

INFLUENCE DES EXTRAITS NATURELS DU BOIS SUR SA RÉSISTANCE A LA POURRITURE

par

Gérard DÉON

Michèle CHADENSON, Marcelle HAUTEVILLE

Assistant de la Division de Préservation
Centre Technique Forestier Tropical

Laboratoire de Chimie Biologique
Université Claude-Bernard (Lyon I)

SUMMARY

THE INFLUENCE OF EXTRACTIVES ON THE NATURAL RESISTANCE OF WOOD TO DECAY

The natural resistance of some timbers to wood-destroying fungi is usually attributed to the presence of chemical compounds called extractives, with fungicide or fungistatic properties. The extractives of six tropical species, Okan (Cylicodiscus gabunensis), Padouk (Pterocarpus soyauxii), Difou (Morus mesozygia), Mukulungu (Autranella congolensis), Afzelia (Afzelia bipindensis) and Tali (Erythrophleum guineense) were studied in conjunction with their resistance to four wood-destroying fungi, two brown-rot fungi (Poria sp and Poria placenta) and two white-rot fungi (Lentinus squarrosulus and Coriolus versicolor).

This investigation needed new mycological methods and modern chemical technics (particularly thin-layer and column-chromatography and nuclear magnetic resonance).

This research has shown that the natural durability of most of these timbers can be imputed to extractives but that the responsible natural products were less effective than industrial fungicides.

Concerning the chemical aspect of this study, we rediscovered the natural substances already found by other authors. However it is the first time that was mentioned the presence of tetrahydroxy-3'-4'-7-8 flavonol in Cylicodiscus gabunensis, saponins in Autranella congolensis, dihydroxy-4', 5, methoxy 7 isoflavone (prunetin) and trihydroxy-4', 5, 5', methoxy 7 isoflavone (santal) in Pterocarpus soyauxii.

RESUMEN

INFLUENCIA DE LOS EXTRACTOS NATURALES DE LA MADERA RESPECTO A SU RESISTENCIA A LA PODREDUMBRE

La resistencia natural de algunas maderas a los hongos xilófagos se explica generalmente por la presencia en las células leñosas de constituyentes con propiedades fungicidas.

Estudiamos los extractivos de seis especies tropicales, Okan (Cylicodiscus gabunensis), Padouk (Pterocarpus soyauxii), Difou (Morus mesozygia), Mukulungu (Autranella congolensis), Doussié (Afzelia bipindensis) y Tali (Erythrophleum ivorense) en relación con sus resistencias a cuatro hongos xilófagos, dos de pudrición cúbica (Poria sp. y Poria placenta) y dos de pudrición blanca (Lentinus squarrosulus y Coriolus versicolor). Este estudio necesitó la elaboración de nuevas técnicas micológicas y el empleo de métodos químicos modernos (particularmente métodos cromatográficos y resonancia magnética nuclear).

Estas investigaciones han demostrado que la razón de la resistencia natural de la mayor parte de las maderas estudiadas se debe a la presencia de sustancias naturales, pero han demostrado igualmente que esos productos tienen una eficacia más débil que la de las fungicidas actualmente empleadas para la protección de la madera.

En lo que se refiere al aspecto químico del estudio, hemos encontrado las sustancias naturales ya descubiertas por otros investigadores. Sin embargo es la primera vez que fueron descubiertos el tetrahydroxy-3', 4', 7, 8 flavonol en Okan, saponinas en Autranella congolensis, dihydroxy-4', 5, methoxy-7 isoflavona y trihydroxy-4', 5, 5', methoxy-7 isoflavona en Pterocarpus soyauxii.

INTRODUCTION

Dans l'avant-propos de l'ouvrage de W. E. HILLIS, « Wood extractives », paru en 1962, ERDTMAN écrivait : « Le bois n'est plus purement et simplement de la cellulose et de la lignine. On s'est rendu compte, au contraire, que de nombreux bois constituent de véritables mines d'or pour les chimistes qui s'intéressent aux substances naturelles. Leur travail passionné a déjà beaucoup contribué à une connaissance plus approfondie des propriétés spécifiques de différents bois et a stimulé des études biologiques très importantes, la recherche appliquée et le progrès industriel. »

Les premiers travaux relatifs à la chimie des substances appelées communément « extraits » remontent à la fin du XIX^e siècle, mais c'est surtout depuis 1945 que l'on assiste à un développement important des recherches dans ce domaine. Cependant, si l'on fait le bilan de tous ces travaux, on constate que, dans la majorité des cas, il s'agit essentiellement de recherches chimiques (extraction, purification et identification des molécules présentes), le rôle éventuel de ces substances dans le végétal n'étant que rarement étudié ou même évoqué.

Dans le domaine de la conservation des bois, que seul nous envisageons ici, le notion de durabilité naturelle de certains bois reposant sur la teneur en certaines substances chimiques protectrices plus que sur des causes physiques, semble remonter au forestier allemand MAYR qui, dès 1890, parle de substances accessoires du bois de cœur qu'il pensait être d'ailleurs des tannins.

En 1920, OSHIMA et KAFUKU isolent de *Callitris glauca* une huile efficace contre les termites, identifiée plus tard comme étant l'acide 1-citronellique (composé terpénique).

Entre 1943 et 1951, RENNERFELT et WOLCOTT testent la pinosylvine, extraite des bois de Pin, à la fois sur les champignons et sur les termites et démontrent son action toxique.

Peu après, apparaissent les premiers travaux de KING qui explore avec ses collaborateurs la chimie des extraits d'un certain nombre de feuillus tropicaux, mais il est à regretter que ce chimiste anglais n'ait pu, à cette époque, faire participer une équipe de biologistes à ses travaux.

Ensuite, seules quelques équipes de chercheurs, particulièrement en Australie (C. S. I. R. O.), aux

Etats-Unis (Forest Products Laboratory), en Allemagne (Institut für Holzbiologie und Holzschutz de Reinbek) et en Grande-Bretagne (Forest Products Research Laboratory) se sont attachées à étudier le rôle des extraits sur la durabilité naturelle des bois à l'égard des organismes lignivores, et particulièrement des champignons de pourriture. Ainsi, ont été mises en évidence les propriétés fongicides ou insecticides de certaines substances naturelles parmi lesquelles des composés flavoniques (dihydrorobinétine dans *Robinia pseudoacacia*), des quinones (tectoquinone dans *Tectona grandis*), des stilbènes (ptérostilbène dans *Pterocarpus soyauxii* et chlorophorine dans *Chlorophora excelsa*), des tropolones (thujaplicines dans *Thuja plicata* et nootkatine dans *Chamaecyparis* sp.), des saponines (dans *Ternstroemia japonica* par exemple). Il faut noter cependant que la plupart de ces travaux ont été effectués sur des bois de régions tempérées et que les bois tropicaux, dont certains présentent cependant une durabilité naturelle très élevée, n'ont pas fait jusqu'à présent, par contre, l'objet d'études approfondies.

Ceci nous a conduits à étudier les extraits de quelques essences tropicales particulièrement résistantes à la pourriture et à déterminer si certaines molécules spécialement actives vis-à-vis des champignons lignivores justifieraient une recherche de synthèse en vue d'une éventuelle application industrielle. Cette optique est d'ailleurs celle qu'exprimait OSHIMA dès 1919 : « Il s'agit d'obtenir des substances protectrices du bois ou d'en synthétiser de nouvelles sur le modèle de celles qu'offre la nature. »

Cette recherche a pu être entreprise grâce à l'aide financière de la Direction Générale à la Recherche Scientifique et Technique.

Nous n'avons pas l'intention de rendre compte dans cette publication de tous les travaux qui ont été effectués tant au Centre Technique Forestier Tropical qu'au Laboratoire de Chimie biologique II de l'Université Claude-Bernard de Lyon, ce qui a déjà été fait par ailleurs. Nous nous bornerons seulement à exposer nos méthodes de travail illustrées de quelques exemples, les principales conclusions auxquelles nous sommes parvenus et les orientations que nous comptons donner à nos recherches futures sur ce sujet.

CONDUITE DE LA RECHERCHE

Il s'agissait tout d'abord de mettre au point la méthodologie d'extraction des bois et de séparation des molécules présentes et de définir le protocole

d'essai pour l'étude de l'efficacité fongicide ou fongistatique de ces substances.

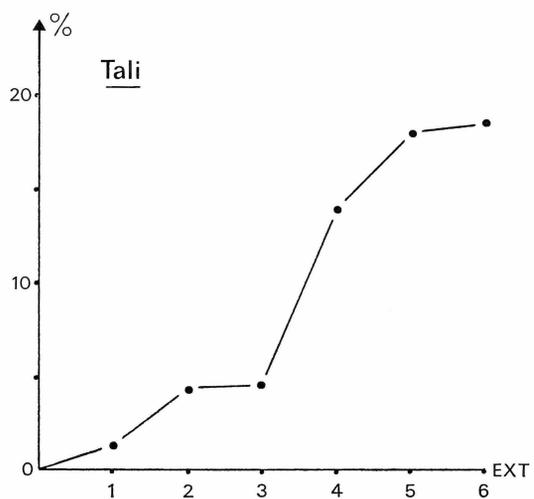
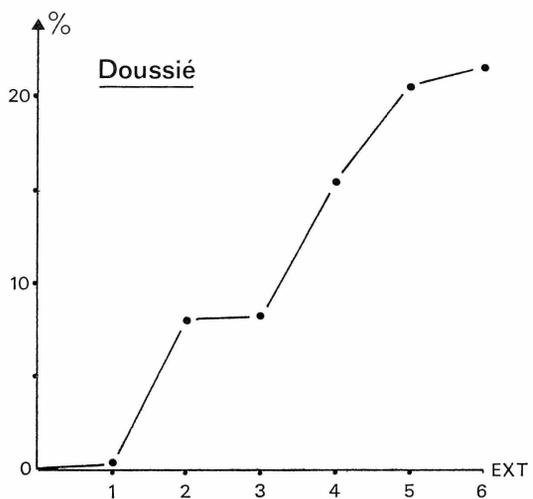
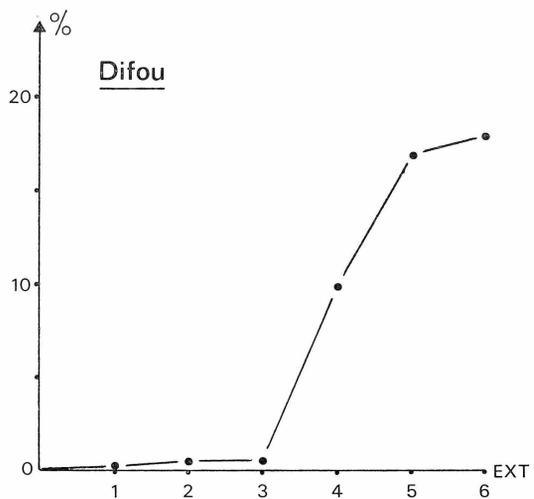
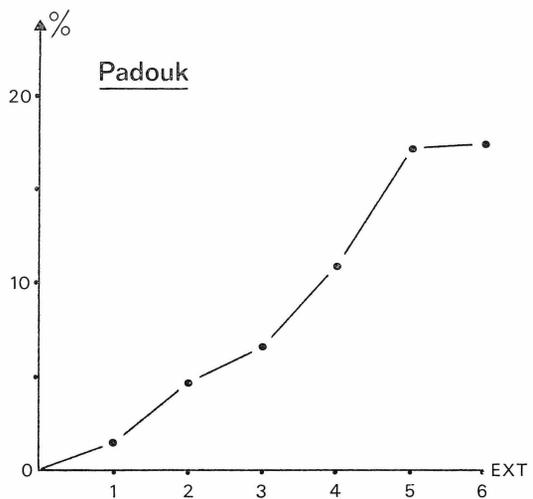
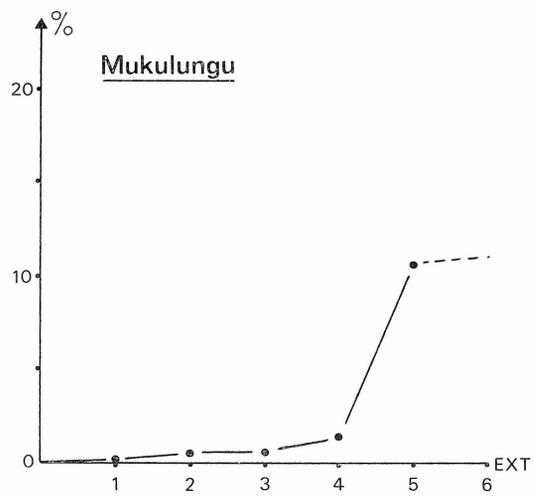
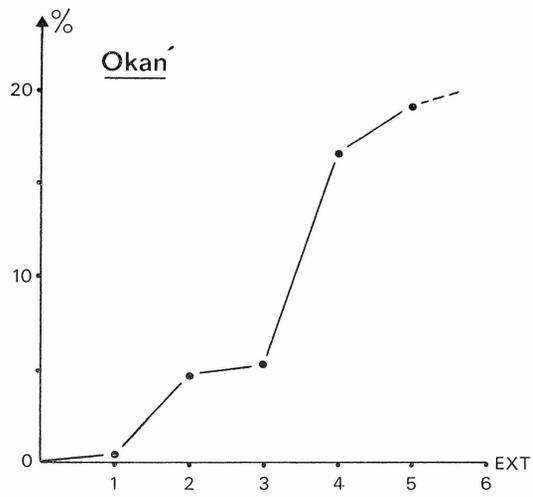


FIG. 1.

MISE AU POINT DE LA MÉTHODOLOGIE D'EXTRACTION ET DE SÉPARATION

Une étude bibliographique montre qu'il existe de nombreux schémas d'extraction ; de toutes ces méthodes, nous avons opté pour celle qui nous semblait devoir donner une extraction à la fois optimale et la plus sélective possible : une série d'extractions en soxhlet des poudres de bois par des solvants de polarité croissante (cf. tableau I).

TABLEAU I

| Solvant | Constante diélectrique |
|---------------------------|------------------------|
| Hexane (1) | 1,9 |
| Ether éthylique (2) | 4,3 |
| Dichlorométhane (3) | 9,1 |
| Acétone (4) | 20,7 |
| Méthanol (5) | 32,6 |
| Eau (6) | 78,5 |

Cette technique a été appliquée à six bois :

— l'Okan (*Cylicodiscus gabunensis* Harms),
 — le Mukulungu (*Austranella congolensis* A. Chev.),

— le Padouk (*Pterocarpus soyauxii* Taub.),

— le Difou (*Morus mesozygia* Stapf),

— le Tali (*Erythrophleum ivorense* A. Chev.),

— le Doussié (*Azalia bipindensis* Harms).

Les teneurs en extraits bruts individuels et cumulés (exprimés en %) sont données dans le tableau II et représentées schématiquement dans la figure 1 où sont données en abscisse les extractions successives et en ordonnée les pourcentages cumulés d'extraits.

Le tableau II et la figure 1 indiquent clairement que les divers bois ont des comportements fort différents vis-à-vis de l'éther éthylique, de l'acétone et du méthanol, mais que les taux d'extraits à l'hexane et au dichlorométhane sont toujours faibles. Si l'extraction à l'hexane qui permet d'éliminer, tout au moins en partie, les graisses, les cires... qui pourraient gêner les analyses ultérieures doit être maintenue, nous verrons plus loin que celle au

dichlorométhane, par contre, n'est pas nécessaire.

En ce qui concerne le problème de l'extraction quantitative, il faut souligner que l'on ne sait jamais si l'extraction totale des bois a été réalisée après passage sur le dernier solvant, l'eau, sauf peut-être dans certains cas bien particuliers. C'est ainsi que pour les bois contenant des extraits jaune fluorescent en lumière ultraviolette, comme le Tali (*Erythrophleum ivorense* A. Chev.) et le Dabéma (*Piptadeniastrum africanum* Brenan), on constate que si le Tali perd sa fluorescence jaune après extraction acétonique, ce qui permet de penser que la substance responsable a été complètement extraite, le Dabéma, à l'issue de l'extraction aqueuse, montre encore une fluorescence importante.

Dans les autres cas, les plus nombreux d'ailleurs, l'incertitude demeure. Aussi, avons-nous envisagé d'utiliser des solvants très polaires comme la diméthylformamide et le diméthylsulfoxyde ou des solutions diluées d'acide chlorhydrique ou de soude. Les deux premiers sont, d'une part, d'un emploi très délicat étant donné leur point d'ébullition élevé et n'apportent, d'autre part, guère d'amélioration au point de vue extraction. L'utilisation des solutions acides ou basiques ne nous a pas semblé devoir être retenue, étant donné l'action de ces corps sur les constituants principaux du bois et la difficulté de purification des extraits bruts ainsi obtenus. Comme le signalent d'autres auteurs, l'extraction quantitative des tissus végétaux reste toujours un problème difficile et il ne semble pas qu'il existe actuellement de méthodes tout à fait satisfaisantes pour cela.

Pour ce qui est de la séparation, de la purification et de l'identification des extraits purs, il est bien évident qu'elles sont fonction des types de molécules suspectés ou trouvés. Le tableau III indique succinctement les corps isolés jusqu'à présent. Tous ces produits sont bien connus des chimistes et on a retrouvé dans les bois qui avaient déjà été étudiés des substances déjà découvertes

TABLEAU II

| Solvants | Okan | | Mukulungu | | Padouk | | Difou | | Tali | | Doussié | |
|------------------------|-------------------|-----------|-------------------|-----------|--------|-----------|-------|-----------|------|-----------|---------|-----------|
| | % | % (cumul) | % | % (cumul) | % | % (cumul) | % | % (cumul) | % | % (cumul) | % | % (cumul) |
| Hexane (1) | 0,52 | 0,52 | 0,27 | 0,27 | 1,40 | 1,40 | 0,15 | 0,15 | 1,36 | 1,36 | 0,35 | 0,35 |
| Ether (2) | 4,15 | 4,67 | 0,18 | 0,45 | 3,28 | 4,68 | 0,32 | 0,47 | 3,02 | 4,38 | 7,66 | 8,01 |
| Dichlorométhane (3) .. | 0,49 | 5,16 | 0,10 | 0,55 | 1,80 | 6,48 | 0,11 | 0,58 | 0,15 | 4,53 | 0,06 | 8,07 |
| Acétone (4) | 11,30 | 16,46 | 0,80 | 1,35 | 4,50 | 10,98 | 9,26 | 9,84 | 9,43 | 13,96 | 7,31 | 15,38 |
| Méthanol (5) | 2,57 | 19,03 | 9,38 | 10,73 | 6,25 | 17,23 | 7,08 | 16,92 | 4,07 | 18,03 | 5,10 | 20,48 |
| Eau (6) | indéter- minée | — | indéter- minée | — | 0,21 | 17,44 | 1,00 | 17,92 | 0,47 | 18,50 | 1,00 | 21,48 |

par d'autres auteurs. Cependant c'est la première fois qu'étaient mis en évidence :

— le tétrahydroxy-3',4',7,8 flavonol dans *Cylindrocapsa gabunensis*,

— la présence de saponines dans *Autranelia congolensis*,

— la prunétine et le santal dans *Pterocarpus soyauxii*.

ESSAIS DE MISE AU POINT D'UNE MÉTHODOLOGIE POUR L'ÉTUDE DE L'EFFICACITÉ FONGICIDE OU FONGISTATIQUE DES EXTRAITS

Essais sur milieu gélosé.

Généralement, les essais mycologiques de substances fongicides sur milieu gélosé se font par incorporation de ces substances, sous forme de solution, au milieu encore fluide, et par inoculation du milieu par le champignon choisi. Si cette incorporation est relativement aisée lorsque l'on a affaire à des fongicides hydrosolubles, il n'en est pas de même pour les substances insolubles dans l'eau mais solubles dans certains solvants organiques, car se pose alors le problème de l'éventuelle inhibition des champignons d'essai par le solvant d'incorporation.

Tous les essais ont montré que parmi l'éthanol, le méthanol, l'éther monoéthylique de l'éthylène-glycol, le diméthylsulfoxyde, la diméthylformamide et l'acétone, seule cette dernière peut être utilisée pour l'incorporation des extraits (bien entendu solubles dans ce solvant), et encore en respectant deux conditions :

— introduire la solution acétonique dans le milieu gélosé à une dose de 10 % (9 ml de milieu malt-agar encore fluide + 1 ml de solution acétonique),

— attendre 15 jours après l'incorporation pour ensemercer le milieu (au cours de ce laps de temps, l'acétone s'évapore doucement du milieu gélosé).

Pour définir le seuil d'efficacité d'un produit fongicide on utilise généralement des doses croissantes de produit dans le milieu et l'on détermine par approches successives la teneur minimale qui inhibe la croissance d'un champignon donné.

Cette méthode a été employée pour les extraits purs qui ont pu être obtenus ; le choix des champignons a été effectué de telle manière que soient représentés, parmi les Basidiomycètes, deux champignons de pourriture cubique brune, l'un tropical (*Poria* sp.), l'autre de pays tempéré (*Poria placenta*) et deux champignons de pourriture fibreuse blanche, l'un tropical (*Lentinus squarrosulus*), l'autre de pays tempéré (*Coriolus versicolor*).

Cette méthode nécessitant des quantités d'extraits purs relativement importantes (quelques grammes) et ne pouvant d'après nos connaissances actuelles n'être appliquée qu'à des produits solubles dans l'acétone, il n'a été procédé qu'à quelques essais particulièrement sur l'okanine et l'isookanine (extraites de l'Okan) dont on trouvera les résultats dans les tableaux IV et V où figurent pour

chaque champignon et chaque concentration en extrait pur (exprimée en % d'extrait dans le milieu) le degré de croissance des cultures.

Les autres extraits purs obtenus avec les diverses essences étudiées n'ont pu être testés par cette méthode ainsi qu'indiqué précédemment. C'est par exemple le cas de l'homoptérocarpine dont la solubilité dans l'acétone est nettement insuffisante.

Comme l'indiquent les tableaux IV et V, lorsque les doses d'extraits dans le milieu malt-agar croissent, on constate des changements d'aspect et de couleur des cultures qui laissent présager des modifications de l'activité lignivore des champignons. Pour mieux évaluer l'influence des extraits sur cette activité, une expérience complémentaire permettant de mieux apprécier le degré d'inhibition obtenu a été entreprise.

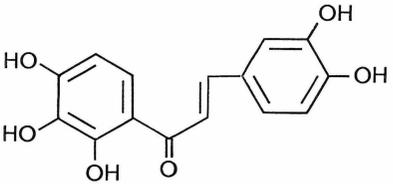
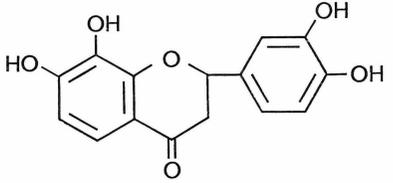
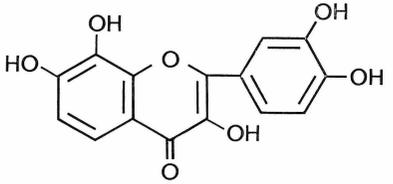
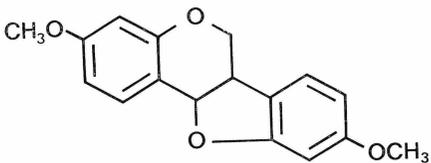
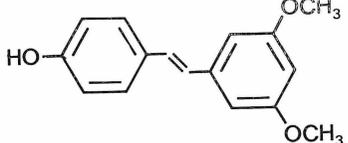
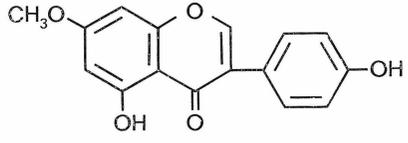
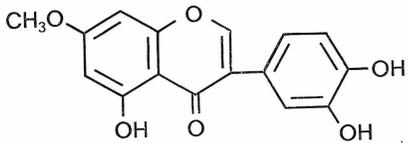
On dépose sur le milieu malt-agar, quelques jours après l'ensemencement, de petites éprouvettes d'aubier de Pin (*Pinus sylvestris*) pour *Poria* sp., *Poria placenta*, *Lentinus squarrosulus*, ou de Hêtre (*Fagus sylvatica*) pour *Coriolus versicolor*. Après deux mois d'exposition aux champignons, on évalue le degré d'attaque des éprouvettes par la méthode des pertes de masse et par là-même on estime le seuil de toxicité de certains extraits vis-à-vis des quatre champignons.

Cette expérience a, en particulier, été effectuée avec l'okanine et l'isookanine. La figure 2 où sont représentés en abscisse les % d'extraits dans le milieu et en ordonnée les pertes de masse (en %) observées sur les éprouvettes d'aubier de Pin sylvestre indique clairement que l'okanine et l'isookanine ont une action particulièrement nette vis-à-vis de *Poria* sp. ; une dose de 0,1 % de l'une ou l'autre de ces substances, qui avait entraîné un jaunissement et une dégénérescence des cultures (cf. tableaux IV et V) a, en réalité, complètement inhibé l'activité lignivore de *Poria* sp.

Par contre l'influence de l'okanine et de l'isookanine sur l'activité de *Poria placenta*, aux doses essayées, n'est pas évidente.

Pour clore ce paragraphe, il est enfin nécessaire de signaler que la méthode d'essai sur milieu gélosé, outre les limites évoquées précédemment, présente encore l'inconvénient de ne pas permettre, en général, de tester les extraits bruts dont tout ou partie sont insolubles dans l'acétone.

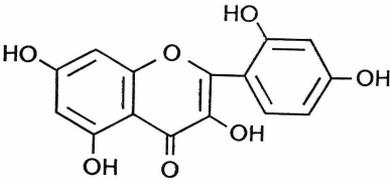
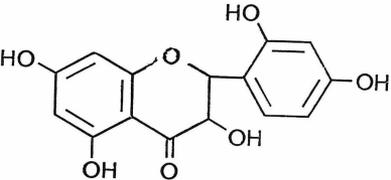
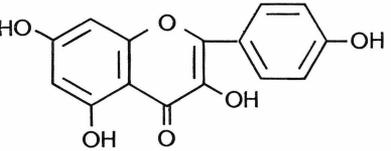
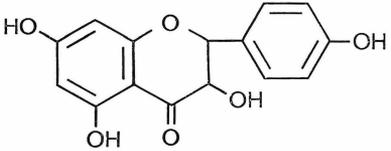
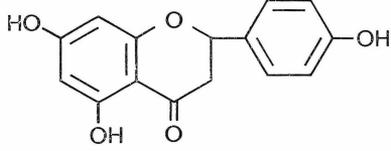
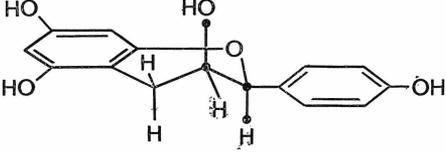
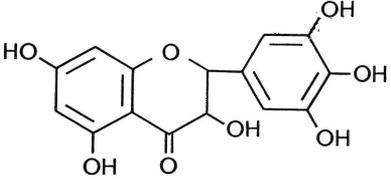
TABLEAU III

| Essences | Extraits purs isolés | Localisation * | Formules chimiques |
|--|--|------------------|--|
| Okan (<i>Cylicodiscus gabunensis</i>) | Okanine (pentahydroxy-2',3,3',4,4' chalcone) | E D A M |  |
| | Isookanine (tétrahydroxy-3',4',7,8 flavanone) | D A M |  |
| | Tétrahydroxy-3',4',7,8 flavonol | A M |  |
| Mukulungu (<i>Aurtranelia congolensis</i>) | Saponines nombreuses | A M | |
| Padouk ** (<i>Pterocarpus soyauxii</i>) | Homoptérocarpine | E |  |
| | Ptérostilbène | E |  |
| | Prunétine (dihydroxy-4',5, méthoxy-7 isoflavone) | E |  |
| | Santal (trihydroxy-4',5,5', méthoxy-7 isoflavone) | E |  |

** Seule l'analyse chimique de l'extrait étheré a été effectuée.

* Localisation : Extrait pur présent dans : E : extrait étheré ; D : extrait au dichlorométhane ; A : extrait acétonique ; M : extrait méthanolique.

TABLEAU III (fin)

| Essence | Extraits purs isolés | Localisation * | Formules chimiques |
|--|---|------------------|--|
| Difou (<i>Morus mesozygia</i>) | Morine (tétrahydroxy-2',4',5,7 flavonol) | M |  |
| | Dihydromorine (tétrahydroxy-2',4',5,7 flavanonol) | E D A M |  |
| Doussié (<i>Afzelia bipindensis</i>) | Kaempférol (trihydroxy-5,7,4' flavonol) | E |  |
| | Aromadendrine (trihydroxy-5,7,4' flavanonol) | E D A |  |
| | Naringénine (trihydroxy-5,7,4' flavanone) | D |  |
| | Epi-afzéléchine (cis-tétrahydroxy-3,5,7,4' flavane) | A M |  |
| Tali (<i>Erythrophleum ivorense</i>) | Dihydromyricétine (pentahydroxy-3',4',5,5',7 flavanonol) | A M |  |

Essais mycologiques sur éprouvettes extraites.

Les essais sur milieu malt-agar ont pour but de tester les substances naturelles supposées responsables de la durabilité naturelle des bois mais il a

semblé intéressant d'étudier si les bois, après extraction, donc après élimination (complète ou partielle ?) des extraits fongicides ou fongistatiques perdaient leur durabilité naturelle. Dans ce but, et pour confirmer les résultats obtenus sur

TABLEAU IV

| Champignons | % Okanine | | | | | |
|-----------------------------|-----------|------|---------------|---------------|--------------------------|--------------------------|
| | 0 | 0,01 | 0,025 | 0,05 | 0,1 | 0,2 |
| <i>Poria sp.</i> | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ jauni dégénéré | ++ jauni dégénéré |
| <i>Poria placenta</i> | +++ | ++ | +++ diffus | +++ diffus | +++ diffus | ++ diffus dégénéré |

+++ : recouvrement normal ; ++ : recouvrement incomplet ; + : croissance insignifiante.

TABLEAU V

| Champignons | % Isookanine | | | | | |
|-----------------------------|--------------|------|---------------|---------------|---------------------------|--------------------------|
| | 0 | 0,01 | 0,025 | 0,05 | 0,1 | 0,2 |
| <i>Poria sp.</i> | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ jauni dégénéré | + jauni dégénéré |
| <i>Poria placenta</i> | +++ | + | +++ diffus | +++ diffus | +++ diffus dégénéré | ++ diffus dégénéré |

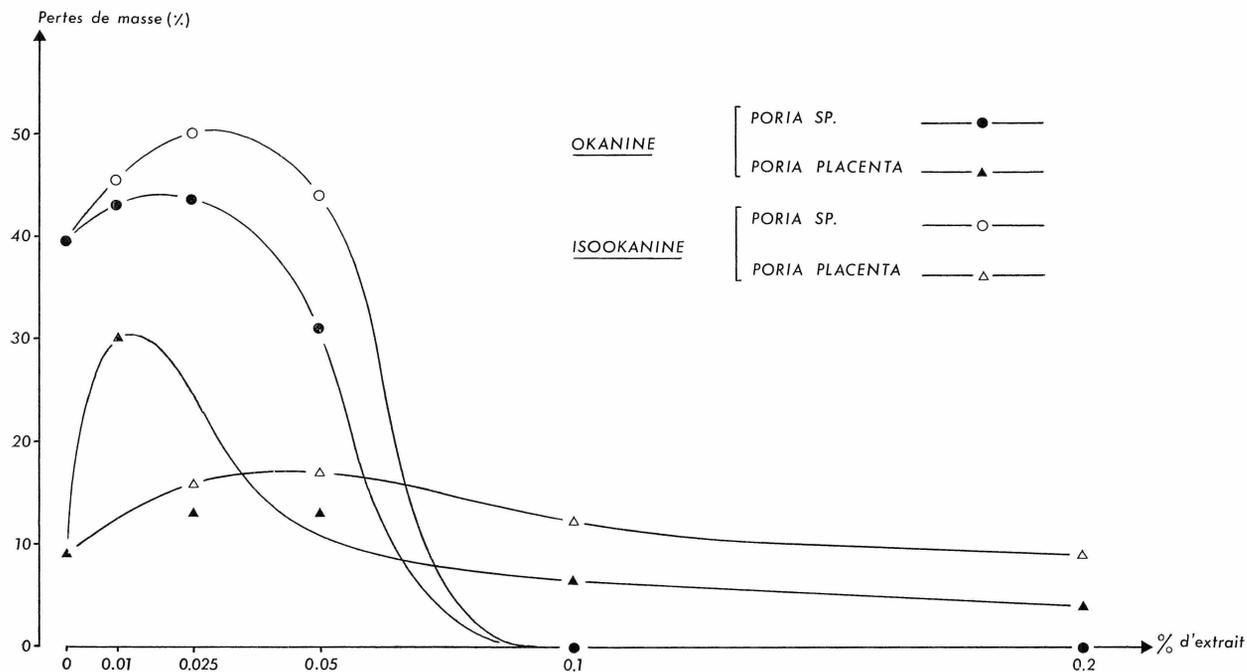
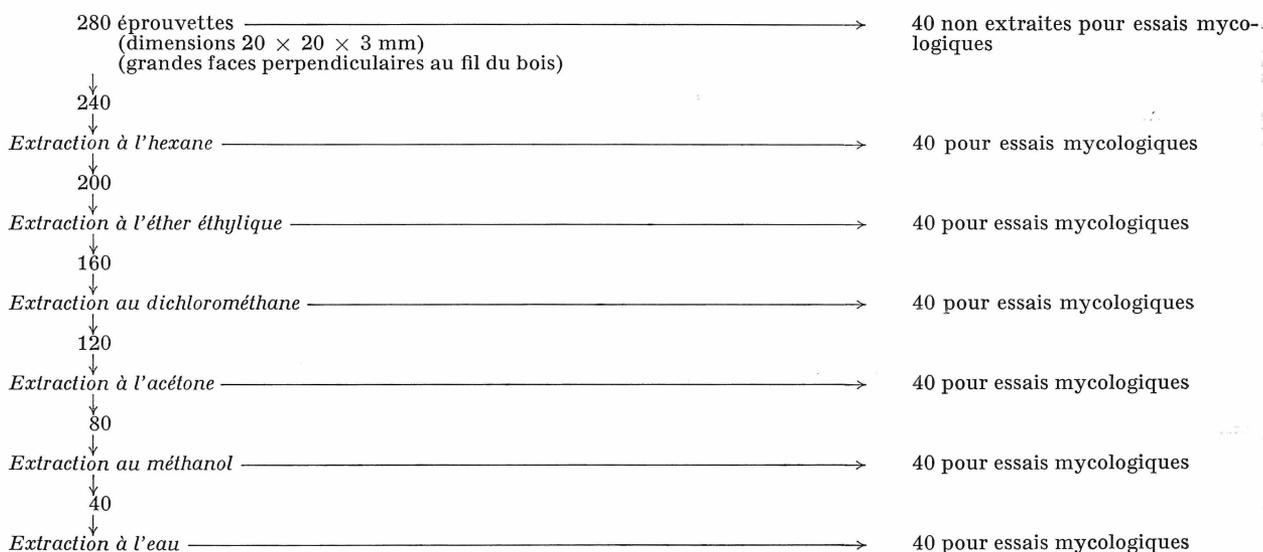


Fig. 2.

milieu gélosé, une expérimentation inédite dans le domaine des extraits a été entreprise, consistant à exposer aux différents champignons d'essais de petites éprouvettes des diverses essences extraites

en soxhlet par la série de solvants donnée dans le tableau I.

Pour chaque essence, le schéma d'extraction est donc le suivant :



A la fin de chaque type d'extraction, les éprouvettes sont séchées à l'étuve à 103 °C jusqu'à poids constant, pesées au milligramme, puis stérilisées aux rayons γ .

Ensuite, pour chaque type d'extraction (c'est-à-dire sur chaque série de 40 éprouvettes) :

— 10 éprouvettes sont exposées à *Coriolus versicolor*,

— 10 éprouvettes sont exposées à *Lentinus squarrosulus*,

— 10 éprouvettes sont exposées à *Poria sp.*,

— 10 éprouvettes sont exposées à *Poria placenta*, à raison de cinq éprouvettes par flacon de Kolle, la durée d'exposition étant de 12 semaines.

Le degré d'attaque des éprouvettes par les champignons est évalué en pesant, à l'issue de cette période d'exposition, les éprouvettes préalablement séchées à l'étuve à 103 °C, et en calculant la perte de masse (exprimée en %).

Il est alors possible de suivre l'évolution des attaques des différents bois en fonction des extractions successives.

Dans les figures 3, 4 et 5 correspondant aux tableaux VI, VII et VIII, est donnée l'évolution des attaques par les différents champignons d'essai, en fonction des extractions successives, respectivement pour l'Okan, le Padouk et le Difou. Deux valeurs successives significativement différentes au seuil 0,95 sont reliées par un trait plus gras, lui-même indiqué par une flèche.

L'examen de ces figures indique que la durabilité naturelle de ces trois essences est bien due à la

présence d'extraits dans le bois puisque les pertes de masse, insignifiantes sur les éprouvettes non extraites, deviennent très importantes à l'issue des six extractions successives (sauf avec *Poria placenta* sur le Padouk). On peut également noter que c'est au niveau des extractions acétonique et surtout méthanolique que les bois perdent leur résistance, les extractions à l'hexane, à l'éther éthylique et au dichlorométhane ne modifiant guère celle-ci.

L'augmentation significative de résistance de l'Okan et surtout du Difou vis-à-vis de *Lentinus squarrosulus* après extraction à l'eau ne semble pouvoir être expliquée que par l'élimination d'un facteur hydrosoluble nécessaire au développement et à la croissance du champignon.

Si les résultats obtenus sur l'Okan, le Padouk et le Difou indiquent clairement la cause principale de la durabilité naturelle de ces essences, ceux enregistrés avec le Mukulungu (*Autranella congolensis*) sont plus difficiles à interpréter. Le tableau IX montre que les différentes extractions n'ont pas modifié notablement la résistance du bois vis-à-vis des champignons utilisés. Seule l'extraction à l'eau a diminué légèrement la résistance de ce bois à *Poria placenta*.

A l'heure actuelle, la seule hypothèse possible est que la ou les molécules qui seraient responsables de la durabilité naturelle du Mukulungu n'ont pas été extraites ou l'ont été incomplètement par la séquence de solvants employée.

Lorsque l'on parle de substances fongicides ou

TABLEAU VI

ÉVOLUTION DES ATTAQUES SUR L'OKAN EN FONCTION DES EXTRACTIONS SUCCESSIVES
(exprimées en % de perte de masse)

| Extractions | Champignons | | | |
|-----------------------------------|----------------------------|------------------|-----------------------|------------------------------|
| | <i>Coriolus versicolor</i> | <i>Poria</i> sp. | <i>Poria placenta</i> | <i>Lentinus squarrosulus</i> |
| (0) Sans | 2,79 | 8,52 | 0,20 | 4,01 |
| (1) Hexane | 3,51 | 11,00 | 1,33 | 1,67 |
| (2) = (1) + Ether | 11,69 | 13,15 | 0,05 | 3,18 |
| (3) = (2) + Dichlorométhane | 11,32 | 13,28 | 0,60 | 3,90 |
| (4) = (3) + Acétone | 9,95 | 27,64 | 4,19 | 3,45 |
| (5) = (4) + Méthanol | 24,01 | 56,94 | 31,52 | 12,35 |
| (6) = (5) + Eau | 24,67 | 59,00 | 39,13 | 8,51 |

TABLEAU VII

ÉVOLUTION DES ATTAQUES SUR LE PADOUK EN FONCTION DES EXTRACTIONS SUCCESSIVES
(exprimées en % de perte de masse)

| Extractions | Champignons | | | |
|-----------------------------------|----------------------------|------------------|-----------------------|------------------------------|
| | <i>Coriolus versicolor</i> | <i>Poria</i> sp. | <i>Poria placenta</i> | <i>Lentinus squarrosulus</i> |
| (0) Sans | — 0,06 | 0,03 | 0,60 | 0,80 |
| (1) Hexane | — 0,44 | — 0,27 | — 0,34 | 0,55 |
| (2) = (1) + Ether | 1,89 | 0,04 | 0,14 | 3,15 |
| (3) = (2) + Dichlorométhane | — 0,37 | 0,27 | — 0,64 | 4,76 |
| (4) = (3) + Acétone | 3,01 | 42,01 | — 2,62 | 9,77 |
| (5) = (4) + Méthanol | 19,30 | 46,12 | — 3,08 | 19,93 |
| (6) = (5) + Eau | 32,59 | 55,05 | — 2,08 | 18,41 |

TABLEAU VIII

ÉVOLUTION DES ATTAQUES SUR LE DIFOU EN FONCTION DES EXTRACTIONS SUCCESSIVES
(exprimées en % de perte de masse)

| Extractions | Champignons | | | |
|-----------------------------------|----------------------------|------------------|-----------------------|------------------------------|
| | <i>Coriolus versicolor</i> | <i>Poria</i> sp. | <i>Poria placenta</i> | <i>Lentinus squarrosulus</i> |
| (0) Sans | 0,86 | 1,67 | 0,30 | 1,35 |
| (1) Hexane | 2,21 | 1,16 | 0,33 | 0,78 |
| (2) = (1) + Ether | 2,05 | 1,21 | 0,31 | 1,55 |
| (3) = (2) + Dichlorométhane | 2,00 | 1,37 | 0,54 | 1,93 |
| (4) = (3) + Acétone | 5,69 | 35,34 | 1,75 | 28,78 |
| (5) = (4) + Méthanol | 38,39 | 62,94 | 28,32 | 42,20 |
| (6) = (5) + Eau | 44,50 | 60,86 | 48,65 | 25,38 |

fongistatiques aussitôt vient à l'esprit la notion de seuil d'efficacité.

Si l'on compare les tableaux VI, VII, VIII et IX d'une part et le tableau II, d'autre part, on peut trouver pour chaque bois et chaque champignon une teneur en extraits bruts au niveau de laquelle l'activité lignivore du champignon est inhibée.

En réalité, ce « seuil » n'a pas une valeur précise : il est le plus souvent élevé et compris dans des

fourchettes parfois très larges comme le montre le tableau X.

Cette approche n'est, en réalité, pas très satisfaisante car elle implique que toutes les substances extraites d'un bois ont un pouvoir fongicide, ce qui, *a priori*, est peu probable.

Il est cependant possible de mieux cerner le problème, comme cela a été fait sur le Difou.

Des essais biologiques ayant montré, d'une part

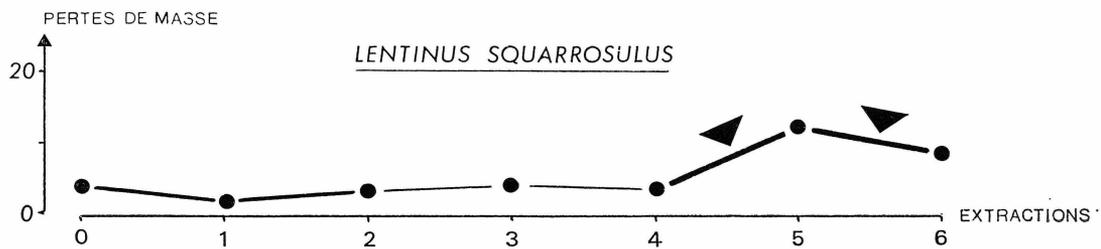
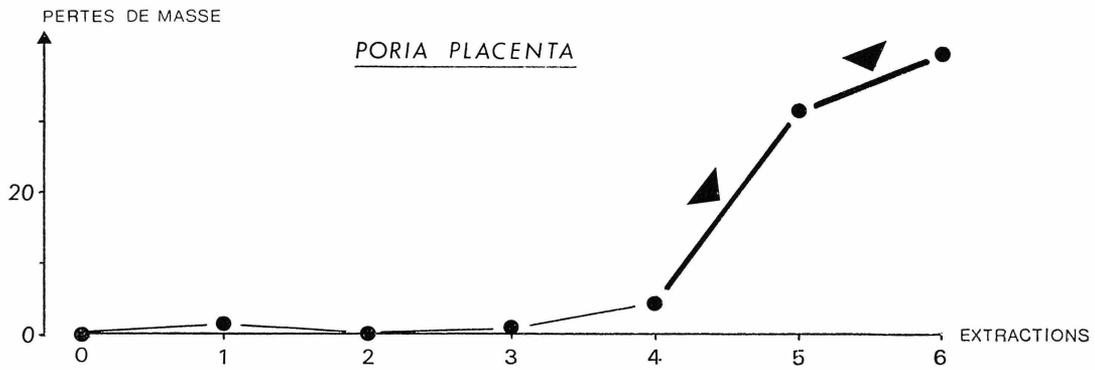
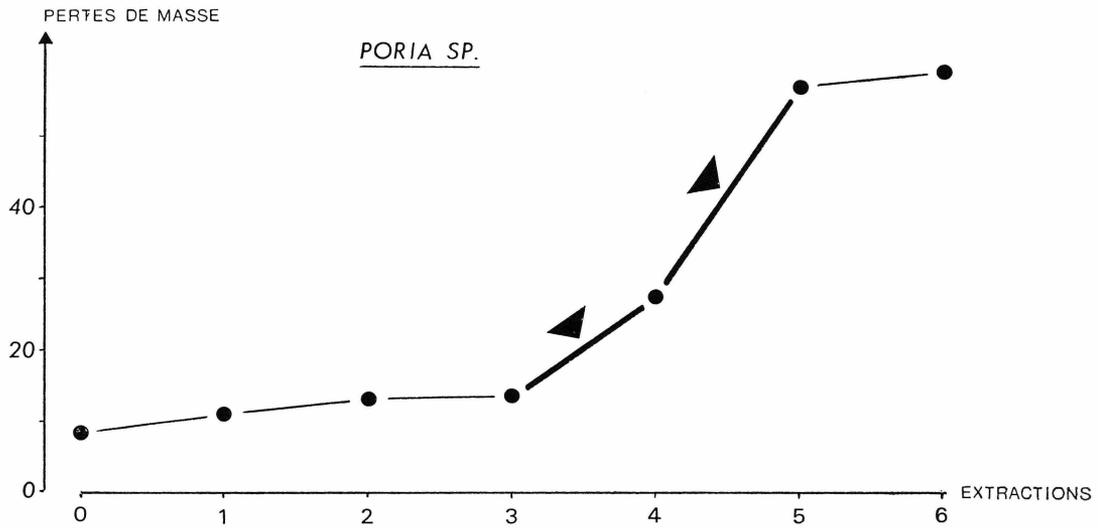
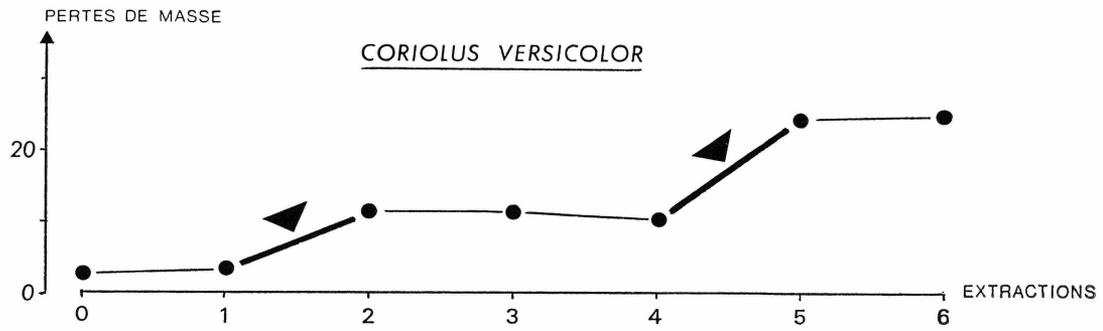


Fig. 3 (relative à l'Okan).

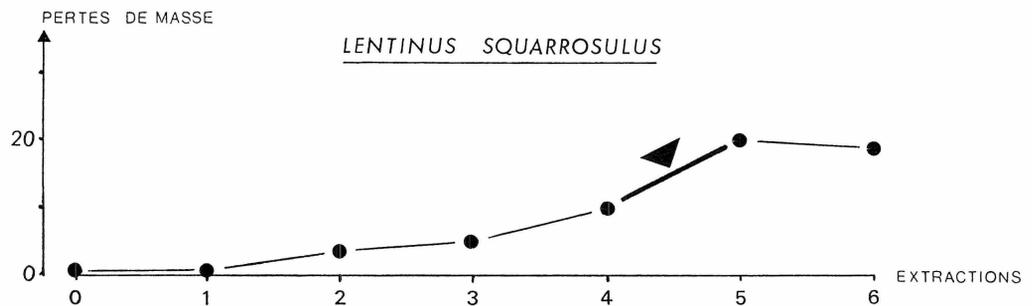
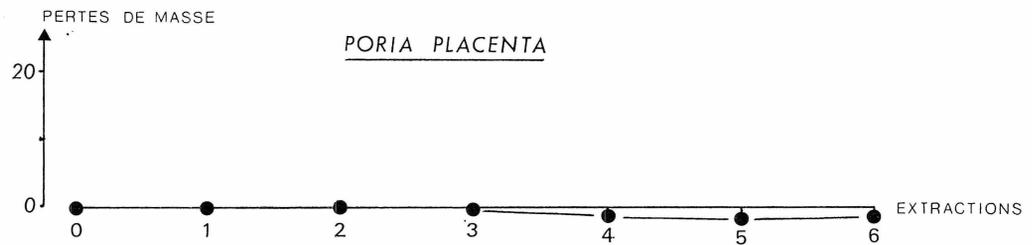
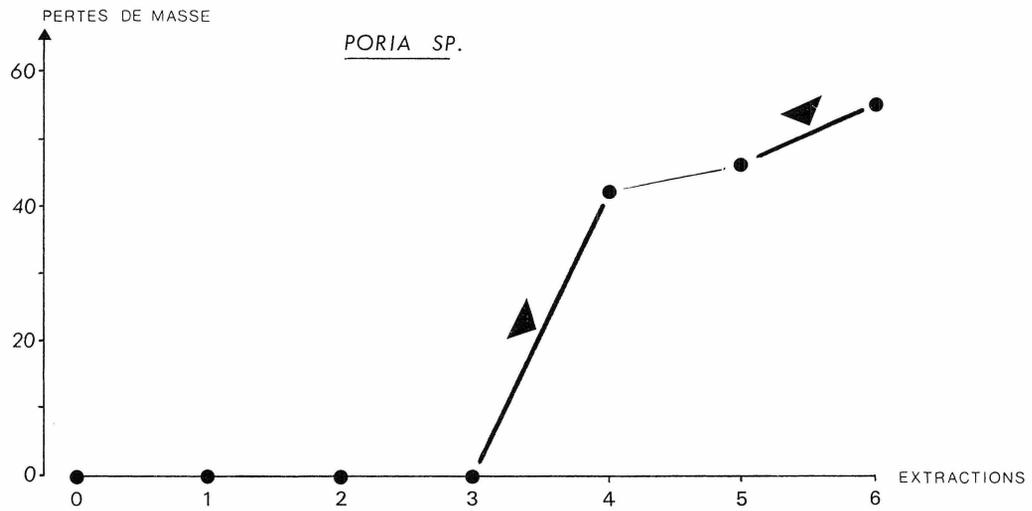
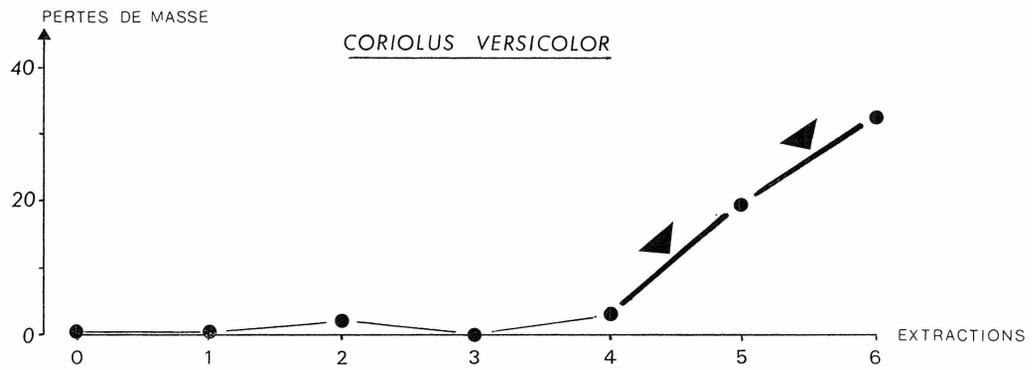


Fig. 4 (relative au Padouk).

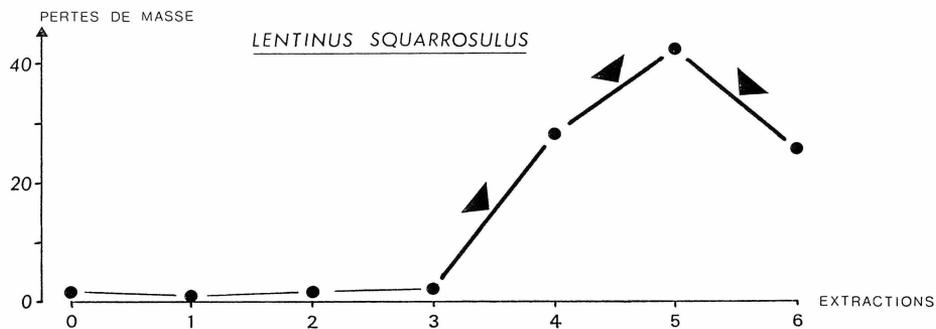
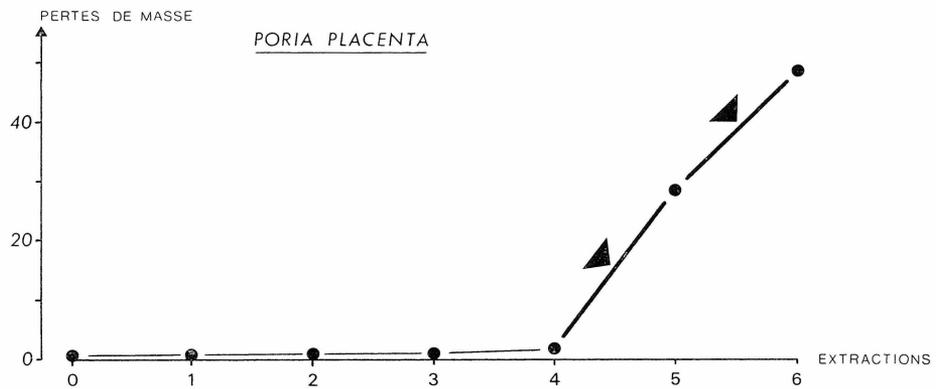
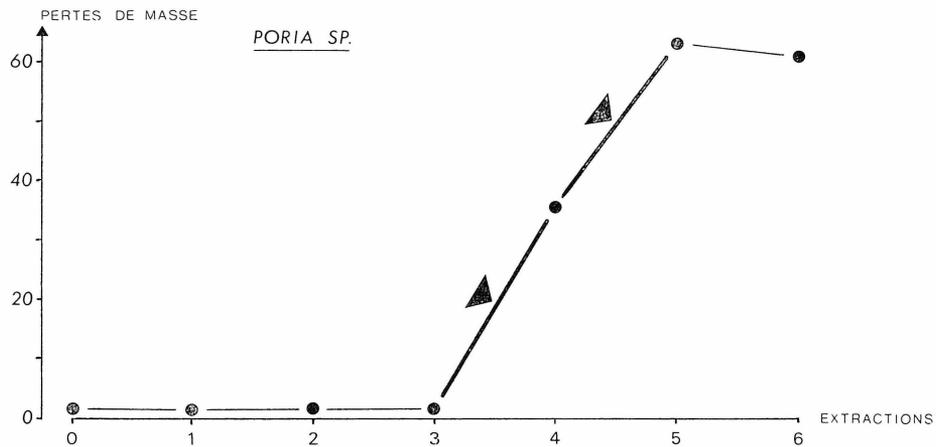
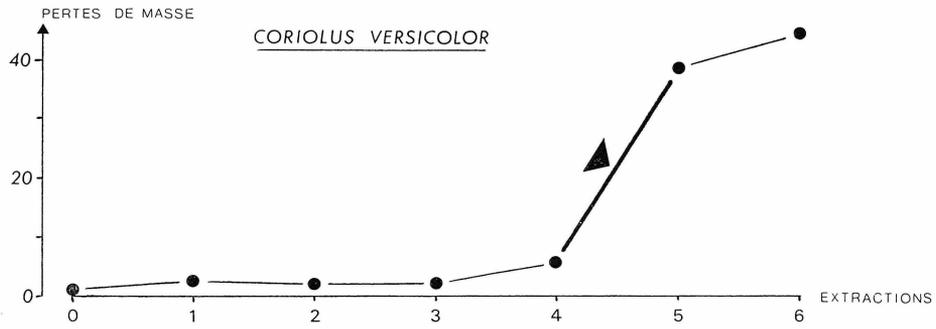


Fig. 5 (relative au Difou).

TABLEAU IX

ÉVOLUTION DES ATTAQUES SUR LE MUKULUNGU EN FONCTION DES EXTRACTIONS SUCCESSIVES (exprimées en % de perte de masse)

| Extractions | Champignons | | | |
|-----------------------------------|----------------------------|------------------|-----------------------|------------------------------|
| | <i>Coriolus versicolor</i> | <i>Poria sp.</i> | <i>Poria placenta</i> | <i>Lentinus squarrosulus</i> |
| (0) Sans | 1,25 | 1,83 | 0,75 | 1,40 |
| (1) Hexane | 1,74 | 1,21 | 0,51 | 1,00 |
| (2) = (1) + Ether | 0,95 | 1,64 | 0,66 | 1,29 |
| (3) = (2) + Dichlorométhane | 1,10 | 2,05 | 0,86 | 1,41 |
| (4) = (3) + Acétone | 1,07 | 1,80 | 0,31 | 1,47 |
| (5) = (4) + Méthanol | 2,91 | 1,72 | 3,45 | 0,96 |
| (6) = (5) + Eau | — 0,17 | 0,17 | 11,83 | 0,63 |

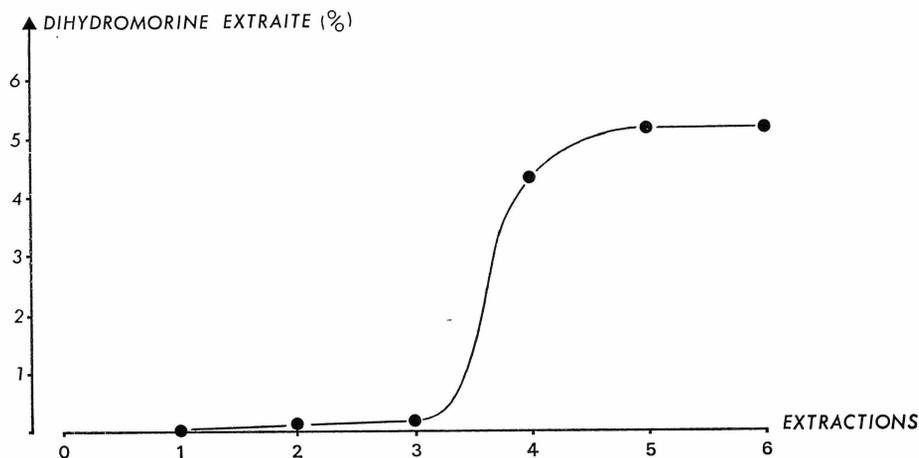
TABLEAU X

| Champignons | Essences | | | |
|------------------------------------|-----------|-----------|----------|-----------|
| | Okan | Padouk | Difou | Mukulungu |
| <i>Coriolus versicolor</i> | 16,5-19,0 | 10,0-17,2 | 9,8-16,9 | > 10,7 |
| <i>Poria sp.</i> | 5,2-16,5 | 6,5-11,0 | 0,6- 9,8 | > 10,7 |
| <i>Poria placenta</i> | 16,5-19,0 | > 17,4 | 9,8-16,9 | > 10,7 |
| <i>Lentinus squarrosulus</i> | 16,5-19,0 | 11,0-17,2 | 0,6- 9,8 | 1,3-10,7 |

que la morine à une dose de 0,2 % (dans un milieu gélosé) n'avait aucune action sur les champignons utilisés, et d'autre part, que la perte de résistance du Difou se situait au niveau de l'extraction acétonique (donc avant extraction de la morine), on était en droit d'estimer que la durabilité du Difou pouvait être imputée à l'action de la dihydromor-

rine. C'est pourquoi on a dosé par spectrophotométrie la teneur de cette dernière substance dans les différents extraits bruts. Le tableau XI et la figure 6 indiquent que c'est l'acétone puis le méthanol qui extraient la majeure partie de la dihydromor-

Fig. 6.



Si l'on compare les figures 5 et 6, on peut constater que :

— le seuil de toxicité de la dihydromorine vis-à-vis de *Poria* sp. et de *Lentinus squarrosulus* est compris entre 0,14 et 4,30 % ; cette fourchette très large est due au fait que l'éther éthylique et le dichlorométhane ont extrait très peu de produit et que l'acétone, à elle seule, a extrait 80 % de la dihydromorine ;

— le seuil de toxicité de la dihydromorine vis-à-vis de *Coriolus versicolor* et de *Poria placenta* est compris entre 4,30 et 5,16 %.

Il semble donc, d'après ces essais, que ce soit bien la dihydromorine qui soit responsable de la durabilité naturelle du Difou.

TABLEAU XI

ÉVOLUTION DE L'EXTRACTION
DE LA DIHYDROMORINE
PAR LES DIFFÉRENTS SOLVANTS

| | % de dihydromorine | | |
|--|--------------------|--------------|----------------------|
| | dans l'extrait | dans le bois | cumulés dans le bois |
| Extrait à l'hexane (1) . . | 0 | 0 | 0 |
| Extrait à l'éther (2) . . . | 38 | 0,122 | 0,122 |
| Extrait au dichlorométhane (3) | 20 | 0,022 | 0,144 |
| Extrait à l'acétone (4) . . | 45 | 4,167 | 4,311 |
| Extrait au méthanol (5) | 12 | 0,850 | 5,161 |
| Extrait à l'eau (6) | 0 | 0 | 5,161 |

CONCLUSION

Si l'on fait le bilan des résultats obtenus jusqu'à présent, on se rend compte que la durabilité naturelle très élevée que possèdent la plupart des essences étudiées, vis-à-vis des champignons de pourriture, est liée à la présence dans le bois d'extraits fongicides ou fongistatiques (isookanine et peut-être okanine pour *Cylicodiscus gabunensis*, dihydromorine pour *Morus mesozygia*, épiafzéléchine pour *Afzelia bipindensis*, dihydromyricétine pour *Erythrophleum ivorene*, et probablement saponines pour *Autranella congolensis*).

Cette recherche a donc contribué à améliorer nos connaissances sur le rôle que peuvent jouer les extraits dans la résistance des bois à leur destruction par les agents de pourriture.

Deux faits principaux ressortent d'autre part de cette étude :

— les seuils approximatifs d'efficacité fongicide *in vitro* des produits naturels isolés sur les essences étudiées sont soit supérieures, soit sensiblement identiques à ceux des fongicides industriels actuels ;

— les molécules responsables sont chimiquement complexes et de synthèse difficile (cas des composés flavoniques) sinon impossible (cas des saponines).

A l'heure actuelle, il ne semble donc pas que l'on puisse envisager la synthèse et l'emploi de telles molécules dans la protection chimique des bois, ne serait-ce que sur un plan économique.

A la suite de ces recherches préliminaires, il semble possible d'orienter les travaux futurs dans

deux directions ; la première serait de poursuivre une étude systématique des essences d'excellente durabilité naturelle en vue de trouver au moins une substance naturelle de structure chimique simple, que l'on puisse facilement synthétiser et d'une très bonne efficacité fongicide. L'autre consisterait à acquérir une plus grande connaissance de l'influence des extraits naturels du bois sur sa détérioration par les microorganismes, les informations que nous avons dans ce domaine étant encore très fragmentaires.

Dans cette optique, deux expériences ont été entreprises récemment, l'une sur l'Angélique (*Dicorynia paraensis*), l'autre sur le Dabéma (*Piptadeniastrum africanum*). Ces deux essences n'ont pas été choisies au hasard. L'étude sur l'Angélique a été effectuée dans le but d'expliquer les grandes variations observées quant à la résistance naturelle de ce bois, particulièrement vis-à-vis de certains champignons de pourriture cubique ; elle a montré une très bonne corrélation entre durabilité et teneur en extraits, et l'activité fongicide *in vitro* d'une substance, la tryptamine à des doses particulièrement faibles (de l'ordre de 1 ‰). Celle sur le Dabéma vient de débiter ; elle est intéressante à plus d'un titre puisque cette essence n'a jamais encore été étudiée sur le plan chimique et qu'en outre elle présente, d'après les premiers résultats partiels obtenus, une durabilité naturelle à forte variabilité à la fois radiale et longitudinale.

BIBLIOGRAPHIE

AKISANYA (A.), BEVAN (C. W. L.), and HIRST (J.). — West african timbers. Part. II. Heartwood constituents of the genus *Pterocarpus*. *J. Chem. Soc.*, Sept./Oct., 1959 (2679-81).

CARRUTHERS (W. R.), FARMER (R. H.) and LAIDLAW (R. A.). — Dihydromorin from East African Mulberry (*Morus lactea*, Mildbr). *J. Chem. Soc.*, 1957 (4440-44).

- CLARK-LEWIS (J. W.), PORTER (L. J.). — Phytochemical survey of the heartwood flavonoids of *Acacia* species from arid zones of Australia. *Australian Journal of Chemistry* (1972), 25 (9), 1943-1955.
- HANSEL (R.), und KLAFFENBACH (J.). — Optisch aktives Dihydromyricetin aus *Erythrophleum africanum*. *Archiv der Pharmazie*, Weinheim, 294 (3), 1961 (158-72).
- KING (F. E.) and ACHESON (R. M.). — Afzelin (kaempferol-3 rhamnoside), a new glycoside isolated from Doussié (*Afzelia* spp.). *J. Chem. Soc.*, 1950 (168-70).
- KING (F. E.), BAKER (J. A.) and KING (T. J.). — The chemistry of extractives from hardwoods. Part XXIV. A saponin constituent of Makoré. *J. Chem. Soc.*, 1954 (1138-42).
- KING (F. E.), CLARK-LEWIS (J. W.) and FORBES (W. F.). — The chemistry of extractives from hardwoods. Part XXV. (—) — epiafzelechin, a new member of the catechin series. *J. Chem. Soc.*, No. Aug., 1955 (2948-56).
- KING (F. E.), COTTERILL (C. B.), GODSON (D. M.), *et al.* — The chemistry of extractives from hardwoods. Part. XIII. Colourless compounds of *Pterocarpus* species. *J. Chem. Soc.*, 1953 (3693-7).
- KING (F. E.) and KING (T. J.). — The chemistry of extractives from hardwoods. Part IV. Okanin and isookanin. *J. Chem. Soc.*, 1951 (569-71).
- MC GOOKIN (A.), ROBERTSON (A.) and WHALLEY (W. B.). — The chemistry of the « Insoluble red » woods. Part. I. Pterocarpin and Homopterocarpin. *J. Chem. Soc.*, 1940 (787-95).
- MAYR (H.). — Das Harz der deutschen Nadelwaldbäume. *Ztschr. f. Forst- u. Jagdwesen*, 1893, 25, 654-670.
- OSHIMA (M.). — Formosan termites and methods of preventing their damage. *The Philippine Journ. of Sc.*, 1919, 15, 319-384.
- PREEZ (I. C. Du) and ROUX (D. G.). — New flavan — 3,4— diols from heartwood of *Acacia cultriformis*. *J. Chem. Soc.*, 1970 (13 c), (1800-4).
- RENNERFELT (E.) u. NECHT (G.). — Die Einwirkung einiger Bestandteile des Kernholzes von Koniferen auf Pilze. *Svensk Botan. Tidskr.*, 1955, 49, 419-432.
- ROBERTSON (A.), SUCKLING (C. W.) and WHALLEY (W. B.). — The chemistry of the « insoluble red » woods. Part. III. The structure of santal and a note on orobol. *J. Chem. Soc.*, 1949 (1571-8).
- SAEKI (I.) *et al.* — On the termicidal substances in *Ternstroemia japonica*. II. *Wood Ind.*, Tokyo, 1966, 21 (7), (20-4).
- SAEKI (I.), SUMIMOTO (M.) and KONDO (T.). — On the antitermitic substance of *Ternstroemia japonica*. III. Biological tests of the antitermitic substance. *J. Jap. wood Res. Soc.*, 1968, 14 (2), (110-4).
- SCHMIDT (H.). — Termite tests on wood extractives. *Mitt. Bundesforschungsanst. Forst- u. Holzw.*, n° 82, 1971 (101-11).
- SPÄTH (E.) and SCHLÄGER (J.). — On the constituents of Red Sandalwood (*Pterocarpus santalinus*). The constitution of pterostilbene. *Ber. dtsh. chem. ges.*, 73, 1940 (881-4).
- SUZUSHINO (G.). — Plant pigments. VIII. Coloring matter of *Morus alba*. Morin, yellow pigment of the wood. Reports of the Research Institute of National Resources, Tokyo, n° 34, 1954 (21-3).
- U. K. : FOR. PROD. RES. BD. — Extractives of *Baikiaea plurijuga*, Muave (*Erythrophleum* sp.) and *Mimusops heckelii*. *Rep. For. Prod. Res. Bd.*, Lond., 1951, 1952 (45-6).
- U. K. : FOR. PROD. RES. BD. — Wood extractives. Natural durability. *Afzelia* sp. *Rep. Dir. For. Prod., Res.*, Lond., 1964, 1965 (12).
- U. K. : F. P. R. L. — Wood extractives : East African Mulberry (*Morus lactea*). *Rep. For. Prod. Res. Bd.*, Lond., 1956, 1957 (45).
- U. K. : F. P. R. L. — Wood chemistry. The chemical basis of natural durability. *Rep. For. Prod. Res.*, Lond., 1966, 1967 (20).
- VENKATARAMAN (K.). — Wood phenolics in the chemotaxonomy of the *Moraceae*. *Phytochemistry*, (1972), 11 (5) (1571-86).
- WOLCOTT (G. N.). — The termite resistance of Pinosylvin and other new insecticides. *Journ. econ. Entom.*, 1951, 44 (2), 263-264.