre/1 à 6 DCP1 à DCP6 : dégradation/contrôle/pin/1 à 6 DCC1 à DCC6 : dégradation/contrôle/chêne/1 à 6 Le nom du scan précise la date : DCH1_2mai.	Scan à 18 mois (3 bacs, 1 par essence, 18 scans) Scan à t1 (3 bacs, 1 par essence, 18 scans) Scan à t2 (3 bacs, 1 par essence, 18 scans) Scan à t3 (3 bacs, 1 par essence, 18 scans) Scan à t4 (3 bacs, 1 par essence, 18 scans)					
D6H1 à D6H6 : dégradation/6 mois/hêtre/1 à 6	DT1H1à DT1H6 : dégradation/t1/hêtre/1 à 6					
D6P1 à D6P6 : dégradation/6 mois/pin/1 à 6	DT1P1à DT1P6 : dégradation/t1/pin/1 à 6					
D6C1 à D6C6 : dégradation/6 mois/chêne/1 à 6	DT1C1 à DT1C6 : dégradation/t1/chêne/1 à 6					
Idem 12 mois et 18 mois	Idem t2, t3, t4					
Le nom du scan précise initial ou final : D6H1i ou f.	Le nom du scan précise initial ou final : D6H1i ou f					

# <u>Figure 53</u> : Plan d'expérience et codification des pieux destinés à l'étude de la cinétique d'humidification et de la dégradation biologique

Au préalable, tous les pieux ont reçu un trait de scie à mi-diamètre (gorge de décharge) permettant de libérer, au moins en partie, les contraintes liées à l'anisotropie du retrait et du gongflement lors du séchageet de la reprise d'humidité du matériau. Le trait de scie sert également de repère spatial pour l'exploitation des tomographies.

Les pieux sont scannés en tomographie rayons X sur la plateforme Xylosciences située à l'INRA de Champenoux. Les tomographies sont présentées en fausses couleurs selon la correspondance montrée sur la figure 54, les couleurs chaudes correspondant à une densité plus forte.



# <u>Figure 54</u> : Correspondances entre fausses couleurs et niveaux de gris, le rouge indiquant les densités les plus élevées.

Les tomographies sont généralement présentées sous forme d'un ensemble d'éprouvettes de 25x25x30 mm (30 mm dans la direction longitudinale) découpées virtuellement. La tomographie d'une éprouvette peut correspondre à deux modes de représentations différentes, selon la figure 55. La représentation 2 est plus représentative de la masse volumique globale de l'éprouvette alors que la représentation 1 est l'image d'un seul plan dans l'éprouvette.



#### Figure 55 : Modes de représentation possible des tomographies

Les pieux de contrôle dont le code commencent par « DC » ont été scannés à différents temps et les résultats sont présentés pour un pieu de chaque essence dans le paragraphe « 2. Cinétique d'humidification des pieux ».

Les pieux dont le code commence par « D6 » ont été scannés avant la mise en eau et après 6 mois de mise en eau continue. A l'issue du scan, les pieux ont été découpés en éprouvettes (figure 56). Le plan de découpe réel correspondant au plan de découpe virtuel appliqué au scan.

Sur les éprouvettes ainsi découpées, une pesée est immédiatement réalisée. Sur une partie des éprouvettes, les caractérisations suivantes ont également été menées :

- Activité enzymatique laccase
- Activité enzymatique glucosidase
- Activité enzymatique xylosidase
- Courant de perçage
- Module d'élasticité longitudinal

Les résultats sont présentés pour un pieu de chaque essence dans le paragraphe « 3. Dégradation biologique des pieux », bien que le temps « 6 mois » ait surtout permis la mise en place des protocoles expérimentaux, qui montreront tout leur intérêt pour des temps de dégradation plus longs



Figure 56 : Plan de découpe réelle des pieux en éprouvettes

## 2. Cinétique d'humidification des pieux

Les figures 57, 59 et 61 correspondent aux tomographies rayons X respectivement d'un pieu de hêtre, de chêne et de pin sylvestre, plus précisément aux coupes transversales en haut et bas de pieu aux temps 0 et 24 semaines, et aux coupes longitudinales correspondant au milieu de la planche 2 (mode de représentation 1) en fonction du temps d'humidifications). Les repères A et B sont valables pour toutes les images. Le niveau d'eau correspond à la 6 ème éprouvette en partant du bas de pieu.

Les figures 58, 60 et 62 correspondent aux tomographies rayons X respectivement d'un pieu de hêtre, de chêne et de pin sylvestre, plus précisément aux coupes transversales des éprouvettes, reconstituées à partir des niveaux de gris moyens par pixel dans la direction longitudinale (mode de représentation 2), en fonction du temps d'humidification.

![](_page_58_Figure_1.jpeg)

temps d'humidifications (mode de représentation 1). Trait noir = niveau d'eau.

![](_page_58_Figure_3.jpeg)

![](_page_59_Figure_1.jpeg)

![](_page_59_Figure_2.jpeg)

<u>Figure 60</u> : tomographies rayons X du pieu de chêne DCC1, coupes transversales des éprouvettes, reconstituées à partir des niveaux de gris moyens par pixel dans la direction longitudinale (mode de représentation 2), en fonction du temps d'humidification. Trait noir = niveau d'eau.

![](_page_60_Figure_1.jpeg)

![](_page_60_Figure_2.jpeg)

<u>Figure 62</u> : tomographies rayons X du pieu de pin DCP1, coupes transversales des éprouvettes, reconstituées à partir des niveaux de gris moyens par pixel dans la direction longitudinale (mode de représentation 2), en fonction du temps d'humidification. Trait noir = niveau d'eau.

Les tomographies montrent uniquement l'humidification des pieux au cours du temps. Sur un temps de 6 mois, les pieux ne sont pas dégradés par des champignons qui auraient pu induire une perte de masse significative.

La figure 57 montre que le hêtre, essence à aubier non différencié, imprégnable dans tout son volume, s'humidifie sur une grande partie de la hauteur, au-delà du niveau d'eau. La montée est plus importante au centre du pieu qu'à la périphérie, où la capillarité est peut-être perturbée et où apparaîssent peut-être des phénomènes de séchage. Sur les coupes transversales, on observe la fermeture des fissures sur la partie basse du pieu et l'apparition de nouvelles fissures en partie haute (coupes transversales t0 et t24). La nouvelle fissure est visible sur la planche à partir de 10 semaines de mise en eau.

La figure 58 montre que le pieu, lorsqu'il a été scanné au temps 0, n'était pas encore stabilisé en humidité : la couleur du scan est globalement est plus jaune que celle des suivants. Quand il a été mis en eau, plusieurs mois après ce premier scan, il avait perdu en humidité. Les traits bleu foncé horizontaux visibles sur certaines tomographies (mode de représentation 2) correspondent au trait de scie radial.

Les figures 59 et 60 montrent que le pieu de chêne comporte initialement des zones de densité plus forte correspondant aux nœuds. L'humidification est limitée à la base du pieu. Le pieu ne contenait visiblement pas d'aubier car le bois se comporte de manière homogène dans tout le pieu. L'eau monte davantage en périphérie qu'au cœur du pieu et la partie située à proximité de la moelle, correspondant à du bois juvénile, semble s'imprégner un peu plus.

Les figures 61 et 62 montrent que le pieu de pin sylvestre comporte initialement des zones de densité plus forte correspondant aux nœuds. L'humidification est limitée à la base du pieu sauf au niveau de la partie la plus éloignée de la moelle qui pourrait correspondre à de l'aubier

Ces résultats montrent qu'au bout de 6 mois, les pieux semi- émergés de chêne et de pin sylvestre se sont peu humidifiés et n'ont donc pas atteint les conditions d'un risque d'attaque par les champignons.

Par contre le hêtre, qui a été choisi comme matériel d'étude pour sa forte imprégnabilité et sa faible imprégnabilité, est dans les conditions où une attaque fongique va immanquablement se produire à terme dans toutes les parties du pieu qui présente une humidité favorable, c'est-à-dire comprise entre 20 et 80%. Cette humidité va être mesurée sur les pieux de la partie suivante.

# 3. Dégradation biologique des pieux

#### 3.1. Tomographies et des humidités réelles

Les figures 63, 65 et 67 correspondent aux tomographies rayons X **respectivement d'un pieu de hêtre, de chêne et de pin sylvestre**, plus précisément aux coupes transversales en haut et bas de pieu, et aux coupes longitudinales correspondant au milieu des différentes planches (mode de représentation 1), aux temps 0 et 24 semaines.

Les figures 64, 66 et 68 correspondent aux tomographies rayons X **respectivement d'un pieu de hêtre, de chêne et de pin sylvestre**, selon le mode de représentation 2, pour les 4 planches, et humidités des éprouvettes correspondantes déterminées par la méthode de la double pesée.

Les couleurs, qui représentent les niveaux de gris moyen, traduisent une densité globale, liée à la fois à la densité locale du bois (présence de nœuds, de bois initial et de bois final, de fissures...) et à la présence d'eau (humidification).

La figure 63 montre que le pieu de hêtre étudié (D6H6) présente le même comportement à l'humidification que celui de la partie précédente (DCH1). La représentation est différente puisqu'ici, on n'étudie pas la cinétique d'humidification mais des états initiaux et finaux pour les 4 planches du pieu.

La figure 64 montre qu'il y a une bonne corrélation entre la tomographie et l'humidité mesurée dans le cas du hêtre. Le bois du pieu est dans des conditions d'humidité propre à l'attaque fongique, notamment dans sa partie émergée. Les valeurs d'humidité particulièrement basses en tête de pieu sont étonnantes, et sans doute sous-estimées par un biais expérimental.

La figure 65 montre un pieu de chêne avec des nœuds importants. L'humidification se fait là encore uniquement en bout pour la partie centrale et progresse davantage en périphérie. L'humidification plus importante du côté noté A de la planche 3 est liée à la présence du trait de scie, comme on peut le vérifier sur la figure 66.

La figure 66 montre là encore une bonne corrélation entre la tomographie et l'humidité mesurée dans le cas du chêne. L'humidité propice au développement des champignons ne concerne que les éprouvettes situées en bas de pieu.

Le pieu de pin sylvestre D6P2 montre une humidification qui atteint la tête de pieu (apparition de zones rouges sur la coupe transversale de la figure 67). Le côté noté B du pieu contient vraisemblablement de l'aubier. Les cernes sont bien visibles sur le pin sylvestre. On peut oberver une humidification plus importante des zones initialement plus denses, c'est-à-dire les zones de bois d'été. Cette observation, contre-intuitive, est pourtant classique : les ponctuations aréolées des trachéides du bois d'été ont moins tendance à se fermer que celles des trachéides du bois d'été, malgré leur lumen réduit et leurs parois épaisses, communiquent mieux entre elles et le passage d'un liquide est plus facile.

La figure 68 montre une bonne corrélation entre la tomographie et l'humidité mesurée dans le cas du pin. L'humidité propice au développement des champignons est atteinte par la majorité des éprouvettes.

![](_page_63_Figure_1.jpeg)

D6H6	P1	P2	P3	P4			
omographies à 24 semaines (mode reproduction 2)							
umidités déterminées par double pesée	2   3   3   2     5   6   5   3     23   25   15   4     52   41   31   9     72   60   46   25     84   81   68   43     90   95   83   61     88   101   94   85     86   103   99   92     85   92   100   93     82   91   97   92     82   88   94   93     88   88   91   98	2   3   2   2     5   6   5   3     10   17   14   5     29   36   27   8     57   47   43   18     87   68   63   46     99   83   83   75     99   83   93   92     99   93   97   96     97   94   97   97     89   93   98   98     91   92   93   100     89   89   94   104	34   29   33   25     28   32   32   37     26   37   35   45     30   58   50   55     50   70   64   71     76   85   79   96     87   97   98   117     92   100   119   136     93   101   137   151     90   101   143   162     88   92   158   186     87   93   146   182     88   92   158   186     87   86   170   175	233234435141041561378468958208091587210198938997101981019810110510598101100105959999104969999104			
humidité forte humidité faible							

<u>Figure 64</u> : tomographies rayons X du pieu de hêtre D6H6 selon le mode de représentation 2, pour les 4 planches, et humidités des éprouvettes correspondantes déterminées par la méthode de la double pesée. Trait noir : niveau de l'eau.

65

![](_page_65_Figure_1.jpeg)

![](_page_66_Figure_1.jpeg)

double pesée. Trait noir = niveau de l'eau.

![](_page_67_Figure_1.jpeg)

D6P2	P1	P2	P3	P4			
omographies à 24 semaines (mode reproduction 2)							
Humidités déterminées par double pesée	35   14   6   2     91   48   30   3     104   70   47   6     108   84   49   11     98   90   39   10     85   80   36   21     69   70   44   19     61   69   40   9     54   70   63   32     57   68   70   64     58   66   70   51     63   72   77   70     92   105   108   107	19   5   3   2     42   10   5   3     48   24   8   4     52   38   10   5     54   48   10   5     54   48   10   5     54   48   13   6     54   53   19   11     59   60   24   19     66   67   52   56     69   63   69   68     66   68   80   83     57   70   103   106     102   110   152   155	9 4 3 2   14 10 4 3   23 20 6 4   41 29 8 4   55 36 10 5   61 42 11 6   66 56 16 8   64 59 30 12   59 65 79 50   56 67 79 71   57 72 87 84   61 83 110 96   85 121 155 136	37532461073721912410035185864525571573166264417496049115258585153616257616671738999109100			
Figure		ne X du pieu de pin DED		isontation 2 nour los 4			

<u>Figure 68</u> : tomographies rayons X du pieu de pin D6P2 selon le mode de représentation 2, pour les 4 planches, et humidités des éprouvettes correspondantes déterminées par la méthode de la double pesée. Trait noir : niveau de l'eau.

#### 3.2. Caractérisation des éprouvettes

#### Mesure des activités enzymatiques

Seules sont présentées ici les mesures réalisées sur les pieux de hêtre. La figure 69 présente sous forme de heat map les différentes activités enzymatiques mesurées (laccase, β-glucosidase et β-xylosidase), sur la planche n°1. Chaque case de la matrice représente une éprouvette. Un gradient du vert au rouge indique l'intensité croissante de l'activité mesurée.

![](_page_69_Figure_4.jpeg)

# <u>Figure 69</u> : Mesure d'activités enzymatique laccase, $\beta$ -glucosidase et $\beta$ -xylosidase sur la planche n°1 du pieu de hêtre D6H6.

Deux réplicas de mesure ont été effectués et ont conduit à des résultats similaires. Une zone en particulier présente des activités enzymatiques assez élevés pour les trois enzymes testées. Elle est située dans la partie supérieure des barreaux 1 et 2. Les éprouvettes de cette zone ont une humidité comprise entre 20 et 70%, ce qui correspond parfaitement avec les optimums de croissance des pourritures susceptibles de dégrader le bois.

Les activités mesurées restent relativement faibles, témoignant du faible degré d'attaque du bois. De plus, bon nombre d'éprouvettes se trouvant à une humidité favorable pour le développement des champignons ne présentent aucune activité enzymatique. Les activités laccase mesurés laissent supposer la présence de pourriture blanche, plutôt que de pourriture brune.

#### Essais mécaniques

Ces essais n'ont été réalisés que sur les trois premiers barreaux de la planche n°1 du pieu de hêtre afin de pouvoir tester la possibilité d'établir un lien entre activité biologique et perte de résistance mécanique. En effet, la section du barreau n°4 ne permettait pas la réalisation de ces essais. La figure 70 présente les résultats obtenus. L'humidité cartographiée est l'humidité finale des éprouvettes prélevées après 6 mois de mise en eau du pieu. Elle traduit le risque de dégradation par les champignons. Par contre les essais mécaniques sont réalisés sur des éprouvettes stabilisées autour de 10 % d'humidité.

Humidité (%)			Critère de perçage (mA*rad/s)			Contrainte à rupture en compression longitudinal (Mpa				pa	
	barreau 1	barreau 2	barreau 3	barreau 1	barreau 2	barreau 3		barreau 1	barreau 2	barreau 3	
1	2	3	3	8640	7590	7787		50	) 51	. 57	
2	5	6	5	9510	7236	7012		49	51	55	
3	23	25	15	7341	6565	6332		49	50	53	
4	52	41	31	8400	6918	6054		49	53	52	
5	72	60	46	7441	6191	6370		48	53	51	
6	84	81	68	7815	6713	6211		48	51	52	
7	90	95	83	7239	6789	6352		49	53	53	
8	88	101	94	7875	6301	6075		54	52	50	
9	86	103	99	7595	7228	6185		55	51	57	
10	85	100	100	8194	7791	6222		57	54	53	
11	85	92	100	8275	8445	6743		52	. 52	55	
12	82	91	97	7852	6743	6777		53	57	55	
13	82	88	94	7690	7088	6994		50	51	. 50	
14	88	88	91	7413	7411	6955		40	) 41	48	
	East-		faible								
	нопе		Iaidie	faible	)	forte		fai	ble	forte	

![](_page_70_Figure_4.jpeg)

Les deux essais mécaniques, à savoir l'essai de compression et celui de perçage, ne permettent pas de mettre en évidence des fortes corrélations entre humidité et propriétés mécaniques. Cela est probablement lié à la faible dégradation du bois comme mis en évidence sur la figure 69. Par ailleurs il faut rappeler que les valeurs ne sont pas corrigées par rapport à la masse volumique et à l'humidité des éprouvettes. Ici, ce sont les valeurs brutes qui sont présentées, dans le but de se rapprocher d'une méthode applicable sur le terrain, la plus simple possible. Quoi qu'il en soit, le pieu testé présentait vraisemblablement très peu de dégradation. La variabilité observée pour la résistance mécanique correspond à la variabilité intrinsèque du matériau. Les essais réalisés sur des pieux à un état de dégradation ou de colonisation fongique plus avancées permettront de déterminer un seuil à partir duquel la variabilité intrinsèque du bois ne masquera pas l'effet de la dégradation.

# 4. Conclusion de la partie 4

Les protocoles expérimentaux ont été mis au point sur des pieux partiellement immergés pendant 6 mois, et vont permettre d'étudier des temps plus longs, pour lesquels la dégradation ne manquera pas de se produire, notamment dans le cas du hêtre.

La tomographie permet de cartographier les variations de densité, qui sont le résultat d'une humidification (augmentation de densité) et d'une dégradation (perte de densité). Le couplage avec des mesures réelles d'humidité, d'activités enzymatiques et de caractérisation mécanique nous permettra de dissocier les deux effets.

Les pieux prélevés au temps 6 mois se sont révélés très peu dégradés (figure 71). Nous avons par conséquent décidé de modifier le protocole initial et d'apporter un inoculum sous une autre forme.

![](_page_71_Picture_5.jpeg)

Figure 71 : Photographies des pieux, avant leur usinage en éprouvettes (temps de mise en eau : 6 mois)

Pour reproduire le contact permanent avec le sol, nous avons placé des manchons autour des pieux, sur leur partie supérieure (figure 72). L'espace entre le manchon et le pieu est comblé par un mélange de terre et de bois dégradé broyé. Pour préparer cet inoculum, nous avons prélevé du sol forestier dans des peuplements mixte feuillus/résineux. Les essences de bois dégradé utilisées sont principalement celles des pieux : hêtre, chêne et pin sylvestre.

![](_page_71_Picture_8.jpeg)

<u>Figure 72</u> : Mini pieux bois partiellement immergés et placés au contact permanent d'un inoculum complexe d'organismes de dégradation du bois. A droite : détail d'un pieu du dispositif.
Depuis la mise en place de ces manchons, aucun pieu n'a encore été prélevé pour analyse. Cependant, au bout de seulement trois semaines, de nouveaux développements de champignons, non encore observés sont apparus (figure 73), témoignant de l'efficacité de la méthode. Les prochaines analyses permettront de comparer l'évolution par rapport au protocole précédent.



Figure 73 : Détail d'un pieu montrant le développement en surface de mycélium.

Bien que l'étude soit encore en cours, l'ensemble de nos résultats tend à montrer l'intérêt du chêne pour la réalisation de pieux partiellement immergés : la durabilité naturelle et la non-imprégnabilité de son duramen garantissent une longue durée de service dans des conditions pourtant sévères, en terme de biodégradation.

## Littérature citée

- EN NF 335 (2013) Durabilité du bois et des matériaux à base de bois Classes d'emploi : définitions, application au bois massif et aux matériaux à base de bois. *In*, Vol NF EN 335. AFNOR, p 19
- Arantes V, Jellison J, Goodell B (2012) Peculiarities of brown-rot fungi and biochemical Fenton reaction with regard to their potential as a model for bioprocessing biomass. Applied Microbiology and Biotechnology 94: 323-338
- **Björdal CG, Daniel G, Nilsson T** (2000) Depth of burial, an important factor in controlling bacterial decay of waterlogged archaeological poles. International biodeterioration & biodegradation **45:** 15-26
- Blanchette RA (1995) DEGRADATION OF THE LIGNOCELLULOSE COMPLEX IN WOOD. Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique **73**: S999-S1010
- Blanchette RA (2000) A review of microbial deterioration found in archaeological wood from different environments. International Biodeterioration & Biodegradation 46: 189-204
- Blanchette RA, Nilsson T, Daniel G, Abad AR (1990) Biological degradation of wood. Advances in Chemistry Series 225: 141-174
- М, Candelier K, Chaouch Gérardin Р, Pétrissans Μ (2011)PROPRIETES MECANIQUESD'UN BOIS TRAITE THERMIQUEMENT APRES THERMODEGRADATION SOUS DIFFERENTES INTENSITES DE TRAITEMENT. In Séminaire 2011 de l'Ecole Doctorale RP2E « Ingénierie des Ressources, Procédés, Produits et Environnement », Nancy
- Candelier K, Dumarcay S, Petrissans A, Desharnais L, Gerardin P, Petrissans M (2013) Comparison of chemical composition and decay durability of heat treated wood cured under different inert atmospheres: Nitrogen or vacuum. Polymer Degradation and Stability 98: 677-681
- Candelier K, Dumarcay S, Petrissans A, Gerardin P, Petrissans M (2013) Comparison of mechanical properties of heat treated beech wood cured under nitrogen or vacuum. Polymer Degradation and Stability 98: 1762-1765
- **Curling SF, Clausen CA, Winandy JR** (2002) Experimental method to quantify progressive stages of decay of wood by basidiomycete fungi. International Biodeterioration & Biodegradation **49**: 13-19
- **Dutton MV, Evans CS** (1996) Oxalate production by fungi: Its role in pathogenicity and ecology in the soil environment. Canadian Journal of Microbiology **42:** 881-895
- Eriksson KEL, R.A. Blanchette & amp; P. Ander. (1990) Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components,
- Green F, Clausen CA (1999) Production of polygalacturonase and increase of longitudinal gas permeability in southern pine by brown-rot and white-rot fungi. Holzforschung 53: 563-568
- **Green F, Highley TL** (1997) Mechanism of brown-rot decay: Paradigm or paradox. Biodegradation of Wood **39:** 113-124
- Green F, Kuster TA, Highley TL (1996) Pectin degradation during colonization of wood by brown-rot fungi. Recent Research Developments in Plant Pathology 1: 83-93
- Hervé V, Le Roux X, Uroz S, Gelhaye E, Frey-Klett P (2013) Diversity and structure of bacterial communities associated with Phanerochaete chrysosporium during wood decay. Environ Microbiol

- Hoppe B, Kahl T, Karasch P, Wubet T, Bauhus J, Buscot F, Krüger D (2014) Network Analysis Reveals Ecological Links between N-Fixing Bacteria and Wood-Decaying Fungi. PLoS One 9: e88141
- **Ibach R, E.** (2005) Biological Properties. *In* Handbook of Wood Chemistry and Wood Composites. CRC Press
- Jacquiot C (1955) Atlas d'anatomie des bois des conifères. Centre technique du bois
- Jacquiot C, Trénard Y, Dirol D (1973) Atlas d'anatomie des bois des angiospermes (essences feuillues). Centre technique du bois
- Jasalavich CA, Ostrofsky A, Jellison J (2000) Detection and identification of decay fungi in spruce wood by restriction fragment length polymorphism analysis of amplified genes encoding rRNA. Appl Environ Microbiol 66: 4725-4734
- Kim YS, Singh AP (2000) Micromorphological characteristics of wood biodegradation in wet environments: a review. IAWA journal 21: 135-155
- Klaassen R (2014) Speed of bacterial decay in waterlogged wood in soil and open water. International Biodeterioration & Biodegradation 86: 129-135
- Klaassen R, Abrami G, Björdal C, Creemers J, Eaton R, Gelbrich J, Huisman H, Hotchkiss S, Junga U, Keijer H, Retschmar E, Lamersdorf N, Landy E, Manders M, Mårdh S, Militz H, Mitchell J, Nelemans P, Nilsson T, Sass-Klaassen U, Vernimmen T (2005) Preserving cultural heritage by preventing bacterial decay of wood in foundation poles and archaeological sites EVK4-CT-2001-00043. *In*, Wageningen
- **Klaassen RKWM** (2008) Bacterial decay in wooden foundation piles—Patterns and causes: A study of historical pile foundations in the Netherlands. International Biodeterioration & Biodegradation **61:** 45-60
- Klaassen RKWM (2008) Some specific Dutch wood end use problems and chances. *In* Conference COST E53, Delft, The Netherlands
- Klaassen RKWM (2008) Water flow through wooden foundation piles: A preliminary study. International Biodeterioration & Biodegradation 61: 61-68
- Kretschmar EI, Keijer H, Nelemans P, Lamersdorf N (2008) Investigating physicochemical sediment conditions at decayed wooden pile foundation sites in Amsterdam. International Biodeterioration & Biodegradation 61: 85-95
- Liers C, Arnstadt T, Ullrich R, Hofrichter M (2011) Patterns of lignin degradation and oxidative enzyme secretion by different wood- and litter-colonizing basidiomycetes and ascomycetes grown on beech-wood. FEMS Microbiology Ecology **78**: 91-102
- **Liese WKF** (1955) On the Decomposition of the Cell Wall by Micro-organisms. *In* The Record of the Annual Convention of the Britisch Wood Preserving Association. British wood preserving Association, Cambridge
- **Morrell JJ** (2012) WOOD POLE MAINTENANCE MANUAL (2012 Edition). Forest Research Laboratory, Oregon State University, Corvallis, Oregon
- **NF EN 113** (2004) Produits de préservation du bois Méthode d'essai pour déterminer l'efficacité protectrice vis-à-vis des champignons basidiomycétes lignivores Détermination du seuil d'efficacité. *In*,
- **NF EN 252** (1989) Essai de champ pour déterminer l'efficacité protectrice relative d'un produit de préservation du bois en contact avec le sol. *In*, Vol NF EN 252
- **NF EN 350 1** (1994) Durabilité du bois et des matériaux dérivés du bois Durabilité naturelle du bois massif Partie 1 : guide des principes d'essai et de classification de la durabilité naturelle du bois. *In*. AFNOR
- Paajanen LaV, H (1988) Microbiological degradation of wooden piles in building foundations. In TIRGoW Preservation, ed, The International Research Group on Wood Preservation, Stockholm

- Rajala T, Peltoniemi M, Pennanen T, Mäkipää R (2012) Fungal community dynamics in relation to substrate quality of decaying Norway spruce (Picea abies [L.] Karst.) logs in boreal forests. FEMS Microbiol Ecol 81: 494-505
- **Rio MCSd, Oliveira BV, Tomazella DPT, Silva JAFd, Pereira GAG** (2008) Production of Calcium Oxalate Crystals by the Basidiomycete Moniliophthora perniciosa, the Causal Agent of Witches' Broom Disease of Cacao. Current Microbiology **56:** 363-370
- Schmidt O (2006) Wood and Tree Fungi: Biology, Damage, Protection, and Use. In. Spinger
- Schwarz WH (2001) The cellulosome and cellulose degradation by anaerobic bacteria. Applied Microbiology and Biotechnology 56: 634-649
- Schwarze F, Landmesser H, Zgraggen B, Heeb M (2006) Permeability changes in heartwood of Picea abies and Abies alba induced by incubation with Physisporinus vitreus. Holzforschung 60: 450-454
- Schwarze FWMR (2007) Wood decay under the microscope. Fungal Biology Reviews 21: 133-170
- **Triboulot P, Trouy-Triboulot M-C** (2012) Matériau bois Durabilité. Techniques de l'ingénieur Les matériaux de construction traditionnels .
- Van den Brink J, de Vries RP (2011) Fungal enzyme sets for plant polysaccharide degradation. Appl Microbiol Biotechnol 91: 1477-1492
- Venalainen M, Partanen H, Harju A (2014) The strength loss of Scots pine timber in an accelerated soil contact test. International Biodeterioration & Biodegradation 86: 150-152
- Weißhaupt P, Pritzkow W, Noll M (2011) Nitrogen metabolism of wood decomposing basidiomycetes and their interaction with diazotrophs as revealed by IRMS. International Journal of Mass Spectrometry **307**: 225-231
- Weißhaupt P, Pritzkow W, Noll M (2012) Nitrogen sources of Oligoporus placenta and Trametes versicolor evaluated in a 23 experimental plan. Fungal Biology **116:** 81-89
- Wilcox WW (1970) Anatomical changes in wood cell walls attacked by fungi and bacteria. The Botanical Review 36: 1-28
- Wong DW (2009) Structure and action mechanism of ligninolytic enzymes. Appl Biochem Biotechnol 157: 174-209
- XP ENV 807 (2001) Produits de préservation du bois Détermination de l'efficacité vis-à-vis des micro-organismes de pourriture molle et d'autres micro-organismes du sol. In, Vol XP ENV 807
- Zhang HB, Yang MX, Tu R (2008) Unexpectedly high bacterial diversity in decaying wood of a conifer as revealed by a molecular method. International Biodeterioration & Biodegradation 62: 471-474