

# Impact de la pollution sur les propriétés du bois de palétuviers de mangrove de l'Estuaire du Gabon: cas pratiques de Rhizophora racemosa et d'Avicennia germinans

Saint Bickolard Mabicka Iwangou

## ▶ To cite this version:

Saint Bickolard Mabicka Iwangou. Impact de la pollution sur les propriétés du bois de palétuviers de mangrove de l'Estuaire du Gabon: cas pratiques de Rhizophora racemosa et d'Avicennia germinans. Biologie végétale. Université de Lorraine; École doctorale des grandes écoles (Libreville, Gabon), 2020. Français. NNT: 2020LORR0251. tel-03428205

# HAL Id: tel-03428205 https://hal.univ-lorraine.fr/tel-03428205v1

Submitted on 22 Feb 2023  $\,$ 

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers. L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



# AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

# LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4 Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10 <u>http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\_droi.php</u> <u>http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm</u>



# THÈSE DE DOCTORAT

En cotutelle présentée et soutenue publiquement par

## MABICKA IWANGOU Saint Bickolard

Pour l'obtention du grade de

# DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LORRAINE

ECOLE DOCTORALE SCIENCES ET INGEGNIERIE DES MOLECULES,

DES PRODUITS, DES PROCEDES ET DE l'ENERGIE (SIMPPÉ)

Spécialité : Sciences du Bois et des Fibres

# Impact de la pollution sur les propriétés du bois de palétuviers de mangrove de l'Estuaire du Gabon : Cas pratiques de *Rhizophora racemosa* et d'Avicennia germinans

Soutenance prévue le 16 décembre 2020, devant le jury composé de :

Docteur, HDR, CIRAD	Rapporteur
Professeur, Université de Pau et des Pays de l'Adour	Rapporteur
Docteur, LEKO LABS SA	Examinateur
Professeur, Université des Sciences et Techniques de Masuku	Examinateur
Docteur, Université de Lorraine	Co-directeur de thèse
Docteur, Ecole Doctorale des Grandes Ecoles	Co-directeur de thèse
Professeur, Ecole Doctorale des Grandes Ecoles	Directeur de thèse
Professeur, Université de Lorraine	Directeur de thèse
	Docteur, HDR, CIRAD Professeur, Université de Pau et des Pays de l'Adour Docteur, LEKO LABS SA Professeur, Université des Sciences et Techniques de Masuku Docteur, Université de Lorraine Docteur, Ecole Doctorale des Grandes Ecoles Professeur, Ecole Doctorale des Grandes Ecoles Professeur, Université de Lorraine

## Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier les membres du jury, notamment Madame Marie-France THEVENON, Monsieur Bertrand CHARRIER, Monsieur ONDO Privat Joseph et Madame Marion NOEL, d'avoir accepté de lire ce manuscrit et d'évaluer mes travaux de thèse. Je voudrais également remercier Mesdames Mélanie MOREL et Dominique GERANT pour les orientations et conseils apportés sur l'amélioration de mes travaux de recherche.

Je remercie ensuite le Professeur Philippe GERARDIN, Professeur à l'Université de Lorraine, et Directeur du Laboratoire d'avoir assuré la direction de ma thèse. Car grâce à lui, j'ai pu intégrer facilement le Laboratoire d'Etude et de Recherche sur le Matériau Bois (LERMaB), puis il a facilité également ma mobilité entre LERMaB-Enstib et LERMaB-FST. Dans cette mobilité j'ai pu mener à bien mes travaux de recherche durant mes trois années de thèse. Je voudrais lui adresser mes plus sincères remerciements pour l'apport scientifique qu'il m'a apporté tout au long de ma thèse. Je remercie également l'Agence Nationale des Bourses du Gabon (ANBG) qui a financé ma thèse durant mes trois années passées en France. Je voudrais aussi remercier l'Association R@PPROCH de m'avoir soutenu financièrement lors de mon échantillonnage au Gabon.

Je tiens ensuite à remercier Arnaud BESSERER, Maître de Conférence à l'Ecole Nationale des Sciences et de Technologies et Industrielles du Bois (ENSTIB), et Co-directeur de thèse, d'avoir bien assuré l'encadrement de ma thèse. Il a été d'un apport positif pour moi, et je tiens vraiment à lui exprimer ma gratitude. Parce qu'il a contribué à améliorer ma connaissance sur une connaissance globale du matériau bois. Grâce à lui j'ai pu faire un bon nombre d'analyses de mes échantillons sur certaines disciplines qui ont renforcé ma connaissance sur le matériau bois. De plus, il m'a montré un certain nombre de techniques d'analyses et de logiciels qui m'ont permis d'analyser mes résultats.

Je voudrais également remercier le Professeur Timoléon ANDZI BARHE, Directeur de thèse. Et le Docteur Rodrigue SAFOU TCHIAMA, Co-directeur de thèse, tous deux de l'Ecole Doctorale des Grandes Ecoles du Gabon, pour leur contribution et leur suivi dans mes travaux de recherche.

Je tiens également à remercier le Professeur Stéphane DUMARCAY, Professeur à l'Université de Lorraine, et Eric MASSON, chercheur au CRITT-Bois d'avoir contribué aux analyses chimiques de mes échantillons de bois.

Je voudrais également remercier, Marie-Christine TROUY, Maître de Conférence à l'ENSTIB d'avoir enrichi mes connaissances en Anatomie du Bois, ceci grâce à sa bienveillance et à sa disponibilité. Je la remercie très sincèrement pour les réponses à mes préoccupations en rapport avec l'Anatomie du Bois.

Je souhaite également à remercier, le Docteur Thibault BENISTAND pour ses nombreux conseils, et surtout pour sa contribution à la compréhension de certains logiciels d'analyses statistiques. Un grand merci aussi, au Docteur Damien LATHUILLIERE, de m'avoir aidé à réaliser des tests mécaniques de mes échantillons de bois. Je tiens à le remercier sincèrement pour sa disponibilité, et sa bienveillance.

J'aimerais aussi remercier le Professeur Christine Gérardin, Professeur à l'Université de Lorraine, et par ailleurs Directrice de l'Ecole Doctorale (SIMPPE) pour son soutien, mais surtout pour avoir contribué à mon inscription à l'Ecole Doctorale.

Je voudrais aussi remercier Messieurs Philémon NDZAMBE et Ginot NANGESSOUMA qui m'ont aidé à échantillonner ces essences. Car sans leur apport, je n'aurais pas pu prélever les essences dans les différents sites qui ont fait l'objet de mon étude.

Je tiens également à remercier tous les membres du LERMaB qui m'ont permis de travailler dans un cadre très propice, et plus particulièrement Cyril DEHARBE, Linda BOSSERER, Corinne COURTEHOUX, Marie CHRISTINE., Marie LAURE, Laetitia MOURITANY-NANTZ. Je suis reconnaissant envers vous pour votre soutien durant ces années. C'est également grâce à d'autres collègues thésards et postdoctorants que j'ai pu m'épanouir dans mon travail. Je remercie Van DIEM TIM, Oussama AYARI, Iman EL HOUYERI, Siham AMIROU, Christ Stone BOPENGA, Walter Fiacre BEDOUGUENDZI, Henri MEYO DEGBOEVI, Elie SOGBOSHI, Nada BARAKET...

Mes dernières pensées iront vers ma famille et tout particulièrement à Victorine IBOTSI, Justine ITSIEMBOU, Armand Bickolard -MABICKE-MA-IWANGOU, Alida BICKOLARD MABICKE -MA-IWANGOU, Parfait TSOUGOU, Rosine MAGANGA, Alain Serge KOUMBA, MAGANGA qui m'ont permis de poursuivre mes études jusqu'à aujourd'hui et m'ont toujours épaulé et soutenu depuis le début de cette thèse.

Je ne saurais terminer sans pour autant féliciter ma fiancée Cheronne NDZOLLA NGOTA qui a usé de patience et de sagesse durant ma formation doctorale.

# Table des matières

Introduction générale	13
Problématiques et objectifs	16
Plan de la thèse	17
Chapitre 1 : Etat de l'art	20
1.1 L'Ecosystème mangrove	21
1.1.1 Définition et caractéristiques	21
1.1.2 Facteurs impactant la dynamique des peuplements	21
1.1.3 Importance et utilisation des palétuviers	22
1.2 Distribution géographique	22
1.2.1. Distribution mondiale	22
1.3 Les palétuviers	23
1.3.1 Caractéristiques forestières	23
1.3.1.1 Répartition spatiale	24
1.3.1.2 Densité de peuplement au Gabon	24
1.3.2 Adaptation morphologique et physiologique du genre Rhizophora	27
1.3.3 Adaptation morphologique et physiologique du genre Avicennia	28
1.4. Le bois	29
1.4.1 Formation et anatomie du bois des feuillus	29
1.4.2 Composition chimique du bois	32
1.5. La dégradation du bois par des champignons	36
1.5.1. Pourriture molle	37
1.5.2 Les argents de pourriture brune	38
1.5.3 Les champignons de pourriture blanche	38
1.6 Propriétés et spécificités anatomiques du bois des palétuviers	39
1.6.1 Croissance et datation	39
1.6.2 Fonctionnement cambial et particularités anatomiques	42
1.6.3 Composition chimique du bois	43
1.6.4 Dégradation du bois des palétuviers par les champignons et les térébrants mar	ins
1 6 5 Dropriótós physiques et másopiques	44 лг
1.0.5 Proprietes physiques et mecaniques	45

	1.7. Menaces et facteurs impactant le développement des palétuviers	. 47
	1.7.1 La salinité	. 47
	1.7.2 Les activités humaines	. 48
Chap	pitre 2 : Matériels et méthodes	53
	2.1 Matériels biologiques	. 54
	2. 2 Sites d'étude et prélèvements	. 54
	2.3 Etude du plan ligneux	. 63
	2. 3. 1. Microscopie optique	. 63
	2. 3. 2 Microscopie confocale à fluorescence	. 64
	2. 3. 3 Tomographie rayons X	. 64
	2. 4 Analyse des propriétés physiques des échantillons de bois	. 65
	2. 4. 1 Microscopie électronique à balayage couplées à la microanalyse	. 65
	2. 4. 2 Mesure de l'infradensité	. 65
	2. 4. 3 Mesure de la densité des bois	. 66
	2. 5 Analyse des propriétés mécaniques des échantillons de bois- Essais de compression axiale	. 67
	2. 6 Durabilité des échantillons de bois	. 68
	2. 6. 1 L'état de culture du solide sur le bois	. 68
	2. 6. 2. Perte de masse	. 69
	2. 6. 3 Préparation des solutions et milieux contenant des minéraux	. 69
	2.7 Détermination des propriétés chimiques des échantillons	. 70
	2. 7. 1 Spectrométrie infrarouge proche	. 70
	2. 7. 2 Analyses des extractibles	. 70
	2. 7. 3 Analyse des contenus minéraux	. 72
Chap	itre 3 : Résultats	. 75
[	A l'échelle de la grume	. 76
	3. 2 Altération des caractéristiques physiques et mécaniques	. 78
	3.3 Conséquences de la pollution sur la composition chimique du bois d'A. germinan	ns . 82
	3. 3. 1 Analyse globale (NIRS)	.87
	3. 3. 2 Microscopie CLSM	. 84
	•	

3. 3. 3 Identification chimique des extractibles par GC-MS
3. 4 Effet de la pollution sur la durabilité naturelle du bois
3. 5 Recherche de polluants dans le bois
3.5.1 Recherche des HAP90
3.5.2 Recherche et quantification relative d'éléments trace métalliques dans les différents échantillons
3. 6 Analyse des effets de la pollution aux ETM95
3. 6. 1 Effets de la pollution aux ETM sur la durabilité naturelle du bois d'Avicennia germinans
3.6.2. Utilisation du modèle hêtre / <i>C. versicolor</i> dans l'évaluation de l'effet des ETM sur la dégradation du bois
3. 7 Influence de la pollution sur les propriétés des bois de Rhizophora racemosa 103
3. 7. 1 Analyse macroscopique103
3. 7. 2 Influence de la salinité et de la pollution sur la densité de vaisseaux
<ol> <li>3. 7. 3 Analyses de l'effet de la pollution sur les propriétés physiques des bois de Rhizophora racemosa</li></ol>
3. 7. 4 Test de dégradation du bois par des champignons et essais de compression axiales112
Chapitre 4 : Discussion116
4.1 Effets macroscopiques de la pollution118
4. 2 Polluants détectés dans les échantillons de bois119
<ol> <li>4. 3 Effets des variations de salinité et de la pollution sur la densité de vaisseaux chez</li> <li>A. germinans et R. racemosa120</li> </ol>
4. 4 Effet de la pollution sur le contenu en extractibles121
4. 5 Effet de la pollution sur la durabilité et la résistance mécanique des bois d'A. germinans et de R. racemosa123
Conclusion126
Références bibliographiques130
Annexe

# Liste des figures

Figure 1 : Répartition Mondiale des Mangroves	. 22
Figure 2 : Distribution de la mangrove au Gabon	. 23
Figure 3 : Répartition spatiale des essences de la mangrove	. 24
Figure 4 Sites de d'études localisés dans la Baie de Mondah et de l'Estuaire du Komo dans le cadre	e du
projet MDMLERD	. 25
Figure 5 : Nombre d'individus en bonne santé et dégradés par site des mangroves de Libreville et d	de
ses environs	. 27
Figure 6 : Racines échasses possédant les lenticelles (A) et racines échasses produites par le tronc	et
les racines chez Rhizophora (B)	. 28
Figure 7 : Genre Avicennia sur pied en présence des pneumatophores	. 29
Figure 8 : Position du cambium et formation du bois des feuillus	. 30
Figure 9 : Organisation cellulaire du bois des feuillus	. 30
Figure 10 : Vue perspective d'une paroi ligneuse	. 32
Figure 11 : Structure chimique de la cellulose	. 33
Figure 12 : Représentation schématique de l'organisation des régions cristallines et amorphes d'ur	ne
microfibrille de cellulose	. 33
Figure 13 : Structure chimique de deux types d'hémicelluloses les plus abondantes	. 34
Figure 14 : Alcools précurseurs de la lignine	. 35
Figure 15 : Différentes familles d'extractibles présents dans le bois montrant la distinction entre de	eux
familles condensé et hydrolysable	. 36
Figure 16 : Bois attaqué par la pourriture molle montrant un stade de décomposition à différentes	;
échelles	. 37
Figure 17 : Attaque du bois par la pourriture brune à différentes échelles	. 38
Figure 18 : Attaque du bois par la pourriture blanche à différentes	. 38
Figure 19 : Coupe transversale du bois d'Avicennia marina	. 40
Figure 20 : Image macroscopique d'une section de bois poli de Rhizophora mucronata montrant un	ne
nette alternance de couches de croissance sombres et claires	. 41
Figure 21 : Disque de tronc asymétrique d'un arbre d'Avicennia marina	. 42
Figure 22 : Modules d'élasticité du bois d'A. germinans collecté sur des zones intertidales de maré	ée
basse et de marée haute	. 47
Figure 23 : La répartition mondiale des mangroves	. 49
Figure 24 : Localisation des sites de prélèvement utilisés dans cette étude	. 55
Figure 25 : Cartographie du site d'Ambowè	. 55
Figure 26 : Photos représentatives du site d'Ambowè.	. 56
Figure 27 : Cartographie du site d'Alenakiri	. 57
Figure 28 : Photographies représentatives du site d'Alenakiri	. 58
Figure 29 : Cartographie du site d'Oveng	. 59
Figure 30 : Photographies représentatives du site d'Oveng	. 59
Figure 31 : Cartographie du site de Mamboumba	. 60
Figure 32 Photographies représentatives du site de Mamboumba	. 60
Figure 33 : Cartographie du site d'Ayémé maritime	. 61
Figure 34 : Photographies représentatives du site d'Ayémé maritime	. 61
Figure 35 : Rondelles de bois de R. racemosa	. 62
Figure 36 : Mesure de la salinité du sol	. 63
Figure 37 : Observation des échantillons de bois de R. racemosa sur des coupes transversales par	_
microscopie épiscopie	. 64
Figure 38 : Essai quasi statique de compression axiale	. 67

Figure 39 : Courbe de la force en fonction du déplacement du bois de R. racemosa collecté à Ayémé	•
maritime	58
Figure 40 : Visualisation des coupes transversales sur les arbres récoltés	76
Figure 41 : Effet de la pollution anthropique sur la densité des vaisseaux chez Avicennia germinans.	77
Figure 42 : Effet de l'activité anthropique sur l'infradensité des échantillons de bois prélevés sur des	;
sites expérimentaux pollués (rouge) ou non pollués (vert)	79
Figure 43 : Tomographie Rayons X	30
Figure 44 : Effet de l'activité anthropique sur la compression parallèle au fil (fc, o)	32
Figure 45 : Analyse en composantes principale des spectres NIRS (6500 à 4500 cm <sup>-1</sup> ) 8	33
Figure 46 : Spectres moyens des dérivée seconde d'échantillons de bois analysés dans la gamme de	
longueurs d'onde sélectionnées (6500 à 4500 cm <sup>-1</sup> )	34
Figure 47 : Localisation des extractibles par émission de fluorescence	85
Figure 48 : Effet de la pollution anthropique sur le contenu en extractibles des échantillons de	
duramen prélevés sur les sites d'Oveng et Ambowè 8	36
Figure 49 : Analyse des extraits contenus dans l'hexane par fraction GC	87
Figure 50 : Effet de la pollution anthropique sur la durabilité naturelle fongique du bois d'A.	
germinans	89
Figure 51 : Analyse globale du contenu en éléments minéraux dans les compartiments de bois	
collectés sur les sites d'Ambowè (pollué) et Oveng (non pollué)	93
Figure 52 : Contenu en ETM mesuré par µXRF dans l'aubier et le duramen de bois collectés sur les	
sites d'Oveng (non pollué) et Ambowè (pollué)	93
Figure 53 : Cartographie EDS réalisée sur un échantillon du site d'Ambowé	94
Figure 54 : Composition en ETM détectés par µXRF dans les échantillons d'aubier (sapwood) ou de	
duramen (heartwood) prélevés sur les sites d'Oveng (non pollué) et d'Alenakiri (pollué)	96
Figure 55 : Développement de T. versicolor CTB863A sur un milieu malt-agar contenant les éléments	S
minéraux Mn, Fe et Cu	99
Figure 56 : Pertes de masse des éprouvettes imprégnées ou non par les différentes solutions de	
minéraux après 5 semaines de dégradation par T. versicolor10	02
Figure 57 : Vue macroscopique des rondelles de bois de R. racemosa collectés à Ayémé (NP),	
Ambowè (Pollué) et Alenakiri (Pollué)	03
Figure 58 : Histogramme de densités des vaisseaux (duramen)10	04
Figure 59 : Infradensité des duramens des bois de R. racemosa prelevés à Ayémé maritime (sites no	n
pollué), et à Ambowè (site pollué)10	06
Figure 60: Densité des duramens des bois de R. racemosa prelevés à Ayémé maritime 10	07
Figure 61 : Analyses des spectres NIRS effectués sur les échantillons de bois (duramen) de R.	
racemosa collectés sur les sites d'Ayémé maritime (Non pollué) et Ambowè (Pollué) 10	28
Figure 62 : Spectres moyens (dérivée seconde) des échantillons collectés sur les sites pollués	
(Alenakiri et Ambowé) ou non pollué (Ayémé)10	29
Figure 63 : Analyses des contenus en extractibles effectués sur les échantillons de bois (duramen) d	le
R. racemosa collectés sur les sites d'Ayémé (Non pollué) et Ambowè (Pollué)	10
Figure 64 : Analyse globale du taux d'ETM dans les bois de R. racemosa prélévés sur les sites d'Ayém	٦é
maritime (non pollué) et d'Ambowè (pollué) 12	11
Figure 65 : Analyse des ETM dans les bois de Rhizophora12	12
Figure 66 : Histogramme de Forces des compressions axiales des échantillons de bois de R. racemos	a
collectés sur les sites d'Ayémé maritime et d'Ambowè11	14

# Liste des tableaux

Tableau 1 : Répartition des différentes espèces de palétuviers dans la mangrove des estuaires du
Komo et de la Mondah (Libreville et ses environs)
Tableau 2 : Moyenne de l'âge et du taux de croissance des espèces de mangroves dominantes,
Avicennia marina
Tableau 3 : Analyse quantitative des segmentations des images tomographie rayon
Tableau 4 : Analyse semi-quantitative de la fraction hexane par spectrométrie de masse couplée à
GC
Tableau 5 : Proportions d'extraits contenus dans la fraction hydrophobe
Tableau 6 : Résultats des analyses GC-MS réalisées sur la fraction dichlorométhane des extraits de
bois d'A. germinans prélevés sur les sites d'Ambowè (pollué) et d'Oveng (Non pollué)
Tableau 7 : Pertes de masse pour les échantillons d'aubier et de duramen prélevés sur les sites
d'Oveng (non pollué) et d'alenakiri (pollué) et soumis à une attaque par une pourriture brune (P.
placenta) et blanche (C. versicolor)
Tableau 8 : Quantification des différents éléments présents dans les éprouvettes de bois en partie
par milliard (ppm) 101
Tableau 9 : Durabilité naturelle des bois de R. racemosa collectés sur les différents sites d'Ayémé
(non pollué) et d'Ambowè (pollué)113

## Abréviations et acronymes

- DHP : Diamètre à Hauteur de Poitrine
- EDS : Spectrométrie de Dispersion Electronique
- ETM : Eléments Traces Métalliques
- FAO : L'Organisation des Nations unies pour l'Alimentation et l'Agriculture
- GIEC : Le Groupe d'Experts Intergouvernemental sur l'Evolution du Climat
- HAP : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
- INRA : Institut National de la Recherche Agronomique
- ISME : Société Internationale des Ecosystèmes de Mangrove
- LADYBIO : Laboratoire Dynamique de la Biodiversité
- microXRF : microfluoremétrie rayons X

MDMLERD : Modélisation de la Dynamique des Mangroves de Libreville et ses Environs et des Risques de leur Dégradation.

- WDS : Spectroscopie de dispersion de longueur d'onde
- WWF : Le fond mondial pour la nature

Introduction générale

Les Mangroves constituent des écosystèmes côtiers très particulier. Ces formations végétales sont constituées majoritairement d'arbres. Ces essences se développent que dans la zone intertidale (zone de balancement des marées) encore appelée estran. Ainsi, les mangroves sont soumises aux marées deux fois par jour et aux fluctuations météorologiques saisonnières. Les forêts atypiques qui s'épanouissent dans cet environnement extrême et instable sont constituées de 12 genres comprenant environ 60 espèces d'arbres tolérants au sel et ayant développés des adaptations morphologiques et physiologiques leur permettant de se développer dans ce milieu difficile. Les mangroves couvrent 75% du domaine côtier intertropical (entre le 30° N et le 30°S) (Giri et al., 2011) et constituent l'un des 14 biomes terrestres selon la classification du WWF et de la FAO (https://www.worldwildlife.org/biomecategories/terrestrial-ecoregions, sept 2020). Outre leur fonction de fixation du CO<sub>2</sub>, les mangroves constituent un des écosystèmes les plus productifs en biomasse et abritent une forte biodiversité animale, notamment en poissons et invertébrés marins. Les mangroves procurent des ressources importantes (forestières et halieutiques) pour les populations vivant à son voisinage et elles occupent une place importante dans la stabilisation et la protection des littoraux vis-à-vis des tsunamis et cyclones fréquents en zone tropicale. Enfin, la mangrove a une capacité d'assainissement naturelle des matières organique qui peuvent avoir un fort intérêt dans le développement urbain.

Les arbres les plus caractéristiques des mangroves sont les palétuviers avec leurs pneumatophores et leurs racines-échasses. Les palétuviers sont particulièrement sensibles aux altérations du substrat par les pollutions de type marée noire (Duke, 2016). Les changements climatiques qui causent des changements brutaux de la salinité et de l'équilibre hydrique au sein du milieu peuvent avoir un fort impact sur la survie des palétuviers (Spalding et al., 2010). En dépit d'un remarquable potentiel de résilience du milieu, la surface actuelle des mangroves ne représente que 25 % de leur étendue naturelle ce qui témoigne de la forte pression anthropique exercée sur ces milieux (Fromard and Michaud, 2018). Plus particulièrement, les mangroves sont menacées par la déforestation liée au développement urbain et aux infrastructures côtières. L'exploitation non visible du bois de palétuvier en vue du fumage du poisson ou pour le chauffage constitue une proportion non négligeable du taux de perte des mangroves en Afrique Centrale qui atteint 1,77% chaque année depuis 2000.

Au Gabon, les mangroves présentent des états sanitaires variés souvent liés à l'activité humaine (Okanga-Guay et al., 2019). Les bassins versants de Libreville sont particulièrement soumis à la pollution liée à l'activité urbaine (déchets, eaux usées, huile de vidange) qui constitue une source de pollution multifactorielle. En effet, plusieurs types de pollutions (Métaux lourds, hydrocarbures, phtalates, tensio-actifs,) peuvent co-exister sur un même site et il est particulièrement difficile de déterminer la contribution de chacun des polluants sur les phénomènes de dépérissements observés.

Les effets de la pollution ont été principalement décrits à l'échelle de l'habitat. Des travaux ont montré que les éléments trace métalliques s'accumulaient principalement dans les sédiments de la mangrove et dans les racines fines chez *Avicennia marina* (Chaudhuri et al., 2014; Kulkarni et al., 2018). De même les conséquences d'une pollution aux hydrocarbures (marée noire) sur le dépérissement des palétuviers a été abondamment décrit dans la littérature (Duke, 2016). Cependant ces études ont été réalisées à l'échelle de l'écosystème et seulement peu d'informations sont disponibles sur les phénomènes mis en place à l'échelle du palétuvier. De plus, à notre connaissance, seulement très peu de données sont disponibles sur les effets de la pollution sur les propriétés du bois de palétuvier.

La formation du bois est un phénomène complexe qui résulte d'une combinaison de réactions métaboliques. Ce bois constitue une piste intéressante pour identifier des marqueurs de pollution. Ce compartiment peut accumuler les contaminants du sol ou de l'atmosphère. La dendrochimie est une branche de la dendrochronologie qui est utilisée en paléo botanique pour retracer les profils climatiques ou la pollution atmosphérique rencontrée par les végétaux (Alterio et al., 2020; Smith and Shortle, 1996). Le bois peut aussi manifester des changements de propriétés chimiques et mécaniques en réponse aux contraintes de l'environnement. Les variations des propriétés physico chimiques du bois ont été corrélées à des altérations du fonctionnement cambial et des capacités de séquestration de CO<sub>2</sub> (Ray et al., 2012).

Dans ce travail nous proposons d'étudier les altérations des propriétés du bois des palétuviers *Rhizophora racemosa (R. racemosa)* et *Avicennia germinans (A. germinans)* qui font partie des essences les plus abondantes dans les mangroves du Gabon (FAO, 2007).

#### Problématiques et objectifs

L'expansion des villes et la pollution d'origine anthropique de la mangrove qui en découle se traduit par des perturbations multiples de l'écosystème complexe qu'est la mangrove. Plusieurs études ont été menées afin d'évaluer la persistance et la résilience de la mangrove confrontée à différents types de pollution (Maiti and Chowdhury, 2013). Il est à présent établi que les sédiments et la microbiosphère qu'ils abritent jouent un rôle important dans l'équilibre du milieu (Fromard and Michaud, 2018). Les adaptations développées par les palétuviers ne peuvent expliquer qu'une partie de la tolérance à la pollution. Des revues de la littérature traitant de différentes facettes de la mangrove sont disponibles : la chimie des sédiments (Defew et al., 2005; MacFarlane et al., 2003; Ong Che, 1999), les usages médicinaux (Bandaranayake, 2002), les facteurs environnementaux impactant (Krauss et al., 2008), les mécanismes de tolérance au sel (Parida and Jha, 2010), les cycles des nutriments (Reef et al., 2010), les effets de la pollution aux hydrocarbures et aux dispersants (Burns et al., 1993; Hoff et al., 2002), le changement climatique et l'élévation du niveau de la mer (Gilman et al., 2008). Les effets néfastes de la pollution d'origine anthropique et plus particulièrement du déversement des eaux usées des villes directement dans la mangrove a été également documenté (Lewis et al., 2011). Bien que Rhizophora mangle, une espèce proche de Rhizophora racemosa présente au Gabon et Avicennia germinans soient utilisées comme indicateurs de pollution, aucune donnée concernant l'effet de la pollution sur le bois de palétuvier n'est à ce jour disponible dans la littérature.

L'hypothèse de base de ce travail est de considérer que le bois du tronc des palétuviers peut être utilisé comme un marqueur ou *proxy* pour évaluer la santé de la mangrove. En effet, la formation du bois est dépendante de la santé globale de l'arbre. Aussi les changements de propriétés du bois devraient fournir des indications intéressantes quant aux phénomènes de persistance et de résilience des palétuviers confrontés à la pollution.

L'utilisation d'une approche multicritère a pour objectif de faire émerger des caractères discriminants permettant de détecter la présence d'une pollution parfois complexe et combinant la présence de plusieurs polluants. Outre les métaux lourds ou éléments trace métalliques (ETM), les hydrocarbures, les dérivés du plastique (phtalates), les éléments minéraux comme l'azote, le phosphate ou le potassium qui sont fortement liés à l'activité urbaine (eutrophisation par les eaux usées) ou agricole (amendement des sols) et peuvent

influencer la croissance des palétuviers et perturber l'équilibre du milieu (Feller et al., 2007). Les dérivés chimiques présents dans les eaux usées urbaines (surfactants, dispersants, ...) pourraient perturber la formation du bois de palétuvier et constituer une menace particulièrement difficile à détecter.

La comparaison des bois prélevés sur des sites pollués où la mangrove présente un état sanitaire dégradé et des bois collectés sur des sites préservés sera réalisée sur *Avicennia germinans* (*A. germinans*) et sur *Rhizophora racemosa* (*R. racemosa*). Ces deux essences ont développé des adaptations totalement différentes du milieu. Il sera intéressant de comparer l'effet d'une même source de pollution (sites identiques) sur les deux espèces afin de pouvoir mieux comprendre les effets observés sur le bois à différentes échelles.

Le Hêtre (*Fagus sylvatica*) est une essence feuillus présente dans les zones tempérées dont le bois est facilement imprégnable (EN 350, 2016). Le bois de hêtre est très pauvre en extractibles contrairement à celui des palétuviers ce qui en fait une essence peu durable. La possibilité d'imprégner le hêtre avec des quantités connues de métaux lourds en laboratoire permet d'évaluer l'effet d'une contamination du bois aux métaux lourds sur sa durabilité. Cela permet de contrôler la quantité et la nature des contaminants minéraux dans le bois ce qui n'est pas possible sur les échantillons de palétuvier collectés en milieu naturel sur des sols aux propriétés en constante évolution. Cela permettra également de décorréler les effets éventuels de la contamination aux ETM de ceux des extractibles lors de tests de dégradation fongique.

#### Plan de la thèse

Dans cette étude, nous allons étudier l'impact de cette pollution urbaine sur les propriétés du bois des palétuviers notamment pour les genres Rhizophora et Avicennia afin d'attirer l'attention de la communauté scientifique de se pencher également sur cette problématique.

Après la présentation de l'état de l'art dans le chapitre 1, le chapitre 2 présentera les méthodes utilisées dans ce travail. Le chapitre 3 illustrera les conséquences de la pollution urbaine sur les essences d'*A. germinans* et *R. racemosa*, et l'influence des ETM sur la durabilité du bois d'*A. germinans* sera mise en perspective avec les résultats obtenus de l'étude sur l'imprégnation de sels minéraux dans le bois de Hêtre. Une conclusion terminera cette étude

en incluant la mise en perspective de l'ensemble des données obtenues dans le cadre de ce travail avec les données de la littérature.

Chapitre 1 : Etat de l'art

#### 1.1 L'Ecosystème mangrove

#### **<u>1.1.1 Définition et caractéristiques</u>**

Au sens large du mot, la mangrove est définie comme étant l'ensemble des formations végétales, arborescentes ou buissonnantes qui colonisent les atterrissements intertidaux marins ou fluviaux des côtes tropicales (Marius, 1985). Selon Macnae (1968), au sens plus restrictif, le terme mangrove renvoie exclusivement à la formation à palétuviers. Les palétuviers qui composent la mangrove se développent sous des climats tropicaux et subtropicaux à des latitudes allant de 30° nord à 30° sud. Les conditions de température moyenne favorables au développement des mangroves se situent entre 20 et 22°C par an. Les différentes familles de forêts de mangrove sont : Avicenniacées, Rhizophoracées, Sonneratiacées, Combretacées, Méliacées, Myrsinacées (Ladybio, 2003).

#### 1.1.2 Facteurs impactant la dynamique des peuplements

Plusieurs facteurs sont responsables de la distribution des mangroves, il s'agit notamment des facteurs climatiques (températures, pluviométrie, etc.), topographiques (géomorphologie côtière) et biologiques (physiologie des espèces, dispersion des plantules). L'embouchure de grands fleuves tropicaux constitue un terrain de prédilection pour de vastes forêts de mangrove (Isme, 1995). Ainsi, les deltas, les estuaires et les lagunes sont les milieux favorables à l'installation de la mangrove. C'est dans la région tropicale où les eaux sont dessalées pendant une partie de l'année que l'on trouve les plus palétuviers atteignant les plus grandes hauteurs (jusqu'à 70 m de hauteur). La diversité des espèces de mangrove se réduit à mesure que l'on s'éloigne de l'équateur (Ngom Sow, 2005). Face à ces milieux contraignants où se développent les mangroves, selon Ondo Assoumou (2011), certaines conditions doivent être réunies pour permettre le développement des mangroves. Il s'agit des conditions d'ordre hydrique, édaphique, climatique et géomorphologique :

- Conditions hydriques : eau salée avec un taux de salinité compris entre 20 et 45‰
- Conditions climatiques : température est supérieure à 15°C
- Conditions édaphiques : sol boueux et vaseux constitué de limons et d'argiles. Le sol des mangroves contient également du sable, mais sa quantité doit être inférieure à celle de l'argile.
- Conditions géomorphologiques : pente douce, inférieure à 3%.

#### 1.1.3 Importance et utilisation des palétuviers

Les bois de la mangrove ont une importance socio-économique grâce à leurs propriétés physiques. Il s'agit notamment des genres Rhizophora et Avicennia qui ont des densités pouvant aller jusqu'à 1, 2 et 0,8 respectivement (FAO, 1994 ; Santini et al. 2012). Ces bois sont utilisés pour la construction, pour la production du bois d'œuvre, la production du charbon de bois, du bois de chauffage pour cuire les aliments (Rollet, 1975 ; Blasco et al., 1997 ; EL Hadji Balla et al. 2010). Le bois et l'écorce *d'Avicennia germinans* sont également utilisés en médecine traditionnelle, car ils contiennent de nombreux extractibles dont certains à activité anti tumorale comme le 3-chlorodéoxylapachol (Jones et al., 2005) et anti microbienne (Valentin et Bhimba et al., 2010)

#### 1.2 Distribution géographique

#### 1.2.1. Distribution mondiale

Les mangroves se développent dans les régions tropicales ou subtropicales, elles sont en grande partie restreintes entre les latitudes 30° nord et 30° sud. Il y a environ 20 familles de palétuviers comprenant 27 genres et plus de 70 espèces (Alongi, 2008). Les plus diversifiés à l'échelle mondiale sont les familles des Rhizophoraceae et des Avicenniaceae. Les mangroves sont principalement trouvées en Asie du Sud -Est, au Brésil, en Australie et en Afrique de l'Ouest (figure 1).



Figure 1 : Répartition Mondiale des Mangroves (Giri et al., 2011)

Environ les trois quarts de la longueur du littoral d'Afrique tropicale sont bordés de mangroves. Les mangroves sont présentes au Nigéria, au Sénégal, en Guinée, au Cameroun, au Gabon, Guinée Bissau et Sierra Leone. Cependant, c'est en Afrique de l'Ouest qu'on

rencontre les mangroves les mieux développées. Le Nigéria par exemple, possède plus de 35%, soit 9730 Km<sup>2</sup> de la superficie totale des mangroves d'Afrique occidentale grâce au delta Niger (Ngom Sow, 2005).

En 2020 lors de la dernière évaluation de la FAO (FAO, 2020), le Gabon comptait 145 620 Ha (145,62 Km<sup>2</sup>) de mangroves pour une longueur de côtes d'environ 950 km. Mais la répartition des mangroves du Gabon est inégale (figure 2). Les mangroves sont plus développées au nord et au centre du Gabon avec des superficies de 844,6 km<sup>2</sup> et 597,04 km<sup>2</sup>, respectivement. Ceci grâce à la largeur de différentes embouchures et aussi aux apports continentaux (écoulements fluviaux et fluviatiles) et à la pénétration marine. Ces chiffres sont à mettre en perspective avec ceux de l'étude de (Ondo Assoumou, 2011) (figure 2). En effet, les mangroves ont reculé de 6,5 % entre 2011 et 2020 au Gabon (FAO, 2020).



Figure 2 : Distribution de la mangrove au Gabon

#### 1.3 Les palétuviers

### **1.3.1 Caractéristiques forestières**

La répartition des palétuviers de la mangrove notamment les genres Rhizophora et Avicennia sont fonction de la salinité. Certains palétuviers se développent au front de mer pendant que

d'autres ont des croissances optimales à l'intérieur des terres. Une forêt de palétuvier en bonne santé peut compter jusqu'à 1000 arbres / Ha (Fromard and Michaud, 2018).

### 1.3.1.1 Répartition spatiale

La répartition spatiale des palétuviers est représentée sur la figure 2. Le genre Rhizophora a une croissance optimale dans les eaux de salinité voisine ou inférieure à l'eau de mer. Ainsi, le genre Rhizophora se développe généralement au front de mer (ou près de la mer) du fait de sa faible teneur en salinité.



Figure 3 : Répartition spatiale des essences de la mangrove.

Cette faible salinité est due aux brassages des eaux en front de mer rendant ainsi la salinité homogènes (Andriamalala,2007). Cependant le genre Avicennia se rencontre le plus à l'intérieur des terres où il y a des eaux saumâtres de salinité élevée à cause du couvert moins fréquent par la marée entraînant une évaporation plus intense. Avicennia est capable d'extraire dans les feuilles l'excès de sel et les métaux (Mac Farlane et Buchette, 1999).

## 1.3.1.2 Densité de peuplement au Gabon

Dans la partie septentrionale de la côte gabonaise notamment dans la Baie de la Mondah et de l'Estuaire du Komo , cinq espèces de la mangrove ont été répertoriées et quantifiées sur l'ensemble des 12 sites, pour une superficie de 52517 m<sup>2</sup> soit 5,2517 hectares (figure 4).



Figure 4 Sites de d'études localisés dans la Baie de Mondah et de l'Estuaire du Komo dans le cadre du projet MDMLERD

Il s'agit notamment des espèces *Rhizophora racemosa* et *Rhizophora harisonii* (appartenant à la famille des Rhizophoraceae), *Avicennia germinans* (appartenant à la famille des Avicenniaceae), *Laguncularia racemosa* et *Conocarpus erectus* (appartenant à la famille des Combretaceae) (Tableau 1).

# Tableau 1 : Répartition des différentes espèces de palétuviers dans la mangrove des estuairesdu Komo et de la Mondah (Libreville et ses environs) d'après (Okanga-Guay et al., 2019)

Principales espèces	Effectifs	Densité (ha)
Avicennia germinans	182	87733,17
Rhizophora harrisonii	1030	577658,89
Rhizophora racemosa	912	480068,06
Laguncularia racemosa	106	15772,257
Total	2230	1161232,38

Il ressort de ce tableau, que les espèces *Rhizophora harrisonii* (1030 individus), *Rhizophora racemosa* (912 individus) sont les plus importantes. Elles sont suivies des espèces Avicennia germinans (182 individus) et *Laguncularia racemosa* (106 individus). Les espèces *Avicennia germinans* et *Laguncularia racemosa* sont donc minoritaires, et restent difficilement identifiables à l'échelle provinciale (Okanga-Guay et al., 2019).

En faisant un inventaire de l'état de santé des mangroves sur l'ensemble des douze sites étudiés, basés sur deux approches notamment celle de Kauffman et Donato (2012), et celle d'Ondo Assoumou (2018). Ces deux approches se basent sur les observations physionomiques des individus entre autres la présence et/ ou absence des feuilles et branches, la nature de la cime cassée ou non, la présence d'individus vivants, morts sur pied ou couchés. A l'issue de cet inventaire, il a été conclu que les mangroves de Libreville et ses environs sont dominées par les arbres encore en bonne santé (figure 5)



Figure 5 : Nombre d'individus en bonne santé et dégradés par site des mangroves de Libreville et de ses environs (Okanga-Guay et al., 2019).

Dans cette étude nous allons cependant nous contenter des données des espèces de *Rhizophora racemosa* et *Avicennia germinans*. *Rhizophora racemosa* et *Avicennia germinans* totalisent 912 et 182 individus respectivement. Comme mentionné précédemment, c'est le genre Rhizophora qui domine la mangrove frontale dans les estuaires, delta et le long des rivières(Okanga-Guay et al., 2019).

#### 1.3.1.3 Taux de régénération et résilience

Lorsque les palétuviers sont en bonnes santé, leur taux de régénération est très élevé (1000 propagules /an). Cela permet une régénération des peuplements en 10 à 30 ans (Fromard and Michaud, 2018)

#### 1.3.2 Adaptation morphologique et physiologique du genre Rhizophora

Le genre Rhizophora contient plus d'espèces de mangrove que tout autre. Leur système de racines enchevêtrées (figure 6) est typiquement associé à la mangrove. Dans les zones équatoriales de la Nouvelle-Guinée, les arbres peuvent atteindre une hauteur de 40 m. Plus généralement, ils sont beaucoup plus courts, et dans certains cas, les arbres de plus de 50 ans peuvent ne pas dépasser un mètre de hauteur.

Il existe 6 espèces de Rhizophora reconnues et 4 hybrides. Des ressources transcriptomiques ou génomiques sont disponibles pour *R. mangle*, *R. apiculata*, *R. mucronata* et *R. stylosa* (240 EST).



Figure 6 : Racines échasses possédant les lenticelles (A) et racines échasses produites par le tronc et les racines chez Rhizophora (B) (clichés Ondo Assoumou E, 2011)

Les racines échasses produites par le tronc et les racines chez le genre Rhizophora se développent à l'air libre avant de pénétrer dans le sol. Elles assurent à l'arbre une meilleure stabilité au sol et l'oxygénation de la plante. Ces racines sont couvertes de lenticelles qui font office d'organes de respiration. Ces cellules connectées à des tissus spongieux dans la racine aspirent l'air de manière passive lors de chaque marée basse (Tomlinson, 2016). Pendant la phase de submersion, l'oxygène présent dans ces tissus est utilisé par la plante. Rhizophora filtre réellement l'eau de mer. Ses racines excluent les sels contenus dans l'eau de mer et ne laissent passer que l'eau douce.

### 1.3.3 Adaptation morphologique et physiologique du genre Avicennia

Le genre Avicennia a un système racinaire qui se développe de façon radiale sous la surface du sédiment associé à des racines plus fines se développant verticalement (figure 7). Les pneumatophores qu'ils possèdent à la surface sont des ramifications de l'appareil racinaire radiale qui se développent à l'air libre. Ces pneumatophores sont totalement spongieux et pourvus de lenticelles par lesquels ont lieu les échanges gazeux (De Granville,1974 ;Hovendon et Allaway,1974).



# Figure 7 : Genre Avicennia sur pied en présence des pneumatophores ; vue schématique du système racinaire d'Avicennia (Marchand,2003).

Le genre *Avicennia* transloque le sel jusqu'à ses feuilles pourvues de glandes à sel où ce dernier sera finalement excrété. Le sel contenu dans l'eau de mer est dilué dans la sève brute lors de son transport vers les feuilles.

#### 1.4. Le bois

#### 1.4.1 Formation et anatomie du bois des feuillus

Le bois est un matériau composite d'origine végétale, produit par les arbres vivants. La formation du bois dans les arbres se traduit par un processus de croissance des arbres qui a pour conséquence l'augmentation du diamètre du tronc, des branches et des racines (croissance secondaire), mais aussi leur allongement (croissance primaire). Cette croissance macroscopique est liée au méristème apical et au cambium vasculaire. C'est le méristème apical qui est responsable de la croissance totale de la plante durant la première année de croissance. Puis le cambium vasculaire se forme, et produit les différentes cellules du xylème sous forme de cernes annuels vers l'intérieur et les cellules du phloème vers l'extérieur (figure 8) (Stevanovic et Perin, 2009). Chaque cerne correspond à une année de croissance de l'arbre qui commence au printemps où elle est rapide et s'interrompt à la fin de l'été pour les régions tempérées. Ce discernement est moins évident pour les arbres poussant dans les zones tropicales. Au fur et à mesure du développement de l'arbre il peut y avoir formation de barrières anatomiques et dépôts dans les parois de composés issus du métabolisme secondaire des cellules du parenchyme. Il y a alors différenciation d'un duramen encore appelé bois de cœur qui se distingue de l'aubier car toutes les cellules qui le composent sont mortes et qu'il contient une quantité importante d'extractibles. Ces molécules confèrent une couleur, une odeur mais aussi une durabilité naturelle au bois faces aux organismes saproxylophages.



### Figure 8 : Position du cambium et formation du bois des feuillus

La structure anatomique ou plan ligneux des feuillus est plus évoluée que celle des résineux. Ce plan ligneux possède plusieurs types de cellules parmi lesquels les vaisseaux qui jouent le rôle de conduction de la sève brute, les fibres pour soutien mécanique et les cellules de parenchyme qui contiennent les substances de réserve (figure 9).



a: fibres b: vaisseaux c: rayons d: ponctuations

Figure 9 : Organisation cellulaire du bois des feuillus

Les cellules de bois ont une particularité d'avoir une paroi épaisse et imprégnée de lignine. La plupart des cellules de bois sont des cellules mortes dès leur différenciation, c'est-à-dire des cellules dont le protoplasme (noyau et cytoplasme) a disparu et dont il ne reste plus que la paroi.

Les feuillus sont des arbres évolutivement plus avancés que les résineux. Leur structure est plus complexe et elle comporte plusieurs types de cellules : les cellules spécialisées dans la conduction de la sève et les fibres pour soutien mécanique. Les cellules de parenchyme contiennent les substances de réserve (Parham et Gray, 1984). Les cellules de bois ont la particularité d'avoir une paroi épaisse et imprégnée de lignine. Dès leur différenciation, la plupart des cellules de bois sont des cellules mortes, c'est-à-dire des cellules dont le protoplasme (noyau et cytoplasme) a disparu et dont il ne reste plus que la paroi. La paroi est constituée de trois couches : la lamelle moyenne, la paroi primaire et la paroi secondaire. La lamelle moyenne colle les cellules entre elles, et son principal composant est la lignine qui joue le rôle de ciment intercellulaire. La paroi primaire est celle avec laquelle la cellule naît, les microfibrilles de la cellulose sont enchevêtrées et presque horizontales. La paroi secondaire est constituée de trois couches : S1, S2 et S3 (figure 10). La couche S2 est la plus épaisse, les fibrilles de celluloses sont presque verticales et toutes parallèles. Les propriétés physiques et mécaniques du bois sont influencées par la couche S2 qui est la plus épaisse (Trouy, 2015)



Figure 10 : Vue perspective d'une paroi ligneuse, d'après Rolland (1980)

#### 1.4.2 Composition chimique du bois

La composition chimique du bois est complexe et varie selon l'essence de l'arbre. Les trois principaux polymères constitutifs du bois sont : la cellulose, les hémicelluloses et la lignine qui représentent plus de 90% de la masse sèche du bois (Pu et al.,2011). Ces polymères fortement entremêlés, sont liés chimiquement par des interactions non covalentes ainsi que par des liaisons covalentes entre polymères. Il existe également un autre polymère complexe, la pectine qui est de nature saccharidique représentant 5% de la paroi cellulaire localisé principalement dans la lamelle moyenne (Kubicek, 2012). Des extractibles et les substances minérales sont des composés de faible poids moléculaire généralement spécifiques des différentes des essences de bois présent en plus ou moins en grande quantité ayant un rôle de protection du bois et de l'arbre.

#### 1.4.2.1 La cellulose

La cellulose est le polysaccharide du bois le plus abondant dans les parois cellulaires. C'est un polymère du bois qui a pour unité de base le celliobose qui est constitué de deux molécules de ß-D glucose (conformation pyranose) liées entre elles par une liaison osidique ß 1-4 entre

les carbones C1 et C4 (Hallac et Ragauskas, 2011) figure 11. Les chaines de celluloses s'organisent en microfibrilles par des zones dites cristallines et des zones dites amorphes, ceci grâce à des liaisons hydrogènes figure 12 (Festucci –Buselli et al., 2017)



Figure 11 : Structure chimique de la cellulose. Monomères de glucose reliés par des liaisons ß-(1,4) formant un polymère linéaire de cellulose. Ceux-ci sont reliés entre eux par des liaisons hydrogènes formant ainsi la structure fibreuse de la cellulose.

Trait continu=liaison hydrogène intra-chaines. Trait pointillé=liaison hydrogène inter-chaines. (Festucci-Buselli et al., 2007)





#### 1.4.2.2 Les hémicelluloses

Les hémicelluloses sont définies comme des polyosides de nature variable présents dans les parois cellulaires du bois. Les hémicelluloses des feuillus sont différentes de celles des
résineux (Jeffries, 1994). Chez les feuillus, les hémicelluloses sont plus constituées de xylanes alors que les mannanes sont plus présents chez les résineux (figure 13) (Pandey, 1999). Les hémicelluloses interagissent avec différents composés de la paroi, notamment avec la cellulose via les liaisons hydrogènes et des liaisons covalentes avec la lignine par exemple, leur conférant ainsi une intégrité au niveau de la paroi où elles jouent un rôle d'agent de comptabilisation entre la lignine et la cellulose.



Figure 13 : Structure chimique de deux types d'hémicelluloses les plus abondantes.

(i) Type xylan plus présent chez les feuillus et (ii) Type mannane plus présent chez les résineux

#### 1.4.2.3 La lignine

Lignine est le troisième polymère principal du bois. C'est un polymère polyhénolique synthétisé à partir de trois précurseurs notamment l'alcool –p-coumarylique (unité H), l'alcool coniférylique (unité G) et l'alcool sinapylique (unité S) figure 14(Vanhome et al., 2010). La variation de la composition des différentes unités dépend des essences. Les feuillus sont constitués d'un mélange d'unités S et G, alors que les résineux sont principalement composés d'unités G et une faible proportion d'unités H (Wong, 2009). Les lignines sont des constituants caractéristiques des plantes vasculaires. Elles sont des polymères très résistants, insérés dans les parois cellulaires, qui assurent l'imperméabilité des vaisseaux conducteurs de la sève grâce à leur nature hydrophobe. La lignine contribue également à la rigidité des parois cellulaires et assure ainsi le port dressé des plantes



Figure 14 : Alcools précurseurs de la lignine

#### 1.4.2.4 Extractibles

En dehors des polymères du bois, la cellulose, les hémicelluloses et la lignine. Le bois est également constitué des composés de faible masse moléculaires appelés extractibles. Les extractibles sont des molécules que l'on trouve dans les structures poreuses du bois et que l'on peut extraire grâce à des solvants. En dépit de leur faible teneur allant de 2% à 10% de la masse du bois en fonction des essences, ces extractibles exercent des fonctions importantes. Ils confèrent au bois des caractères distinctifs à savoir leurs odeurs, couleurs, propriétés acoustiques et mécaniques. Les extractibles peuvent être divisés en plusieurs familles (figure 15) : les terpènes constituants majeurs de la résine des conifères (Gershezon and Dudareva, 2007), les cires, les glucides, les composés phénoliques tels que les lignanes, les stilbènes, les flavonoides ou encore les tanins (Pereira et al., 2009).



Figure 15 : Différentes familles d'extractibles présents dans le bois montrant la distinction entre deux familles condensé et hydrolysable. (a) : exemples de terpènes. Note : l'isoprène est le précurseur de cette famille de molécules (b) et (c) : exemples de composés phénoliques. (d) les quatre familles de tanins avec 1. Penta-O-galloyl-D-glucose, famille des galotanins ;3. Acutisime, famille des tanins complexes et 4. Procyanidol B-3, famille des tanins condensés.

#### 1.5. La dégradation du bois par des champignons

Les bactéries et les champignons sont des microorganismes saprophytes capables de se nourrir de la matière organique morte des polymères du bois (cellulose, hémicellulose et lignine) en mobilisant le carbone et l'azote. Dans les forêts, ces champignons saprophytes sont les principaux agents de la décomposition du bois dans les forêts jouant un rôle central dans le cycle des nutriments et la dynamique du carbone (Rajala et al., 2012).

Les champignons qui décomposent le bois assurent leur nutrition grâce à la digestion enzymatique des constituants du bois (Rabinovich et al., 2002 ; Sanchez, 2009), et leur action aboutit à une altération des propriétés mécaniques et esthétiques du bois, la phase ultime de destruction étant la « pourriture » du matériau. Le mycélium de ces champignons se développe à l'intérieur du lumen des fibres ou vaisseaux et s'étend sur tout sur le plan ligneux.

Il y a plusieurs groupes écologiques de champignons se développant sur ou dans le bois, chacun de ces champignons ont des propriétés qui attaquent spécifiquement le bois observable à l'échelle macroscopique résultant de leur différente activités enzymatiques : les champignons de pourriture molle, les champignons de pourriture brune et les champignons de pourriture blanche (Schwarze, 2007).

## 1.5.1. Pourriture molle

Localisés plus dans les environnements humides (milieux aquatiques) que dans le milieu naturel, les champignons de pourritures molle appartiennent à la famille des Ascomycètes et des Deutéromycètes. Ils sont capables de dégrader la cellulose et les hémicelluloses mais partiellement la lignine. Le bois présente un aspect gris-noirâtre lorsqu'il est dégradé par ce type de pourriture. Il existe actuellement deux types de pourritures molles qui se distinguent 1) le type 1 qui induit des cavités longitudinales formées à l'intérieur de la paroi secondaire 2) le type 2 cependant qui entraîne une érosion entière dans la paroi secondaire (figure 16). Mais dans tous les cas, la lamelle moyenne n'est pas dégradée, mais peut-être altérée à un stade de décomposition avancée (Blanchette, 2000).



Figure 16 : Bois attaqué par la pourriture molle montrant un stade de décomposition à différentes échelles. (a) caractéristique macroscopique du bois attaqué. (b) Bois attaqué à l'échelle microscopique et présentant des caractéristiques de type 1 : apparition des cavités au sein de la paroi secondaire. (c) Bois attaqué à l'échelle microscopique et présentant des caractéristiques de type 2 : érosion complète de la paroi secondaire laissant intacte la lamelle moyenne (Blanchette, 2000)

## 1.5.2 Les argents de pourriture brune

Les agents de pourriture brune encore appelés pourriture cubique du fait de l'aspect du bois attaqué (figure 17), sont majoritairement des Basidiomycètes et quelques Ascomycètes. Ces champignons dégradent la cellulose et les hémicelluloses, et ne peuvent cependant dégrader complètement la lignine. D'un point de vue écologique, ils attaquent plus les résineux que les feuillus dans les forêts, et sont fortement impliqués dans la dégradation du matériau bois (Swcharze et al., 2000 ; Eriksson et al., 1990). Le bois attaqué par ces champignons présente une modification de ses propriétés mécaniques montrant ainsi un aspect friable, brun foncé avec des fractures en quadrillage (Mathieu, 2011).



Figure 17 : Attaque du bois par la pourriture brune à différentes échelles. (a) Morceau de bois attaqué par une pourriture brune présentant des fractures de type cubique. (b) Microscopie montrant les cellules dégradées ayant une paroi poreuse et fragile (Blanchette, 2000)

## 1.5.3 Les champignons de pourriture blanche

Ces champignons sont présents dans tous les principaux groupes de Basidiomycètes. Les agents de pourriture blanche sont les seuls microorganismes capables à dégrader la totalité des polymères du bois : la cellulose, les hémicelluloses et la lignine qui est le polymère le plus récalcitrant (Del Rio et al., 2002). Aucun autre microorganisme en culture pure ne possède cette capacité à minéraliser les tissus lignifiés (Hatakka,2001 ; Kirk et Cullen,1998). Le bois colonisé est fortement ramolli, de couleur blanchâtre et se décompose en fibrilles (figure 18).



*Figure 18* : Attaque du bois par la pourriture blanche à différentes. (a) Morceau de bois attaqué par la pourriture blanche présentant un aspect fibreux. (b) Microscope montrant la

## dégradation de tous les composants de la paroi cellulaire causant de larges vides au sein du bois attaqué (Blanchette,2000)

Dans la nature, on les trouve généralement sur les feuillus que sur les résineux. Cette préférence d'hôte est due à la présence de la lignine. En effet les feuillus présentent une forte teneur en unités Syringyl, qui sont facilement dégradées par rapport à la lignine des résineux qui présente une forte teneur en unités guaicyl plus résistantes à la dégradation (Hatakka,2004). La plupart des champignons de pourriture blanche colonisent la lumière de la cellule et causent une érosion de la paroi cellulaire. Les zones érodées fusionnent au fur et à mesure que progresse la décomposition causant la formation de larges cavités. Ce type de pourriture est appelée pourriture non sélective ou encore pourriture simultanée (Blanchette,1995). *Trametes versicolor, Fomes fomentarius* et *Phellinus robustus* sont des représentants typiques des organismes générant ce type d'attaque (Eriksson et al., 1990). La délignification commence à la surface de la lumière, progresse à travers la paroi pour atteindre la lamelle moyenne, qui peut être totalement dissoute, et conduit à la formation d'un anneau autour de la paroi majoritairement constituée de cellulose non dégradée (Goddell et al., 2008)

#### 1.6 Propriétés et spécificités anatomiques du bois des palétuviers

#### **1.6.1 Croissance et datation**

La salinité est un facteur clé du taux de croissance du bois de mangrove. En saison de pluies, *A. germinans* avait une croissance favorable en raison de la faible salinité de l'eau, avec une circonférence ayant un taux de croissance de 0,95 ± 0,08 cm/an. Cependant, en saison sèche sa circonférence avait un taux de croissance de 0,58 ± 0,058 cm/an (Nazim et al. 2013). Cette croissance est plus large en saison de pluies du fait de la faible salinité de l'eau. Aksornkoal (1975), indique que la meilleure croissance du bois d'*A. marina* est due à la faible salinité de l'eau. De plus, Clarke et Hannon (1975) ont suggéré que les faibles salinités peuvaient produire des taux de croissances des arbres de mangrove élevés.

Cependant, outre le facteur externe (la salinité), il y a également d'autres facteurs internes qui contribuent au taux de croissance du bois de palétuviers. C'est le cas par exemple du diamètre des arbres et leurs âges. Dans de nombreuses régions, une relation significative a été établie entre le diamètre des arbres et leurs âges. Cependant, pour les arbres de même taille, il n'y avait pas de relation entre l'âge et la taille des arbres. Les résultats ont révélé que pour ces arbres, l'âge variait considérablement (Nazim et al., 2013) (Tableau2). Tableau 2 : Moyenne ± SE du dhp, de l'âge et du taux de croissance des espèces de mangroves dominantes, Avicennia marina estimé par carottage d'après (Nazim et al., 2013)

Sites	Dbh range (cm)	Age range	Growth rate year/cm
Sands Pit	12.73-18.24	12-20	$1.157 \pm 0.05$
Port Qasim	10.70-30.89	11-32	$1.22\pm0.04$
Korangi Crossing	8.28-12.16	10-15	$1.40 \pm 0.16$
Kemari	18.15-32.80	18-23	$1.19\pm0.12$
Sonmiani	19.49-25.03	14-23	$1.15\pm0.17$
Ketti Bunder	7.64-19.84	12-17	$0.98 \pm 0.04$

Dans certains bois de palétuvier, il y a des formations de couches qui ne correspondent pas aux cernes annuels (figure 19). (Schmitz et al., 2007), ont montré le caractère non saisonnier de couches de croissance dans le bois d'*A. marina*, L'irrégularité de cernes annuels formé dans le bois d'*A. marina* (et donc de l'accroissement du diamètre du tronc) est due aux variations du contenu en eau de la plante. Il été montré récemment que les phénomènes d'osmorégulation sous-tendus par l'activité photosynthétique et qui permettent la tolérance à la forte salinité du milieu sont dépendant des sucres et donc du phloème alternat avec le xylème (Barraclough, 2020).



Figure 19 : Coupe transversale du bois d'Avicennia marina montrant la croissance irrégulière qu'on pourrait confondre avec des cernes annuels (Nazim et al., 2013) à gauche et collecté sur les sites d'étude à droite.

La figure 19 montre bien une croissance de couches qu'on pourrait assimiler à des cernes annuels d'accroissements dans les bois d'Avicennia, et cette croissance irrégulière des cernes est également présente sur les disques de tronc polis d'Avicennia collectés sur certains sites étudiés dans ce travail. Tout comme l'âge, le taux de croissance n'est pas prévisible à partir du diamètre. En général le taux de croissance était issu de divers facteurs parmi lesquels les facteurs climatiques, non climatiques, génétiques, compétition etc. (Nazim et al., 2013). Chez Rhizophora l'existence de cernes de croissance annuels a été démontrée (Verheyden, 2004; Verheyden et al., 2005). De plus l'anatomie de ces cernes rappelle celle des feuillus tempérés à zone initiale semi-poreuse (figure 20).



Figure 20 : Image macroscopique d'une section de bois poli de Rhizophora mucronata montrant une nette alternance de couches de croissance sombres et claires. (B) Disque en bois de R. mucronata agrandi révélant la densité changeante des vaisseaux. (C) Photographie microscopique montrant le changement progressif de la densité des vaisseaux et l'absence de limites distinctes pour les cercles de croissance. Barres d'échelle : A et B = 1 cm ; C = 500 mm ; les flèches indiquent la direction de la croissance (Verheyden, 2004). Le début de cerne est caractérisé par une forte densité de vaisseaux en début de cerne qui coïncide avec la saison des pluies et une densité vasculaire plus faible en fin de cerne en saison sèche (donc de stress hydrique). Ces cernes peuvent être utilisés pour dater un arbre si la croissance radiale n'excède pas 0,5 mm/an. Des Rhizophora ont été datés à plus de 100 ans par dendrochronologie.

## 1.6.2 Fonctionnement cambial et particularités anatomiques

Les particularités anatomiques des bois de palétuvier sont documentés dans la littérature (Vidyasagaran et al., 2014). Le fonctionnement du cambium a une particularité chez certains genres de la mangrove, c'est le cas du genre *Avicennia*. Le bois d'*Avicennia* a une croissance atypique qui affiche un cambium successif, c'est-à-dire des bandes consécutives de xylème et de phloème reliées par une bande de tissu parenchyme (figure 21) (Schmitz et al., 2007)



Figure 21 : Disque de tronc asymétrique d'un arbre d'Avicennia marina montrant le motif de bandes de xylèmes plus foncées et de bandes de phloème de couleur plus claire formées par des cambias successifs,barre d'échelle=1cm. (b) Coupe transversale du bois d'Avicennia marina montrant les couches de croissance et leurs tissus constitutifs.Microscope optique barre d'échelle=1mm.P : bande de phloème ;PA :parenchymes ;Ps : brin de phloème ;r :rayon minimum ;R :rayon maximum ;Sc :scléréides ;X :bandes de xylème (d'après Schmitz et al.,2006).

Ce fonctionnement cambial atypique est fortement influencé par la salinité (Robert et al., 2009) et par les alternance de pluviométrie entre la saison sèche et la saison des pluies (Robert et al., 2014). En effet, cette croissance en « patch » de cambium successif apporterait à l'arbre la plasticité nécessaire pour faire face aux variations nombreuses et rapide de la salinité et du potentiel hydrique du milieu (Schmitz et al., 2007).

#### 1.6.3 Composition chimique du bois

Comme pour les essences tropicales se développant en milieu terrestre, les bois de palétuvier sont riches en cellulose, hémicellulose et en lignine. Les proportions varient également en fonction des espèces et les sites de prélèvement. Les échantillons de bois prélevés sur les différents sites présentaient une grande variation de la teneur en cellulose (20, 5 à 62, 5%) et en lignine (11, 1 à 46,9 4%) (Ray et al., 2012). La variation de la teneur en lignine des bois de palétuviers semble être plus élevée que celle des bois tropicaux (19, 1 à 30,7%) (Nuopponen et al., 2006). Une seconde étude portant sur six espèces des bois de palétuvier a montré que la teneur en lignine de Klason dans les bois de ces espèces de mangrove variait de 17 à 28% (Mun et al., 2011). Cette variabilité peut s'expliquer en fonction de la densité de chaque essence. La densité du bois est liée à la composition chimique, les mangroves avec les bois à densité plus élevée, séquestrent le carbone a un taux également élevé. Ainsi pour le même genre Avicennia par exemple, Avicennia alba qui avait une densité de 700 Kg/m<sup>3</sup> avait un taux de cellulose de 48, 25% contre Avicennia marina qui avait une densité de 602 kg/m<sup>3</sup> pour un taux de cellulose de 29,39%. De plus, le pourcentage de lignine soluble dans l'acide était de 25% pour Avicennia alba contre 1,18% pour Avicennia marina (Ray et al., 2012). Le xylose est le sucre constitutif des xylanes le plus abondant chez les feuillus. Le rhamnose, arabinose et galactose sont considérés comme étant des sucres mineurs. Or dans cette étude menée sur six essences, il y avait une abondance du taux du xylose (18%) et du rhamnose (17%) pour B. gymnorhize et Avicennia alda respectivement (Mun et al., 2011). Les palétuviers renferment des extractibles à fort potentiel d'activité antioxydante. Cette dernière peut être attribuée au haut niveau des composés phénoliques présent dans les palétuviers. Par exemple, les extraits de palétuviers peuvent empêcher l'activité in vitro des virus pathogènes humains et animaux tels que HIV, le virus de l'hépatite B..., ce sont les extraits issus des Rhizophoraceae qui sont les plus effectives contre tous ces virus (Kathiresan et al. 2013). Le bois et l'écorce d'Avicennia germinans contiennent de nombreux extractibles dont certains à activité anti tumorale

43

comme le 3-chlorodéoxylapachol (Jones et al., 2005) et anti microbienne (Valentin Bhimba et al., 2010).

#### 1.6.4 Dégradation du bois des palétuviers par les champignons et les térébrants marins

Les palétuviers se développent dans un environnement particulièrement riche en matière organique. Les racines des palétuviers abritent de nombreuses espèces de champignons endophytes (Ananda and Sridhar, 2002) et dépendent pour leur nutrition des bactéries qui peuplent les sédiments (Reef et al., 2010). Cependant, le bois de palétuvier est également minéralisé par des champignons marins. Ces champignons qui se limitent principalement aux couches externes du bois immergés dans l'eau, ont peu d'impact sur du bois. Ce sont les Tarets qui sont les principaux décomposeurs du bois des palétuviers (Kohlmeyer et al., 1995). Cependant les champignons facilitent le pré-conditionnement de la surface du bois tout comme les bactéries, afin de permettre aux larves de teredinidés de se déposer et de pénétrer dans le bois.

Des études ont été réalisées sur le terrain, les piquets des racines et des troncs de palétuvier ont été plantés dans des milieux riche en éléments nutritif et pauvre en éléments nutritif, puis exposés aux champignons. Les résultats ont montré que les piquets de *Rhizophora mangle* étaient plus colonisés et plus dégradés par les champignons, contrairement aux piquets d' *Avicennia germinans* où il y avait l'absence de certains champignons malgré la taille faible des échantillons (Kohlmeyer et al., 1995). De plus, l'amplitude de ces attaques est corrélée au niveau de nutriments présents dans les sédiments. Si les sédiments sont riches, la dégradation par les térébrants marins sera d'autant plus facilitée par la microfaune fongique et bactérienne.

Une autre étude a été menée sur les poteaux de *Rhizophora apiculata* et *Xylocarpus granatum* placés dans la mangrove pendant des mois. Les résultats ont montré que la résistance des racines de *Rhizophora apiculata* contre la pourriture était plus importante que celle des poteaux de *Xylocarpus granatum*. Les racines de *Rhizophora apiculata* contiennent des cellules à tanins, et de plus elles ont une épaisseur importante limitant ainsi l'accès aux champignons de se développer sur son substrat (Tomlinson,1986 ; Hyde, 1991). Le bois de la mangrove est riche en composés phénoliques. C'est le cas par exemple de *O. octanda* qui est

44

riche en composés phénoliques par rapport à d'autres bois de palétuviers, ce qui rend son bois plus durable même en milieu marin (Tolangara et al., 2015).

Cependant le genre *Rhizophora* semble être plus résistant que le genre *Avicennia* lorsque les arbres sont sur pied. Getter et al. (1985) en menant une étude au laboratoire sur l'effet des huiles dispersées sur les semis de mangrove, ont montré que les semis du palétuvier rouge (*Rhizophora mangle* L.) étaient plus résistants que ceux du palétuvier noir (*Avicennia germinans* L.). Cela peut s'expliquer par le fait que les palétuviers rouges peuvent empêcher les sels et certains polluants de pénétrer dans les racines alors que les palétuviers noirs ne sont capables que de le faire partiellement. En effet, les palétuviers noirs osmorégulent les sels contenus dans l'eau en faisant passer les substances par les racines et les vaisseaux, puis en les extrayant grâce à des glandes spécialisées à la surface des feuilles.

#### 1.6.5 Propriétés physiques et mécaniques

De façon générale, la densité du bois dépend des caractéristiques anatomiques du bois notamment les vaisseaux et les fibres (Pratt et al. 2007 ; Martinez Cabrera et al. 2009), plus précisément de la proportion des fibres et l'épaisseur de leur paroi, mais également la densité de vaisseaux et la surface de leur lumen (Hacke et al. 2001 ; Preston et al. 2006).

Chez les palétuviers de la mangrove, la densité du bois varie en fonction des espèces, du diamètre des arbres et la salinité. La densité augmente avec un dbh (diamètre à hauteur de poitrine) de toutes les espèces, et les densités les plus élevées sont enregistrées dans les plus grandes classes de diamètre. Toutefois, il a été constaté que chez *Rhizophora mangle*, la densité du bois augmentait de la base au milieu de l'arbre et diminuait du milieu de l'arbre au sommet. Chez *Avicennia germinans*, entre les arbres prélevés sur des zones à faible salinité et ceux collectés sur des sites à salinité élevée, présentaient des différences très significatives en termes de densité du bois. Comme dit précédemment, la densité du bois est liée à l'épaisseur des parois des fibres et à la diminution du diamètre du lumen des vaisseaux, qui tous deux dépendent de la teneur en salinité. Les densités de bois étaient plus élevées pour des arbres collectés dans la zone saline la plus élevée. Ainsi, Yanez – Espinoza et al. (2019) ont montré que pour les bois d'*Avicennia germinans* collectés sur les sites ayant des salinités différentes, 30,09‰ et 12, 57 ‰, avaient des épaisseurs de parois des fibres qui avoisinaient 4,8 µm (avec un diamètre du lumen des vaisseaux de 5,5 µm) respectivement. Ce qui suggère que, la densité du bois des palétuviers

varie non seulement en fonction des facteurs internes liés à l'arbre, mais aussi en fonction des conditions environnementales entre autres la salinité. Par exemple la densité du bois de *Rhizophora racemosa* du Nigéria est de 0, 9 g/cm<sup>-3</sup>, plus élevée que Rhizophora mangle des forêts du Brésil (0, 78 g/ cm<sup>-3</sup>) (Virgulino-Junior et al., 2020 ; Adedeji et al. 2013).

La densité du bois est une propriété physique pouvant être un bon indicateur de la résistance mécanique. Elle est une propriété physique importante pour définir les propriétés mécaniques du bois et la résistance de leur performance (Curran et al. 2008 ; Niklas et Spatz, 2010).

Les mangroves font face à certaines contraintes du milieu, parmi lesquelles de forts courants de marée et des vagues ainsi qu'à des vitesses du vent qui peuvent endommager la structure des arbres. De ce fait, la survie et l'établissement des mangroves ces différents milieux dépendent en partie de leur densité du bois et de leur résistance mécanique (Van Gelder et al. 2006 ; Curran et al. 2008). Ces propriétés physiques et mécaniques dépendent en grande partie des conditions de salinité qui sont un paramètre important pour la croissance des palétuviers. De fortes salinités entraînent une augmentation de la tension sur la colonne d'eau, imposant ainsi des contraintes mécaniques sur les vaisseaux du xylème (Hacke et al. 2001 ; Jacobsen et al. 2005). En effet, une salinité de sol élevée entraîne un faible potentiel hydrique dans les vaisseaux du bois. Le stress osmotique suite à une salinité élevée du sol entraîne un faible potentiel hydrique dans la sève des vaisseaux du bois des palétuviers (Scholander, 1968). Pour une bonne survie des arbres de la mangrove dans ce milieu contraignant voire leurs croissances, un compromis a été établi entre la résistance mécanique et l'approvisionnement en eau entre les espèces, qui sont tous deux liés (Gonzalez, 2012). Le transport de l'eau par des vaisseaux du xylème ont un impact sur la densité du bois (Pratt et al.2007). La densité du bois d'Avicennia marina dépend de la surface de la lumière du vaisseau du xylème, de l'épaisseur de la paroi de la fibre, de la teneur en phloème (Gonzalez, 2012). Les arbres d'Avicennia germinans se développant dans la zone intertidale basse ont montré une résistance mécanique plus élevée, contrairement aux arbres qui se développaient dans la zone intertidale haute. Cela peut être due à une réduction des angles de microfibrilles dans la zone intertidale basse (figure 22) (Dejardin et al.2010).

46



Figure 22 : A) Modules d'élasticité du bois d'A. germinans collecté sur des zones intertidales de marée basse et de marée haute. B) Densité du bois d'A. germinans prelevé sur des zones intertidales de marée basse et de marée haute <n=31-41, p< 0,05) (d'après Nadia Silvana, 2012)

L'évolution de salinité dépend de la matière en suspension qui est étroitement liée au niveau de la mer. En effet, lorsque la marée du matin est plus faible (3,10 m) que celle du soir (3, 30 m), les valeurs de salinité sont de 33 g/l et 11 g/l, respectivement (Lointier, 1990).

#### 1.7. Menaces et facteurs impactant le développement des palétuviers

### 1.7.1 La salinité

Les plantes de la mangrove tolèrent de taux de sels élevés, on dit que ces plantes sont halophytes ou halo-résistantes. Par exemple, les Rhizophoraceae ont une croissance optimale dans les eaux de salinité voisine ou inférieure à l'eau de mer. Ils possèdent un système racinaire leur permettant d'exclure jusqu'à 90% du sel lors de l'absorption de l'eau. Ces espèces ont un développement favorable dans les zones où les salinités sont rendues homogènes par le brassage des eaux en front de mer (Andriamalala,2007). Quant aux Avicenniaceae, pour faire face à une salinité élevée, l'exclusion de sel se fait principalement par excrétion grâce à des glandes situées dans leurs feuilles. Ce système peut également éliminer les métaux en excès (Mac Farlane et Burchett, 1999). Ainsi, le genre *Avicennia* est mieux adapté aux fortes salinités dans les eaux douces dues à l'évaporation plus intense à cause du couvert moins fréquent par la marée. Cependant cette élévation de la salinité se fait au détriment de la croissance du bois d'Avicennia.

## 1.7.2 Les activités humaines

## **Facteurs globaux**

Le changement climatique global est un facteur très impactant sur le développement des palétuviers (Lovelock et al., 2016). La figure 23 montre les conséquences du réchauffement climatique sur les mangroves.



Figure 23 : La répartition mondiale des mangroves (en vert) se superpose à : un changement prévu de la moyenne température (GIEC 2007, scénario A1FI) ; b les changements prévus des précipitations annuelles (GIEC 2007, scénario A1FI) ; et c régions où la distribution des mangroves est sensible aux changements d'aridité (rouge) ou de basses températures (bleu). (Lovelock et al., 2016)

La baisse de la pluviométrie dans certains pays engendre une augmentation de la salinité et l'acidité avec pour conséquence une diminution des mangroves ou son remplacement par des tannes nus à efflorescences salines (Diop, 1993). On trouve par exemple beaucoup de tannes

de toutes les tailles des mangroves au Gabon du fait des zones nues et très salées (en raison de la saison sèche qui dure trois mois qui serait un facteur important dans la formation des tannes) (Ngom Sow, 2005).

#### **Facteurs** locaux

A ces facteurs globaux de dégradation s'ajoutent les facteurs anthropiques. En effet les populations prélèvent du bois pour des besoins énergétiques, domestiques, pour le fumage du poisson ou le bois de construction). La coupe des racines des palétuviers pour la récolte des huîtres constitue également une cause importante de destruction de cette mangrove (Ngom Sow, 2005). La cause majeure de la disparition des mangroves est la déforestation en réponse aux besoins de l'aquaculture, de l'agriculture et de la croissance démographique (Leopold, 2012).

L'exploitation intensive des ressources halieutiques et des produits ligneux de mangrove par les populations à l'intérieur comme à la périphérie de ces écosystèmes, relativement aux besoins en terres pour la riziculture et bois divers (bois de feux et de service) relativement à leurs besoins de plus en plus croissants, est devenue remarquable et à la limite inquiétante

#### Pollution du milieu

La pollution des mangroves du Gabon a pour origine l'urbanisation, les déchets industriels et domestiques. Il existe également la construction de routes et d'infrastructures qui peuvent provoquer la disparition de la mangrove, notamment dans la zone de la sablière, au nord de Libreville. La mangrove côtière de la commune de Libreville a subi localement des dégradations importantes du fait d'une pollution alarmante. Il y a des zones industrielles telles qu'Owendo, Baracouda, Oloumi, etc. qui ont été construites sur des zones de mangroves (Mangiengha Ndotit, 2016).

Avec l'accroissement de la population de la ville, il y a une forte pression anthropique sur la zone côtière de Libreville, entraînant ainsi un véritable problème de pollution. Cela peut s'expliquer par le fait que les zones de mangroves sont très proches de grandes villes du pays à l'instar de Libreville (Ndombi, 2007). Les écosystèmes voisins des mangroves (les rivières, marais et fleuves) reçoivent les déchets et eaux usées qui arrivent de la mangrove du fait du courant et de la marée. A cela s'ajoute la pollution due à l'activité pétrolière notamment les hydrocarbures qui influencent la survie des mangroves. En effet, les racines des mangroves

sont sujettes à la lubrification répétée due aux mouvements des marées et des vagues, et sont directement affectés par l'huile persistante emprisonnée dans le substrat. L'huile présent sur les racines obstrue les lenticelles et par conséquent étouffe pratiquement l'arbre (Clayton et Evans, 1985). Chapitre 2 : Matériels et méthodes

### 2.1 Matériels biologiques

Le matériel biologique utilisé est le bois du tronc de Rhizophora *racemosa* (*R.racemosa*) et *Avicennia germinans* (*A. germinans*) qui sont des palétuviers de la mangrove ainsi que deux souches de champignons *Coriolus versicolor* et *Rhodonia placenta* 

## 2. 2 Sites d'étude et prélèvements

Grâce à son climat de type équatorial, le Gabon a un régime pluviométrique bimodal, c'est-àdire deux saisons de pluies et deux saisons sèches. Avec une moyenne annuelle de 2500 mm de précipitation et une température annuelle d'environ 25, 9°C, le Gabon a un réseau hydrographique très dense. La grande saison de pluies s'étend d'octobre à décembre, et la petite saison de pluies va de mars à mai. La grande saison sèche commence en juin et se termine en septembre, et la petite saison sèche dure de janvier à février (Vande weghe,2005) Les mangroves au Gabon se retrouvent dans cinq grands ensembles (figure 4) notamment les rives de l'estuaire du Rio Mouni, de la Baie de la Moandah, de l'estuaire du Komo dans la partie septentrionale de la côte gabonaise, le delta de l'ogooué au centre et dans la partie méridionale, les berges des lagunes Nkomi, Iguéla, Ndougou et Banio (Lebigre, 1983) et à l'embouchure du fleuve Nyanga (MDMLERD). Cependant notre étude s'est focalisée sur les mangroves de certains sites de la Baie de la Moandah (Ambowè, Mamboumba et Oveng Lassond) et de l'Estuaire du Komo (Alenakiri et Ayémé maritime). Ces sites sont localisés géographiqement sur la figure 24.

Ambowè, Alenakiri sont des zones urbaines, tandis que Mamboumba, Oveng Lassonde sont des zones péri-urbaines (Okanga-Guay et al., 2019). Ayémé maritime est une zone périurbaine également du fait des habitations non loin de cette zone.



*Figure 24 : Localisation des sites de prélèvement utilisés dans cette étude.* 

## Site d'Ambowè



*Figure 25 : Cartographie du site d'Ambowè* 

Le site d'Ambowè (9°26'1485 E ; 0°27'663 N) est un site urbain perturbé par la pollution (salinité : 29,3 g/l ; pH : 7,42), situé dans la Baie de la Moandah, en banlieue de Libreville

(figure 25). Sur ce site, il y a des commerçants qui vendent du poisson, et une activité de pêche y est pratiquée en majorité par les étrangers (figure 26C). Ce site se caractérise par une pollution anthropique dans laquelle on retrouve les déchèteries, les huiles de moteurs et pots de peintures entre autres (figure 26A). Les palétuviers ont des tailles moyennes pouvant atteindre 10 m de hauteur avec des circonférences avoisinant 70 cm. Aussi, il y a plus de Rhizophora que d'Avicennia (figure 26 A et B). Toutefois, un gros Avicennia a été observé sur le site présentant une taille au-delà de 10 m, et une circonférence qui dépasse 80 cm (figure 26 D).



Figure 26 : Photos représentatives du site d'Ambowè.

## • Site d'Alenakiri

Le site d'Alenakiri (00°18.6927 N ; 009°31.3063' E) est un site urbain pertubé par la pollution (salinité : 39, 75 g/l ; pH= 4,78), situé dans l'Estuaire du Komo précisément dans le premier

Arrondissement de la commune d'Owendo. Approximité de ce site, il y a une décharge appartenant à la société Sanivit (figure 27).



Figure 27 : Cartographie du site d'Alenakiri

Cette société fait dans le traitement de divers déchets (roues de voitures, carcasses de voitures, ventilateurs...), les déchets sont calcinés après leurs stockages (figures 28 E et F). Sur ce site, les palétuviers sont de petites tailles inférieures à 10 m surtout pour le genre Avicennia avec une circonférence autour de 70 cm. Il y a également la mort de certains Avicennia (figure 28 G). Certes il y a des Rhizophora qui sont de petites tailles inférieures à 10 m avec des circonférences autour de 70 cm (figure 28 H), mais nous avons constaté la présence de trois bois de *Rhizophora racemosa* ayant des tailles au-delà de 15 m (plus en retrait de la pollution) avec des circonférences de 135 cm, 145 cm et 150 cm. (figure 28 I).



Figure 28 : Photographies représentatives du site d'Alenakiri

## • Site d'Oveng

Le site d'Oveng (00°28.8516' N ; 009°30.9994'E) est un site péri-urbain non pertubé (salinité : 35,36g/l ; pH=5,89), situé dans la Baie de la Moandah (figure 29). C'est un site présentant un le sol rocailleux, du calcaire déposé en blocs suite à l'érosion qui date du Turanien (crétacé supérieur). Les palétuviers notamment le genre Avicennia ont de petites tailles pouvant atteindre 8 m de hauteur, moins importantes que celles des Avicennia prelévés à Mamboumba, mais avec des circonférences plus ou moins importantes autour de 80 cm (figure 30)



Figure 29 : Cartographie du site d'Oveng



Figure 30 : Photographies représentatives du site d'Oveng.

## • Site de Mamboumba

Le site de Mamboumba (9°26'754 E ;0°38'24.04 N) est un site péri-urbain non pollué situé (salinité : 16, 24 g/l ; pH=6,83) dans la Baie de la Mondah au Nord de Libreville (figure 31). Ce site fait partie du parc d'Akanda, et donc c'est un site protégé (figure 31). Les Avicennia ont de petites tailles inférieures à 10 m de hauteur, avec des circonférences moins importantes autour de 70 cm. Par contre, les Rhizophora ont des tailles plus importantes pouvant aller jusqu'au-delà de 10 m de hauteur avec des circonférences moyennes autour de 80 cm (figure 32).



Figure 31 : Cartographie du site de Mamboumba



Figure 32 Photographies représentatives du site de Mamboumba

## • Site d'Ayémé

Le site d'Ayémé maritime est un site péri-urbain (salinité : 38, 5 g/l ; pH=8, 5) situé dans l'Estuaire du Komo (figure 33).



Figure 33 : Cartographie du site d'Ayémé maritime

C'est un site non perturbé, mais ce site est fréquenté par des populations à cause de la présence des habitations non loin de celui -ci. Les palétuviers ont des tailles moyennes pouvant aller jusqu'au-delà de 10 m de hauteur avec des circonférences autour de 80 cm (figure 34).



Figure 34 : Photographies représentatives du site d'Ayémé maritime

#### • Echantillonnage des arbres

L'échantillonnage s'est déroulé en trois phases, en saison sèche sur les différents sites pollués et non pollués. Pour la première phase, le prélèvement a été effectué en juin 2015 sur le site d'Ayémé maritime. La seconde phase de prélèvement a eu lieu en Août 2017 sur les sites d'Ambowè et de Mamboumba. Et la troisième phase de prelèvement, s'est déroulée en juillet 2018 sur les sites d'Oveng et d'Alenakiri. Les arbres ont été abattus à 1,3 m au-dessus collet à l'aide d'une tronçonneuse de marque STIHL66. Deux arbres ont été abattus pour chaque espèce sur chacun des sites. En fonction de la physiologie de chaque espèce, le prélèvement s'est fait différemment. Les arbres de l'espèce *Avicennia germinans* ont été abattus à 1,3 m au-dessus du collet, tandis que les arbres de l'espèce *Rhizophora racemosa* à cause de ses racines échasses, ont été abattus à 40 cm en partant de la base du tronc. Puis ces arbres ont été découpés en rondelles de 5 cm d'épaisseur (figure 35). Les rondelles des arbres avaient des circonférences comprises entre 70 cm et 80 cm sauf pour les *Rhizophora racemosa* collectés sur le site d'Alenakiri qui avaient des circonférences comprises entre 135 et 150 cm.



Figure 35 : Rondelles de bois de R. racemosa (collectés à Alenakiri , et présentant un diamètre de 46, 15 cm) et d'Avicennia germinans (collectés à Oveng, et montrant un diamètre de 25,46 cm et une épaisseur de rondelle de 5 cm)

## • Echantillonnage du sol

Les échantillons de sol ont été prélevés sur tous les sites étudiés. Les sols ont été prélevés à 15 cm de profondeur du sol à l'aide d'une tarière manuelle. Puis ces sols ont été mis dans de petits pots en plastiques fermés hermétiquement, et ont été stockés dans le laboratoire pendant des mois (séchage atmosphérique). Les paramètres tels que le pH et la salinité ont été mesurés in situ à 15 cm de profondeur du sol à l'aide d'un pH mètre multi paramètre (multi paramètres portable 15 paramètres).



Figure 36 : Mesure de la salinité du sol.

## 2.3 Etude du plan ligneux

## 2. 3. 1. Microscopie optique

Le microscope épiscopique couplé à une caméra permet d'obtenir les images sur échantillon de bois (100 x à 700 x) grâce à la lumière normale réfléchie. La lumière est envoyée sur l'échantillon par des faisceaux coniques à travers l'objectif et donne une image réglable sur les détails de la structure.



*Figure 37 : Observation des échantillons de bois de R. racemosa sur des coupes transversales par microscopie épiscopie.* 

Pour déterminer la densité des vaisseaux, de petits blocs (1cm3) ont été préparés dans le compartiment de l'aubier ou du bois de cœur. Pour obtenir une bonne qualité de surface, la face transversale de l'échantillon a été poncée avec du papier abrasif 4000 (5µm de granulométrie moyenne) et nettoyée à l'air comprimé. Les blocs de bois ont ensuite été placés sous un microscope optique Leica DM2700M équipé d'une source de lumière réfléchie et d'une caméra numérique pour les réaliser les acquisitions (figure 37). Un script a été développé sous le logiciel FIJI (Schindelin et al., 2012) pour l'analyse quantitative de l'anatomie. Une vingtaine d'échantillons de bois ont été analysés pour chaque type d'échantillon.

## 2. 3. 2 Microscopie confocale à fluorescence

L'autofluorescence des échantillons a été étudiée à l'aide d'un microscope confocal à balayage laser (CSLM) LSM 780 (Zeiss, Allemagne). Les blocs de bois de 1 cm3 ont été collés sur une lame de verre et placés sous un CSLM, puis éclairés par un faisceau laser de 405 nm. Le signal de fluorescence a été recueilli en mode spectral (32 PMT) puis converti en image fausses couleurs. Les couleurs utilisées correspondent aux longueurs d'onde  $\lambda$  en émission. Pour obtenir les spectres d'émission spécifiques de chaque composant de l'image, une déconvolution spectrale a été effectuée sur la projection d'intensité maximale (Z stack) des images obtenues.

## 2. 3. 3 Tomographie rayons X

Les analyses par tomographie à rayons X ont été effectuées sur un tomographe à rayons X de 39 watts (RX solutions, France). Les paramètres d'acquisition utilisés étaient une tension de 107 kW et un courant de 74 μA à l'anode. La taille des voxels était de 12,8 μm.

#### 2. 4 Analyse des propriétés physiques des échantillons de bois

#### 2.4.1 Microscopie électronique à balayage couplées à la microanalyse

Le bombardement d'un échantillon par un faisceau d'électrons entraîne de diverses interactions. Parmi les électrons émis par l'échantillon suite au contact avec le faisceau primaire d'électrons, on peut citer les électrons secondaires qui donnent une information de relief, les électrons rétrodiffusés qui interagissent avec les atomes de l'échantillon et renseignent sur le numéro atomique des éléments et enfin les photons X. Ces derniers sont captés par un par un détecteur Si (LI) ou SDD (Silicon Drift Detector) capable de séparer les photons X émis selon leur énergie (Energy dispersion spectrometry ou EDS). Celui-ci est couplé à un MEB générateur d'électrons. L'ensemble des rayons X émis est analysé de manière simultanée par un seul et même détecteur. La méthode WDS (Wavelength dispersion spetrometry) est similaire à l'EDS à la différence qu'une présélection des rayons X sur la base de leur longueur d'onde d'émission se fait par des cristaux en amont du détecteur. Ainsi cette méthode est basée sur les propriétés de diffraction sélective des rayons X par ces cristaux spécifiques à chaque élément chimique. La résolution des mesures est nettement supérieure à celle obtenue par EDS, car les rayons X de longueurs d'onde proches sont mieux différenciés. De plus, un meilleur rapport signal sur bruit pour le pic est présenté dans cette méthode grâce à la meilleure résolution spectrale qu'offrent ses cristaux.

La détermination semi-quantitative des éléments minéraux a été effectuée sur des échantillons de bois prélevés sur les sites expérimentaux d'intérêt. Dix grammes de bois récoltés au hasard sur des rondins de bois provenant de deux arbres différents ont été broyés en poudre (< 0,5 mm). Des pastilles de 1 cm de diamètre ont été fabriquées. Les pastilles ont été ensuite analysées par microscopie électronique à balayage (MEB) couplée à la microanalyse aux rayons X en mode EDS (*Energy Dispersion Spectroscopy*) et WDS (*Wavelength Dispersion Spectroscopy*). Neuf spectres ont été recueillis sur chaque pastille. Trois pastilles ont été analysées pour chaque type d'échantillon. De plus des cartographies élémentaires ont été réalisées *in situ* sur des échantillons et des zones d'intérêt dans les tissus. Le matériel utilisé est celui de la plateforme Sylvatech (INRA nancy).

#### 2. 4. 2 Mesure de l'infradensité

L'infradensité est définie (ou masse volumique basale) est définie comme étant le rapport entre la masse anhydre (Mo) de l'échantillon et son volume saturé en eau :

$$Pi_{(g/cm^{-3})} = \frac{M_0}{Vs}$$

Les mesures de l'infradensité ont été réalisées à l'aide d'un système monté par Pierre, Bakour et Agoua qui se compose des différents éléments suivants :

- Une pompe à vide qui sert de saturation des échantillons ;

- Une balance électronique avec une précision de 0,000 1g sur laquelle est posée un récipient contenant de l'eau pour mesurer le volume saturé en appliquant la poussée d'Archimède.
- Une étuve permettant le séchage du bois jusqu'à l'état anhydre.

Les blocs de bois d'environ 1 cm<sup>3</sup> ont été usinés dans le duramen des différents échantillons prélevés. Ces blocs de bois ont été par la suite séchés à l'étuve pendant 48h à 103°C. Après saturation sous vide des échantillons dans une pompe à vide, nous avons procédé à la pesée de ces échantillons sur une balance (Denver instrument, max=400g, d=0,001 g) en appliquant la poussée d'Archimède. L'infradensité a été évaluée selon Bakour (2003) en faisant le rapport entre la masse du bois à l'état anhydre et son volume saturé en eau ou « volume vert » :

$$Pi (g/cm^3) = \frac{M_0}{Vs}$$

Avec  $M_0\, {}_{:}\, Masse \, du$  bois anhydre par g

Vs : volume maximal en m<sup>3</sup> bois saturé en eau

L'avantage de cette méthode est d'être indépendant de la forme de l'échantillon puisque le volume est mesuré par le volume d'eau déplacé.

#### 2. 4. 3 Mesure de la densité des bois

Les dimensions des éprouvettes de bois ont été choisies selon la norme NF ISO 13061-17 (2018-06-16). Ce sont les mêmes éprouvettes qui ont fait l'objet des essais de compression axiales en raison des soucis d'échantillon. Les éprouvettes de bois de dimensions 30mm x 20mm x 20 mm en direction longitudinale, radiale et tangentielle ont été mises dans un laboratoire ayant 12 % d'humidité pendant 2 semaines. Les 6 faces ont été mesurées par la suite par un pied à coulisse pour avoir des mesures précises. Ces éprouvettes ont été pesées sur une balance pour obtenir la masse anhydre. La densité de chaque éprouvette était mesurée par le rapport entre la masse anhydre et le volume de bois de chaque éprouvette à 12% du taux d'humidité, selon la formule suivante :

$$\mathsf{D} = \frac{\mathsf{M}_0}{\mathsf{V}}$$

Avec, M<sub>0</sub>=Masse anhydre de chaque éprouvette et V=volume de l'éprouvette

# 2. 5 Analyse des propriétés mécaniques des échantillons de bois- Essais de compression axiale

Les dimensions des éprouvettes de bois ont été choisies selon la norme NF ISO 13061-17. Une charge croissante est appliquée progressivement dans la direction parallèle du fil de l'éprouvette jusqu'à la rupture. Il se forme une courbe contrainte-déformation.

Les dimensions des éprouvettes de bois ont été choisies selon la norme NF ISO 13061-17 (2018-06-16). Ces éprouvettes de bois de dimensions 30 mm x 20 mm x 20 mm en direction longitudinale radiale et tangentielle, respectivement ont été stabilisées à 20% HR dans un laboratoire (12 ± 2 °C, et 65± 5 % HR) pour un conditionnement des éprouvettes en masse constante pendant 2 semaines. Puis les éprouvettes ont été mesurées à l'aide d'une balance (Sartorius modèle SIWSBBP-1-06-H), de précision ± 0,001 g pour prélever la masse de l'éprouvette à l'état anhydre. Ensuite, les dimensions des éprouvettes ont été mesurées à l'aide d'une balance 38). L'essai a commencé dès la mise en contact du plateau supérieur avec l'éprouvette. L'éprouvette a été soumise à un chargement de 20 KN avec une vitesse d'avance de 0,05 m/s jusqu'à rupture de l'éprouvette.



Figure 38 : Essai quasi statique de compression axiale

La courbe de la force F appliquée en fonction du déplacement de la cellule de la force **A**I, a été obtenue grâce au programme d'acquisition de la machine d'essai



Figure 39 : Courbe de la force en fonction du déplacement du bois de R. racemosa collecté à Ayémé maritime ( F<sub>c,0</sub> =87 Mpa)

La contrainte de rupture en compression 6 correspond à la contrainte maximale atteinte (figure 39). La contrainte ultime en compression parallèle au grain de chaque éprouvette a été calculée en N/mm<sup>2</sup> (MPa) en utilisant la formule :

$$b_{e, o, w} = \frac{F_{max}}{a \times b}$$

Où

F<sub>max</sub>= la charge maximale en KN

a et b sont les dimensions de la section transversale de l'éprouvette, en mm

## 2. 6 Durabilité des échantillons de bois

La durabilité naturelle d'une essence peut varier en fonction des conditions du milieu, telles que le climat et le type de sol. La norme CEN/TS 15083-1 permet de déterminer la durabilité naturelle d'un bois vis-à-vis des champignons basidiomycètes lignivores cultivés sur milieu agar. Les éprouvettes du bois soumis à essai et les éprouvettes d'essai de bois de référence sont exposées à une attaque de champignons lignivores en cultures pures. A l'issue d'une période d'incubation donnée et réalisée dans des conditions définies, le pourcentage de perte de masse sèche des éprouvettes d'essai est utilisé pour évaluer la résistance du bois vis-à-vis des champignons et peut servir comme base d'appréciation provisoire de la durabilité.

## 2. 6. 1 L'état de culture du solide sur le bois

Pour montrer l'effet de la pollution sur la durabilité du bois de *R. racemosa*, à défaut d'utiliser les éprouvettes de références (25mm x 15mm x 5mm), par faute d'échantillon les blocs de

bois (20 mm x 10mm x 5 mm) en direction longitudinale, radiale et tangentielle respectivement, étaient stockés à 103°C à l'étuve pendant 48 h et pesés à ± 0,01 g(Mo). Le milieu de culture stérile (20ml), préparé à partir du malt (20 g) et agar (20 g) dans l'eau distillée (11), était placé dans 9 cm de boîte de pétri, inoculé avec le mycète et incubé pendant 2 semaines à 22 °C et 70% HR pour permettre la colonisation dans le milieu de culture par le mycélium.

Les blocs de bois stérilisés étaient placés dans chaque boîte de pétri, dans les conditions stériles. L'incubation a été réalisée dans une chambre climatique (22°C dans les conditions d'humidité et contrôlée à 70% HR).

Il faut noter que les éprouvettes de bois ont été exposées à quatre champignons : *Coriolus. versicolor, Rhodonia placenta, Pycnoporus sanguineus* et *Coniophora puteana*. Certes nous avons eu des contaminations pour tous les champignons, mais les contaminations étaient plus importantes chez *Pycnoporus sanguineus* et *Coniophora puteana*. C'est pourquoi dans notre étude nous avons retenu les champignons *Coriolus versicolor* et *Rhodonia placenta*.

#### 2. 6. 2. Perte de masse

Après 16 semaines d'incubation, les blocs de bois ont été collectés, les mycéliums ôtés avec précaution. Les blocs de bois ont été séchés à 103 °C pendant 72 heures, et mesurés (m1). La perte de masse (WL) était exprimée en %.

 $WL(\%) = ((M_0-M_1)/M_0) \times 100$ 

Où  $M_0$  est la masse du bois à l'état anhydre avant dégradation par les champignons, et  $M_1$  est la masse du bois à l'état anhydre après dégradation par les champignons.

Dans le cas des expériences avec des sels minéraux, l'incubation est réalisée à l'obscurité et à 22°C, 70% de RH. Les éprouvettes de hêtre (40mm x 15mm x 5mm) imprégnées ou non par des minéraux ont été soumises à dégradation pendant 4 semaines par une culture de *T. versicolor âgée* d'une semaine se développant sur un milieu sans minéraux. Chaque modalité (concentration et sel minéral) est répétée 3 fois.

#### 2. 6. 3 Préparation des solutions et milieux contenant des minéraux

Les éléments minéraux ont été utilisés sous forme de solutions préparées à partir des sels de manganèse (MnCl<sub>2</sub>,4H<sub>2</sub>O), de fer (FeCl<sub>3</sub> et FeSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O) et de cuivre (CuSO<sub>4</sub>, 5H<sub>2</sub>O). Des

69
solutions concentrées ont été préparées comme suit : FeCl3 et FeSO4 à 10<sup>-1</sup>M, MnCl2 à 0,7 M et 8.7mM pour CuSO<sub>4</sub>. Les concentrations indiquées sont celle des éléments d'intérêt (Fe, Mn, Cu). Une gamme de dilution croissantes d'un facteur 10 (10, 100, 1000,) avec de l'eau désionisée a été réalisée pour obtenir les solutions qui seront imprégnée sous vide dans les éprouvettes de bois.

## 2.7 Détermination des propriétés chimiques des échantillons

## 2.7.1 Spectrométrie infrarouge proche

La spectrométrie infrarouge proche (NIRS) permet d'investiguer simultanément la composition chimique du bois et ses caractéristiques structurelles (Sandak et al., 2015). La spectrométrie infrarouge proche est une technique analytique basée sur le principe d'absorption des rayonnements infrarouges par l'échantillon. Elle permet d'établir le lien entre l'absorption de la lumière (intensités à différentes longueurs d'ondes) et la composition chimique de l'échantillon. Le spectre obtenu est caractéristique d'un échantillon car il regroupe des informations sur chacun de ses constituants organiques.

Afin de déterminer si la pollution affecte les propriétés physico-chimiques de *R. racemosa* et *A. germinans* une acquisition de spectres proche infrarouge (NIRS) a été réalisée sur le plan radial de blocs de bois (1 cm <sup>3</sup>). Après analyse des spectres, le calcul de la dérivée seconde a été effectué sur la plage de longueur d'onde (6200 cm<sup>-1</sup> à 4000 cm<sup>-1</sup>). Enfin une analyse en composante principale a été réalisée afin de discriminer les échantillons en fonction de leurs propriétés chimiques.

Il faut noter que pour les bois à aubier non différencié, pour distinguer l'aubier du duramen, les blocs de bois ont été usinés près de l'écorce.

## 2. 7. 2 Analyses des extractibles

### • Extraction

Des extractions séquentielles par des solvants de polarités croissantes (hexane, acétone, toluène-éthanol et eau) ont également été réalisées sur les sciures de bois des deux essences à l'aide d'un système d'extraction par solvant sous pression (ASE Dionex). Le contenu en extractibles de chaque fraction a été déterminé par pesée de l'extrait sec obtenu et reporté à la masse sèche de bois utilisée pour l'extraction. Le contenu en extractibles (ou rendement) a été calculé de la manière suivante :

$$R_{(\%)} = \frac{(M_0 - M_1)}{5g}$$

Avec :

M<sub>1</sub>= masse du ballon à vide

M<sub>0</sub>= masse du ballon avec composé obtenu à l'extrait sec

5 g= masse de la sciure du bois utilisée pour l'extraction

#### Analyse de la composition en extractibles

Pour l'analyse en GC-MS, les extractions ASE ont été effectuées en utilisant le dichlorométhane comme solvant (80°C avec 3 passages de 6 min). Le volume final de l'extrait était de 100 ml. Pour la GC/MS, 0,9 ml d'extrait + 0,1 ml de solution d'anthraquinone à 0,806 mg/ml ont été injectés. La colonne Rtx 200 (60 m x 0,25 mm, 0,25 µm) a été utilisée pour la séparation. Le mode de balayage positif a été utilisé. L'identification des pics a été réalisée en comparant la fragmentation de masse avec la base de données de spectres du NIST 2002. Les données semi-quantitatives ont été calculées à partir de chromatogrammes GC en utilisant l'équation (1).

(1) :MX = (AX x CEI / AEI) x (1 / 0,9) x 100 / 5

## Avec :

Teneur en composés Mx, X (mg d'équivalent anthraquinone par g de bois sec)

Ax, surface de pic pour le composé X

CEI, concentration d'anthraquinone dans l'extrait analysé (0,806mg/ml)

AEI, surface de pic pour l'anthraquinone

Les sciures de bois ( $\emptyset$  < 0,5 mm) ont été séchées dans une étuve pendant 24h à 70 °C. Puis trois spatules de sable de mohr ont été mises dans chaque tube dans lesquels 5 g de chaque échantillon de sciure de bois ont été rajoutés. Par la suite, ces tubes et bouteilles en flacon contenant les solvants à polarités croissantes notamment à l'hexane, à l'acétone, au toluène-éthanol et à l'eau ont été passés par extraction à solvant accéléré (ASE) (100°C, 2 reliquats par solvant ; t=16 x 30 min) pour des extractions séquentielles des molécules. Les solvants ont été par la suite évaporés au rota -évaporateur (40°C), et les extraits ont été

71

séchés dans un dessiccateur pendant 2 h de temps. Le rendement en pourcentage d'extraits secs a été obtenu par

$$R_{(\%)=\frac{M1-M0}{5g}}$$

Avec :

M<sub>0</sub>: masse du ballon à vide
M<sub>1</sub>: masse du ballon avec extraits secs
5 g : quantité de sciures de bois

Pour les injections par GC-MS,1 à 3mg d'extraits secs de chaque échantillon ont été mis dans les piluliers par l'ajout de 50 µl de BSTFA, puis mis au frais à 70 °C pendant 48 h pour la dérivatisation des molécules. Car en 24 h les extraits n'étaient pas totalement solubilisés. A l'issue de ces 48h, les piluliers ont été retirés du frais et 1 ml d'acétate d'éthyle a été rajouté dans chaque pilulier. Les extraits ont été par la suite purifiés à l'aide d'une seringue (3 ml SOFT-JECT Luer) avant l'injection par GC-MS. Pour l'extrait apolaire (hexane) dont la quantité était inférieure à 1 mg, 1 ml du dichlorométhane a été rajouté dans chaque pilulier, puis ont été

### • Analyse des sols

Les échantillons de sol (des sites d'Ambowè, d'Ayémé maritime et d'Oveng) ont été séchés dans une étuve à une température de 70°C pendant 24h. Par la suite, Ils ont été broyés et homogénéisés à l'aide d'un tamis en acier inoxydable de maille  $\leq 2$  mm. 2 g de chaque échantillon ont été extraits au dichlorométhane au dionex (t=6 x 30 min ; 100 °C). Un réplicat a été effectué pour chaque échantillon. Les extraits ont été évaporés au rota-évaporateur (40°C) puis séchés dans un dessiccateur. Le rendement a été calculé de la même façon que celui de la teneur en extractibles.

## 2. 7. 3 Analyse des contenus minéraux

## • Dosage des oligo-éléments Mn, Fe et Cu

Pour déterminer la concentration des minéraux dans les éprouvettes du hêtre imprégnées ou non par des minéraux et séchées on a suivi les étapes suivantes :

\* préparation de copeaux de bois en coupant les éprouvettes avec un couteau en céramique.

 \* minéralisation en utilisant un rotor 48MF50. Chacun des tubes contient 200mg de sciure dans lequel on a ajouté sous hotte 6ml de HNO<sub>3</sub> concentré (des tubes contenant que de HNO3 sont utilisé comme témoins).

\* insérer le rotor dans la chambre du four micro-ondes (ANTON PAAR-Multiwave 3000) et lancer la minéralisation avec le programme a une puissance 1200w et pression 20bar.

\*après minéralisation, récupérer sous hotte le volume digéré dans une fiole jaugée de 100ml et l'ajusté avec du l'eau ultra pure.

\* filtrer la solution dans un pilulier 125ml.

\* analyse par spectrométrie de masse couplée à plasma inductif (ICP-OES) en diluant les échantillons à concentration hors gamme

Chapitre 3 : Résultats

### 3. 1 Altération des propriétés macroscopiques du bois d'Avicennia germinans

#### • A l'échelle de la grume

Pour étudier l'impact possible des activités anthropiques et de la pollution du sol qui en résulte sur les propriétés du bois d'*A.germinans*, des arbres ont été récoltés sur différents sites expérimentaux comme décrit dans la section matérielle et méthode. Les observations macroscopiques des sections transversales des arbres sont rapportées sur la figure 40.



Faible activité

Forte activité anthropique Forte activité anthropique

### . Figure 40 : Visualisation des coupes transversales sur les arbres prélevés

Les observations effectuées sur les disques de bois ont montré une forte différence de coloration du duramen entre les échantillons prélevés sur les sites expérimentaux non pollué (Oveng) et pollué (Ambowé). Ce phénotype a été observé sur tous les arbres coupés et a suggéré que l'activité anthropique et la pollution du sol et de l'eau qui en résultait pourraient provoquer certaines altérations des propriétés du bois. Il a déjà été démontré que des facteurs environnementaux abiotiques tels que la salinité et le refroidissement influent sur la densité et l'architecture des vaisseaux chez *Avicennia* (Madrid et al., 2014).

## • A l'échelle du plan ligneux (Densité de vaisseaux)

Pour étudier les changements possibles sur l'anatomie du bois d'*A. germinans*, la densité de vaisseaux (nombre de vaisseaux/ mm<sup>2</sup> surface du xylème) a été mesurée sur des échantillons de bois. La salinité des sédiments est différente dans les sites non pollués de Mamboumba (16,24 g/l) et Oveng (34,36 g/l). Le site pollué d'Ambowè a une salinité de 29,3 g/l. Ainsi, afin de pouvoir décorréler les effets de la pollution de ceux de la salinité, il est intéressant de pouvoir évaluer les variations de densité de vaisseaux en l'absence de pollution d'une part et entre des sites de salinité proches mais dont le statut sanitaire diffère d'autre part. Des échantillons de bois prévelevés sur le site expérimental de Mamboumba ont donc été ajoutés au comptage de la densité des vaisseaux à titre de contrôle. Après usinage en éprouvettes de

1cm<sup>3</sup>, la surface des échantillons a été polie. La face transversale des échantillons a été observée par microscopie à épiscopie. La densité de vaisseaux a été déterminée par calcul d'image. Les micrographies et les quantifications correspondantes sont présentées sur la figure 41.



Figure 41 : Effet de la pollution anthropique sur la densité de vaisseaux chez Avicennia germinans. A-B Micrographies montrant l'organisation des vaisseaux dans le duramen putatif d'A. germinans collecté sur les stations d'Oveng et Ambowé. C / Aubier putatif d'A. germinans récolté à Oveng. Les rectangles blancs sur l'insert indiquent l'origine des échantillons de bois analysés par microscopie. D / Analyse quantitative de la densité des vaisseaux. Les barres sont le moyenne de 45 observations. Les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance à 95%. Différentes lettres montrent différents groupes après le test TukeyHSD ( $p \le 0,005$ ). La ligne pointillée montre la salinité mesurée sur les différentes stations expérimentales.

La pollution n'a pas entraîné de changements significatifs dans la densité de vaisseaux. En revanche, une diminution de 21% de la densité de vaisseaux a été observée dans les échantillons de bois collectés sur une station avec une salinité inférieure de 51%. Ces résultats sont conformes aux données de la littérature (Robert et al., 2009).

De plus, le duramen putatif d'Oveng (non polluée) était plus sombre et présentait davantage de vaisseaux obturés que le duramen putatif d'Ambowé (station polluée). En effet, le duramen des échantillons d'Ambowé présentait de nombreux vaisseaux ouverts et une couleur plus claire. Le but de l'étude n'étant pas d'étudier l'effet de la salinité, seuls les échantillons prélevés sur Oveng (station non polluée) et Ambowé (station polluée) ont été analysés par la suite.

# 3. 2 Altération des caractéristiques physiques et mécaniques

# • Mesure d'infradensité

Pour évaluer l'effet de la pollution sur les propriétés physiques et mécaniques du bois d'*A*. *germinans*, la détermination de l'infradensité et la mesure de la compression parallèle au grain fc,o ont été réalisées. Bakour (2003) définit l'infradensité comme le rapport de la masse du bois au volume qu'il occupe :

 $P(g/cm^3) = M0 / Vs$ 

Avec :

M0 : masse du bois à l'état anhydre, Vs: volume du bois saturé en eau.

Ainsi, l'infradensité a les unités de masse divisées par le volume telles que g.cm<sup>-3</sup> ou kg.m<sup>-3</sup> (Gelhaye et Guilley 2000). Les mesures d'infradensités réalisées sur les duramens de bois collectés sur le site d'Ambowé (Pollué) et d'Oveng (sain) ont permis de tracer le graphique de la figure 42.



Figure 42 : Effet de l'activité anthropique sur l'infradensité des échantillons de bois prélevés sur des sites expérimentaux pollués (rouge) ou non pollués (vert). L'astérisques indiquent des différences significatives (test de student,  $p \le 0,05$ , n = 22).

Le duramen des échantillons de bois collectés sur le site d'Ambowé (pollué) est caractérisé par une infradensité significativement plus faible que celle d'Oveng (non polluée) (*test de student,*  $P \le 0,005$ ). Le bois est un matériau cellulaire et poreux constitué de paroi cellulaire et de cavités contenant de l'air et des extractibles (Javier, 2019). La pollution ne semble pas affecter la densité de vaisseaux. La diminution de l'infradensité pourrait s'expliquer par une augmentation de l'espace vide du bois. À l'échelle microscopique, le vide dans le bois correspond à la lumière des fibres et des vaisseaux. Pour déterminer si la pollution provoque une augmentation des vides dans le bois, des échantillons des sites d'Ambowé et d'Oveng ont été soumis à une analyse par tomographie aux rayons X. Des coupes représentatives des échantillons observés sont illustrées sur la figure 43.



Figure 43 : Tomographie Rayons X. Les échantillons de bois d'A. germinans anlysés par tomographie rayons X (A et C) révèlent une différence de largeur de zones d'accroissements mais également de densité de niveau de gris. Les vaisseaux semblent également plus gros dans le cas du bois d'Ambowé. La segmentation d'images (B et D) fait apparaître les zones de vide en rouge et les niveaux de gris correspondant au bois en vert. Notez la présence de fissures (flèches) sur le plan radial du bois sur les échantillons d'Ambowé (B) absentes dans les échantillons d'Oveng (D).

Tableau 3 : Analyse quantitative des segmentations des images tomographie rayon X.\*IntDens=RawInden\* (Area in scaled units)/(Area in pixels) et RawIntDen= somme des niveaux de gris des pixels dans la sélection.

	INtDens*	%Bois (Vert)	% Vide (Rouge)	
Ambowé	20235036	80,74	19,26	
Oveng	47284187	86,35	13,65	

La comparaison des volumes occupés par la paroi cellulaire cellulosique lignifiée et le vide a montré une augmentation de 5% de l'espace vide dans le bois provenant d'Ambowé. Étant donné que des paramètres d'acquisition identiques pour la tomographie aux rayons X ont été utilisés, un changement de l'intensité moyenne du niveau de gris refléterait les changements dans la densité du bois. L'analyse d'environ 1200 coupes optiques a montré une diminution de la densité du bois de 2,33 fois dans l'échantillon d'Ambowé par rapport à Oveng. De plus, de nombreuses microfissures sur le plan radial n'ont été observées que dans l'échantillon d'Ambowé.

## • Mesure de résistance mécanique

Ces résultats suggéreraient une plus faible cohésion du bois qui se traduirait par une moindre résistance à la contrainte de cisaillement dans le bois collecté sur le site d'Ambowé. Pour valider cette hypothèse, la compression parallèle au fil (fc, o) a été mesurée sur l'échantillon de bois prélevé sur les sites d'Oveng et Ambowé. Les résultats reportés sur la figure 44 ont montré une diminution significative (*test de student*,  $P \le 0,005$ ) du fc,o dans le bois collecté sur site pollué. Les mesures d'infradensité et de résistance mécanique sont donc corrélées positivement et suggèrent que la pollution affecte les propriétés ultrastructurales du bois. Il est alors probable que des effets au niveau moléculaire soient présents.



Figure 44 : Effet de l'activité anthropique sur la compression parallèle au fil (fc, o) ont été mesurées sur des échantillons de bois prélevés sur des sites expérimentaux pollués (gris) ou non pollués (blanc). Les astérisques indiquent des différences significatives (test de student,  $p \le 0,005$ ; n = 21)

#### 3.3 Conséquences de la pollution sur la composition chimique du bois d'A. germinans

### 3. 3. 1 Analyse globale (NIRS)

La spectroscopie proche infrarouge a été utilisée pour étudier les changements possibles dans les propriétés chimiques du duramen (en particulier les extractibles) recueillis sur les trois sites expérimentaux. La détermination du contenu en extractibles du bois par NIRS est bien documentée (He et Hu, 2013 ; Niamké et al., 2014 ; Taylor et al., 2008) et plus adaptée que le moyen infrarouge (MIRS) qui est d'avantage dédié à l'analyse du contenu en macromolécules pariétales. L'absence de différenciation d'un duramen dans les échantillons prélevés sur les sites pollués, suggère que la production d'extractibles était inhibée. Si cela était validé, l'aubier et le duramen des échantillons prélevés sur des sites pollués devraient avoir des spectres similaires à celui des échantillons d'aubier non pollué (côté écorce de l'échantillon) qui sont incolores et exempts de produits d'extractibles. Des acquisitions de spectres ont été effectuées sur des échantillons d'aubier et de bois de cœur. Sur les spectres NIRS, la composition chimique du bois est représentée par le nombre d'onde de 4000 à 7000 cm<sup>-1</sup> (Schwanninger et al., 2011). Cependant, un fort bruit dans les parties extrêmes (4000-4300 cm<sup>-1</sup> et 7000-6500cm<sup>-1</sup>) a été observé. De plus, les extractibles du bois sont caractérisés par la plage spectrale comprise entre 6110 et 5263 cm<sup>-1</sup> (He et Hu, 2013). Les analyses ont donc été focalisées sur la plage spectrale de 6500 à 4500 cm<sup>-1</sup>. Une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée sur les dérivées secondes calculées sur cette gamme spectrale. Les résultats reportés sur la figure 45 montrent clairement un regroupement de l'échantillon de duramen du site pollué (Ambowé) avec tous les échantillons d'aubier. Au contraire, le duramen des sites non pollués (Oveng et Mamboumba) forme un groupe séparé. Ces résultats suggèrent une modification de la composition en extractibles du bois.



Figure 45 : Analyse en composantes principale des spectres NIRS (6500 à 4500 cm<sup>-1</sup>) réalisés à partir des échantillons de bois collectés sur les sites d'Oveng (non pollué) et Ambowé (pollué). Pour chaque site les compartiments duramen et aubier ont été analysés.

L'analyse des *loadings* a montré que les principales variables contributives de l'ACP étaient 6069, 6014, 5880, 5840, 5770 et 5622 cm<sup>-1</sup> pour PC1 et 6000, 5981,5956, 5932, 5880, 4692 et 4665 cm<sup>-1</sup> pour PC2. De manière intéressante, l'attribution des bandes montre que PC 1 décrit des modifications (acétylation) de la cellulose et des hémicelluloses, tandis que PC2 reflète des changements dans les composés aromatiques et extractibles (He et Hu, 2013 ; Schwanninger et al., 2011). La comparaison des spectres moyens des différents types d'échantillons renforce l'analyse PCA. Les spectres moyens des échantillons de duramen prélevés sur le site pollué sont très similaires à ceux des échantillons d'aubier. Les échantillons

d'aubier présentent un profil similaire indépendamment de l'état de pollution du site de récolte. Plusieurs bandes qui présentaient des différences significatives entre les échantillons de duramen sont attribuées au Car – H str qui se retrouvent dans la lignine et dans les composés aromatiques des extractibles (6000, 5981, 5932, 4692 cm<sup>-1</sup>). Il est donc probable que la pollution ait affecté la teneur en extractibles de bois (figure 46).



Figure 46 : Spectres moyens des dérivée seconde d'échantillons de bois analysés dans la gamme de longueurs d'onde sélectionnées (6500 à 4500 cm<sup>-1</sup>). Pour chaque site expérimental, les spectres d'aubier sont représentés en couleur claire et les lignes fines et les spectres de duramen sont tracés avec des lignes épaisses.

### 3. 3. 2 Microscopie CLSM

Les composés aromatiques dont la lignine émettent une fluorescence sous la lumière UV (Bond et al., 2008). Pour obtenir plus d'informations sur les changements de localisation des produits d'extraction dans les échantillons de duramen, des observations d'échantillons de bois prélevés sur des sites pollués (Ambowè) ou non pollués (Oveng) ont été réalisées avec un microscope confocal à balayage laser (CLSM). Les échantillons ont été soumis à une excitation par un laser à 405 nm et le signal d'émission a été collecté sur 32 PMT pour obtenir une image d'émission codée en fonction de la longueur d'onde d'émission des pixels. Ce type d'imagerie spectrale permet de déconvoluer les différents signaux émis sur le principe de l'imagerie

hyperspectrale qui attribue un spectre à chaque pixel de l'image. Les micrographies de la figure 47 sont des résultats représentatifs illustrant des observations. Le code couleur utilisé représente la longueur d'onde d'émission. Des émissions jaune-vert ( $\lambda$  max = 575 nm) ont pu être observées dans les vaisseaux et dans les rayons d'échantillons de duramen non pollués (figure 47 A-47 C) alors que dans les échantillons pollués, seule l'autofluorescence des polyphénols (lignine) a pu être détectée (figure 47 B-47 D). Les spectres obtenus après déconvolution spectrale de l'image sont représentés sur les figures 47 C et 47 D. Ces observations montrent qu'une teneur élevée en extraits aromatiques distinct des monolignols sont présents dans la lumière des vaisseaux et dans les cellules de parenchymes radial et paratrachéal dans les échantillons non pollués. Cependant, seule une très faible quantité de ces composés a pu être trouvée dans les échantillons prélevés sur les sites pollués.



Figure 47 : Localisation des extractibles par émission de fluorescence. Micrographies CLSM d'échantillons de duramen prélevés sur des sites A / Oveng (non pollués) ou B / Ambowè (pollués). L'excitation était de 405 nm. C / Déconvolution spectrale du signal d'émission pour Oveng et pour D / Ambowé. Notez l'absence du signal d'intensité maximale à  $\lambda$  = 575nm à Ambowè

#### 3. 3. 3 Identification chimique des extractibles par GC-MS

Pour caractériser davantage l'effet de la pollution anthropique sur les altérations des extractibles, des échantillons de duramen prélevés sur Oveng (NP) et Ambowè (P) ont été soumis à une extraction séquentielle par des solvants de polarité croissantes. La quantité d'extraction relative (% de la masse sèche initiale) a été quantifiée dans chaque fraction. Les résultats sont représentés sur la figure 48. Un contenu extractif total de 24 ± 1,71% et 14 ± 0,71% a été trouvé dans les échantillons d'Oveng (NP) et d'Ambowè (P), respectivement. Cela a confirmé que la pollution anthropique affecte la synthèse des extractibles chez *Avicennia germinans*. Dans les échantillons de duramen d'Oveng (NP), la majorité des extractibles ont été trouvés dans les fractions les plus apolaires (hexane et acétone). L'échantillon prélevé sur le site d'Ambowè (P) a présenté une diminution significative de l'extraction en fraction hexane. Cela correspond aux résultats NIRS et CLSM qui indiquent une altération de la teneur en extraits aromatiques causée par la pollution. De manière surprenante, la teneur en extraits d'eau était plus élevée dans l'échantillon pollué. Cela peut être causé par la libération de glucides ou par une accumulation de sel organique.



*Figure 48 :* Effet de la pollution anthropique sur le contenu en extractibles des échantillons de duramen prélevés sur les sites d'Oveng et Ambowè, (*n=3, moy±écartype*)

Les extraits présents dans la fraction hexane ont été analysés par GC / MS semi-quantitatif. De l'anthraquinone (8,06 mg / ml) a été utilisée comme standard. Sur les chromatogrammes obtenus pour Ambowè (P), seuls deux pics sont visibles alors que huit pics peuvent être distingués sur l'échantillon de duramen et d'Oveng (NP) (fig. 49).





Parmi les signaux les plus intenses, huit pics ont été caractérisés en outre par spectrométrie de masse dans une approche semi-quantitative utilisant l'anthraquinone comme standard. Les résultats sont donnés dans le tableau 4. Un seul composé a été trouvé avec une teneur fortement réduite dans l'échantillon de duramen d'Ambowè. Il correspond à la molécule la plus abondante (Rt = 28,6 min) trouvée dans l'échantillon d'Oveng mais qui n'a pas été identifiée. Cependant, quatre pics ont été identifiés comme étant du lapachol ou des molécules étroitement liées. Ces molécules dérivées de la naphtoquinone sont absentes des échantillons pollués.

Tableau 4 : Analyse semi-quantitative de la fraction hexane par spectrométrie de masse couplée à GC. \*La concentration est exprimée en équivalent mg d'anthraquinone par g de bois sec

			Concentration (mg/g)*	
Pic GC identifié par profil MS	Temps de rétention (min) (Rtx 200)	Oveng (non pollué)	Ambowè (pollué)	
Inconnu 1	28.6	43.4	1.0	
Inconnu 2	27.3	4.9	nd	
Dehydro-α-lapachone	31.5	4.4	nd	
Inconnu 3	30.1	2.7	nd	
3-chlorodeoxylapachol	30.2	2.7	nd	
Lapachol	28.3	11.0	nd	
α-lapachone	33	0.3	nd	
Anthraquinone (Standard)	29.5	/	/	

## 3. 4 Effet de la pollution sur la durabilité naturelle du bois

L'impact de la pollution anthropique sur la durabilité naturelle du bois pour les champignons saproxylophages a été évaluée par des tests de dégradation fongique conformément à la norme européenne (XP CEN / TS 15083-1, 2006). La perte de masse des échantillons est utilisée comme indicateur de la durabilité du bois. Pour étudier la durabilité naturelle du duramen d'A. germinans contre les champignons provoquant la pourriture blanche et brune, deux espèces de champignons différentes, Coriolus versicolor (pourriture blanche) et Rodhoniia placenta (pourriture brune) ont été utilisées. La virulence fongique a été validée sur l'aubier de hêtre et de pin sylvestre pour les deux champignons utilisés. Une perte de masse de 66,36 ± 1,93% et 42,5 ± 1,62% sur l'aubier de pin (*P. placenta*) et le Hêtre (*C. versicolor*) ont été mesuré, respectivement. Les résultats de la perte de masse sur les échantillons de palétuvier sont représentés sur la figure 49. L'aubier d'A. germinans collecté sur le site d'Oveng (non pollué) a été utilisé comme référence de bois de référence sans extractibles. Pour les deux champignons testés, les échantillons de duramen provenant d'un site pollué et d'aubier étaient significativement plus dégradés par les champignons que les échantillons de duramen non pollués (ANOVA, p ≤0,05). De plus, les pertes de masse étaient plus élevées pour les échantillons exposés à C. versicolor que ceux exposés à R. placenta.



Figure 50 : Effet de la pollution anthropique sur la durabilité naturelle fongique du bois d'A. germinans. La perte de masse des échantillons de bois prélevés sur les sites d'Oveng et Ambowè a été mesurée après une exposition de 16 semaines à une dégradation par A / Coriolus versicolor ou B / Poria placenta. Les barres sont la moyenne de 10 répétitions. Les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance à 95%. Les lettres montrent des groupes significativement différents (ANOVA, P ≤0,05, n = 10).

### 3. 5 Recherche de polluants dans le bois

Les sources de pollution qui causent des altérations des populations de palétuvier sont principalement la pollution aux hydrocarbures parmi lesquels on retrouve les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et les métaux lourds ou éléments trace métalliques (ETM). La forte activité de pêche associée au fumage du poisson nous a conduit à nous orienter vers la recherche de ces contaminants dans les sédiments et les bois du site d'Ambowé. En effet le fumage du poisson est une pyrolyse du bois qui génère des HAP (Stołyhwo and Sikorski, 2005) comme la combustion des moteurs diesel qui équipent les pirogues. Le fumage du poisson représente une part très importante de l'exploitation des bois de mangrove en Afrique (Feka and Manzano, 2008) et particulièrement au Gabon et plus particulièrement dans la zone d'Ambowè étudiée (Okanga-Guay et al., 2019). Cette zone peut donc être sujette à une contamination aux HAP issus de la pyrolyse et de la combustion des carburants ainsi qu'aux ETM issus des adjuvants aux huiles de moteurs, peintures des pirogues, etc.

#### 3.5.1 Recherche des HAP

Afin d'investiguer la présence de polluants de type hydrocarbures dans le bois d'*A. germinans*, des extractions au dichlorométhane ont été effectuées. Après séchage les échantillons ont été re-suspendus dans un volume minimal de solvant afin d'obtenir une concentration élevée. La recherche de pollution aux hydrocarbures a été étendue aux sédiments des différents sites. Les abondances en extraits hydrophobes dans les bois et les sédiments des deux sites étudiés sont rapportés dans le tableau 5. Lorsque *A. germinans* se développe sur le site d'Ambowé dont les sédiments contiennent 5 fois plus de composés hydrophobes (paragraphe 3.3.3). Il est donc probable qu'une contamination aux HAP soit présente sur le site d'Ambowé et perturbe la croissance d'*A. germinans*. Il a été montré que lors d'une contamination aux hydrocarbures, *A. marina*, une espèce proche de *A. germinans* accumulait 1642 µg/kg de HAP dans le bois. Le composé majoritairement retrouvé dans le bois est le Phenanthrene (450µg/kg), un HAP à 4 cycles (Naidoo and Naidoo, 2018). Ces travaux montrent un effet fortement délétère des HAP sur la croissance d'*A. marina* mais n'établissent pas de lien avec la différenciation du duramen.

Tableau 5 : Proportions d'extraits contenus dans la fraction hydrophobe. Les valeurs sont la moyenne de 3 extractions indépendantes et les valeurs entre parenthèses indiquent les écarts-type.

	Contenus en extraits hydrophobes (%MS)		
Sites	Sédiments	Duramen	
Ambowè	12,5 (± 4,94)	5 (±0,07)	
Oveng	2,5 (± 2,12)	15,8 (±0,10)	

Afin d'étudier plus précisément la présence des HAP dans les extraits de sols et de bois, une séparation par HPLC couplée à une détection par fluorescence a été effectuée. Cependant, cette méthode n'a pas permis de détecter des composés de type HAP de manière formelle. En effet, la complexité des spectres obtenus n'a pas permis d'identifier avec certitude les standards injectés. Afin de pouvoir analyser de manière plus détaillée la composition des échantillons, des analyses par GC-MS ont été réalisées sur les extraits des échantillons d'Ambowé (pollué) et d'Oveng (non pollué).

Concernant les sédiments, uniquement des fragments de molécules aromatiques (cycles benzénique) ou dérivés du naphtalène ont pu être identifiés dans les sédiments d'Ambowé

(pollué). Ces molécules comme les nombreuses autres identifiées peuvent être issues de la dégradation biotique ou abiotique des composés organiques dans les sols. Il convient alors d'être prudent quant à l'analyse de ces résultats et des analyses complémentaires seraient nécessaires.

Comme la capture et l'accumulation des HAP dans les tiges d'*Avicennia* ont été démontrées (Naidoo and Naidoo, 2018), des analyses GC-MS des extraits obtenus à partir des échantillons de bois ont été effectuées. Les résultats de l'analyse GC-MS sont donnés dans le tableau 6 :

Tableau 6 : Résultats des analyses GC-MS réalisées sur la fraction dichlorométhane des extraits de bois d'A. germinans prélevés sur les sites d'Ambowè (pollué) et d'Oveng (Non pollué).

Extraits Ambowé (pollué)			
Pourcentage	Molecules	Type de composé	Référence biblio/ web
31,5%	Benzaldehyde, 4-hydroxy-3,5-dimethoxy	Dérivé de la lignine	PubChem (NCBI)
16,0%	Dimethyl-1,4,4a,9a-tetrahydroanthracene-9,10-dione	Extractible	(Qiu et al., 2019)
14,1%	Lapachol	Extractible	(Yang and Jaakkola, 2011)
11,4%	1-Propyl-3,6-diazahomoadamantan-9-ol	Extractible	(Al-Gara,awi et al., 2019)
9,9%	4a,10a-Methanophenanthren-9β-ol, 11-syn-bromo-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahydro	Phenanthrene (HAP)	
6,8%	Dehydro-alpha-lapachone	Extractible	PubChem (NCBI)
3,0%	Benzeneethanamine,3,4,5-trimethoxy-N-methyl	Extractible	(Helmlin et al., 1992)
3,0%	11H-Indolo[3,2-g]indolizine, 1,2,3,5,6,11b-hexahydro-2,11b-dimethyl	Extractible	(Lood and Koskinen, 2015)
1,6%	Acethydrazide, 2-(2-benzothiazolylthio)-N2-(3-fluorobenzylideno)-	Polluant organique	(Lempart et al., 2020)
1,4%	3,5-Dimethoxy-4-hydroxycinnamaldehyde	Dérivé de la lignine	PubChem (NCBI)
1,3%	1b,4a-Epoxy-2H-cyclopenta[3	Extractible	PubChem (NCBI)
Extraits Oven	g (non pollué)		
Pourcentage	Molecules	Type de composé	Référence biblio/ web
78,9%	1H-Indene-1,3(2H)-dione, 2-(2-methylbutylidene	Extractible	PubChem (NCBI)
11,5%	5-Methoxy-2-nitro-10H-acridin-9-one	Extractible	PubChem (NCBI)
9,7%	lapachol	Extractible	(Yang and Jaakkola, 2011)

Le bois des arbres se développant sur le site d'Ambowè dont les sédiments sont riches en contenus hydrophobes dont certains pourraient être des HAP sont pauvres en extractibles hydrophobes (paragraphe 3.3.3). La présente analyse ne révèle la présence que du Phénathrène dans ces échantillons.

Les HAP ont une origine principalement pyrolytique (fumage du poisson et combustion des moteurs). Lorsqu'ils sont présents dans les sols c'est principalement sous la forme complexée à des sédiments, des biofilms ou encore à des surfactants (Wick et al., 2011). Le site d'Ambowè est soumis à une pollution multiple dont les eaux usées qui contiennent des surfactants qui peuvent augmenter la mobilité et la biodisponibilité des HAP. La notion de biodisponibilité et donc de toxicité implique différents facteurs dont l'organisme receveur. Considérés

ensembles, ces résultats suggèrent un fort effet délétère d'une pollution organique de type HAP sur la microfaune sédimentaire. Cela se traduit par une accumulation de composés hydrophobes dans ces derniers (faible dégradation de la matière organique). Les HAP ont également un effet toxique sur les palétuviers mais ils ont une tendance à s'accumuler plutôt dans les racines chez *Avicennia* (Naidoo and Naidoo, 2018). Cela explique probablement leur faible abondance dans les échantillons collectés sur le site d'Ambowè mais n'exclue pas leur effet toxique sur la différenciation du duramen.

## 3.5.2 Recherche et quantification relative d'éléments trace métalliques dans les différents échantillons.

*A. germinans* utilise une stratégie de filtration et dilution des éléments polluants dans la sève brute ainsi qu'une élimination par les glandes foliaires (cf paragraphe 1.3.3). Ainsi il est probable que le fonctionnement des cellules du cambium et des parenchymes produisant des extractibles soient altérés par la présence de quantités légèrement trop importantes de métaux lourds dans le bois. Ref (métaux lourds<-> cambium/diamètre vaisseaux). De plus, les cations divalents (Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>...) peuvent en fonction du pH, de l'essence (composition relative en polymères pariétaux) et de l'élément considéré se fixer dans le bois avec des affinités très variables. L'adsorption du Cu<sup>2+</sup> dans la sciure de hêtre est très différente de celle du Ni<sup>2+</sup> (Božić et al. 2013). La présence d'éléments traces métalliques comme le cuivre, le fer ou le Manganèse peut favoriser la croissance et stimuler les mécanismes de dégradation chez champignons basidiomycètes lignivores (Baldrian, 2003; Baldrian et al., 2005).

Afin de déterminer si les altérations de durabilité peuvent résulter d'une synergie de perte de propriétés (augmentation de la microporosité, diminution de la quantité d'extractible et d'une augmentation de contenus minéraux une recherche sans *a priori* d'éléments traces métalliques a été réalisée dans les différents échantillons. Les éléments Ca, Cl, Cr, Cu, Fe, K, Mn, Ni, S, Sr ,Zn, K, S, Pb, P, Mg, Al, Si ont pu être détectés par spectrométrie de dispersion d'énergie électronique (EDS) et par microfluorimétrie rayons X (XRF) dans des pastilles réalisées à partir de bois broyé. Les analyses globales des contenus en ETM sont rapportées sur la figure 50. Les ETM représentent de 2,56 ± 0,09% à 4,23± 0,18 % des éléments du bois dans l'aubier des bois d'Ambowè et d'Oveng, respectivement. De manière intéressante, l'aubier du bois d'Oveng contient significativement plus d'éléments minéraux que celui

d'Ambowè. Les duramens (ou la zone du bois située au cœur de l'arbre dans le cas du site d'Ambowè) ne diffèrent pas en termes de contenu en ETM.



Figure 51 : Analyse globale du contenu en éléments minéraux dans les compartiments de bois collectés sur les sites d'Ambowè (pollué) et Oveng (non pollué). Les lettres montrent les groupes significativement différents (ANOVA, p ≤0,05, n=9).

L'analyse détaillée de la composition en ETM détectés dans les différents échantillons est reportée sur le graphique de la figure 51.



Figure 52 : Contenu en ETM mesuré par µXRF dans l'aubier et le duramen de bois collectés sur les sites d'Oveng (non pollué) et Ambowè (pollué). L'encadré montre la quantification des éléments les moins abondants.

Les éléments majoritaires identifiés sont le Chlore (Cl), le potassium (K) et le calcium (Ca). Ce sont des minéraux fréquemment rencontrés dans le bois et liés à la physiologie de la plante. Chez les arbres, le calcium est souvent présent sous forme de cristaux. L'observation du duramen d'*A. germinans* prélevé sur le site d'Ambowé et d'Oveng ont en effet montré la présence de cristaux contenant du calcium (figure 52).





Figure 53 : Cartographie EDS réalisée sur un échantillon du site d'Ambowé. Le rouge indique l'abondance du calcium identifié sur le spectre (raie Kα à 3,69 keV) sur la zone observée.

De manière intéressante le contenu en Ca est plus faible dans l'aubier du bois d'A. germinans prélevé sur le site pollué d'Ambowé que dans les autres bois analysés. De même, alors que pour le site d'Oveng les contenus en K et Cl sont significativement plus élevés dans l'aubier que dans le duramen, il n'y a pas de différence de contenu pour ces éléments entre l'aubier et le duramen dans le bois prélevé sur le site pollué d'Ambowè. Ces éléments sont rencontrés en quantité inférieure dans les bois pollués que dans les bois sains. Les quantifications de Mg, Mn, P et S suivent la même tendance. Tous ces éléments sont essentiels au développement des palétuviers. De plus, il a été montré chez l'épicéa (Picea abies) que le Ca joue un rôle important dans la chélation des métaux lourds comme le cuivre (Österås and Greger, 2003). Comme l'aubier est la partie vivante de l'arbre, ces données suggèrent une altération des fonctions physiologiques primaires telles que photosynthèse et le transport de la sève brute dans les arbres confrontés à la pollution. Le cuivre est quant à lui 2,69 fois plus abondant dans l'aubier des bois pollués que dans celui des bois sains. Ces résultats sont à mettre en perspective avec les travaux de (MacFarlane et al., 2003). Il a en effet été montré que l'accumulation de Cu dans les sédiments avait un fort effet délétère sur le fonctionnement racinaire et sur la production de biomasse chez Avicennia marina, une espèce proche d'A. germinans. Les auteurs ont établi que la concentration efficace médiane (CE<sub>50</sub>), c'est-à-dire la

concentration pour laquelle 50% de l'effet toxique maximal est observé vaut 386 µg de Cu/g de sol. Par ailleurs, la translocation du cuivre des racines vers le tronc et les feuilles existe mais celle-ci est faible et le ratio de la concentration en [Cu] <sub>feuilles</sub>/ [Cu] <sub>racines</sub> vaut 0,04 ce qui pourrait expliquer les faibles concentrations détectées dans le bois.

En conclusion, il semble que des ETM tels que le cuivre soient présents dans les sédiments sur le site d'Ambowè. Il est possible que ces derniers perturbent la physiologie d'Avicennia lorsqu'ils sont combinés avec d'autres polluants. Toutefois les ETM restent très peu abondant dans le compartiment bois.

## 3. 6 Analyse des effets de la pollution aux ETM

# 3. 6. 1 Effets de la pollution aux ETM sur la durabilité naturelle du bois d'Avicennia germinans

Les résultats qui suivent sont en partie publiés dans l'article Investigation of the Anatomical Variability of the Trunk and Root Tissues of *Rhizophora racemosa* (G. Mey) and *Avicennia germinans* (Linné): A Bioaccumulation of Heavy Metals and Pollution Effects on Mangrove Trees Study, Mabicka Iwangou et al., 2020 en annexe de ce document.

L'objectif de cette partie de l'étude est de tester l'influence de la pollution aux métaux lourds (ETM) sur la durabilité naturelle du bois. Pour cela, l'essence de palétuvier choisie a été *A. germinans* en raison de ces mécanismes d'adaptation. En effet, les palétuviers du genre *Rhizophora* pratiquent l'exclusion racinaire. Il y a donc peu de chance de pouvoir détecter des ETM dans le bois de Rhizophora. Le site d'étude pollué est le site d'Alenakiri situé proche d'une décharge municipale à ciel ouvert (voir paragraphe 2.2.2). Le contenu en ETM et la durabilité naturelle du bois ont été évalués comme mentionné au paragraphe 3.5.2. Les résultats de la quantification des ETM dans le bois sont représentés sur le graphique de la figure 53.



Figure 54 : Composition en ETM détectés par µXRF dans les échantillons d'aubier (sapwood) ou de duramen (heartwood) prélevés sur les sites d'Oveng (non pollué) et d'Alenakiri (pollué).

Les mesures font apparaître une plus importante accumulation des ETM dans l'aubier que dans le duramen indépendamment de la pollution. Pour le site d'Oveng (non pollué) l'accumulation en ETM est 1,26 fois plus importante que dans le duramen et pour ce ratio augmente à 1,7 pour le site pollué d'Alenakiri. Il est alors pertinent de distinguer les deux compartiments du bois pour les analyses. L'aubier (partie vivante de l'arbre) est particulièrement intéressant car c'est le compartiment où les différences d'accumulation des ETM sont les plus significatives entre les 2 sites étudiés. Tout d'abord, les marqueurs physiologiques tels que le Ca, le Cl ou le K sont beaucoup plus abondants dans les échantillons d'Alenakiri (pollué) que dans ceux d'Oveng (non pollué). Cela témoigne d'une activité de chélation (Ca) et d'un flux de sève plus important dans ces échantillons. Les éléments Mn, Cu, Ni et Cr sont également particulièrement abondants dans les échantillons d'aubier issus du site d'Alenakiri (pollué) en comparaison de ceux issus du site non pollué d'Oveng. Cela suggère fortement l'existence d'une pollution aux ETM dans les sédiments et l'eau mais ces derniers ne semblent pas s'accumuler durablement dans le bois. En effet, aucune différence significative entre les sites n'a été notée pour ces éléments dans les duramens des bois considérés.

Afin d'évaluer l'effet de la pollution aux ETM sur la durabilité des bois face aux champignons lignivores, des tests de dégradation selon la norme (XP CEN/TS 15083-1, 2006, pp. 15083–1) ont été effectués. Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau 7.

96

Tableau 7 : Pertes de masse pour les échantillons d'aubier et de duramen prélevés sur les sites d'Oveng (non pollué) et d'alenakiri (pollué) et soumis à une attaque par une pourriture brune Rhodonia. Placenta (R. placenta) et blanche Coriolus. Versicolor (C. versicolor). N =12 répliquats. Les lettres indiquent les échantillons significativement différents par colonne (ANOVA,  $p \le 0,05$ ;n=20)

Site	Perte de masse (%)		
	R. placenta (%)	C. versicolor (%)	
Alénakiri-Aubier	5.6±1.9ª	52.4±19.5 <sup>e</sup>	
Alénakiri-Duramen	2.2±1.0 <sup>b</sup>	13.9±9.1 <sup>f</sup>	
Oveng-Aubier	15.8±9.7 <sup>c</sup>	43.7±12.2 <sup>e</sup>	
Oveng -Duramen	3.5±1.6 <sup>d</sup>	8.7±4.3 <sup>f</sup>	

Les pertes de masse sont plus importantes lorsque le bois est attaqué par C. versicolor que par R. placenta. Comme attendu l'aubier est d'avantage dégradé que le duramen quel que soit le site étudié. Il faut rappeler que les bois sont à aubier différencié sur les deux sites étudiés. De manière surprenante, la pollution diminue significativement la dégradation du bois par P. placenta d'un facteur 2,82 dans l'aubier et 1,5 dans le duramen. En revanche la pollution n'affecte pas significativement la dégradation par C. versicolor qui dégrade 3,76 fois plus efficacement l'aubier que le duramen sur le site d'Alenakiri. Les résultats de dosage des ETM ont mis en évidence une concentration plus importante de Cu, Ni, Mn et Cr dans l'aubier des bois d'Alenakiri. Les contenus en extractibles ne sont que peu affectés. Il est donc possible de conclure que la pollution aux ETM sur le site d'Alenakiri affecte de manière différentielle la dégradation du bois par les champignons. Le Cr a été utilisé dans les produits de préservation comme agent de fixation du Cu qui joue un rôle de biocide. Les pourritures brunes sont connues pour développer des mécanismes de résistance extracellulaire au cuivre qui mettent en jeu la réaction de Fenton et la chélation du cuivre par l'oxalate (Green and Clausen, 2005; Green III and Clausen, 2003). Cependant, cette réaction est dépendante de la présence de Fer et la quantité de fer ne varie pas significativement entre les échantillons étudiés quel que soit le compartiment analysé (figure 54).

Il est alors possible que l'accumulation de cuivre mime un traitement du bois que le champignon n'arrive pas à contourner. Il devient alors intéressant de s'intéresser à la tolérance de *C. versicolor* à la pollution aux ETM. Afin de pouvoir étudier ce phénomène, il est nécessaire de pouvoir contrôler les quantités de métaux présents dans les échantillons de bois soumis à dégradation. C'est pourquoi le système Hêtre/*C. versicolor* a été utilisé.

97

# 3.6.2. Utilisation du modèle hêtre / C. versicolor dans l'évaluation de l'effet des ETM sur la dégradation du bois.

Les résultats mentionnés dans ce paragraphe sont extraits d'un stage de de master qui s'est déroulé de manière concomitante à la thèse.

Le hêtre (*Fagus sylvatica*) a été choisi car il s'agit d'un bois non durable et facilement imprégnable (EN 350, 2016, p. 350). Il est également utilisé comme contrôle de virulence pour *C. versicolor* dans le cadre de l'évaluation de la durabilité naturelle ou conférée des bois (EN 113, 1996, p. 113; XP CEN/TS 15083-1, 2006). Les expériences ont consisté à imprégner des solutions aqueuses de sels minéraux contenant du Manganèse (Mn), du Cuivre (Cu) et du Fer (Fe). Ces éléments ont été choisis car ils jouent un rôle important dans les mécanismes enzymatiques et non enzymatiques du bois (Baldrian, 2003; Baldrian et al., 2005). En effet, le Fe est le groupement prosthétique des lignine péroxydase (LiP), le Manganèse celui des manganèse peroxydases (MnP) et de certaines péroxydases versatiles (VP) et enfin le cuivre est essentiel à l'activité catalytique des laccases (Lacc). Ces enzymes sont nécessaires à la dégradation de la lignine par *C. versicolor* et présentes en multiples copies dans le génome du champignon (Floudas et al., 2012).

# 3.6.2.1 Effet des ETM sur la croissance de C. versicolor

Afin de déterminer l'impact des minéraux en conditions d'accessibilité biologique élevée sur la croissance de *T. versicolor*, des milieux malt/agar contenant une gamme de concentration en éléments Fe, Mn et Cu (comme le montre le tableau 2) ont été réalisées. Les mesures des diamètres des colonies ont permis de tracer les courbes suivantes de la figure 55.



Figure 55 : Développement de T. versicolor CTB863A sur un milieu malt-agar contenant les éléments minéraux Mn, Fe et Cu sous la forme A) Fe3+, B) Fe2+, C)Mn2+ et D) Cu2+. Chaque point est la moyenne de 9 valeurs. Les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance à 95%.

Ces courbes montrent que les concentrations les plus élevées ont un effet qui peut aller d'inhibiteur de croissance à létal sur les deux champignons. En revanche, des effets stimulateurs ont été observés pour les concentrations plus faibles. Ces résultats sont en accord avec ceux décrits dans la littérature. Il a été montré que la pourriture blanche a besoin des minéraux en traces et que la quantité élevée de ces derniers est toxique et inhibitrice pour le champignon engendrant des modifications morphologiques et physiologiques du mycélium (Baldrian, 2003; Lorenzo et al., 2006). Le calcul des vitesses de croissance de *T. versicolor* sur la partie linéaire des courbes montre une augmentation de près de 30 % en présence dès la présence de Mn et Cu à des concentrations de 10<sup>-8</sup>M. Ces éléments constituent en effet des cofacteurs minéraux utilisés par de nombreuses enzymes du métabolisme primaire. A concentration équivalente (10<sup>-5</sup>M), le FeSO<sub>4</sub> exerce une action stimulante supérieure à celle du FeCl<sub>3</sub>.

Les champignons de pourritures sont capables de retirer les minéraux à partir de leur environnement et de les précipiter sous forme d'oxalate dans les hyphes (Low et al., 2000). Selon (Jarosz-Wilkolazka and Gadd, 2003) et (Connolly et al., 1999) cet acide oxalique est une méthode élaborée par les champignons lignivores pour rependre aux stress des concentrations élevées en métaux lourds. Il a été montré que *T. versicolor* est capable de former des cristaux lorsqu'il est cultivé sur un milieu avec concentrations élevées en ions métalliques (Dutton et al., 1993). Le rôle de cet acide oxalique sécrété par les champignons lignivores, est essentiellement de chélater et de stabiliser les ions métallique mais également de rééquilibrer le pH afin de détoxifier les effets de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produit par les péroxydases (Perez and Jeffries, 1993).

## 3.6.2.2 Caractérisation initiale des échantillons de bois imprégnés

Selon (Božić et al., 2013), la fixation des minéraux dans le bois dépend des nombreux facteurs tels que le pH ou l'essence. Afin de déterminer les quantités des éléments minéraux fixés dans les éprouvettes de hêtre imprégnées avec des solutions minérales jumelles de celles soumises à la dégradation biologique, des analyses par ICP-OES (inductively coupled plasma optical emission spectrometry) ont été réalisées après une minéralisation acide. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 8.

Les résultats obtenus montrent que la quantité des minéraux dans le bois suit le gradient de concentration des solutions utilisées pour l'imprégnation. Cependant on remarque que la capacité de fixation des minéraux du bois de hêtre est faible puisqu'on retrouve  $10^3$  à  $10^4$  fois moins de minéraux dans le bois que dans solution d'imprégnation. Le hêtre tend à fixer d'avantage le fer issu de la solution de FeCl<sub>3</sub> (ions Fe3+) que celui issu de la solution de FeSO<sub>4</sub> (ions Fe2+).

Tableau 8 : Quantification des différents éléments présents dans les éprouvettes de bois en partie par milliard (ppm). Les éléments d'intérêt sont indiqués en rouge. Chaque valeur est la moyenne de 3 mesures

Elément dosé				
Echantillons	Concentration utilisée pour l'imprégnation (mol/l)	Fe (ppb)	Mn (ppb)	Cu (ppb)
Т	0	50	11	6
	10-2	957	63	7
FeSO4	10-3	234	57	8
16304	10-4	74	40	8
	10-5	61	54	8
	10-2	1043	44	7
	10-3	308	76	8
Facila	10-4	109,6	58	10
	10-5	63,28	50	7
	7*10-2	65	5060	9
	7*10-3	59	338	7
	7*10-4	62	1173	10
MnCl2	7*10-5	58	225	9
	7*10-6	55	122	9
	7*10-7	56	130	9
	7*10-8	51	81	9
CuSO4	8,7*10-4	47	35	661
	8,7*10-5	59	81	181
	8,7*10-6	45	91	55
	8,7*10-7	48	75	12
	8,7*10-8	56	58	24
	8,7*10-9	53	47	10

.

## 3. 6. 2. 3 Analyse de la dégradation de bois imprégnés avec des ETM par C. versicolor

Afin d'évaluer l'impact des minéraux sur la dégradation du bois par *T.versicolor*, des expériences de perte de masse ont été menées selon le protocole de la norme EN 113 modifié. Des éprouvettes imprégnées par les différents minéraux ont été soumises à une dégradation par *T.versicolor* pendant 5 semaines. Les pertes de masse ont ensuite été mesurées. Les résultats obtenus sont reportés sur la figure 56.



*Figure 56 : Pertes de masse des éprouvettes imprégnées ou non par les différentes solutions de minéraux après 5 semaines de dégradation par T. versicolor. Moyenne de 6 éprouvettes répliquée 3 fois. Les barres d'erreurs sont les intervalles de confiance à 95%.* 

Les minéraux contenus dans les échantillons engendrent des différences de perte de masse significatives avec les témoins. On observe différents types de profils. Pour le Cu et le Mn les pertes de masses suivent une répartition selon une courbe normale. Il y a donc un optimum de concentration qui favorise la dégradation du bois par *C. versicolor*. Ces concentrations optimales sont de 7.10<sup>-5</sup>M pour Mn et 8,7.10<sup>-6</sup>M pour Cu. En revanche le Fe III a une action de type logarithmique sur la perte de masse : dès que la concentration excède 10<sup>-5</sup>M, la perte de masse diminue très fortement. Pour le Fe II, seul un effet inhibiteur à forte concentration peut être observé.

Bien que peu documenté dans la littérature et présents à de très faible concentration à l'état naturel dans le bois, les éléments minéraux semblent influencer la physiologie de la dégradation du bois par *C. versicolor*. Si les solutions d'imprégnation aux concentrations les plus faibles (inférieure à 10<sup>-4</sup>M, soit 10<sup>-8</sup>M dans le bois) semblent stimuler la dégradation du bois, les concentrations les plus élevées (>10<sup>-2</sup>M) sont inhibitrices pour le champignon.

# 3. 7 Influence de la pollution sur les propriétés des bois de Rhizophora racemosa

Les palétuviers du genre Rhizophora ont développé des adaptations qui permettent à la plante de filtrer les ions présents dans l'eau de mer et les sédiments. *R. racemosa* a développé des racines échasses qui excluent 90% de sel par un mécanisme proche de l'ultrafiltration (Tomlinson, 1994). Il n'y a donc que très peu de contenu minéral qui transite dans le tronc de l'arbre.

# 3. 7. 1 Analyse macroscopique

Le bois de *R. racemosa* est à aubier différencié. Or, du point de vue macroscopique, les bois de *R. racemosa* collectés sur le site d'Ambowè (site pollué aux HAP) présentent un bois à aubier non différencié, contrairement aux bois issus du site d'Ayémé maritime (site non pollué) et du site d'Alenakiri (pollué aux ETM) (figure 57).



Figure 57 : Vue macroscopique des rondelles de bois de R. racemosa collectés à Ayémé (NP), Ambowè (Pollué) et Alenakiri (Pollué) de gauche à droite. Aubier non différencié (ND), aubier différencié (D).

## 3. 7. 2 Influence de la salinité et de la pollution sur la densité de vaisseaux

Afin d'évaluer les effets de la salinité et de la pollution sur les propriétés anatomiques du bois de *R. racemosa*, les échantillons de bois collectés sur les sites non pollués de Mamboumba (zone protégée) et Ayémé maritime ont été comparés à des échantillons collectés sur les sites d'Alenakiri (décharge municipale) et Ambowé (zone d'activité portuaire). De plus, les salinités des sédiments diffèrent entre les différents sites. Les sites d'Ayémé maritime (non pollué), Alenakiri (pollué), Mamboumba (non pollué) et Ambowè (pollué) sont caractérisés par des salinités de 38,5 g/L, 17, 25 g/l, 16,24 g/l et 29,3 g/l respectivement. Pour évaluer la densité de vaisseaux, des observations en microscopie à épiscopie des faces transversales des échantillons ont été effectuées et ont permis de tracer le graphique de la figure 58.



Figure 58 : Histogramme de densités des vaisseaux (duramen) observés sur les coupes transversales du bois de R. racemosa collectés sur les sites pollués en rouge (Alenakiri et Ambowé) ou non pollués en vert (Ayémé et Mamboumba). La salinité des différents sites est indiquée par la ligne noire (axe de droite).

Le graphique de la figure 58 nous révèle que la densité de vaisseaux est significativement plus élevée (*test de student; p \leq 0,0001,n=15*) pour les échantillons de bois collectés sur le site d'Ayémé maritime, ayant une salinité élevée de 38,5 g/l avec les valeurs de 38,92 ± 6,15/mm<sup>2</sup> contre 27,01 ± 4,46 mm<sup>-2</sup> pour le site de Mamboumba ayant une faible , salinité de 16,24 g/l. Ces résultats sont en cohérence avec les études précédentes (Robert et al., 2009) et traduisent le fort impact de la salinité sur la densité de vaisseaux. En présence de pollution, les échantillons de bois prélevés sur des arbres issus des sites pollués d'Ambowè ne semblent plus capables de se développer normalement. En effet, la densité vasculaire devrait être supérieure à celle du site non pollué de Mamboumba du fait d'une salinité plus élevée. Cependant, les observations montrent que la densité de vaisseaux est très faible (20,15 ± 4,03 mm<sup>-2</sup>) alors que la salinité des sédiments est élevée (29,3 g/L).

Considéré ensemble, ces données suggèrent un fort effet de la pollution sur le site d'Ambowè. Ainsi comme Rhizophora a une stratégie d'exclusion des ions et que les extractions réalisées sur les sédiments ont montré une forte concentration en extraits organiques (tableau 5), il est probable que la pollution sur le site d'Ambowè soit de nature organique et affecte la physiologie de Rhizophora de manière similaire à ce qui se produit lors de marée noire. Les palétuviers sont alors littéralement asphyxiés (Duke, 2016). Ainsi dans la suite de l'étude, il serait intéressant de comparer les sites d'Ayémé maritime et d'Ambowè qui ont un plan ligneux très contrasté malgré leur salinité élevée. Le site d'Alenakiri est comparable à celle de Mamboumba en raison de leur salinité presque similaire. Le bois de R. racemosa collecté sur le site de Mamboumba est caractérisé certes par une densité de vaisseaux plus importante (27,01 ± 4, 46 mm<sup>-2</sup>) par rapport à celle du bois de *R. racemosa* collecté sur le site d'Alenakiri  $(23,90 \pm 4,53 \text{ mm}^{-2})$ , mais cette différence de densité de vaisseaux n'est pas significative (*test* de student, p-value  $\geq$  0,05, n=15). Or, la circonférence de l'arbre (DHP) collecté à Alenakiri est de 145 cm contre 70 cm pour le bois collecté à Mamboumba Cela suggère un effet de la pollution sur la salinité des sédiments d'Alenakiri, et qui pourrait entraîner une diminution de la densité vasculaire dans le bois.

# **<u>3</u>**. 7. 3 Analyses de l'effet de la pollution sur les propriétés physiques des bois de *Rhizophora racemosa*

### 3. 7. 3. 1 Mesure de l'infradensité

*Rhizophora racemosa* est un feuillus homogène, afin d'évaluer si les différences de densité en vaisseaux ont un effet sur les propriétés physiques de *R. racemosa*, les infradensités (rapport entre la masse anhydre et le volume saturé en eau de l'échantillon) des échantillons de bois collectés sur les sites d'Ayémé maritime (non pollué) et Ambowé (pollué) ont été évaluées selon Bakour (2003). Ces sites ont été choisis parce que les deux sites ont une salinité
élevée. Cela permet donc d'évaluer uniquement l'effet de la pollution sur le bois. Les résultats de cette analyse sont rapportés sur la figure 59.



Sites de prelèvement

Figure 59 : Infradensité des duramens des bois de R. racemosa prelevés à Ayémé maritime (sites non pollué), et à Ambowè (site pollué) (test de student;  $p \ge 0.05$ , n = 21)

Après analyse, l'infradensité des échantillons des bois de *R. racemosa* prelevés sur les sites polyhalin à savoir Ayémé maritime (38,5 g/l) et Ambowè (29,3 g/l) ne sont pas significativement différents (*test de student;*  $p \ge 0,05$ ). Cependant, les bois collectés à Ambowè ont une infradensité plus élevée. On note également une large dispersion des valeurs sur le site d'Ayémé maritime qui reflète la variabilité naturelle. Cette augmentation d'infradensité pourrait être corrélée à la faible densité de vaisseaux dans les bois prélevés sur ce site d'Ambowè (figure 58). Comme la densité du bois est en grande partie liée à la porosité du bois au niveau des vaisseaux, celle-ci a été mesurée.

### 3. 7. 3. 2 Mesure de la densité des bois

Les mesures de densité ont été analysées en laboratoire sur les échantillons de bois usinés de 20 mm x 20 mm x 30 mm provenant des sites polyhalin d'Ayémé maritime (non pollué) et Ambowè (pollué). Les résultats de cette analyse sont matérialisés sur la figure 59.



Sites de prelèvement

Figure 60: Densité des duramens des bois de R. racemosa prelevés à Ayémé maritime (site non pollué) et Ambowè (site pollué).

Bien que la variabilité pour les échantillons d'Ayémé maritime reste importante, la densité du bois issue du site pollué (Ambowè) est plus importante significativement (*test de student ; p*  $\leq$  0,05, n=15). Cette densité de bois élevée est étroitement liée à sa faible densité de vaisseaux.

# 3. 7. 3. 3 Analyses de l'effet de la pollution sur les propriétés chimiques du bois de *Rhizophora racemosa*

### 3. 7. 3. 3. 1 Spectrométrie infrarouge proche

Les effets de la pollution sur les propriétés physico-chimiques de *R. racemosa* ont été évalués par spectrométrie proche infrarouge. Pour cela des échantillons de 10 mm x 5 mm x 20 mm ont été utilisés pour réaliser l'acquisition de spectres proche infrarouge (NIRS) sur le plan radial. Les résultats de cette analyse sont indiqués sur la figure 61.



Figure 61 : Analyses des spectres NIRS effectués sur les échantillons de bois (duramen) de R. racemosa collectés sur les sites d'Ayémé maritime (Non pollué) et Ambowè (Pollué). A noter la différenciation nette du cluster d'échantillons de duramen du site d'Ambowé (ellipse jaune). Les aubiers différenciés du site d'Ayémé maritime (non pollué) ont été ajoutés pour comparaison.

L'analyse en composante principale des spectres montre 3 groupes d'échantillons : Le premier est constitué par l'aubier différencié du site d'Ayémé maritime. Le second comporte les duramens des sites pollué (Alenakiri) et non pollué (Ayémé maritime). Ces bois sont tous deux caractérisés par un duramen plus coloré que l'aubier. Il est donc très probable que les compositions en extractibles ne soient que très peu altérées dans les échantillons d'Alenakiri. En revanche, les échantillons de duramen du site d'Ambowè forment un groupe à part, distinct



à la fois des duramens différenciés et de l'aubier d'Ayémé maritime. L'analyse des spectres moyens sur la plage de nombres d'ondes étudiée ne montre que peu de différence (figure 61)

Figure 62 : Spectres moyens (dérivée seconde) des échantillons collectés sur les sites pollués (Alenakiri et Ambowé) ou non pollué (Ayémé).

### 3. 7. 3. 3. 2 Analyses des extractibles

Afin d'évaluer l'impact de la pollution sur le contenu en extractibles des bois, des extractions séquentielles (solvants de polarités croissantes) ont été réalisées sur les sciures de bois *de R. racemosa* prélevés sur les différents sites. Les résultats de cette analyse sont présentés sur la figure 62.



Figure 63 : Analyses des contenus en extractibles effectués sur les échantillons de bois (duramen) de R. racemosa collectés sur les sites d'Ayémé (Non pollué) et Ambowè (Pollué). Les astérisques indiquent les différences significatives (test de student,  $p \le 0,05$ , n=3)

Les résultats révèlent une diminution significative de la teneur en extractibles dans les fractions apolaires (hexane) et Toluène-Ethanol du bois collecté à Ambowé (pollué) par rapport au bois prélevé à Ayémé maritime (non pollué). L'analyse en GC-MS de ces fractions a montré la diminution de composés organophosphorés comme le Cyclohexyl propylphosphonofluoridate et ses dérivés connus pour être présents dans les tissus de Rhizophora et avoir une activité insecticide (Kabaru and Gichia, 2009). Par ailleurs, des composés à forte activité fongicide comme l'Asarone ne sont plus détectables dans le duramen des échantillons des bois d'Ambowé. L'activité fongicide de la faction Toluène-Ethanol a été démontrée sur les *Chaetomium globosum* et *Gloephyllum trabeum* deux champignons qui causent la pourriture molle et brune chez Rhizophora (Salim et al., 2020). Ces résultats suggèrent que la pollution présente sur le site d'Ambowé affecte sélectivement le contenu en extractibles chez *R. racemosa* et plus particulièrement ceux contenus dans la fraction éthanolique.

#### 3. 7. 3. 3. 3 Caractérisation du contenu en éléments traces métalliques

Les éléments traces métalliques peuvent grandement affecter la physiologie des palétuviers. Bien que les palétuviers du genre Rhizophora développe des stratégies d'exclusion pour se développer dans les eaux saumâtres de la mangrove, il est possible que la combinaison des sources de pollution présentes sur le site d'Ambowè affecte cette capacité d'exclusion. Le passage non régulé d'ETM se traduirait alors par une accumulation dans le bois. Par ailleurs l'analyse des ETM peut aussi révéler un effet de la pollution sur le fonctionnement physiologique de l'arbre. Afin d'investiguer le contenu en ETM du bois de Rhizophora, des pastilles de bois broyé ont été analysés par micro XRF. L'analyse des contenus globaux en ETM pour les échantillons de bois collectés sur les sites d'Ambowè (pollué) et d'Ayémé maritime (non pollué) a été réalisé dans le compartiment aubier et dans le compartiment duramen. Les résultats sont représentés sur le graphique de la figure 64.



Figure 64 : Analyse globale du taux d'ETM dans les bois de R. racemosa prélévés sur les sites d'Ayémé maritime (non pollué) et d'Ambowè (pollué).

Les résultats font apparaître une diminution significative du contenu en éléments inorganiques dans les échantillons collectés sur le site d'Ambowè (pollué). Ce résultat peut paraître surprenant mais semble indiquer une perturbation de la physiologie de l'arbre induite par la pollution. L'analyse détaillée des éléments détectés et considérés dans la figure 64 a été reportée sur la figure 65.



Figure 65 : Analyse des ETM dans les bois de Rhizophora.

Les analyses montrent une diminution du niveau de calcium et de chlore dans les bois collectés sur le site d'Ambowé par rapport aux échantillons d'Ayémé maritime (non pollué) notamment dans le duramen. Les autres éléments analysés ne diffèrent pas significativement (*Anova*,  $p \ge$ 0,05) entre les échantillons collectés sur les sites étudiés. Seul le potassium est plus élevé dans le bois d'Ambowè. Cela indique que les ETM ne s'accumulent pas dans le bois d'Ambowè bien qu'il semble que la physiologie globale des palétuviers soit affectée. Afin d'évaluer l'impact de la pollution sur les propriétés intrinsèques du bois, la résistance mécanique et la durabilité naturelle des différents échantillons ont été évaluées.

## 3. 7. 4 Test de dégradation du bois par des champignons et essais de compression axiales

### 3.7.4.1 Test de dégradation du bois par des champignons

Afin d'évaluer l'impact de la pollution sur la durabilité naturelle des bois de *R. racemosa*, (10 mm x 5mm x 20 mm) les pertes de masse obtenues lors de l'exposition des éprouvettes de bois (duramens) aux champignons *Coriolus versicolor*, et *Rhodonia placenta* pendant 4 mois ont été évaluées. Les résultats obtenus de cette analyse sont consignés dans le tableau 9.

Champignons	Sites	Pertes de masse (%)	P-value
Coriolus versicolor	Ayémé	17,5± 9,77	0,16
	Ambowè	21,07± 8,6	
Rhodonia placenta	Ayémé	4,83± 3,7	0,0007
	Ambowè	17,09± 7,3	

Tableau 9 : Durabilité naturelle des bois de R. racemosa collectés sur les différents sites d'Ayémé (non pollué) et d'Ambowè (pollué).

Les résultats rapportés dans le tableau 9 révèlent qu'il n'y a pas de différences significatives (test de student ;  $p \ge 0.05$  ; n=20) en termes de pertes de masse à l'attaque par Coriolus versicolor sur des échantillons de bois prélevés sur les différents sites. De plus, les faibles pertes de masse enregistrées sur les échantillons non pollué (17,5 ± 9,77%) ou pollué (21,07 ± 8,6%) classent ces bois comme faiblement durable (DC 4) selon la norme (EN 350, 2016, p. 350). Les pertes de masse mesurées sur les éprouvettes de contrôle de virulence (42,5 ± 1,62%) sont conformes à la norme (XP CEN/TS 15083-1, 2006, pp. 15083–1). La perte de masse est significativement plus élevée (*test de student* ;  $p \le 0,001$  ; n=20) pour les échantillons de bois issus du site d'Ambowè (pollué) suite à une attaque par Rhodonia placenta par rapport à ceux collectés sur le site d'Ayémé maritime (non pollué). En effet, la perte de masse mesurée (4,83 ± 3,7%) sur les échantillons non pollués classe le bois de R. racemosa comme très durable (DC1). En revanche, en présence de pollution, la durabilité chute faiblement durable (DC 4) avec une perte de masse moyenne de  $17,09\pm7,3\%$ . Les pertes de masse (66,36  $\pm$  1,93%) des éprouvettes contrôles de virulence sont une nouvelle fois conformes à la norme XP CEN/TS 15083-1, 2006, pp. 15083–1). Rhodonia placenta cause des dommages de type pourriture brune au bois. Nous avons montré que le contenu en extractibles avec une activité fongicide ou fongistatique est significativement diminué dans les bois collectés sur le site pollué d'Ambowé et que ces derniers sont connus pour avoir une activité fongicide contre les pourritures brune et molle. Ainsi, il est raisonnable de conclure que la perte de durabilité observée en réponse à la pollution est liée à une diminution du contenu en extractible dans les échantillons de bois pollués.

#### 3. 7. 4. 2 Essais de compressions axiales

Afin de montrer si la pollution influence les propriétés mécaniques du bois de *R. racemosa*, les éprouvettes de bois dimensionnées selon la norme NF ISO 13061-17, ont fait l'objet

d'essais de compressions axiales au laboratoire. Les résultats de cette analyse sont rapportés sur la figure 65.



Sites de prelèvement

Figure 66 : Histogramme de Forces des compressions axiales des échantillons de bois de R. racemosa collectés sur les sites d'Ayémé maritime et d'Ambowè

Les résultats révèlent qu'il n'y a pas de différences significatives (*test de student; p*  $\geq$  0,05 ;n=15) entre les bois issus des sites pollué (Ambowè) et non pollué (Ayémé maritime) avec des valeurs de 88,16 ± 9,28 MPa et 87,61 ± 13,42 MPa respectivement. Ce qui nous laisse penser que la pollution n'affecte pas les propriétés mécaniques du bois de *R. racemosa*.

Chapitre 4 : Discussion

Les mangroves sont des écosystèmes fragiles en perpétuelle mutation (Fromard and Michaud, 2018). Cet écosystème très particulier est essentiellement formé de plantes halophytes ligneuses, qui existent dans des conditions de forte salinité, de marées extrêmes, des vents forts, des températures élevées et des sols boueux-anaérobies. On compte plus de 110 espèces animales et végétales qui lui sont inféodées (Spalding et al., 2010). Il est constitué par des forêts qui se développent entre terre et mer peuplées majoritairement par des plantes ligneuses appartenant à la famille des palétuviers. Ces arbres ont développé une série d'adaptation morphologiques et physiologiques spectaculaires pour permettre leur développement en anaérobie dans des milieux salins (Naskar and Palit, 2015). Parmi ces dernières on peut citer la viviparie, les racines échasses (Rhizophoraceae), les pneumatophores (géotropisme négatif des racines) (Avicenniaceae) ou encore la différenciation de tissus spécialisés appelés aérenchymes dans les racines et de glandes sécrétrices de sel dans les feuilles (Vinoth et al., 2019). De plus, ces arbres ont développé des adaptations importantes au niveau de leur plan ligneux (Schmitz et al., 2007b; Verheyden et al.,2005) et de leurs vaisseaux (Schmitz et al., 2007a, 2006) pour se développer dans ce milieu particulier. En effet, bien que le sel présent dans l'eau de mer soit un des déterminants majeurs du développement des palétuviers, ces derniers (Parida and Jha, 2010) sont réellement des arbres halophytes obligatoires, c'est-à-dire qu'ils ne peuvent pas accomplir l'ensemble de leur cycle de développement en absence d'eau salée (Wang et al., 2011).

Les palétuviers jouent des rôles écologiques et écosystémiques majeurs (Alongi, 2008). Cependant, la surface mondiale des mangroves estimée à 14,79 M Ha a diminué d'un facteur 1,04 avec une régression de 47 000 Ha sur la période 1990-2000 et 21 000 Ha sur la période 2010-2020 (*T*he State of the World's Forests *2020*, 2020). En effet, les mangroves font face à de multiples facteurs de régression liés à l'activité humaine (Lugo et al., 2014). En effet, les effets globaux du réchauffement climatique (augmentation de la température, montée des eaux, ...) (Lovelock et al., 2016) mais aussi le développement des villes (Maiti and Chowdhury, 2013) et des activités de pisciculture/agriculture ou les plantations de palmiers à huile ou d'Hévéa contribuent fortement à la destruction des mangroves (Thomas et al., 2017).

Les impacts du changement climatique et de différents types de pollution ont été bien décrits dans la littérature. Des revues de la littérature traitant de différentes facettes de pollution rencontrées par les mangroves sont disponibles. La chimie des sédiments et la contamination

aux métaux lourds (Defew et al., 2005; MacFarlane et al., 2003; Ong Che, 1999), les facteurs environnementaux impactant (Krauss et al., 2008; Lovelock et al., 2016), les effets de la pollution aux hydrocarbures et aux dispersants (Burns et al., 1993; Hoff et al., 2002), le changement climatique et l'élévation du niveau de la mer (Gilman et al., 2008). Les effets néfastes de la pollution d'origine anthropique et plus particulièrement du déversement des eaux usées des villes directement dans la mangrove a été également documenté (Lewis et al., 2011). Cependant, ces études portent sur le fonctionnement global de l'écosystème et ses altérations. Au niveau de l'arbre, les mécanismes de tolérance au sel ont été bien étudiés (Parida and Jha, 2010; Robert et al., 2009; Schmitz et al., 2007b) de même que ceux portant sur la résilience et la persistance des palétuviers après une marée noire (Duke, 2016). Cependant très peu de travaux se sont concentrés sur l'étude de l'effet d'une pollution d'origine péri-urbaine sur le bois de palétuvier.

Le Gabon offre un bon exemple des différents types d'habitats dans lesquels les mangroves ont à faire en Afrique de l'ouest. Ainsi, dans ce travail nous avons sélectionné des sites d'études péri-urbains non perturbés (sites de Mamboumba, d'Ayémé maritime et d'Oveng) ou pollués par différents types d'activités (sites d'Ambowé ou d'Alenakiri). Nous avons concentré notre étude sur les essences Avicennia et Rhizophora du fait de leur forte abondance dans les mangroves étudiées mais également parce que ces deux essences ont développé des adaptations différentes pour leur survie dans la mangrove (voir paragraphes 1.3.2 et 1.3.3). Il sera alors possible pour une même source de pollution d'évaluer l'effet sur les 2 essences.

La nature précise de la pollution présente sur les sites étudiés est difficile à définir du fait de la présence de plusieurs sources de contamination. Le point de filtration majeur se situe au niveau des racines des palétuviers. Cependant, l'objectif de ce travail étant d'évaluer les conséquences de la pollution locale d'origine anthropique sur les propriétés des bois d'Avicennia nous nous sommes focalisés exclusivement sur le compartiment bois. Les propriétés des deux essences ont été évaluées par une approche multicritère incluant des propriétés anatomiques, physiques et chimiques du matériau.

#### 4.1 Effets macroscopiques de la pollution

Les effets les plus évidents de la pollution ont été observés sur le site d'Ambowè. Les échantillons de bois des deux essences étudiées ne présentaient plus de différenciation

aubier/duramen sur ce site contrairement à ce qui était observé sur les sites non pollués d'Ayémé maritime (*R. racemosa*), d'Oveng et de Mamboumba. De manière intéressante, les échantillons de bois prélevés sur le site d'Alenakiri montraient toujours un aubier nettement différencié chez les deux essences étudiées. Ces premières observations suggèrent donc la présence d'une pollution de nature différente sur les sites d'Ambowè et sur celui d'Alenakiri.

#### 4. 2 Polluants détectés dans les échantillons de bois

En considérant les activités présentes sur les sites perturbés d'Ambowè et d'Alenakiri, deux types de pollution prédominants sont à rechercher : la pollution aux hydrocarbures et aux métaux lourds ou éléments traces métalliques (ETM).

Dans le premier cas, outre la présence de chaîne d'acide gras aliphatiques très difficiles à attribuer à une pollution, la présence des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) a été recherchée dans les échantillons de bois prélevés sur les sites d'Ambowè et d'Alenakiri. Les rendements d'extraits hydrophobes des sédiments du site d'Ambowè sont 5 fois plus élevés que ceux du site d'Oveng (non pollué) et 2,5 fois plus élevé que ceux du site d'Ayémé maritime (non pollué). Ces sites sont utilisés en comparaison pour A. germinans et R. racemosa respectivement. Cela constitue un indicateur pour la contamination du site d'Ambowé par les hydrocarbures d'origine anthropique. La recherche de composés HAP n'a été fructueuse que chez A. germinans se développant sur le site d'Ambowé. Les seuils des HAP présents dans le bois semblent très bas et seul le Phenanthrene a pu être identifié avec certitude. Les données de la littérature montrent en effet que c'est le composé qui s'accumule majoritairement dans le bois d'A. germinans (Naidoo and Naidoo, 2018). De plus les HAP ne sont pas connus pour s'accumuler à forte concentration chez les espèces étudiées. En effet, (Lewis et al., 2011) et références citées rapportent une accumulation des HAP total comprise entre 120 et 3521 ng/g MS. Naidoo and Naidoo, (2018) ont montré la non-accumulation des HAP dans le bois de *Rhizophora mucronata*. Il n'est donc pas surprenant de ne pas retrouver des contaminants de type HAP dans le bois de R. racemosa. En effet, les Rhizophora excluraient les contaminants au niveau de leurs racines. Cependant, l'effet toxique des HAP sur le palétuvier a été largement démontré. Les effets signalés sont notamment un retard de croissance et un jaunissement, la difformité des feuilles, des propagules rabougries, la fissuration de l'écorce, cicatrices épithéliales, expansion de la lenticelle, réduction du nombre de lenticelles, le rabougrissement des propagules et des feuilles, la réduction du nombre de

feuilles, la réduction de la densité des pneumatophores chez *Avicennia sp.* (Lewis et al., 2011). Dans ce travail nous rapportons donc un nouvel effet : la perte de différenciation du duramen. Nous verrons ci-après que cette dernière est associée à une diminution de la production des extractibles.

La recherche des ETM dans les échantillons d'*A. germinans* et de *R. racemosa* a montré que ces derniers étaient davantage présents sur le site d'Alenakiri que sur celui d'Ambowé. On remarque que l'accumulation des ETM se fait davantage dans l'aubier que dans le duramen chez *A. germinans*. Les éléments qui s'accumulent le plus dans le bois sont le Cu, le Cr, et le Ni. Le cuivre est connu pour s'accumuler davantage dans les tissus des palétuviers et sa toxicité est avérée (Lewis et al., 2011; MacFarlane et al., 2003). Bien que les halophytes soient connus pour avoir une forte tolérance aux ETM (Nikalje and Suprasanna, 2018), ces derniers semblent entrainer des altérations du développement chez *A. germinans*. Chez *R. racemosa* les ETM ne s'accumulent pas dans le bois d'Ambowè bien qu'il semble que la physiologie globale des palétuviers soit affectée. Les mesures n'ont pas pu être réalisées dans les bois d'Alenakiri.

En conclusion, il est possible de distinguer deux types de pollutions sur les sites étudiés :

Ambowè est davantage soumis à une pollution aux hydrocarbures (HAP) et plus secondairement aux ETM et possiblement aux tensio-actifs et autres molécules chimiques présentes dans les eaux usées (Maiti and Chowdhury, 2013).

-Alenakiri est pollué par des ETM résultant probablement de la combustion des déchets dans la décharge proche et à la lixiviation des sols.

# 4. 3 Effets des variations de salinité et de la pollution sur la densité de vaisseaux chez A. germinans et R. racemosa

La salinité est un facteur majeur de modifications anatomiques chez les palétuviers (Parida and Jha, 2010). Les effets des variations de salinités ont été observées sur le bois d'Avicennia en comparant les sites non perturbés de Mamboumba et d'Oveng. Ces sites ont des salinités de 16,24 g/L et 35,36 g/L respectivement. De manière similaire, les sites non perturbés de Mamboumba (16,24 g/L) et d'Ayémé maritime (38,5 g/L) ont été utilisés pour évaluer les effets de la salinité sur la densité vasculaire de R. racemosa. La mesure de la densité de vaisseaux a été analysée car il s'agit d'une valeur représentative de l'adaptation des palétuviers à leur environnement et d'une mesure simple à réaliser en utilisant un microscope à lumière réfléchie. Les résultats ont montré que la densité de vaisseaux et la salinité des sédiments étaient corrélées. Plus la salinité est élevée, plus la densité de vaisseaux est importante. Ces données sont vérifiées chez les deux essences et confirment les données de la littérature (Schmitz et al., 2006; Robert et al., 2009). La méthode de mesure est valide, et si les sites d'études ne diffèrent que par la présence de pollution mais pas par leur salinité, il devient possible d'étudier spécifiquement l'effet de la pollution sur le plan ligneux et de le distinguer de celui de la salinité. Les résultats obtenus montrent qu'il est possible de distinguer des effets contrastés de la pollution chez les deux essences étudiées. En effet, la pollution aux HAP cause une diminution sévère de la densité vasculaire chez R. racemosa alors qu'elle n'a pas causé de modifications du nombre de vaisseaux chez A. germinans. A salinité équivalente, concernant la pollution aux ETM, nous avons constaté une augmentation de la densité de vaisseaux chez A. germinans et non chez R. racemosa. Cette augmentation de la densité de vaisseaux dans le bois d'A. germinans prélevé à Alenakiri, pourrait être liée au stress osmotique causée par la pollution aux ETM.

Ces observations illustrent la diversité des mécanismes de tolérances à la pollution mis en œuvre par les palétuviers.

#### 4. 4 Effet de la pollution sur le contenu en extractibles

L'effet le plus marquant de la pollution aux HAP qui n'a pas été rapporté dans la littérature à notre connaissance est la perte de différenciation du duramen. La différence de couleur entre l'aubier et le duramen est liée au dépôt de composés extractibles dans la paroi (Rowell, 2012). L'analyse en spectrométrie infrarouge proche (NIRS) des échantillons d'*A. germinans* a permis de distinguer le groupe des échantillons prélevés sur le site d'Ambowè (pollué aux HAP) de celui d'Oveng (non pollué). Les nombres d'ondes les plus explicatifs correspondent à ceux des extractibles avec un noyau phénolique (Schwanninger et al., 2011). Cette approche a déjà démontré sa faisabilité sur d'autres essences (Taylor et al., 2008; Niamké et al., 2014). Les échantillons d'aubier du bois prélevés sur le site d'Oveng se regroupent avec ceux de duramen du site d'Ambowè. Ces observations démontrent que le facteur de regroupement majoritaire

est le contenu en extractibles du bois. De plus, l'observation des échantillons de duramen des sites pollué et non pollué par CLSM a permis d'identifier un signal attribué aux extractibles après déconvolution spectrale. Ces résultats suggérant que les HAP seuls ou en combinaison avec les autres polluants non identifiés présents dans les sédiments altèrent la capacité de production des extactibles par Avicennia, des analyses supplémentaires ont été effectuées. Les rendements d'extractions sont 6 fois inférieurs pour la fraction hydrophobe dans les duramens d'*A. germinans* collectés sur le site d'Ambowè par rapport à ceux d'Oveng. Cela indique une forte diminution des extractibles contenus dans cette fraction et présents dans les échantillons issus du site non pollué d'Oveng. L'analyse en GC-MS a établi que l'extractible majoritairement affecté est le lapachol et ses dérivés. Ces résultats viennent appuyer les observations de microscopie qui avaient mis en évidence une disparition de la fluorescence à 575 nm dans les échantillons d'Ambowè.

De manière similaire, chez *R. racemosa* c'est la fraction Hexane et Ethanol-Toluène qui sont les plus affectées (diminution d'un facteur 1,7 pour la fraction EtOH-Toluène). Bien que la diminution soit plus faible que chez *A. germinans* elle se traduit également par une perte de coloration du bois. Les extractibles responsables de la couleur du bois ont été analysés chez le Teck (Qiu et al., 2019) où il a été montré que le 4-tert-butyl-2-phenyl-phenol, 2-methylanthraquinone et le 2,3-dimethyl-1,4,4a,9a-tetrahydro-9,10-anthracenedione sont responsables de la différence de couleur entre l'aubier et le duramen. La couleur du duramen des bois a par ailleurs été très étudiée pour établir une relation avec leur durabilité (Amusant et al., 2004) et références citées.

Ainsi, il semble que la pollution aux HAP affecte le contenu en extractibles aussi bien *A. germinans* que *R. racemosa* bien que l'effet de cette pollution soit plus marqué chez *A. germinans*. Aucune étude n'avait encore rapporté ce type de résultats, cependant il est possible d'émettre l'hypothèse que les HAP entreraient en compétition avec des enzymes de la voie de biosynthèse du lapachol (Widhalm and Rhodes, 2016) qui appartient à la famille des 1,4-naphthoquinones et qui est doté d'activités antifongique (Ali et al., 1998) et anti tumorale (Itoigawa, 2001). Chez *R. racemosa* c'est l'Asarone, un extractible aux propriétés fongicides (Lee et al., 2004) qui est significativement affecté par la pollution aux HAP.

De manière surprenante, une augmentation du contenu en ETM ne se traduit pas par un phénotype de perte de couleur du duramen. Les ETM détectés principalement dans l'aubier

d'A. germinans s'étant développé sur le site pollué d'Alenakiri. Il n'y a qu'une faible accumulation dans le duramen. Cela indique que les métaux lourds peuvent être transloqués des racines vers les tissus aériens mais également l'existence de mécanismes de tolérance. L'observation en MEB-EDS des échantillons d'A. germinans collectés sur le site d'Alenakiri a montré la forte présence de cristaux de Ca. Cela suggère la mise en place par la plante d'un mécanisme de chélation qui conduirait à l'élimination des métaux lourds. Ces mécanismes sont typiques des halophytes (Nikalje and Suprasanna, 2018) et impliquent notamment l'induction de gènes de phytochelatines. Les phytochélatines et les métallothionéines sont des polypetides qui, comme certains acides organiques (par expl. l'oxalate) agissent comme des agents de chélation naturels. Ils sont donc capables de fixer les métaux et les cations métalliques. Les phytochélatines sont produites à partir du glutathion. L'induction rapide en quelques heures de ces composés a été montré chez A. germinans en réponse à une contamination au Cu (Gonzalez-Mendoza et al., 2007) ce qui pourrait expliquer la forte tolérance de cette essence aux ETM. Le mécanisme de tolérance aux ETM développé par Rhizophora est dépendant de l'entrée de sel et des ETM par les racines. Les mécanismes de filtration et de tolérance aux ETM mettent en jeu la lignification de l'exoderme racinaire, et sont liés à la teneur en azote des sédiments mais surtout à la salinité. Il a été montré chez Rhizophora stylosa qu'une salinité modérée pourrait stimuler la lignification de l'exoderme. Cela retarde l'entrée des métaux comme le Cu dans les racines et contribuerait ainsi à une plus grande tolérance aux ETM (Cheng et al., 2012). Les concentrations de sel (NaCl) utilisées dans cette étude variaient de 200 à 400 mmol/L. L'optimal de tolérance étant atteint pour 300 mmol/L. Or la salinté mesurée sur le site de prélèvement de R. racemosa à Alenakiri est de 17,18g/L soit 290mmol/L. Il est donc raisonnable de penser que c'est ce mécanisme de résistance qui permet une bonne tolérance aux ETM.

## 4. 5 Effet de la pollution sur la durabilité et la résistance mécanique des bois d'A. germinans et de R. racemosa.

Bien qu'ils ne soient pas seuls responsables de la durabilité naturelle des bois (Ligne et al., 2020), les extractibles ont une activité fongicide bien avérée (Rowell, 2012). Il est également bien établi que la couleur des bois, leur contenu en extractibles et la durabilité naturelle sont corrélés (Amusant et al., 2004; Niamké et al., 2014). Ainsi l'inhibition de la production d'extractibles s'accompagne d'une perte de durabilité fongique chez *A. germinans* et chez *R.* 

racemosa. Cette perte de durabilité est également liée à une action synergique des ETM comme le Cu, le Mn ou le Fe présents dans les tissus d'A.germinans. Cette hypothèse est étayée par les expériences réalisées sur le hêtre imprégné aux ETM. En effet, pour une abondance modérée des ETM dans le bois, la dégradation par les champignons est stimulée. Cependant, lorsque les arbres sont exposés à une pollution multiple mais dominés par les HAP comme sur le site d'Ambowè la perte de durabilité est visible pour une attaque par un champignon causant une pourriture brune (R. placenta) comme pour une attaque par un champignon causant une pourriture blanche (C. versicolor) chez A. germinans. En revanche, chez R. racemosa, seule une attaque par R. placenta a causé une perte de masse significativement plus importante que celle mesurée sur les échantillons collectés sur le site non pollué d'Ayémé maritime. Il faut aussi noter que les bois de palétuvier sont plus dégradés par C. versicolor que par R. placenta probablement du fait de leur contenu en lignine plus important (>28%) que les bois tropicaux terrestres (Mun et al., 2011). En revanche l'accumulation des ETM et notamment de Cu dans l'aubier d'A.germinans dans le cas du site pollué d'Alenakiri conduit à une augmentation de la durabilité fongique. Une nouvelle fois ces résultats sont en accord avec ceux des expériences menées sur le Hêtre.

Finalement, des tests de compression axiales ont été réalisés sur des échantillons des 2 essences collectées sur les sites d'Ambowè (site pollué) et non pollué d'Oveng (*A. germinans*) et Ayémé maritime (*R. racemosa*). Seule la résistance mécanique d'*A. germinans* est affectée par la pollution ce qui est cohérent avec l'ensemble des résultats obtenus.

Conclusion

Ce travail a mis en évidence pour la première fois l'influence de la pollution aux HAP et aux ETM sur les propriétés de bois des palétuviers A.germinans et R.racemosa. En utilisant des échantillons collectés sur différents sites péri-urbains au Gabon, l'influence de la salinité sur la densité de vaisseaux a pu être vérifiée chez les deux essences. En comparant des sites sains et pollués de salinités équivalentes, nous avons pu dissocier les effets de la pollution de ceux de la salinité et montré que les deux essences étudiées répondent de manière très différente à une même source de pollution. Le site d'Ambowè est caractérisé par une pollution multiple liée aux déversements des eaux usées directement dans la mangrove mais qui est dominée par la présence des HAP. Ces derniers sont liés à la forte activité de pêche qui règne sur ce site. Les palétuviers gris (A. germinans) présentent une forte sensibilité à la pollution aux HAP qui se manifeste notamment par une forte diminution du contenu en extractibles du bois et une altération des propriétés physiques (densité et résistance mécanique) du bois. Le développement du cambium ne semble pas altéré à l'échelle du cerne mais perturbé au niveau global (structure en patch anarchique). Le contenu en éléments minéraux, en particulier le Calcium dans l'aubier est significativement altéré par la pollution aux HAP. Cela indique une physiologie globalement affectée et une altération des mécanismes d'adaptation au milieu mis en place par l'essence. Sur le site d'Alenakiri, nous avons pu mesurer une pollution aux ETM qui se traduit par une accumulation de ces derniers dans l'aubier. Les propriétés de durabilité du bois d'A. germinans sont augmentées dans l'aubier lorsque les échantillons sont confrontés à une attaque par R. placenta. En revanche les ETM présents dans l'aubier ne semblent stimuler la dégradation par C. versicolor. Les expériences réalisées sur le système Hêtre/C. versicolor montrent que ces ETM peuvent stimuler les capacités de dégradation de C. versicolor. Les palétuviers rouges ou R. racemosa semblent plus résistants à la pollution aux HAP. Malgré une perte de différenciation du duramen, la production des extractibles est plus faiblement altérée. La diminution de la densité vasculaire observée suggère une adaptation intégrée qui est corrélée à une forte diminution du contenu en éléments inorganiques essentiels du bois (Ca, K). Les ETM ne causent pas d'altérations sensibles chez Rhizophora. Pris dans leur ensemble ces résultats montrent que les palétuviers ont une meilleure tolérance aux ETM qu'aux HAP. La principale altération causée par les HAP est une diminution du taux d'extractibles chez les deux essences bien que cette dernière soit plus prononcée chez A. germinans que chez R. racemosa. Enfin, cette étude a permis de montrer que le bois de

palétuvier peut être utilisé pour suivre la pollution de la mangrove par des techniques rapides et non destructives comme le NIRS. Références bibliographiques

Adedeji, G.A., 2Ogunsanwo, O.Y., John, J., 2013. Density variations in red mangroves (Rhizophora racemosa GFW Meyer) in onne, river state, Nigéria. International journal of science and nature 4(1) : 165-168.

Ali, R.M., Houghton, P.J., Hoo, T.S., 1998. Antifungal activity of some Bignoniaceae found in Malaysia. Phytother. Res. 4.

- Alongi, D.M., 2008. Mangrove forests: Resilience, protection from tsunamis, and responses to global climate change. Estuarine, Coastal and Shelf Science 76, 1–13. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2007.08.024
- Alterio, E., Cocozza, C., Chirici, G., Rizzi, A., Sitzia, T., 2020. Preserving air pollution forest archives accessible through dendrochemistry. Journal of Environmental Management 264, 110462. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110462
- Amusant, N., Beauchene, J., Fournier, M., Janin, G., Thevenon, M.-F., 2004. Decay resistance in Dicorynia guianensis Amsh.: analysis of inter-tree and intra-tree variability and relations with wood colour. Annals of Forest Science 61, 373–380. https://doi.org/10.1051/forest:2004030
- Ananda, K., Sridhar, K.R., 2002. Diversity of endophytic fungi in the roots of mangrove species on the west coast of India 48, 8.
- Andriamalala, C. A. J., 2007. Etude écologique pour la gestion des mangroves à Madagascar:

comparaison d'une mangrove littorale et d'estuaire à l'aide de la télédétection. Thèse de Doctorat. Institut Natur, Université de Bâle, 280.

- Baldrian, P., 2003. Interactions of heavy metals with white-rot fungi. Enzyme and Microbial Technology 32, 78–91.
- Baldrian, P., Valášková, V., Merhautová, V., Gabriel, J., 2005. Degradation of lignocellulose by Pleurotus ostreatus in the presence of copper, manganese, lead and zinc. Research in Microbiology 156, 670–676. https://doi.org/10.1016/j.resmic.2005.03.007
- Bandaranayake, W.M., 2002. Bioactivities, bioactive compounds and chemical constituents of mangrove plants 32.
- Barraclough, A.D., 2020. Environmental drivers of stem radius change and heterogeneity of stem radial water storage in the mangrove Avicennia marina (Forssk.) Vierh. Agricultural and Forest Meteorology 12.
- Blanchette, R.A., 2000. A review of microbial deterioration found in archaeological wood from different environments. International Biodeterioration & Biodegradation 46, 189–204.
- Bond, J., Donaldson, L., Hill, S., Hitchcock, K., 2008. Safranine fluorescent staining of wood cell walls. Biotechnic & Histochemistry 83, 161–171. https://doi.org/10.1080/10520290802373354
- Božić, D., Gorgievski, M., Stanković, V., Štrbac, N., Šerbula, S., Petrović, N., 2013. Adsorption of heavy metal ions by beech sawdust Kinetics, mechanism and equilibrium of the process. Ecological Engineering 58, 202–206. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.06.033
- Burns, K.A., Garrity, S.D., Levings, S.C., 1993. How many years until mangrove ecosystems recover from catastrophic oil spills? Marine Pollution Bulletin 26, 239–248. https://doi.org/10.1016/0025-326X(93)90062-O
- Chaudhuri, P., Nath, B., Birch, G., 2014. Accumulation of trace metals in grey mangrove Avicennia marina fine nutritive roots: The role of rhizosphere processes. Marine Pollution Bulletin 79, 284–292. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.11.024
- Cheng, H., Wang, Y.-S., Ye, Z.-H., Chen, D.-T., Wang, Y.-T., Peng, Y.-L., Wang, L.-Y., 2012. Influence of N deficiency and salinity on metal (Pb, Zn and Cu) accumulation and tolerance by Rhizophora stylosa in relation to root anatomy and permeability. Environmental Pollution 164, 110–117. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.01.034

Clayton, L. T., Evans W., 1985. The effets and implications of oil pollution in mangroves forest.U.S. Coast Guard G-WPE-3, 367-371

- Connolly, J.H., Shortle, W.C., Jellison, J., 1999. Translocation and incorporation of strontium carbonate derived strontium into calcium oxalate crystals by the wood decay fungus Resinicium bicolor. Canadian journal of botany 77, 179–187.
- Curran, T.J., Gersbach, L.N., Edwards, W., Krockenberger, A.K., 2008. Wood density predicts plant damage and vegetative recovery rates caused by cyclone disturbance in tropical rainforest tree species of North Queensland, Australia. Austral Ecol 33, 442–450. https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2008.01899.x
- Defew, L.H., Mair, J.M., Guzman, H.M., 2005. An assessment of metal contamination in mangrove sediments and leaves from Punta Mala Bay, Pacific Panama. Marine Pollution Bulletin 50, 547–552. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.11.047
- Déjardin, A., Laurans, F., Arnaud, D., Breton, C., Pilate, G., Leplé, J. C., 2010. Wood formation in Angiosperms. Comptes Rendus Biologies 333, 325–334. https://doi.org/10.1016/j.crvi.2010.01.010
- Del Río, J.C., Speranza, M., Gutiérrez, A., Martínez, M.J., Martínez, A.T., 2002. Lignin attack during eucalypt wood decay by selected basidiomycetes: a Py-GC/MS study. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis 64, 421–431. https://doi.org/10.1016/S0165-2370(02)00043-8
- Diop, E. S., 1993. Les mangroves du Sénégal et de la Gambie. In : Conservation et utilisation rationnelle les forêts de mangrove de l'Amérique latine et de l'Afrique. ISME Mangrove Ecosystems Technical reports (ISME Mangrove Ecosystems Technical reports,).
- Duke, N.C., 2016. Oil spill impacts on mangroves: Recommendations for operational planning and action based on a global review. Marine Pollution Bulletin 109, 700–715. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.06.082
- Dutton, M.V., Evans, C.S., Atkey, P.T., Wood, D.A., 1993. Oxalate production by Basidiomycetes, including the white-rot species Coriolus versicolor and Phanerochaete chrysosporium. Appl Microbiol Biotechnol 39, 5–10. https://doi.org/10.1007/BF00166839
- EN 113, 1996. EN113 : Méthode d'essai pour déterminer l'efficacité protectrice vis-à-vis des champignons basidiomycètes lignivores. Brussels: CEN European Committee for Standardization.
- EN 350, 2016. EN 350. Durability of wood and wood-based products Testing and classification of the durability to biological agents of wood and wood-based materials.
- FAO, 2020. Global Forest Resources Assessments. Country reports 2020. Gabon. FAO.
- Eriksson, K.-E.L., Blanchette, R.A., Ander, P., 1990. Biodegradation of Cellulose, in: Eriksson, K.-E.L., Blanchette, R.A., Ander, P. (Eds.), Microbial and Enzymatic Degradation of Wood and Wood Components, Springer Series in Wood Science. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 89–180. https://doi.org/10.1007/978-3-642-46687-8\_2
- Gershenzon, J., Dudareva, N., 2007. The function of terpene natural products in the natural world. Nat Chem Biol 3, 408–414. https://doi.org/10.1038/nchembio.2007.5
- Getter, C.D., Ballou, T.G., Bruce Koons, C., 1985. Effects of dispersed oil on mangroves synthesis of a seven-year study. Marine Pollution Bulletin 16, 318–324. https://doi.org/10.1016/0025-326X(85)90447-3
- FAO, 2007. The world's mangroves 1980-2005. FAO.
- Feka, N.Z., Manzano, M.G., 2008. The Implications of Wood Exploitation for Fish Smoking on Mangrove Ecosystem Conservation in the South West Province, Cameroon. Tropical Conservation Science 1, 222–241. https://doi.org/10.1177/194008290800100305
- Feller, I.C., Lovelock, C.E., McKee, K.L., 2007. Nutrient Addition Differentially Affects Ecological Processes of Avicennia germinans in Nitrogen versus Phosphorus Limited Mangrove Ecosystems. Ecosystems 10, 347–359. https://doi.org/10.1007/s10021-007-9025-z
- Festucci-Buselli, R.A., Otoni, W.C., Joshi, C.P., 2007. Structure, organization, and functions of cellulose synthase complexes in higher plants. Braz. J. Plant Physiol. 19, 1–13. https://doi.org/10.1590/S1677-04202007000100001
- Floudas, D., Binder, M., Riley, R., Barry, K., Blanchette, R.A., Henrissat, B., Martínez, A.T., Otillar, R., Spatafora, J.W., Yadav, J.S., Aerts, A., Benoit, I., Boyd, A., Carlson, A., Copeland, A., Coutinho,

P.M., de Vries, R.P., Ferreira, P., Findley, K., Foster, B., Gaskell, J., Glotzer, D., Górecki, P., Heitman, J., Hesse, C., Hori, C., Igarashi, K., Jurgens, J.A., Kallen, N., Kersten, P., Kohler, A., Kües, U., Kumar, T.K.A., Kuo, A., LaButti, K., Larrondo, L.F., Lindquist, E., Ling, A., Lombard, V., Lucas, S., Lundell, T., Martin, R., McLaughlin, D.J., Morgenstern, I., Morin, E., Murat, C., Nagy, L.G., Nolan, M., Ohm, R.A., Patyshakuliyeva, A., Rokas, A., Ruiz-Dueñas, F.J., Sabat, G., Salamov, A., Samejima, M., Schmutz, J., Slot, J.C., St John, F., Stenlid, J., Sun, H., Sun, S., Syed, K., Tsang, A., Wiebenga, A., Young, D., Pisabarro, A., Eastwood, D.C., Martin, F., Cullen, D., Grigoriev, I.V., Hibbett, D.S., 2012. The Paleozoic origin of enzymatic lignin decomposition reconstructed from 31 fungal genomes. Science 336, 1715–1719. https://doi.org/10.1126/science.1221748

Fromard, F., Michaud, E., 2018. Mangrove, une forêt dans la mer. Cherche Midi.

- Gershenzon, J., Dudareva, N., 2007. The function of terpene natural products in the natural world. Nat Chem Biol 3, 408–414. https://doi.org/10.1038/nchembio.2007.5
- Gilman, E.L., Ellison, J., Duke, N.C., Field, C., 2008. Threats to mangroves from climate change and adaptation options: A review. Aquatic Botany 89, 237–250. https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2007.12.009
- Giri, C., Ochieng, E., Tieszen, L.L., Zhu, Z., Singh, A., Loveland, T., Masek, J., Duke, N., 2011. Status and distribution of mangrove forests of the world using earth observation satellite data: Status and distributions of global mangroves. Global Ecology and Biogeography 20, 154–159. https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2010.00584.x

Goddell, B., Qian, Y., et, Jellison, J.,, Goddell, 2008. Fungal decay of wood --- soft rot --- brown rot ---

white rot.". In: Development of Commercial Wood Preservatives. ACS Symposium Series, 9-

31González, N.S.S., 2012. Structure and function of wood in mangroves. Doctoral Thesis, Sciences Biological.University of Queensland.

- Gonzalez-Mendoza, D., Moreno, A.Q., Zapata-Perez, O., 2007. Coordinated responses of phytochelatin synthase and metallothionein genes in black mangrove, Avicennia germinans, exposed to cadmium and copper. Aquatic Toxicology 83, 306–314. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.05.005
- Green, F., Clausen, C.A., 2005. Copper tolerance of brown-rot fungi: Oxalic acid production in southern pine treated with arsenic-free preservatives. International Biodeterioration & Biodegradation 56, 75–79. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2005.04.003
- Green III, F., Clausen, C.A., 2003. Copper tolerance of brown-rot fungi: time course of oxalic acid production. International Biodeterioration & Biodegradation 51, 145–149. https://doi.org/10.1016/S0964-8305(02)00099-9
- Hacke, U.G., Sperry, J.S., Pockman, W.T., Davis, S.D., McCulloh, K.A., 2001. Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressure. Oecologia 126, 457–461. https://doi.org/10.1007/s004420100628

Hatakka, A., 2001. Biodegradation of lignin. In: M. Hofrichter, A. Steinbüchel (Eds.), Lignin, . Humic substances and coal 129–167

- Hoff, R., Hensel, P., Proffitt, E., 2002. Oil Spills in Mangroves: Planning & Response Considerations. National Oceanic and Atmospheric Administration, NOAA Ocean Service, Office of Response and Restoration.
- Hyde, K. D., 1991. Fungal colonization of Rhizophora apiculata and Xylocarpus granatum poles in Kampong Kapok mangrove, Brunei. -Sydowia, 43:31-38.
- Itoigawa, M., 2001. Cancer chemopreventive activity of naphthoquinones and their analogs from Avicennia plants. Cancer Letters 174, 135–139. https://doi.org/10.1016/S0304-3835(01)00707-8
- Jacobsen, A.L., Agenbag, L., Esler, K.J., Pratt, R.B., Ewers, F.W., Davis, S.D., 2007. Xylem density, biomechanics and anatomical traits correlate with water stress in 17 evergreen shrub species of the Mediterranean-type climate region of South Africa. Journal of Ecology 95, 171–183. https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01186.x

- Jarosz-Wilkolazka, A., Gadd, G.M., 2003. Oxalate production by wood-rotting fungi growing in toxic metal-amended medium. Chemosphere 52, 541–547. https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00235-2
- Jeffries, T.W., 1994. Biodegradation of lignin and hemicelluloses. In Biochemistry of Microbial Degradation,. Springer 233–277
- Jones, W.P., Lobo-Echeverri, T., Mi, Q., Chai, H., Lee, D., Soejarto, D.D., Cordell, G.A., Pezzuto, J.M., Swanson, S.M., Kinghorn, A.D., 2005. Antitumour activity of 3-chlorodeoxylapachol, a naphthoquinone from *Avicennia germinans* collected from an experimental plot in southern Florida. Journal of Pharmacy and Pharmacology 57, 1101–1108. https://doi.org/10.1211/jpp.57.9.0005
- Kabaru, J., Gichia, L., 2009. Insecticidal activity of extracts derived from different parts of the mangrove tree rhizophora mucronata (rhizophoraceae) lam. Against three arthropods. African Journal of Science and Technology 2. https://doi.org/10.4314/ajst.v2i2.44668
- Kauffman , J. B., Donato, D., 2012. Protocols for the measurement, monitoring and reporting of structure, biomass and carbon stocks in mangrove forests. Center for International Forestry Research (CIFOR). https://doi.org/10.17528/cifor/003749
- Kohlmeyer, J., Bebout, B., Vlkmann-Kohlmeyer, B., 1995. Decomposition of Mangrove Wood by Marine Fungi and Teredinids in Belize. Marine Ecology 16, 27–39. https://doi.org/10.1111/j.1439-0485.1995.tb00392.x
- Krauss, K.W., Lovelock, C.E., McKee, K.L., López-Hoffman, L., Ewe, S.M.L., Sousa, W.P., 2008. Environmental drivers in mangrove establishment and early development: A review. Aquatic Botany 89, 105–127. https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2007.12.014
- Kulkarni, R., Deobagkar, D., Zinjarde, S., 2018. Metals in mangrove ecosystems and associated biota: A global perspective. Ecotoxicology and Environmental Safety 153, 215–228. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.02.021
- Lee, Jee Yeon, Lee, Jung Yeop, Yun, B.-S., Hwang, B.K., 2004. Antifungal Activity of β-Asarone from Rhizomes of *Acorus gramineus*. J. Agric. Food Chem. 52, 776–780. https://doi.org/10.1021/jf0352040
- Ladybio, 2003. Dynamique écologique des mangroves de Mayotte en lien avec les processus d'érosion dans les bassins versants. Rapport, 77.
- Leopold, A., 2012. Dynamique du carbone minéral au sein des mangroves. https://doi.org/10.6098/2012NCAL0042
- Lewis, M., Pryor, R., Wilking, L., 2011. Fate and effects of anthropogenic chemicals in mangrove ecosystems: A review. Environmental Pollution 159, 2328–2346. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.04.027
- Ligne, L.D., Bulcke, J.V. den, Baetens, J.M., Baets, B.D., Wang, G., Windt, I.D., Beeckman, H., Acker, J.V., 2020. Unraveling the natural durability of wood: revealing the impact of decay-influencing characteristics other than fungicidal components. Holzforschung 1. https://doi.org/10.1515/hf-2020-0109
- Lointier, M, 1990. Evolution de la qualité des eaux et dynamique de l'intrusion saline dans L'Estuaire du Sinnamary. Convention entre Electricité de France et l'ORSTOM dans le cadre de l'aménagement de l'ouvrage de Petit-Saut ,24.
- Lorenzo, M., Moldes, D., Sanromán, M.Á., 2006. Effect of heavy metals on the production of several laccase isoenzymes by Trametes versicolor and on their ability to decolourise dyes. Chemosphere 63, 912–917. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.09.046
- Lovelock, C.E., Krauss, K.W., Osland, M.J., Reef, R., Ball, M.C., 2016. The Physiology of Mangrove Trees with Changing Climate, in: Goldstein, G., Santiago, L.S. (Eds.), Tropical Tree Physiology, Tree Physiology. Springer International Publishing, Cham, 149–179. https://doi.org/10.1007/978-3-319-27422-5\_7

- Low, G.A., Young, M.E., Martin, P., Palfreyman, J.W., 2000. Assessing the relationship between the dry rot fungus< i> Serpula lacrymans</i> and selected forms of masonry. International biodeterioration & biodegradation 46, 141–150.
- Lugo, A.E., Medina, E., McGinley, K., 2014. Issues and Challenges of Mangrove conservation in the Anthropocene. MYB 20, 11. https://doi.org/10.21829/myb.2014.200146
- MacFarlane, G.R., Pulkownik, A., Burchett, M.D., 2003. Accumulation and distribution of heavy metals in the grey mangrove, Avicennia marina (Forsk.)Vierh.: biological indication potential. Environmental Pollution 123, 139–151. https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00342-1
- Macnae, W., 1968. A general account of a fauna and flora of mangrove swamps and forest in the Indo- Pacific region. Advances in Marine Biology ,6, 73.
- Madrid, E.N., Armitage, A.R., LÃ<sup>3</sup>pez-Portillo, J., 2014. Avicennia germinans (black mangrove) vessel architecture is linked to chilling and salinity tolerance in the Gulf of Mexico. Frontiers in Plant Science 5. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00503
- Maiti, S.K., Chowdhury, A., 2013. Effects of Anthropogenic Pollution on Mangrove Biodiversity: A Review. JEP 04, 1428–1434. https://doi.org/10.4236/jep.2013.412163
- Marius, C., 1985. Du Sénégal et de la Gambie : Écologie, Pédologie, Géochimie, Mangrove. Mise en valeur et aménagement, ORSTOM édition. ed. Paris-Bondy
- Martínez-Cabrera, H.I., Jones, C.S., Espino, S., Schenk, H.J., 2009. Wood anatomy and wood density in shrubs: Responses to varying aridity along transcontinental transects. American Journal of Botany 96, 1388–1398. https://doi.org/10.3732/ajb.0800237
- Mathieu, Y., 2012. Diversité écologique et fonctionnelle des champignons décomposeurs de bois : l'influence du substrat de la communauté à l'enzyme. Thèse de doctorat.Biologie forestière. Université de Lorraine
- Mun, S.P., Jahan, M.S., Al-Maruf, A., Chowdhury, D.A.N., 2011. Chemical characterization of six mangrove species in Bangladesh. Wood Sci Technol 8.
- Manguiengha, S.N., 2016. Cartographie des états de Mangroves de la Mondah et leur dynamiques. https://doi.org/10.13140/RG.2.1.2591.5285
- Naidoo, G., Naidoo, K., 2018. Uptake and accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the mangroves Avicennia marina and Rhizophora mucronata. Environ Sci Pollut Res 25, 28875–28883. https://doi.org/10.1007/s11356-018-2934-x
- Naskar, S., Palit, P.K., 2015. Anatomical and physiological adaptations of mangroves. Wetlands Ecol Manage 23, 357–370. https://doi.org/10.1007/s11273-014-9385-z
- Nazim, K., Ahmed, M., Shaukat, S.S., Khan, M.U., Ali, Q.M., 2013. Age and growth rate estimation of grey mangrove Avicennia marina (forsk.) vierh from Pakistan. Pakistan Journal of Botany 45, 535–542.
- Ngom Sow, F., 2005. Les Fonctions de la mangrove dans la structuration et la biologie des peuplements de poissons de L'Estuaire du Sine-Saloum (Sénégal-Afrique de L'Ouest). Thèse de doctorat. Université Cheik Anta Diop de Dakar, Sénégal,148.
- Niamké, F.B., Amusant, N., Kadio, A.A., Thevenon, M.-F., Nourissier, S., Adima, A.A., Jay-Allemand, C., Chaix, G., 2014. Rapid Prediction of Phenolic Compounds as Chemical Markers for the Natural Durability of Teak (*Tectona Grandis* Linn f.) Heartwood by near Infrared Spectroscopy. Journal of Near Infrared Spectroscopy 22, 35–43. https://doi.org/10.1255/jnirs.1091
- Nikalje, G.C., Suprasanna, P., 2018. Coping With Metal Toxicity Cues From Halophytes. Frontiers in Plant Science 9. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00777
- Niklas, K.J., Spatz, H.-C., 2010. Worldwide correlations of mechanical properties and green wood density. American Journal of Botany 97, 1587–1594. https://doi.org/10.3732/ajb.1000150
- Nuopponen, M.H., Birch, G.M., Sykes, R.J., Lee, S.J., Stewart, D., 2006. Estimation of Wood Density and Chemical Composition by Means of Diffuse Reflectance Mid-Infrared Fourier Transform

(DRIFT-MIR) Spectroscopy. J. Agric. Food Chem. 54, 34–40. https://doi.org/10.1021/jf051066m

- Okanga-Guay, M., Assoumou, E.O., Aken, I.A., Simba, C.M., Mombo, J.-B., Ebanega, M.O., Mbadinga, M., Rogombe, L., Mouketou-Tarazewicz, D., 2019. Suivi des changements spatiaux et environnementaux dans les mangroves de la province de l'Estuaire du Gabon 28.
- Ong Che, R.G., 1999. Concentration of 7 Heavy Metals in Sediments and Mangrove Root Samples from Mai Po, Hong Kong. Marine Pollution Bulletin 39, 269–279. https://doi.org/10.1016/S0025-326X(99)00056-9
- Österås, A.H., Greger, M., 2003. Accumulation of, and interactions between, calcium and heavy metals in wood and bark of Picea abies. J. Plant Nutr. Soil Sci. 166, 246–253. https://doi.org/10.1002/jpln.200390036

Pandey, K. K., 1999. A study of chemical structure of soft and hardwood and wood polymers by FTIR spectroscopy. Journal of Applied Polymer Science 71, 1969–1975

Parham, R. A., Gray, R. A., 1984. Formation and structure of wood, in chemistry of solid wood. Advanced in chemistry series 207, Rowell R. ed., Washington, ACS, 3-56.

- Parida, A.K., Jha, B., 2010. Salt tolerance mechanisms in mangroves: a review. Trees 24, 199–217. https://doi.org/10.1007/s00468-010-0417-x
- Perez, J., Jeffries, T.W., 1993. Role of Organic Acid Chelators in Manganese Regulation of Lignin Degradation by Phanerochaete chrysosporiurn. Applied Biochemistry and Biotechnology 39, 12.

Pratt, R.B., Jacobsen, A.L., Ewers, F.W., Davis, S.D., 2007. Relationships among xylem transport, biomechanics and storage in stems and roots of nine Rhamnaceae species of the California chaparral. New Phytologist 174, 787–798. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02061.x

- Preston, K.A., Cornwell, W.K., DeNoyer, J.L., 2006. Wood density and vessel traits as distinct correlates of ecological strategy in 51 California coast range angiosperms. New Phytol 170, 807–818. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01712.x
- Qiu, H., Liu, R., Long, L., 2019. Analysis of Chemical Composition of Extractives by Acetone and the Chromatic Aberration of Teak (Tectona Grandis L.F.) from China. Molecules 24, 1989. https://doi.org/10.3390/molecules24101989
- 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. https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01376.x
- Ray, R., Majumder, N., Chowdhury, C., Jana, T.K., 2012. Wood chemistry and density: An analog for response to the change of carbon sequestration in mangroves. Carbohydrate Polymers 90, 102–108. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.05.001
- Reef, R., Feller, I.C., Lovelock, C.E., 2010. Nutrition of mangroves. Tree Physiology 30, 1148–1160. https://doi.org/10.1093/treephys/tpq048
- Robert, E.M.R., Jambia, A.H., Schmitz, N., De Ryck, D.J.R., De Mey, J., Kairo, J.G., Dahdouh-Guebas, F., Beeckman, H., Koedam, N., 2014. How to catch the patch? A dendrometer study of the radial increment through successive cambia in the mangrove Avicennia. Annals of Botany 113, 741– 752. https://doi.org/10.1093/aob/mcu001
- Robert, E.M.R., Koedam, N., Beeckman, H., Schmitz, N., 2009. A safe hydraulic architecture as wood anatomical explanation for the difference in distribution of the mangroves *Avicennia* and *Rhizophora*. Functional Ecology 23, 649–657. https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2009.01551.x
- Rowell, R.M., 2012. Handbook of Wood Chemistry and Wood Composites, Second Edition. CRC Press.
- Salim, N.S.B., Jusoh, I.B., Assim, Z.B., 2020. Anti-wood-fungal Performance of Methanol Extracts of Rhizophora apiculata and R. mucronata Barks 7.

- Sandak, A., Sandak, J., Riggio, M., 2015. Estimation of physical and mechanical properties of timber members in service by means of infrared spectroscopy. Construction and Building Materials 101, 1197–1205. https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2015.06.063
- Sánchez, C., 2009. Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. Biotechnology Advances, 27,185-194.
- Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Preibisch, S., Rueden,
  C., Saalfeld, S., Schmid, B., Tinevez, J.-Y., White, D.J., Hartenstein, V., Eliceiri, K., Tomancak, P.,
  Cardona, A., 2012. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. Nature Methods
  9, 676–682. https://doi.org/10.1038/nmeth.2019
- Schmitz, N., Jansen, S., Verheyden, A., Kairo, J.G., Beeckman, H., Koedam, N., 2007a. Comparative Anatomy of Intervessel Pits in Two Mangrove Species Growing Along a Natural Salinity Gradient in Gazi Bay, Kenya. Annals of Botany 100, 271–281. https://doi.org/10.1093/aob/mcm103
- Schmitz, N., Robert, E.M.R., Verheyden, A., Kairo, J.G., Beeckman, H., Koedam, N., 2007b. A Patchy Growth via Successive and Simultaneous Cambia: Key to Success of the Most Widespread Mangrove Species Avicennia marina? Annals of Botany 101, 49–58. https://doi.org/10.1093/aob/mcm280
- Schmitz, N., Verheyden, A., Beeckman, H., Kairo, J.G., Koedam, N., 2006. Influence of a Salinity Gradient on the Vessel Characters of the Mangrove Species Rhizophora mucronata. Annals of Botany 98, 1321–1330. https://doi.org/10.1093/aob/mcl224
- Schwanninger, M., Rodrigues, J., Fackler, K., 2011. A review of band assignments in near infrared spectra of wood and wood components. Journal of Near Infrared Spectroscopy 19, 287. https://doi.org/10.1255/jnirs.955
- Schwarze, F.W., 2007. Wood decay under the microscope. Fungal Biology Reviews 21, 133–170.
- Scholander, P.F., 1968. How Mangroves Desalinate Seawater. Physiol Plant 21, 251–261.
  - https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1968.tb07248.x
- Smith, K.T., Shortle, W.C., 1996. Tree biology and dendrochemistry, in: Tree Rings, Environment, and Humanity. Radiocarbon 1996, Department of Geosciences, University of Arizona, Tucson.
- Spalding, M., Kainuma, M., Collins, L., 2010. World Atlas of Mangroves. Earthscan.
- Stevanovic, T et Perrin D., 2009. Chimie du Bois, Presses polytechniques et universitaires romandes
- Stołyhwo, A., Sikorski, Z.E., 2005. Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish a critical review. Food Chemistry 91, 303–311. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.06.012
- Taylor, A.M., Freitag, C., Cadot, E., Morrell, J.J., 2008. Potential of near infrared spectroscopy to assess hot-water-soluble extractive content and decay resistance of a tropical hardwood. Holz Roh Werkst 66, 107–111. https://doi.org/10.1007/s00107-007-0214-4
- The State of the World's Forests 2020, 2020. . FAO and UNEP. https://doi.org/10.4060/ca8642en
- Thomas, N., Lucas, R., Bunting, P., Hardy, A., Rosenqvist, A., Simard, M., 2017. Distribution and drivers of global mangrove forest change, 1996–2010. PLoS ONE 12, e0179302. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179302

Trouy, M. C., 2015. Anatomie du bois. Formation, fonctions et identification, Edition Quae. ed. Paris 6.

Tomlinson, P.B., 2016. The Botany of Mangroves. Cambridge University Press

- Valentin Bhimba, B., Meenupriya, J., Joel, E.L., Naveena, D.E., Kumar, S., Thangaraj, M., 2010. Antibacterial activity and characterization of secondary metabolites isolated from mangrove plant Avicennia officinalis. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine 3, 544–546. https://doi.org/10.1016/S1995-7645(10)60131-9
- Vande Weghe, J. P., 2005. Akanda et Pongara : plage et mangroves, collection les Parcs nationaux du Gabon. Libreville,228.

Verheyden, A., 2004. Growth Rings, Growth Ring Formation and Age Determination in the Mangrove Rhizophora mucronata. Annals of Botany 94, 59–66. https://doi.org/10.1093/aob/mch115

- Verheyden, A., De Ridder, F., Schmitz, N., Beeckman, H., Koedam, N., 2005. High-resolution time series of vessel density in Kenyan mangrove trees reveal a link with climate. New Phytologist 167, 425–435. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01415.x
- Vidyasagaran, K., Nibu, K., Anoop, E.V., 2014. ANATOMY OF SELECTED WOODY MANGROVES IN THE WEST COAST OF KERALA 6.
- Vinoth, R., Kumaravel, S., Ranganathan, R., 2019. Anatomical and physiological adaptation of mangrove wetlands in east coast of Tamil Nadu 20.
- Virgulino-Júnior, P.C.C., Gardunho, D.C.L., Silva, D.N.C., Fernandes, M.E.B., 2020. Wood density in mangrove forests on the Brazilian Amazon coast. Trees 34, 51–60. https://doi.org/10.1007/s00468-019-01896-5
- Wang, W., Yan, Z., You, S., Zhang, Y., Chen, L., Lin, G., 2011. Mangroves: obligate or facultative halophytes? A review. Trees 25, 953–963. https://doi.org/10.1007/s00468-011-0570-x
- Wick, A.F., Haus, N.W., Sukkariyah, B.F., Haering, K.C., Daniels, W.L., 2011. Remediation of PAH-Contaminated Soils and Sediments: A Literature Review 102.
- Widhalm, J.R., Rhodes, D., 2016. Biosynthesis and molecular actions of specialized 1,4-naphthoquinone natural products produced by horticultural plants. Hortic Res 3, 16046. https://doi.org/10.1038/hortres.2016.46

Wong, D.W.S., 2009. Structure and Action Mechanism of Ligninolytic Enzymes. Appl Biochem Biotechnol 157, 174–209. <u>https://doi.org/10.1007/s12010-008-8279-z</u>

XP CEN/TS 15083-1, 2006. XP CEN/TS 15083-1 Durability of wood and wood-based products.
 Determination of the natural durability of solid wood against wood-destroying fungi — Test methods Part 1: Basidiomycetes. (Brussels: CEN - European Committee for Standardization).

Annexe

## Impact de la pollution sur les propriétés du bois de palétuviers de mangrove de l'Estuaire du Gabon : Cas pratiques de *Rhizophora racemosa* et *d'Avicennia germinans*

Mots clés : durabilité, palétuviers, pollution, propriétés, bois

### Résumé :

Les palétuviers de mangrove sont des plantes qui se développent entre la terre et la mer sous les climats tropicaux. Cette position d'interface confère aux mangroves un rôle écologique et socioéconomique important. Entre autres elles servent de protection de biodiversité, elles protègent les côtes contre l'érosion du littoral, et séquestrent de quantités importantes de dioxyde de carbone. Au Gabon, cependant les mangroves font face à une pollution urbaine. Dans cette pollution on retrouve les métaux lourds (ETM), les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et bien d'autres déchets selon leurs localisations. Grâce à son système racinaire développé, notamment pour les espèces *R. racemosa* et *A. germinans*, ces palétuviers absorbent les polluants et les concentrent dans les racines et le tronc. L'objectif de cette étude était de montrer l'impact de la pollution sur les propriétés du bois de la mangrove. Les bois issus du site pollué aux HAP présentaient un bois à aubier non différencié, une diminution de la teneur en extractibles et une faible durabilité aux attaques fongiques. S'agissant des bois issus du site pollué. Ces résultats ont été comparés avec les échantillons de Hêtre (*Fagus sylvatica*) imprégnés par des ETM aux laboratoires qui ont montré la même durabilité plus importante face aux champignons.

## Impact of pollution on the properties of mangrove mangrove wood in Gabon's Estuary : Case studies of *Rhizophora racemosa* and *Avicennia germinans*

Keywords : durability, mangroves, pollution, properties, wood

#### Summary :

Mangrove mangroves are plants that grow between land and sea in tropical climates. This interface position gives mangroves an important ecological and socio-economic role. Among other things, they serve to protect biodiversity, protect the coasts against erosion of the littoral, and sequester significant quantities of carbon dioxide. In Gabon, however, mangroves face urban pollution. This pollution includes heavy metals (ETM), polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and many other wastes depending on their location. Thanks to its developed root system, especially for the species *R. racemosa* and *A. germinans*, these mangroves absorb pollutants and concentrate them in the roots and trunk. The objective of this study was to show the impact of pollution on the properties of mangrove wood. The wood from the PAH-polluted site showed undifferentiated sapwood, reduced extractives content and low durability to fungal attack. The wood from the ETM polluted site had a higher natural durability than the wood collected from the unpolluted sites. These results were compared with samples of beech (*Fagus sylvatica*) impregnated with ETM at the laboratories which showed the same higher durability to fungal.