Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, 1994, **28**, N°3, 185-201

NATURE ET ÉVOLUTION DE LA MICROFLORE DU BOIS DE CHÊNE AU COURS DE SON SÉCHAGE ET DE SON VIEILLISSEMENT A L'AIR LIBRE

P. CHATONNET*, J.N. BOIDRON et D. DUBOURDIEU

Institut d'Œnologie, Université de Bordeaux II,
351, Cours de la Libération, 33405 Talence cedex (France).

Résumé : *Pendant le séchage naturel et le vieillissement à l'air libre du bois de chêne débité en merrain, on assiste à l'envahissement progressif du bois par différents micro-organismes. On a identifié dans ce travail 19 genres et 27 espèces de champignons, 2 genres et au moins 4 espèces de bactéries. La très grande majorité des micro-organismes est localisée dans les couches superficielles du bois. Seuls certains champignons sont retrouvés au cœur du merrain ayant vieilli 5 ans et plus sur parc. La déshydratation rapide du bois semble limiter le développement et l'envahissement en profondeur par les moisissures. Un champignon basidiomycète à arthroconidies, non formellement identifié, qui produit une pourriture blanche, a été isolé dans des merrains stockés 10 ans à l'air libre. Excepté ce champignon particulier, qui grâce à un équipement enzymatique adapté est susceptible d'attaquer simultanément tous les constituants pariétaux, les autres micro-organismes identifiés sont essentiellement cellulolytiques et ne peuvent pas altérer profondément la composition ni la structure du bois. En revanche, ils devraient pouvoir augmenter notablement la perméabilité et l'accessiblité aux liquides des couches superficielles du merrain et faciliter l'implantation ultérieure de basidiomycètes lignolytiques.*

INTRODUCTION

Le bois de chêne est la principale essence utilisée de nos jours pour la fabrication des contenants en bois destinés à l'élevage et au vieillissement des vins et des spiritueux. Avant d'être transformé en douelles, le bois traditionnellement fendu dans son fil est normalement séché et conservé à l'air libre pendant plusieurs mois, voire plusieurs années, selon son épaisseur et sa destination future. Au cours de ce temps, le bois est soumis à tous les aléas climatiques. Tandis qu'il se déshydrate, sa composition physico-chimique évolue lentement. Au cours de cette période, de nombreux micro-organismes sont susceptibles de s'implanter et de coloniser plus ou moins profondément les pièces de bois.

Peu de travaux se sont intéressés à l'évolution spécifique du bois de chêne destiné à la tonnellerie au cours de son séchage naturel et à la nature de la microflore s'implantant à cette occasion sur le merrain (MARCHE et JOSEPH, 1975 ; VIVAS et *al.*, 1991, CHATONNET, 1993 ; VIVAS et GLORIES, 1993 ; LARIGNON et *al.*, 1994).

---

*Chercheur pour la Tonnellerie SEGUIN-MOREAU, 16103 Cognac (France)

Ce travail se propose d'identifier les principaux micro-organismes présents à la surface et dans la masse des merrains de chêne au cours de son séchage naturel par stockage à l'air libre et de préciser l'évolution de la nature et de l'intensité de la colonisation au fur et à mesure du vieillissement du bois. A partir de ces résultats, il devrait être possible de connaître l'influence de la microflore sur l'évolution du bois et en particulier sur les modifications de sa composition physico-chimique.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

I — PRÉLEVEMENT DES ÉCHANTILLONS DE BOIS

Nous avons étudié la microflore implantée sur des merrains de chêne stockés à l'air libre sur le parc de la tonnellerie SEGUIN-MOREAU de Cognac (16) en France.

Nous nous sommes volontairement limités à une provenance de chêne (forêt de Châteauroux) régulièrement exploitée par cette tonnellerie. Le bois étudié correspond à du chêne sessile (*Quercus petrae*) à grain fin et régulier. Les merrains sont prélevés à différentes hauteurs sur les piles (haut, milieu et bas) après 1, 3, 5 et 10 ans de séchage naturel sans aucun autre traitement.

II — ISOLEMENT DES MICRO-ORGANISMES

1°) Techniques de prélèvement

La microflore de surface est analysée par grattage de la surface des merrains (épaisseur 0-2,5 mm) au dessus de géloses d'isolement. La microflore implantée au centre de merrains (10-13 mm de profondeur) est analysée de la façon suivante : afin d'éviter toutes contamination de la partie interne des pièces de bois, on découpe au milieu par sciage des pièces de 3 cm de largeur que l'on fend, tangentiellement par rapport aux fibres du bois, à l'aide d'un ciseau à bois stérilisé à la flamme sur 5 mm au plus ; les coupes se séparent facilement sur le reste de la longueur sans jamais avoir à toucher la partie interne du bois. On gratte à l'aide d'un crochet la partie centrale située entre 10 et 15 mm de profondeur au dessus des géloses d'isolement.

2°) Milieux de culture et identification des micro-organismes isolés

- Isolement des champignons et des *Streptomyces* sur gélose MAG : extrait de malt 35 g, glucose 6 g, extrait de levure 2 g, agar 15 g, eau distillée qsp 1000 ml, pH 7,0.

- Isolement des bactéries *Bacillus/Acinetobacter* : extrait de bœuf 1 g, extrait de levure 2 g, peptone 5 g, chlorure de sodium 5 g, hydrogénophosphate de potassium 0,45 g, hydrogénophosphate de sodium (12 H_20) 2,39 g, agar 15 g, eau distillée qsp 1000 ml, pH 6,9.

- Isolement des bactéries *Xanthomonas/Pseudomononas* : glucose 10 g, extrait de levure 5 g, carbonate de calcium 30 g, agar 15 g, eau distillée qsp 1000 ml, pH 7,0.

Pour isoler plus facilement les bactéries, on rajoute à ces milieux 0,05 mg/l de pimaricine et 1,5 mg/l de diphényle de manière à inhiber le développement des champignons microscopiques qui sont très abondants.

Les micro-organismes sont repiqués sur milieu MAG enrichi en extrait de levure (6 g/l) pour contrôle de pureté et inoculation des tests biochimiques d'identification. Les bactéries ont été identifiées par le LMG (Prof. K. KERSTERS, Université de Gent, Belgique) grâce à la combinaison de différents tests biochimiques (galeries API 50 CHB et API 20E, API SYSTEM, La Balme-les-Grottes, France) et à l'analyse de la composition en acide gras des membranes cellulaires par chromatographie en phase gazeuse à l'aide du système MIDI (Microbial Identification System Inc., Delaware, USA).

Les champignons ont été identifiés grâce à l'observation de leurs organes de reproduction et à la réalisation de certains tests biochimiques par le MUCL (Dr T. DECOCK, Prof. G.L. HENNEBERT, Université Catholique de Louvain, Belgique).

3°) Observation par microscopie électronique à balayage

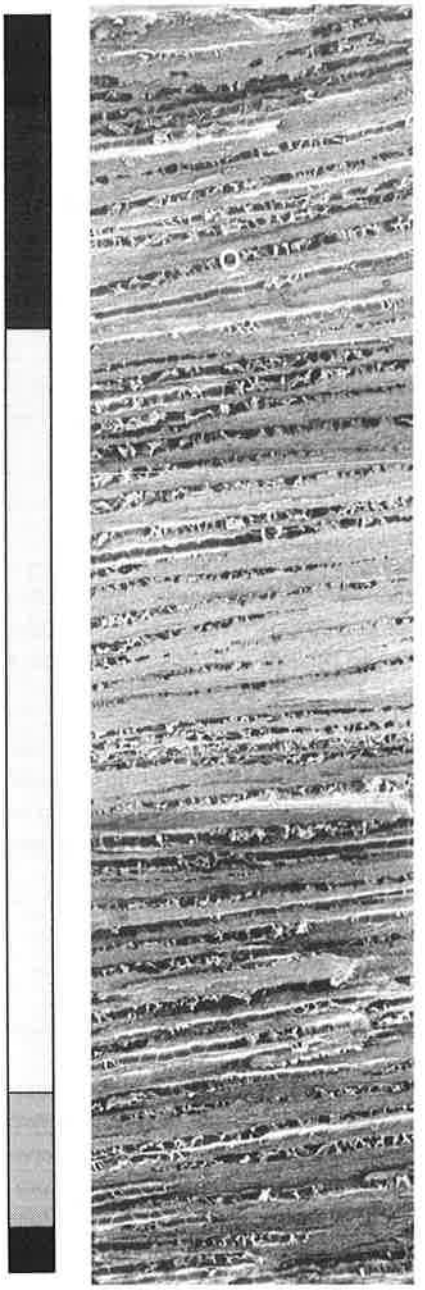
Différents échantillons de merrains ont été analysés par microscopie électronique à balayage afin d'étudier l'évolution de leur colonisation par les moisissures d'après l'abondance relative du mycélium présent sur des coupes de bois de 3 cm de large sur toute l'épaisseur des merrains (21 à 25 mm) obtenues par fendage à l'aide de la technique décrite plus haut.

Les échantillons déshydratés sont métallisés sous vide par le mélange or-palladium puis revêtus d'une mince couche de carbone avant d'être observés régulièrement tous les millimètres sur un microscope à balayage JEOL 840-A. La présence de mycélium est notée de 0 (absence) à 5 (très abondant) et rapportée sur la photographie de la coupe intégrale afin d'apprécier à la fois la profondeur et l'importance de la colonisation du bois (planche I).

RÉSULTATS

I — INVENTAIRE DE LA MICROFLORE DU MERRAIN DE CHENE STOCKÉ À L'AIR LIBRE

La liste des principaux champignons identifiables à la surface et dans la masse du merrain de chêne stocké entre 12 et 120 mois à l'air libre sous le climat océanique de Cognac est donnée dans le tableau I. Au cours de ce travail nous avons très fréquemment observé la présence de "levures noires" appartenant au complexe *Hormonema dematoides*. De nombreux ascomycètes (*Dothiora, Pringsheimia, Sydowia, Guignardia*) développent en culture un stade conidien de type *Hormonema*, mais la seule observation de ce stade ne permet pas d'identifier la souche à une espèce. *Sydowia polyspora* (stade conidien en culture *Hormonema dematoides* Lagerberg & Melin *sensus stricto*) se développe exclusivement sur bois de résineux tandis que les autres espèces se rencontrent aussi sur feuillus. Des inoculations sur substrats naturels ont été réalisées dans l'espoir d'obtenir un autre stade, conidien (pycnide) ou sexué (périthèce), mais restent sans résultat à ce jour. Les micro-organismes sont donc classés provisoirement sous le nom *Hormonema dematoides complex*.





degré de colonisation

0 5

1 mm

PLANCHE I

Observation en microscopie électronique d'une coupe tangentielle de merrain pour estimation de la profondeur et de l'intensité de la colonisation fongique du bois de chêne en cours de séchage naturel à l'air libre (> mycélium)

TABLEAU I

Principaux champignons identifiables sur le bois de chêne stocké et vieillissant à l'air libre (tous prélèvements confondus)

Champignons	Espèce identifiée	Fréquence d'identification*
Zygomycètes		
Rhizopus	*stolonifer*	+
Mucor	—	+
Ascomycètes		
Cephaloascus	*fragrans*	+++
Sordaria	*fimicola*	++
Deuteromycètes		
Alternaria	*alternata*	++
Aspergillus	*flavus*	+
Aureobasidium	*pullulans*	+++
Cephaloascus	*fragrans*	++
Cladosporium	*cladosporoides*	++
Cryptococcus	*skimeri*	+
Epicoccum	*nigrum*	+++
Epicoccum	*purpurescens*	++
Hormonema	*dematoides complex*	+++
Phialemonium	—	++
Penicillium	*crustosum*	+
Penicillium	*glabrum*	++
Penicillium	*granulatum*	++
Penicillium	*purpurens*	+
Penicillium	*roqueforti*	+++
Penicillium	*waskmani*	+
Phoma	—	++
Trichoderma	*longibrachiatum*	+
Trichoderma	*koningii*	+++
Trichoderma	*viride*	++
Basidiomycètes		
Basidiomycète à arthroconidies non identifié	—	+
Fungi imperfecti		
Candida	—	+++
Rhodotorula	*fugiganensis*	+

* : +++ trés fréquent, ++ assez fréquent, + rare

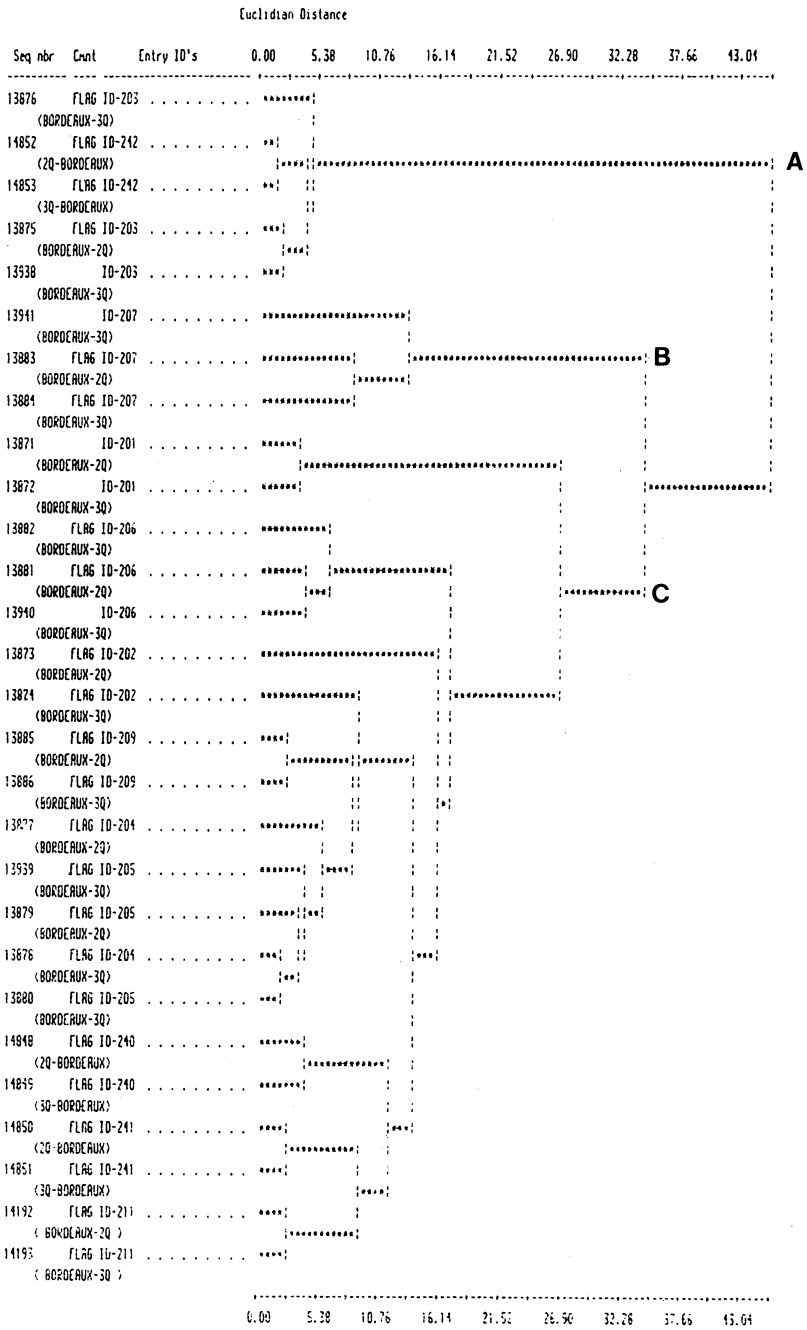


Fig. 1 — Comparaison des profils résultants de l'analyse des acides gras membranaires des bactéries isolées de bois par classification ascendante hiérarchique (programme MIDI)
A = *Bacillus cereus*, B = *Bacillus subtilis*, C = *Bacillus megaterium*

Parmi les bactéries, on identifie toujours des *Bacillus* et parfois des *Streptomyces* à la surface des échantillons les plus âgés (3 ans et plus). A l'intérieur du genre *Bacillus*, la comparaison des profils d'acides gras membranaires à ceux des souches de références par analyse Cluster (figure 1) permet de différencier *Bacillus megaterium* (75 p. cent des isolements) et accessoirement *B. cereus* et *B. subtilis* ou *brevis* (moins de 10 p. cent des isolements).

La très grande majorité des micro-organismes identifiés dans ce travail sont localisés dans les couches superficielles du bois. Seuls certains champignons ont pu être identifiés à l'intérieur du merrain (10-15 mm de profondeur) lorsque celui-ci était colonisé (bois de 5 ans et plus notamment) : *Penicillium roqueforti*, essentiellement, *Penicillium glabrum*, *Candida sp.* et parfois *Phialemonium sp.*

Un champignon Basidiomycète produisant une pourriture blanche caractéristique (laccase fortement positive) a été isolé dans les échantillons de bois âgés de 10 ans. Il produit des arthroconidies en abondance, ce qui est le fait de nombreux Basidiomycètes en culture pure aussi bien chez les *Aphyllorales* que chez les *Agaricales*, et ne présente pas d'anse d'anastomose au septa. Malheureusement, ce champignon n'a pas produit à ce jour de fructifications sexuées qui permettraient de l'identifier plus précisément.

II — ÉVOLUTION DE LA COLONISATION DU BOIS DE CHENE AU COURS DE SON VIEILLISSEMENT

L'observation minutieuse des coupes réalisées sur des merrains ayant 12, 36, 60 et 120 mois de stockage par microscopie électronique à balayage, permet de montrer que le bois est lentement et graduellement colonisé par le mycélium de moisissures de l'extérieur vers l'intérieur du merrain (figure 2).

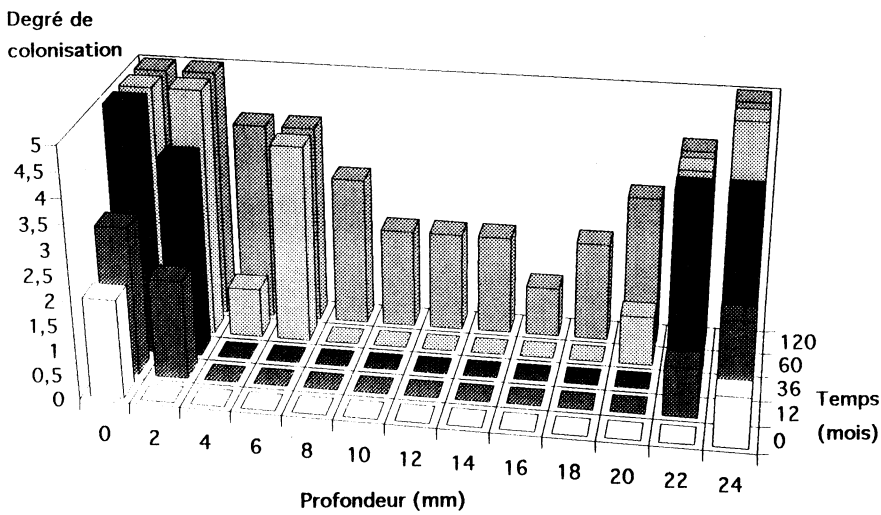


Fig. 2 — Estimation de l'étendue et de l'intensité de la colonisation du merrain en cours de séchage naturel par le mycélium de moisissures par observation d'une coupe en microscopie électronique

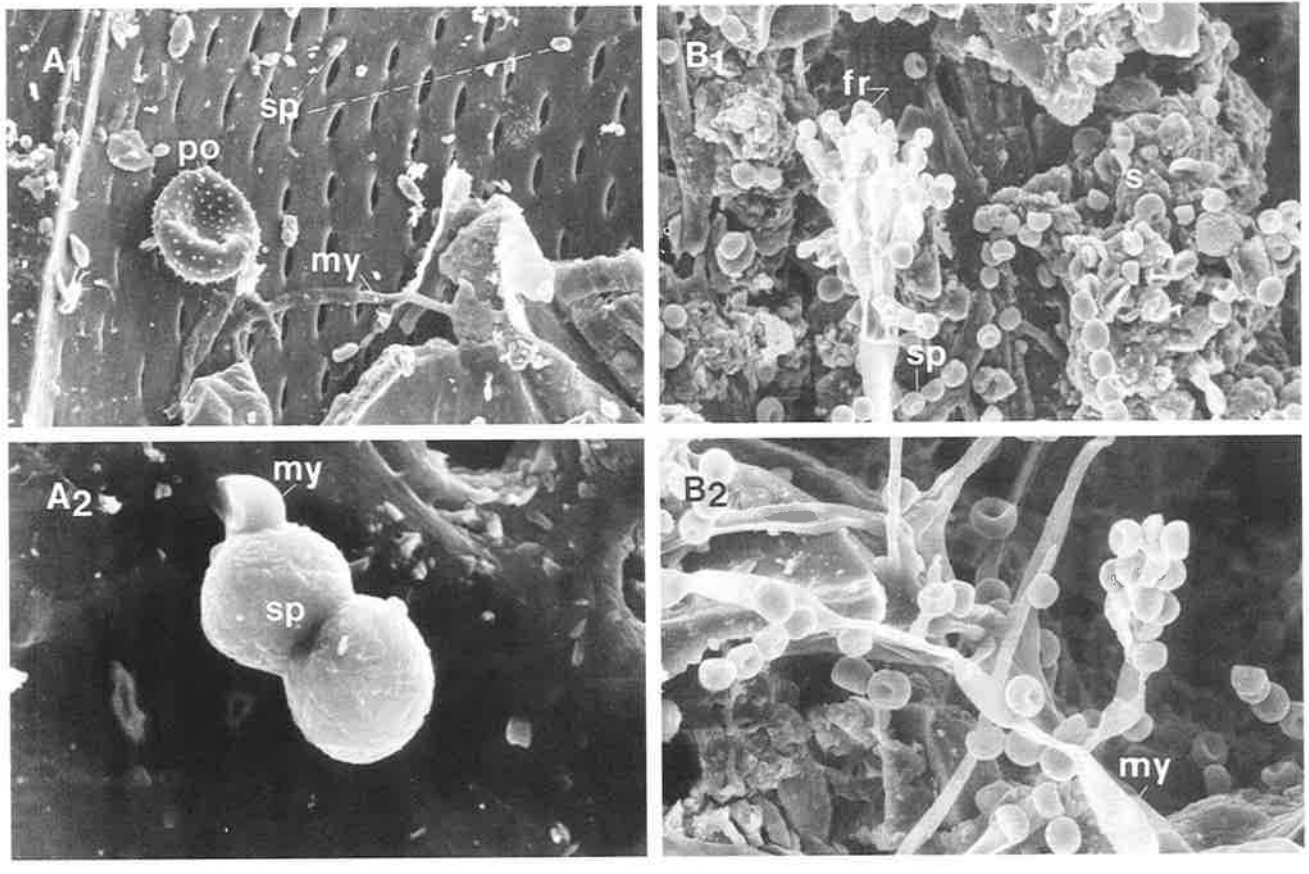


PLANCHE II

PLANCHE II

Implantation des micro-organismes à la surface du merrain au cours de son séchage naturel

A 1 — Etat de la surface d'un merrain stocké 6 mois à l'air libre (x 1000)

On distingue facilement la surface du bois et les ponctuations intravasculaires. Des spores de moisissures (sp) sont présentes un peu partout à la surface à côté de divers débris et grains de pollen (po) et commencent à germer pour donner des filaments mycéliens (my) qui pénètrent à l'intérieur du merrain.

A 2 — Détail de spores (sp) en train de germer (my) (x 5000)

B 1 — Etat de surface d'un merrain après 36 mois de stockage à l'air libre (x 1500)

On ne distingue plus très facilement la surface du bois qui est largement recouverte de mycélium (my), de fructifications (fr) chargées de spores (sp) et de diverses sécrétions polysaccharidiques emprisonnant des poussières.

B 2 — Détail du mycélium et des fructifications des moisissures présentes à la surface du merrain (x 2300) après 36 mois

La face externe du merrain est toujours rapidement colonisée par des spores de différentes origines, les filaments mycéliens pénètrent rapidement les premières couches de bois situées entre 0 et 2 mm. Après 3 ans de vieillissement, les faces externes sont fortement colonisées par les moisissures, des spores sont libérées en abondance (planche II) ; à ce stade, le mycélium atteint fréquemment 3 à 4 mm de profondeur mais les parties internes ne sont toujours pas, ou alors très faiblement, colonisées. Au bout de 5 ans, la pénétration et une colonisation intense sont souvent notées jusqu'à 6 mm de profondeur. Après 10 ans de vieillissement, la totalité de l'épaisseur du merrain est colonisée. Cependant, la densité du mycélium reste relativement faible au delà de 6 mm de profondeur.

La face supérieure du merrain est colonisée plus intensément que la face inférieure, mais les profondeurs de pénétration sont à peu près identiques (figure 2). Après 10 ans de vieillissement (figure 3), le bois d'été, composé de vaisseaux de plus petit diamètre (jusqu'à 20 µ de diamètre pour des parois intervasculaires ayant jusqu'à 10 µ d'épaisseur) que ceux du bois de printemps (en moyenne 4 assises par cerne ayant jusqu'à 300 à 500 µ de diamètre), est colonisé aussi profondément. Dans les bois plus jeunes (3 ans), la pénétration est identique dans les deux types de bois, mais le mycélium est souvent plus abondant dans les gros vaisseaux du bois de printemps. Tous les types de tissus du bois de chêne sont donc susceptibles d'être envahis (planche III).

Les filaments mycéliens pénètrent à l'intérieur du merrain en empruntant préférentiellement les voies les plus facilement accessibles, c'est-à-dire largement ouvertes, notamment les vaisseaux du bois de printemps ou d'été et les ponctuations intra et intervasculaires. Dans les bois les plus âgés (10 ans de stockage à l'air libre), nous avons pu observer un autre type

de colonisation. Si la majorité des hyphes rampent toujours à la surface des tissus ou s'élancent d'une paroi à une autre, certains semblent apparemment capables de perforer les parois intercellulaires du bois de chêne (planche IV) pour traverser d'un tissu à un autre.

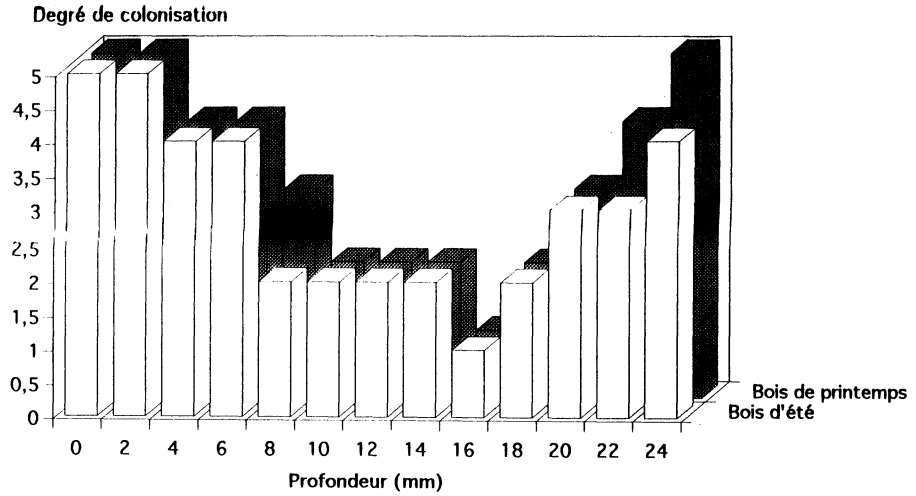


Fig. 3 — Comparaison de la colonisation du bois d'été et du bois de printemps d'un même échantillon de bois stocké à l'air libre durant 10 ans

III — ÉVOLUTION DE LA MICROFLORE DU BOIS AU COURS DE SON VIEILLISSEMENT

Le tableau II montre que la microflore fongique évolue sensiblement au cours du vieillissement du bois sur un parc à l'air libre. On constate que le bois jeune possède une microflore limitée qui est essentiellement composée de *Penicillium sp.*, *Trichoderma sp.*, *Aureobasidium sp.* et *Bacillus* sp.. Après 3 ans de stockage, le bois analysé au printemps (bois sec) possède une microflore plus riche en automne (bois humide), mais les genres dominants sont toujours les mêmes (*Penicillium sp., Trichoderma sp., Aureobasidum sp., Candida sp.* et *Hormonema* essentiellement). Après 10 ans de vieillissement, la microflore est toujours dominée dans nos conditions par *Penicillium roqueforti.* A ce stade, on note l'apparition du champignon basidiomycète à arthroconidies, qui semble spécifique des bois relativement vieux, ainsi que des *Streptomyces* jusque là rares ou absents.

DISCUSSION

Au cours de son stockage à l'air libre, le bois de chêne est progressivement colonisé par différents micro-organismes appartenant pour la plupart à la classe des Deutéromycètes et des Ascomycètes. Les résultats que nous avons obtenus sont comparables à ceux de LARIGNON et *al.* (1994). En revanche, ils sont assez différents de ceux de VIVAS et GLORIES (1993) qui, en comparaison, ont identifié une flore extrêmement pauvre.

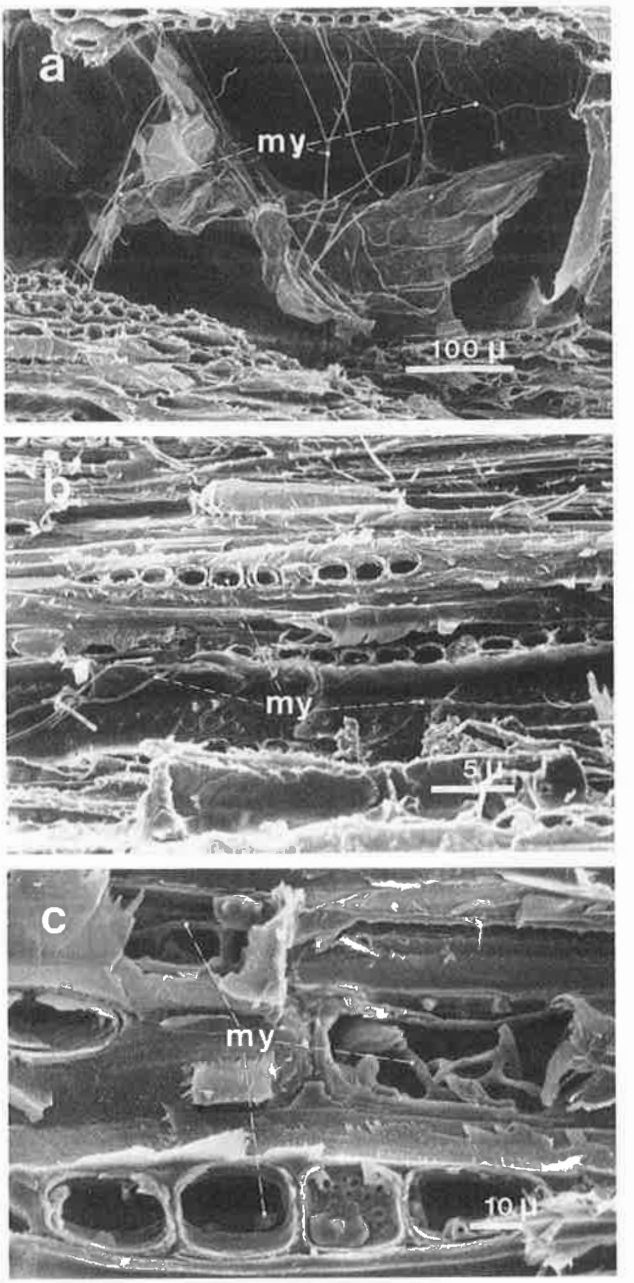


PLANCHE III — Colonisation de différents tissus du bois de chêne au cours de son séchage naturel (36 mois)

1 = mycélium (my) envahissant un vaisseau de bois de printemps ouvert en coupe longitudinale (x 200)
2 = colonisation de vaisseaux dans du bois de printemps (x 500)
3 = Présence de mycélium à l'intérieur des vaisseaux du bois de printemps (x 1000)

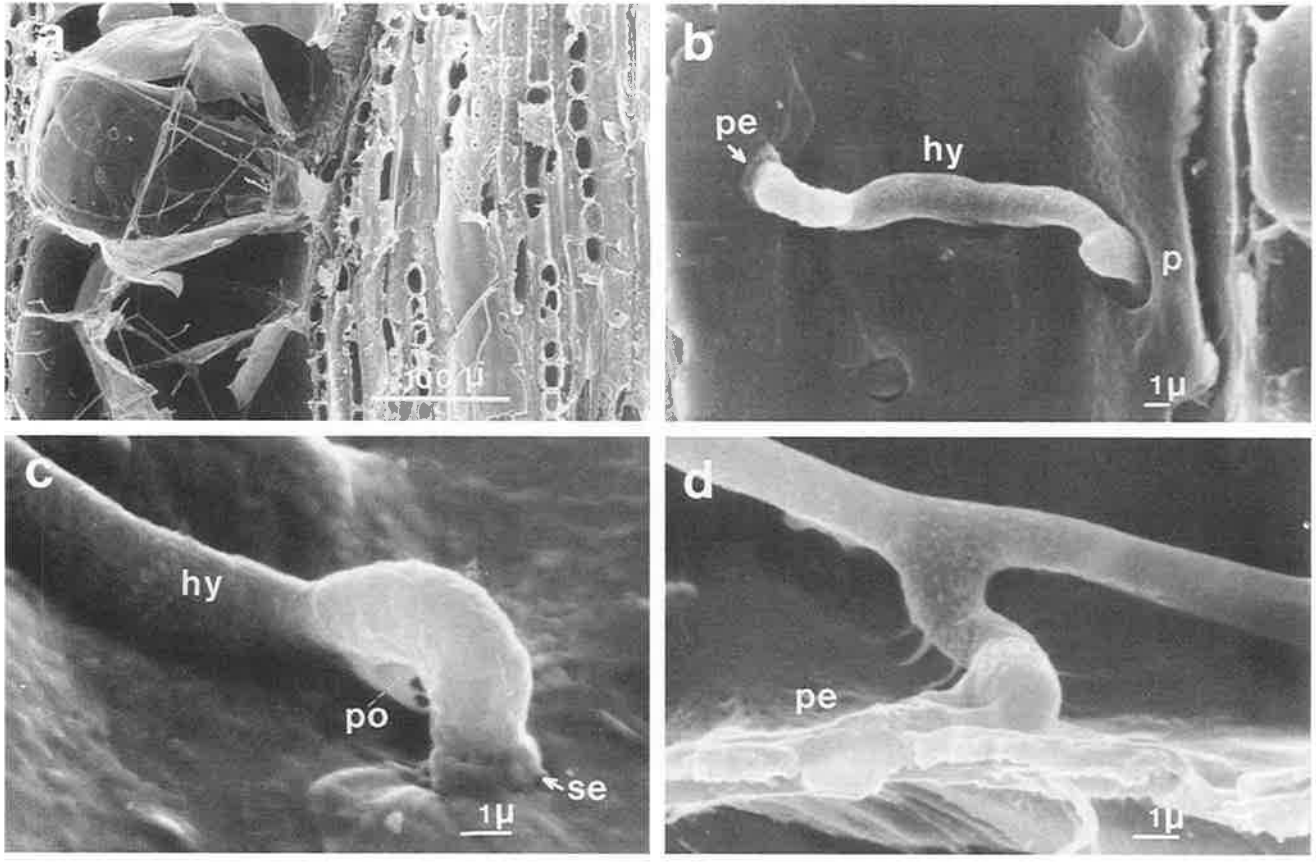


PLANCHE IV

PLANCHE IV

Observation du mode de colonisation du bois en profondeur par les champignons

1 — Localisation de la zone d'observation (x 250) : il s'agit d'un vaisseau de bois de printemps présentant de nombreux thylles à 3 mm de profondeur sur la face supérieure d'un merrain stocké 10 ans à l'air libre.

2 — Détail d'un hyphe (hy) traversant la paroi du vaisseau en empruntant une ponctuation naturelle (p) du bois à une extrémité et commencant à perforer la paroi intervasculaire à l'autre (-> pe) (x 5000).

3 — Détail du même hyphe (hy) en train de perforer la paroi en tentant de la digérer. On distingue sous le mycélium une sécrétion polysaccharidique (po) et une sorte de bourelet empreint de sécrétions (se ->) au niveau du point de pénétration dans le bois (x 12000).

4 — Observation d'une paroi intercellulaire du bois traversée (pe) par un mycélium à un endroit de possédant pas de perforations naturelles (x 8500).

TABLEAU II

Evolution de la microflore à la surface des merrains au cours du vieillissement du bois de chêne à l'air libre

Principaux micro-organismes identifiés	Durée du stockage des merrains				
	12 mois	36 mois Printemps	36 mois Automne	60 mois	120 mois
Alternaria sp.					
Aspergillus sp.					
Aureobasidium sp.					
Candida sp.					
Cladosporium sp.					
Epicoccum					
Penicillium so.					
Sordaria sp.					
Trichoderma sp.					
Hormonema sp.					
Basidiomycète "de pourriture blanche"					
Bacillus sp.					
Streptomyces sp.					

Fréquence d'identification (en pourcentage)

100-80 80-60 60-40

40-20 20-10 10-5

< 5

Les champignons sont les principaux micro-organismes identifiés à la surface et dans la masse du bois. Les couches superficielles du merrain sont rapidement et fortement colonisées par les différentes catégories de micro-organismes tandis que les parties internes, même après un temps de stockage relativement prolongé, possèdent toujours une faible densité de colonisation.

Les bactéries identifiées sont des bactéries telluriques très communes. Aucune bactéries à caractère lignolytique du genre *Acinetobacter*, *Pseudomonas* ou *Xanthomonas* par exemple (ODIER et MONTIES, 1978) n'a été identifiée. En revanche, des *Streptomyces* sont présents à la surface des bois séchés naturellement d'une manière prolongée. Certaines bactéries du type *Bacillus polymyxa* sont capables d'augmenter la porosité du bois de Pin ou d'Eucalyptus en dégradant certains constituants osidiques des parois cellulaires (holocellulose) (GREAVES, 1970), mais nous ignorons si *B. megaterium* possède la même capacité sur le chêne.

Les moisissures que nous avons identifiées sont très communes sur les bois conservés à l'air libre (ZABEL et MORREL, 1992), elles peuvent se développer sur des bois relativement secs et sont qualifiés de xérophiles (GRIFFIN, 1969). Elles sont capables de pénétrer le bois à partir de fractures ou de vaisseaux ouverts et passent d'une cellule à l'autre en empruntant les perforations naturelles du bois. Ces moisissures peuvent également attaquer les membranes des perforations obstruées et rendre ainsi le bois plus réceptif aux fluides et notamment aux liquides. Le traitement du sapin et de l'épicéa par des moisissures a d'ailleurs été proposé pour augmenter la perméabilité de ces bois difficiles à traiter par imprégnation (SCHULZ, 1956). Toutes les moisissures et levures identifiées dans ce travail sont capables d'assimiler des sucres simples et pour certaines de dégrader les polysaccharides pariétaux (hémicelluloses et cellulose) grâce à un complexe cellulasique (endo glucanases, exo glucanases, cellobiases et ß-glucosidases) (BISARIA et GHOSE, 1981) et éventuellement un système péroxydatif chimique (KOENIGS, 1974). Par ailleurs, ces micro-organismes (*Aspergillus, Penicillium, Rhizopus, Trichoderma*) sont connus pour causer des modifications superficielles de la coloration des bois ("bleuissement"), en facilitant l'oxydation et la polymérisation naturelle de constituants polyphénoliques du bois (STUTZ, 1959, KÄÄRIK, 1974, ZABEL et MORREL, 1992) et en libérant des pigments à base de mélanine (ZINK et FENGEL, 1990), mais ils ne sont jamais signalés comme capable de dégrader profondément la structure du bois de coeur.

A la différence des micro-organismes précédents, le champignon basidiomycète isolé dans le bois le plus âgé (10 ans de stockage) possède une forte activité Laccase (polyphénol-oxydase) et développe une pourriture blanche, ce qui signifie que ce champignon est capable digérer les principaux constituants pariétaux du bois duraminisé, en particulier la lignine et la cellulose, donc de modifier profondément la composition chimique et les propriétés physiques du chêne (densité, résistance...). L'observation de mycélium traversant les parois vasculaires en les digérant pourrait être reliée à la présence de ce champignon particulier. Ce type de champignon lignolytique ne peut se développer que sur des bois humides ($\geq$ 35 p. cent d'humidité) ou préalablement colonisés par une microflore pionnière du type de celle identifiée sur les échantillons de merrains plus jeunes et qui favorise son installation

(BAUER, 1987). *Alternaria alternata*, après une incubation prolongée dans des conditions d'humidité idéale, a été signalée comme capable de dégrader le bois à la manière des champignons lignolytiques classiques en attaquant la couche S_2 (lignifiée) des parois (WANG et ZABEL, 1990). Cette capacité a néanmoins été rapportée sur des bois d'aubier et non sur du bois de coeur riche en tanin comme celui qui nous intéresse Par ailleurs, *Alternaria sp.* a toujours été identifiée assez peu fréquemment dans nos conditions (5 à 11 p. cent au plus des identifications) et toujours à la surface du bois.

Le développement de la majeure partie des micro-organismes identifiés nécessite de l'eau libre, de l'oxygène et une source de glucides facilement assimilable. Après 6 mois de séchage naturel, l'humidité du bois devient souvent trop faible (< 20 p. cent) pour permettre aux moisissures de pénétrer rapidement et profondément le bois (BAUER, 1987). L'eau disponible pour les micro-organismes se présente sous deux formes différentes, soit libre (eau hyperhygroscopique) et qui s'élimine la première lors du séchage, soit adsorbée sur les composants des parois cellulaires (eau hygroscopique). Lorsque les fibres sont saturées de liquide et que le lumen cellulaire ne renferme pas d'eau, le bois atteint le point de saturation des fibres (THIEMAN, 1906). La quantité d'énergie dépensée par le champignon pour extraire cette eau sera d'eau plus importante qu'elle sera plus étroitement liée au substrat. LARIGNON et *al.* (1994) a signalé que l'arrosage des piles de bois pendant les périodes sèches était un facteur favorisant la colonisation du merrain en profondeur. Cependant, une humidification trop importante, en diminuant la quantité d'oxygène au coeur du bois et en lessivant les sucres solubles, peut également empêcher le développement de ces mêmes champignons (ZABEL et MORREL, 1992). Les champignons identifiés au cœur du merrain appartiennent pour la plupart au genre *Penicillium* et plus particulièrement à l'espèce *Roqueforti.* Cette moisissure a déjà été signalée comme capable de pénétrer profondément des tissus secs comme le liège, son développement semble favorisé par une anaérobiose partielle et il est capable de se développer sur des milieux riches en tanins (MOREAU, 1978).

CONCLUSIONS

Au cours du séchage naturel et du vieillissement du bois de chêne stocké à l'air libre, les merrains sont progressivement colonisés par différents micro-organismes parmi lesquels les champignons sont prépondérants. Pendant la durée classique de séchage naturel des merrains, qui varie généralement entre 24 et 36 mois, les couches superficielles du merrains sont rapidement et assez fortement colonisées alors que les couches plus profondes le sont peu ou pas. La pénétration des moisissures et la colonisation importante de l'intérieur du bois nécessite une durée de stockage plus longue car la déshydration du bois empêche le développement rapide des champignons.

L'intervention des micro-organismes dans la modification de la composition et de la structure du bois nécessite une certaine densité de colonisation en dessous de laquelle toute action significative est illusoire.

Dans le laps de temps correspondant aux durées classiques de séchage naturel du bois de chêne, cette densité de colonisation ne semble pouvoir être atteinte que dans les couches superficielles du merrain comprises entre 0 et 4 mm de profondeur environ. En deçà, l'intervention de la microflore doit être très faible.

Excepté vraisemblablement une augmentation importante de la perméabilité et de l'accessibilité aux liquides des couches superficielles, la grande majorité des micro-organismes identifiés sur les bois ayant jusqu'à 5 ans de stockage ne semble pouvoir être capable que de faibles modifications de la structure et de la composition du bois. En revanche, cette microflore facilite à terme l'installation de champignons basidiomycètes, agents de pourriture blanche, susceptibles de dégrader beaucoup plus fortement le bois en effectuant une attaque non sélective de tous les composants pariétaux.

L'évolution de la composition physico-chimique du bois et l'influence de la microflore identifiée dans ce travail sera présentée dans des publications ultérieures.

Manuscrit reçu le 8 mars 1994 ; accepté pour publication le 25 mai 1994

Remerciements :

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance au Pr. G.L HENNEBERT et au Dr. DECOCK (MUCL, Université de Louvain, Belgique) pour leur aide en matière de mycologie et au Dr. M. MERCIER (Dept. de Microscopie Électronique, Université de Bordeaux I) pour l'aide apportée lors des observations microscopiques.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BAUER C., 1987. Étude des relations entre l'humidité du bois et l'attaque fongique. In "*Actes du colloque Sci. et Ind. du bois*", Avril 1987, Tome I, 205-212.

BISARIA V.S. et GHOSE T.K., 1981. Biodegradation of cellulosic materials : substrates, microorganisms, enzymes and products. *Enzime Microb. Technol.*, **3**, 90-104.

CHATONNET P., 1993. Le séchage et la maturation des bois en tonnellerie. In "*La barrique et le vin : Maîtrise scientifique d'un savoir-faire traditionnel*", SEGUIN-MOREAU & Cie Ed., Cognac, 28-41.

GREAVES H., 1970. The effect of some wood-inhabiting bacteria on the permeability characteristics and microscopic features of Eucalyptus regnans and Pinus radiata sapwood and heartwood. *Holzforschung*, **24**, n°1, 6-14.

GRIFFIN D.M., 1969. Soil water in the cology of fungi. *Ann. Rev. Phytopathol.*, **7**, 289-310.

KÄÄRIK A., 1974. *Sapwood staining fungi. Compilation for the International Research Group on Wood Preservation*, 6th Meeting in Vienna, June 18th 1974,

KOENIGS J.W., 1974. Hydrogen peroxide and iron : a proposed system for decomposition of wood by brown-rot basidiomycetes. *Wood and Fiber Sci.*, **6**, n°1, 66-80.

LARIGNON P., ROULLAND C., VIDAL J.P., CANTAGREL R., 1994. *Etude de la maturation en charentes des bois de tonnellerie*. Rapport de la Station viticole du Bureau National interprofessionnel du Cognac, Mars 1994, 21 p..

MARCHE M. et JOSEPH E., 1975. Etude théorique sur le Cognac et son vieillissement. *Rev. Fr. Œnol.*, **57**, 1-106.

MOREAU M., 1978. La mycoflore des bouchons de liège. *Revue de mycologie*, **42**, 155-189.

ODIER E. et MONTIES B., 1978. Biodegradation des lignines par les bactéries. In "*Bull. de liaison du groupe polyphénols*, **8**, Nancy, 207-213.

SCHULZ G., 1956. Exploratory test to increase preservative penetration in spruce and aspen by mold infection. *Forests Products Journal*, **6**, n°2, 77-80.

STUTZ R.E., 1959. Control of brown stain in easter white pine. *Forest Products Journa*l, **11**, 5, 258-260.

THIEMAN H.D., 1906. Effect of moisture on the strengh and stiffness of the wood. *U.S. Dept. Agr. For. Serv. Bull.*, n°70, 32-45.

VIVAS N. et GLORIES Y., 1993. Etude de la flore fongique du chêne *Quercus sp.* caractéristique du séchage naturel des bois destinés à la tonnellerie. *Cryptogamie mycol.*, **14**, n°2, 127-148.

VIVAS N., GLORIES Y., DONECHE B., GUEHO E., 1991. Observations sur la microflore du bois de chêne au cours de son séchage naturel. *Ann. Sci. Nat. Bot.*, **11**, 149-153.

WANG C.J.K et ZABEL R.A., 1990. *Identification manual for fungi from utility poles in the Easter United States*. American Type Culture Collection, Rockville, Maryland.

ZABEL R.A. et MORREL J.J., 1992. *Wood microbiology - decay and its prevention*. Academic press Inc., Harcourt Brace Jovanovich publishers.

ZINK P. et FENGEL D., 1990. Studies on the colouring matter of blue-stain fungi. Part 3. Spectroscopic studies on fungal synthetic melanins. *Holzforschung*, **44**, 3, 163-168.