



HAL
open science

Aspects sanitaires de la filière aulne glutineux, frêne commun et saule dans le cadre de la renaturation des cours d'eau

Anne Chandelier, Patrick Mertens, Benoit Marçais, Claude Husson

► To cite this version:

Anne Chandelier, Patrick Mertens, Benoit Marçais, Claude Husson. Aspects sanitaires de la filière aulne glutineux, frêne commun et saule dans le cadre de la renaturation des cours d'eau. Renaturation des berges de cours d'eau et phytoremédiation, Les Presses agronomiques de Gembloux, 155 p., 2013, 978-2-87016-126-5. hal-01269465

HAL Id: hal-01269465

<https://hal.science/hal-01269465>

Submitted on 6 Jun 2020

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.

Aspects sanitaires de la filière aulne glutineux, frêne commun et saule dans le cadre de la renaturation des cours d'eau

Chandelier Anne, Mertens Patrick,
Marçais Benoit, Husson Claude

Résumé

La renaturation des cours d'eau passe par des programmes de production, de transport et de plantation d'écotypes de frêne, de saule et d'aulne. Ces activités nécessitent, à chaque étape, une grande vigilance pour éviter l'installation et le développement de problèmes phytosanitaires. Ce chapitre fait le point sur les principales maladies qui touchent ces trois essences, dresse un bilan des risques d'introduction d'agents pathogènes dus à l'action de l'homme en bordure de rivières et cite en exemple deux maladies létales émergentes en Europe sur le frêne commun et l'aulne glutineux. Enfin, les questions de fréquence et de niveau de résistance putative chez l'aulne envers l'agent pathogène *Phytophthora alni* dans les populations sauvages seront abordées. Estimer la part de résistance disponible chez l'aulne est un élément clé pour prédire l'avenir de l'espèce dans les ripisylves.

Mots-clés : *Alnus glutinosa*, *Fraxinus excelsior*, *Salix*, maladie des plantes, *Phytophthora*, *Chalara*, zone ripicole, protection des berges.

Phytosanitary issues in common alder, common ash and willow within the context of riverbank restoration

Riverbank restoration involves several stages, including plant production in nurseries, transport and the plantation of woody ecotypes (alder, ash and willow). Great care is required in all these activities in order to prevent pathogen establishment and development. This chapter focuses on the major diseases affecting these tree species, assesses the risk of pathogen introduction as a result of human activity on riverbanks and reports on two lethal emerging diseases affecting common ash and black alder in Europe. It also discusses putative resistance to the pathogen *Phytophthora alni* in natural alder stands (resistance evaluation method, frequency and levels of resistance). Estimating available resistance in *Alnus glutinosa* is a key element in predicting the future of the species in riparian forests.

Keywords: *Alnus glutinosa*, *Fraxinus excelsior*, *Salix*, plant diseases, *Phytophthora*, *Chalara*, riparian zones, riverbank protection.

2.1 Revue des principales maladies et des ravageurs des essences ligneuses rivulaires

Parmi les essences ligneuses qui peuplent les berges des cours d'eau, trois sont particulièrement représentées dans la zone qui couvre la Wallonie, le Luxembourg et le nord-est de la France : l'aulne glutineux (*Alnus glutinosa*), le frêne commun (*Fraxinus excelsior*) et les saules (*Salix* spp.). Ces essences, qui jouent un rôle majeur dans l'écosystème rivulaire, tant au niveau écologique que sociétal, peuvent être affectées par divers ravageurs (insectes et acariens) et agents pathogènes (champignons, bactéries) (Abras et al., 2008 ; Delhaye et al., 2010).

Jusqu'à la découverte du dépérissement de l'aulne causé par *Phytophthora alni*, un oomycète proche des algues bleues responsable de la mort de nombreux aulnes rivulaires en Europe (Gibbs, 1994), l'aulne glutineux était considéré comme un arbre peu sensible aux maladies et ravageurs (Claessens, 2005). Deux insectes (la galéruque de l'aulne, *Agelastica alni*, et la cécidomyie des feuilles, *Dasineura tortilis*) et deux acariens (les phytoptes galligènes, *Eriophyes inangulis* et *Eriophyes laevis*, et le phytopte de l'aulne, *Acalitus brevitarsus*), causant des dégâts foliaires, peuvent être observés occasionnellement. Plusieurs champignons provoquent aussi des dégâts foliaires et sont responsables de maladies, comme l'antracnose de l'aulne causée par *Gloeosporium* spp., la maladie des cloques causée par *Taphrina tosquinetii*, l'oïdium causé par *Erysiphe penicillata* ou la rouille causée par *Melampsorium alni*. Ces maladies ont toutefois peu d'impact sur le développement de l'arbre.

À l'instar de l'aulne, le frêne commun n'a jamais vraiment souffert d'un problème phytosanitaire majeur. La découverte de la chalarose, maladie causée par le champignon *Hymenoscyphus pseudoalbibus* identifié en 2006 en Pologne (Kowalski, 2006), a changé la situation à telle enseigne qu'aujourd'hui la sylviculture du frêne en Europe est clairement menacée. D'autres champignons pathogènes peuvent être observés sur frêne, parmi lesquels *Nectria galligena*, l'agent du chancre européen et *Phyllactinia guttata*, responsable de l'oïdium du frêne. Divers insectes sont susceptibles d'occasionner des dégâts foliaires tels le charançon du frêne (*Stereonychus fraxini*), le psylle du frêne (*Psyllopsis fraxini*) ou la cécidomyie des feuilles de frêne (*Dasineura fraxini*). Les dégâts occasionnés par ces insectes restent toutefois mineurs.

Les deux maladies majeures et émergentes à la fin du xx^e siècle sur l'aulne et le frêne causées par *Phytophthora alni* et *Hymenoscyphus pseudoalbibus*, respectivement, seront détaillées au paragraphe 2.3.

Contrairement aux deux autres essences que sont l'aulne et le frêne, les saules n'ont fort heureusement pas encore été touchés par un problème phytosanitaire majeur. L'antracnose du saule, causée par le champignon *Drepanopeziza sphaeroides*, est une

maladie assez répandue mais peu dangereuse pour l'arbre. Elle cause des chancres sur les rameaux et des déformations foliaires. Trois autres maladies cryptogamiques occasionnent des dégâts foliaires : la tavelure due à *Pollaccia saliciperda*, la rouille due à *Melampsora* spp. et l'oïdium dû à *Erysiphe adunca*. Ces maladies sont elles aussi sans gravité pour l'arbre infecté. La maladie de la goutte est une maladie plus dangereuse. Elle est causée par la bactérie *Brenneria salicis* qui induit une occlusion des vaisseaux du bois, ce qui provoque le flétrissement du feuillage et des descentes de cime. Les sujets très atteints finissent par dépérir.

2.2 Risques d'introduction de maladies liés aux interventions humaines dans les ripisylves

Parmi les principales causes d'émergence de maladies infectieuses chez les plantes figurent le changement climatique et les pratiques sylvicoles et agricoles dans 25 % et 9 % des cas, respectivement (Anderson et al., 2004). À propos des ripisylves, elles sont peu ou pas concernées par la sylviculture car l'exploitation du bois des strates arborées n'est pas très développée. Mais la cause majeure d'émergence est l'introduction de nouveaux agents pathogènes dans une zone géographique auparavant saine qui représente plus de 50 % des cas.

Le milieu ripicole est particulièrement concerné par ces risques d'introduction car c'est un écosystème fréquemment perturbé par l'activité des professionnels (gestionnaires de cours d'eau) et des non-professionnels. Les espaces à proximité des berges de rivières sont très anthropisés pour diverses raisons : terres agricoles (élevage, culture), aires de loisirs (promenade, pêche), reconstitution de la végétation par plantation. Ces interventions humaines sont autant de possibilités d'introduction d'agents pathogènes via le transport de sol, l'utilisation d'outils ou de plants contaminés. En effet, de tels exemples d'introduction ont déjà été largement décrits dans la littérature. Tjosvold et al. (2002) ont ainsi détecté *Phytophthora ramorum*, agent pathogène responsable de la mort subite du chêne aux États-Unis, dans du sol prélevé sur des chaussures de randonneurs provenant d'une zone contaminée.

Par ailleurs, l'utilisation d'outils de taille ou d'élagage crée une porte d'entrée pour le parasite dans la plante hôte. Ainsi, en Amérique centrale, le dépérissement du cacaoyer dû à *Ceratocystis fimbriata* est appelé aussi le « mal des machettes » (Semal et al., 1989).

Enfin, le risque d'introduction de maladies via le transport de plants contaminés a été clairement décrit dans le cas de l'aulne glutineux (Jung et al., 2004). En effet, les auteurs ont montré que l'infection des aulnaies ripicoles par *Phytophthora alni* en Bavière avait souvent pour origine une plantation en amont des rivières de jeunes

aulnes infectés lors de leur production en pépinière. En raison de la densité de plants, des systèmes d'irrigation et d'échanges, les pépinières sont des lieux propices à l'infection de végétaux par divers agents pathogènes où les symptômes peuvent par ailleurs être masqués, soit par des traitements phytosanitaires soit par la durée de latence de certaines maladies. Par la suite, les échanges entre pépinières au niveau national ou international, le commerce puis la plantation sont à l'origine de l'introduction des agents et parfois de leur établissement et propagation. Un autre exemple typique est encore une fois celui de *P. ramorum* aux États-Unis où il a été montré que les infections sur rhododendrons observées sur la côte Est étaient dues aux transports de plants en provenance de la côte ouest où la maladie a été initialement détectée (Goss et al., 2009). *P. ramorum* a aussi été introduit au Canada en provenance d'Europe (Goss et al., 2011). Enfin, plus récemment, *Hymenoscyphus pseudoalbibus*, agent pathogène létal et invasif en Europe continentale, a été découvert sur frêne dans une pépinière dans le Sud de l'Angleterre en février 2012 sur des plants importés des Pays-Bas en novembre 2011 (EPPO, 2012). Dans le courant de l'année 2012, le champignon a ensuite été détecté dans divers sites de plantations d'arbres au Royaume-Uni (<http://www.forestry.gov.uk/chalara>) puis s'est propagé dans les peuplements sauvages.

Par ailleurs, les berges de cours d'eau constituent des écosystèmes particulièrement fragiles. En effet, une fois introduits, les agents pathogènes peuvent se disséminer aisément grâce aux cours d'eau qui constituent de bons vecteurs de maladie. Lutter contre un tel scénario épidémique pour un retour à un équilibre hôte/parasite devient ainsi délicat.

Dans le cas du chancre coloré du platane, Grosclaude et al. (1991) ont montré que l'inoculum produit par des arbres malades peut être véhiculé par la rivière jusqu'à une distance de plus de 100 m en une semaine, provoquant ainsi l'infection des arbres sains situés en aval. Les auteurs concluent que le transport des propagules infectieuses est vraisemblablement le fait du courant d'eau, ou alors de la faune ripicole et aquatique (rongeurs, poissons, batraciens). Aujourd'hui, l'Union Européenne a mis en place des réglementations draconiennes pour limiter cette maladie.

Un autre exemple remarquable décrit par Jules et al. (2002) est la dissémination de *Phytophthora lateralis*, agent pathogène de *Chamaecyparis lawsoniana*, dans les ripisylves en Oregon (États-Unis). Les auteurs ont retracé et cartographié l'historique de l'infection des arbres localisés au bord des cours d'eau sur une période de 15 ans par dendrochronologie des arbres morts. Dans 72 % des cas, les événements infectieux avaient pour origine géographique les jonctions entre les routes ou chemins et les ruisseaux. Les véhicules, et notamment les engins utilisés pour l'exploitation forestière, ont transporté l'inoculum qui, déposé au niveau de ces jonctions, s'est disséminé ensuite dans l'eau de rivière contaminant ainsi les arbres situés en aval.

Les auteurs ont montré que le déplacement de sol contaminé par l'homme ou par les animaux participait aussi au dépôt d'inoculum de *P. lateralis*.

Ainsi, la ripisylve constitue un écosystème particulièrement fragile, car sous la menace élevée à la fois d'introduction d'agents pathogènes et de leur dissémination facilitée par les voies naturelles et humaines. Les programmes de renaturation des cours d'eau s'avérant indispensables pour l'écologie, la qualité de l'eau et la biodiversité de la flore et de la faune, la vigilance est cruciale pour éviter toute catastrophe épidémique. Concernant les plantations, cela passe par une surveillance sans faille de la qualité des plants par l'ensemble de la filière professionnelle, de la production des plants à leur installation, et par des contrôles accrus à une échelle internationale lors de leur transport.

2.3 Deux exemples de maladies émergentes et invasives en ripisylve sur aulne et frêne

2.3.1 La chalarose du frêne

Au cours des années 1990, des dépérissements de frêne commun (*Fraxinus excelsior*) ont été observés en Pologne. Le champignon pathogène responsable de cette maladie émergente en Europe a été isolé en 2006 puis nommé *Hymenoscyphus pseudoalbidus* (anamorphe *Chalara fraxinea*) (Kowalski, 2006; Husson et al., 2011; Queloz et al., 2011). Il affecte le frêne commun (*F. excelsior*) et le frêne à petites feuilles (*F. angustifolia*), aussi bien les semis que les arbres adultes. Il se développe en milieu forestier, mais aussi sur les frênes rivulaires et d'alignement en milieu urbain ou le long des routes. À l'exception de quelques arbres qui semblent résistants à la maladie et qui représentent moins de 5% selon une étude menée au Danemark (Mac Kinney et al., 2011), les arbres infectés finissent par dépérir. Des études de génétique des populations de *H. pseudoalbidus* et de sa pathogénicité montrent clairement qu'il s'agit d'un parasite introduit et invasif en Europe dont l'origine est probablement asiatique (Husson et al., 2011; Gross et al., 2012a; Zhao et al., 2013).

Le champignon se disperse à courte distance par le vent entre juin et octobre via les ascospores, spores libérées de pézizes (fructification sexuée) présentes sur les rachis de feuilles dans la litière et qui constituent l'essentiel de l'inoculum (Timmermann et al., 2011; Gross et al., 2012b). Sur les jeunes rameaux (semis, rejets de souche, extrémités de branches), le champignon induit des nécroses sur les folioles et les pétioles. En été, ceux-ci flétrissent puis noircissent mais restent attachés aux rameaux (**Figure 2.1**). Le champignon provoque aussi des nécroses corticales de teinte brune ou orangée, souvent de forme anguleuse, facilement

observables après la chute des feuilles en automne et en hiver (**Figure 2.2A**). En section transversale, le bois des jeunes branches prend une teinte brune (**Figure 2.2B**). Sur les arbres adultes, en début d'infection, des rameaux morts sont visibles à l'extrémité du houppier (**Figure 2.3A**). Par la suite, des mortalités de branches plus importantes sont observées et de nombreux gourmands sont produits, donnant à la couronne une forme colonnaire caractéristique (**Figure 2.3B**). Enfin, sur les arbres très infectés, des chancres et nécroses souvent cachés par la mousse apparaissent à la base de l'arbre (**Figure 2.4**) (Husson et al., 2012).

La maladie a été observée en France dès 2008 (loos et al., 2009). Une surveillance menée en Belgique depuis 2009 a permis de l'identifier pour la première fois en 2010 (Chandelier et al., 2011). Depuis, la maladie s'est largement répandue en Belgique. En France, elle est présente dans tout le quart nord-est.

Actuellement, il n'existe pas de moyen de lutte efficace contre ce champignon. En site infecté, il est conseillé de n'abattre que les arbres présentant un déficit foliaire de plus de 50 % ou ceux avec des nécroses au collet. Les arbres peu infectés resteront sur pied pour éviter de déstabiliser les peuplements ou de détruire les individus potentiellement résistants. En effet, McKinney et al. (2011) ont estimé à environ 5 % le pourcentage d'arbres sans symptômes dans les zones infectées. Bien que ce taux soit très faible, il pourrait être suffisant pour un maintien de l'espèce par sélection naturelle ou artificielle. À titre préventif, il est nécessaire de limiter les risques d'introduction du champignon dans des zones encore indemnes. À cet égard, le transport de grumes et de plants de zones contaminées vers des zones saines (dispersion à longue distance) sont à éviter. D'une façon générale, la plantation de frêne est aujourd'hui déconseillée. D'un point de vue sylvicole, il est vivement recommandé d'éviter les frênaies pures et de privilégier, au contraire, les mélanges d'essences.

2.3.2 Le dépérissement de l'aulne causé par *Phytophthora alni*

Au début des années 1990, un dépérissement massif d'aulnes glutineux a été observé le long des cours d'eau en Angleterre. Par la suite, il a été détecté dans de nombreux pays européens. L'agent pathogène primaire responsable de cette maladie létale a été isolé à partir de racines, de bois et de sol et nommé en 2004 *Phytophthora alni* (Brasier et al., 2004).

Ce parasite tellurique attaque le système racinaire des arbres qui conduit à un dépérissement du houppier (**Figure 2.5**). Les feuilles sont plus petites, jaunissantes, et le feuillage est clairsemé (**Figure 2.6**). L'agent affecte aussi la base des troncs où apparaissent des nécroses de couleur noire à brun-rouille d'où suintent parfois des exsudats goudronneux (**Figures 2.7A, 2.7B et 2.7C**) (Streito, 2003).



Figure 2.1. Symptôme foliaire de la chararose sur frêne.



Figure 2.2. Chancres et nécrose corticale (A) et noircissement du bois (B) sur rameaux de frênes.



Figure 2.3. Mortalité des extrémités de rameaux dans le houppier de frêne adulte (A) et production de gourmands sur le tronc (B).



Figure 2.4. Chancre et nécrose au collet de frêne adulte.



Figure 2.5. Dépérissement du houppier d'aulnes (à droite) en ripisylve.



Figure 2.6. Éclaircissement et jaunissement du feuillage d'aulnes.



Figure 2.7. Nécroses corticales de couleur rouille à noirâtre au collet d'un aulne adulte (A), d'un aulne jeune (B) et lésion sous-corticale en forme de flamme (C).

Figures 2.1 à 2.4 : photographies CRA-W, Belgique et Figures 2.5 à 2.7 : photographies INRA Nancy, France.

Ces symptômes ne sont pas typiques et seul un isolement mycologique ou une détection moléculaire permettent de confirmer sa présence. Toutefois, une fois détecté, il est généralement acquis que le dépérissement des arbres voisins en bordure du même cours d'eau et présentant les symptômes ci-dessus sont dus à *P. alni*.

La maladie est très présente en Lorraine et en Wallonie où 17 % et 28 %, respectivement, des aulnes sont estimés dépérissants au début des années 2000 (Debruxelles et al., 2003 ; Thoirain et al., 2007).

Cet agent pathogène est spécifique du genre *Alnus*. En Europe, *P. alni* est pathogène sur les quatre espèces endémiques, *A. glutinosa* (aulne commun ou glutineux), *A. cordata* (aulne de Corse ou d'Italie), *A. incana* (aulne blanc), *A. viridis* (aulne vert) mais les dépérissements sont particulièrement sévères sur l'aulne glutineux en raison de sa forte sensibilité et de son écologie (Santini et al., 2003). En effet, la maladie est très inféodée aux berges de cours d'eau de plaines ou moyenne montagne où cette espèce est très omniprésente. Il a été montré que la prévalence de la maladie est plus faible dans les peuplements d'aulnes éloignés des berges (Gibbs et al., 1999).

La présence d'eau permet au parasite, d'une part la formation de spores appelées zoospores et, d'autre part, la dissémination de celles-ci grâce au courant et à leur flagelle qui les rendent motiles. Ainsi la maladie se propage vers l'aval. *P. alni* est aussi présent dans le sol à proximité des arbres malades. Par conséquent, le sol contaminé transporté par les animaux ou l'homme (véhicules, chaussures) est un vecteur potentiel.

Le genre *Alnus* est sensible à un complexe de trois taxons de *P. alni* : *P. alni* subsp. *uniformis* (Pau), *P. alni* subsp. *multiformis* (Pam) et *P. alni* subsp. *alni* (Paa) qui est un hybride entre Pau et Pam (Brasier et al. 2004 ; loos et al., 2006). Les deux espèces parentales ont été isolées à partir de nécroses d'aulnes. Pour autant, elles ne sont pas associées aux dépérissements : en effet, elles sont très rares et leur plus faible pathogénicité a été confirmée par des tests d'inoculation en conditions contrôlées (Brasier et al., 2001). Les analyses de diversité et de structure génétique de Pau ont montré que cette espèce est exotique en Europe. La date de son introduction n'est pas connue, ni son origine géographique, mais il est fort possible qu'elle soit originaire de la côte ouest de l'Amérique du Nord où elle a été isolée sur *A. rubra* et *A. incana* et où, d'après la structure génétique de ses populations, elle serait indigène (Aguayo et al., 2013). La caractérisation génétique de Pam amène à conclure qu'il s'agit aussi d'une espèce hybride mais son origine reste inconnue. L'émergence du dépérissement des aulnes serait donc en partie due à l'introduction de Pau, qui en s'hybridant avec Pam, a formé une nouvelle espèce très agressive sur l'aulne glutineux, Paa, qui s'est rapidement disséminée en Europe (Aguayo et al., 2013).

Grâce à la mise au point d'une méthode de quantification de *P. alni* dans le sol (Elegbede et al., 2010), il a été possible de suivre la dynamique saisonnière de l'inoculum. Globalement, la quantité du pathogène est élevée en juin puis chute en été et en automne, et est à son niveau le plus faible en hiver. En effet, *P. alni* ne présente pas de propagules de survie (oogones peu viables et absence de chlamydospores) (Delcan et al., 2001). Lorsque les conditions sont défavorables (température basse), le pathogène survit mal et la quantité d'inoculum chute fortement.

Par ailleurs, des suivis épidémiologiques pluriannuels de parcelles d'aulnes infectées en Alsace-Lorraine et en Charente (France) montrent que la température moyenne hivernale a un impact fort sur l'incidence de la maladie (Aguayo, 2012). Ainsi, lorsque les hivers sont doux, la survie de *P. alni* est maintenue et on observe une recrudescence d'arbres malades au cours de la saison de végétation. Au contraire, les hivers froids font chuter l'inoculum et engendrent chez l'aulne des taux de guérison élevés. Par ailleurs, on constate que des températures estivales élevées augmentent le taux de guérison (Aguayo, 2012). Cette corrélation est plus difficile à expliquer. Les températures moyennes de l'été pourraient avoir un impact sur l'état physiologique des arbres ou sur le type de communautés microbiologiques présentes qui interagissent avec *P. alni* dans les sols et l'eau de rivière. Bien que la température hivernale moyenne ait augmenté ces dernières années, il n'est pas possible d'expliquer l'émergence de la maladie dans le Nord-Est de la France par le réchauffement climatique que la région a subi depuis le début des années 1990. L'introduction d'une des espèces parentales puis la récurrence des hybridations qui ont formé l'espèce *Paa* semblent les principales causes de l'émergence de la maladie (Aguayo et al., 2013). D'autres facteurs environnementaux semblent favorables à l'apparition de nécroses au collet des arbres : il s'agit du pH du sol, avec un optimum vers 6-7, et de la vitesse du courant. Les rivières avec un courant lent présentent une incidence plus élevée de chancre sur tronc, probablement en raison d'un dépôt de zoospores facilité au collet des arbres (Aguayo, 2012).

Les études d'impact de la maladie sur la démographie sont suivies en Lorraine depuis 10 ans. Les aulnes de tous âges sont sensibles à l'agent pathogène, cependant, les analyses de survie montrent que le développement de la maladie dépend de la taille des arbres. Concernant les jeunes semis, le temps médian entre l'apparition de symptômes et sa mort est de 4 ans. Chez les arbres adultes, ce temps est de plus de 10 ans. Par ailleurs, sur un site le long de la Sarre en Lorraine, on observe que les mortalités ne sont pas compensées par le recrutement de jeunes semis d'aulne, espèce pourtant capable de se régénérer aisément. Ainsi, bien que la surface terrière augmente sur ce site, le nombre total d'arbres diminue depuis 2006 et l'avenir de l'aulne pourrait à long terme être remis en cause.

À ce jour, il n'y a pas de méthode de lutte curative mise au point. Il a été montré que le recépage d'arbres infectés pouvait induire des rejets de souches vigoureux

et sains (Webber et al., 2004). Pour autant, ceux-ci ne sont pas à l'abri de nouvelles contaminations. Par ailleurs, l'impact du recépage sur la quantité d'inoculum dans le sol n'est pas connu. Il est peu probable que l'agent pathogène soit éliminé du système racinaire des arbres recépés. Par ailleurs, Elegbede et al. (2010) a montré qu'il existe de nombreux arbres asymptomatiques qui sont de grands producteurs de propagules infectieuses et que plus les arbres sont dépérissants, moins ils produisent de l'inoculum. Ainsi, il paraît peu probable de faire chuter la population de *P. alni* par la pratique du recépage. Toutefois, des expérimentations de recépages sont en cours en Wallonie pour voir si à l'échelle d'un peuplement le taux de maladie peut diminuer à moyen ou long terme. Pour limiter le dépérissement à l'échelle d'un bassin versant et contenir l'épidémie, seule la lutte préventive est aujourd'hui préconisée. Cela passe par des actions qui enrichissent la diversité des espèces ripicoles tout en réduisant les risques d'introduction dans les zones saines via des contrôles sanitaires des flux de végétaux et sols vers les berges de rivières.

2.4 Recherches de résistance chez l'aulne glutineux vis-à-vis de *Phytophthora alni*

Hormis l'apport de nouvelles connaissances sur l'épidémiologie et la dynamique spatio-temporelle de la maladie, des expérimentations ont été mises en place, d'une part, pour mettre au point des méthodes d'inoculation pour évaluer de façon fiable la sensibilité des aulnes et, d'autre part, pour savoir s'il existe de la résistance envers *P. alni* parmi les populations naturelles. L'évaluation de cette résistance constitue un élément clé pour prédire l'avenir des aulnes en milieu naturel.

2.4.1 Mise au point de méthodes d'évaluation de la sensibilité d'aulnes glutineux à *P. alni*

☐ Choix de la méthode

En vue de développer une méthode d'évaluation de la sensibilité d'aulnes glutineux envers *P. alni*, plusieurs paramètres ont été testés parmi lesquels la période la plus propice à l'infection, le tissu inoculé en association avec la méthode d'inoculation et le critère mesuré pour estimer la sensibilité. La période de juin à septembre s'est avérée être la plus efficace, les aulnes glutineux développant peu, voire pas, de symptômes en dehors de cette période. La mesure de la longueur de nécrose sur rameaux détachés ou sur tiges de jeunes plants après inoculation corticale (mise en contact de l'agent pathogène avec le cambium) n'ont pas donné de résultats fiables (voir ci-dessous).

Par contre, des tests d'inoculation simulant les conditions naturelles d'infection par voie racinaire (immersion dans de l'eau de rivière infectée de boutures enracinées ou de semis de moins de 2 ans en racines nues) ont permis de montrer que le taux de survie était un paramètre donnant des résultats reproductibles dans le temps (données sur 2 ans pour 23 géotypes d'aulnes glutineux). La méthode développée a permis de montrer qu'il existait des différences de comportement de l'aulne glutineux à l'égard de *P. alni*. En outre, des aulnes très sensibles à la maladie et des aulnes tolérants ont été identifiés. Ces arbres ont été clonés et pourront servir d'arbres de référence lors de tests d'évaluation futurs.

☐ Remise en cause des tests sur rameaux détachés

Les méthodes d'inoculation sur organes détachés, feuilles ou rameaux, sont classiquement utilisées pour tester la sensibilité des arbres envers les espèces de *Phytophthora* (Brasier et al., 2001 ; Denman et al., 2005). Des rameaux de l'année n-1 prélevés sur 79 clones différents ont été inoculés par blessure et apport d'un fragment de mycélium d'isolats de *P. alni* en 2011. Le critère de sensibilité retenu était la longueur de nécroses mesurées 7 à 8 jours après inoculation. Le test de Fisher a montré des effets clones, isolats et diamètres du rameau sur la longueur de nécrose ($P < 0,001$; 0,001 et 0,004, respectivement). Toutefois, il n'a pas été possible d'établir de lien entre la longueur de nécrose et le comportement en milieu naturel des clones testés, comportement connu depuis 8 ans et estimé par la note moyenne de dépérissement du houppier les années suivant la date de premiers dépérissements. Des résultats similaires ont été obtenus en 2010 à partir de rameaux de l'année n provenant de 35 clones. Bien que les individus présentaient des longueurs de nécrose variables ($P < 0,004$), il n'y avait aucune corrélation significative entre cette longueur et la probabilité de l'individu à dépérir en milieu naturel.

Par ailleurs, la mesure de la taille de nécroses sur rameaux détachés s'est révélée être un critère de sensibilité peu reproductible. En effet, des expérimentations portant sur une vingtaine de clones inoculés à deux reprises, soit la même année (en début d'été et en fin d'été) soit le même mois sur deux années successives, ont montré une faible corrélation ($r = 0,50$; $P < 0,001$) ou une absence de corrélation ($r = 0,20$; $P > 0,05$), respectivement. Deux hypothèses peuvent expliquer ces résultats : la méthode d'inoculation sur rameaux n'est pas adaptée à la détermination d'un seuil de sensibilité car pas assez proche des conditions naturelles d'infection ou alors la résistance des aulnes est trop peu variable par rapport aux autres facteurs qui expliquent leur niveau d'infection en milieu naturel.

2.4.2 Recherche d'aulnes tolérants à *P. alni* dans des semis sélectionnés et non sélectionnés

Des tests d'infection en conditions contrôlées proches des conditions naturelles (méthode développée ci-dessus) ont été réalisés sur de jeunes semis d'aulnes (6326 semis âgés de 7-8 mois) correspondant pour plus d'une moitié d'entre eux à la descendance F2 d'arbres sans symptômes situés en zone contaminée, et pour l'autre moitié à des graines d'arbres non sélectionnés pour leur phénotype (graines provenant du Comptoir à Graines de Marche-en-Famenne, Belgique). Les plants ont été soumis à deux inoculations à 1 an d'intervalle. Un premier lot de 1607 plants a été évalué en 2009 et 2010 et un second lot de 4719 plants a été évalué en 2010 et 2011 (**Tableau 2.1**).

Aucune différence significative n'a été constatée entre les deux catégories d'individus (descendance F2 d'arbres sans symptômes en zone contaminée et descendance d'arbres non sélectionnés) en ce qui concerne les proportions d'arbres survivants et d'arbres morts après inoculation (test χ^2 , $P = 0,969$).

Les plants ayant survécu aux deux inoculations et ne montrant aucun symptôme de la maladie (moins de 15 % pour chaque sélection) ont été replantés le long des berges de trois cours d'eau en Wallonie (Province de Luxembourg) et dans le Nord-Est de la France en mélange avec des plants non sélectionnés en vue d'évaluer, au cours des cinq prochaines années, leur tolérance à la maladie en conditions naturelles d'infection.

Tableau 2.1. Test de sensibilité à *P. alni* par inoculation du système racinaire de semis d'aulnes.

Date de semis	Nombre de plants	Première inoculation		Seconde inoculation		% survie après deux inoculations
		Date	% survie	Date	% survie	
janvier 2009	1 607	été 2009	26,5	été 2010	40	10,6
janvier 2010	4 719	été 2010	22,3	été 2011	30,2	6,7

2.5 Conclusion

Le dépérissement des aulnes est maintenant constaté depuis une vingtaine d'années en Europe et de nombreux individus sont morts. Pour mieux appréhender l'avenir des aulnes en ripisylve, il est nécessaire de connaître la pression de sélection exercée par *P. alni* sur l'aulnaie. En effet, s'il existe de la variabilité dans la résistance

envers le pathogène, il est possible que les aulnes les plus sensibles aient été éliminés au cours du temps et que la population survivante soit naturellement plus résistante. Pour y répondre, il serait nécessaire de comparer la sensibilité d'aulnes recrutés à l'état de semis il y a une dizaine d'années et ne présentant depuis aucun symptôme de maladie à celle des aulnes recrutés aléatoirement aujourd'hui à proximité, c'est-à-dire sous l'influence des mêmes conditions naturelles d'infection. Cette perspective passe par un clonage d'individus des deux populations, un élevage de plants et une série d'inoculations probablement par immersion racinaire.

Remerciements

Les recherches présentées dans ce chapitre ont été menées dans le cadre du projet Interreg IV-A Grande Région/ECOLIRIMED soutenu financièrement par le FEDER, le Service Public de Wallonie et la Région Lorraine.

Les auteurs remercient F. Fauche pour son implication technique.

2.6 Bibliographie

- Abras S., Fassotte C., Chandelier A. & Cavelier M., 2008. *Guide des principales maladies et ravageurs des essences ligneuses des milieux rivulaires en Wallonie*. Gembloux, Belgique : CRAW – DGRNE.
- Aguayo J., 2012. *Étude des conditions d'émergence de Phytophthora alni sur l'aulne glutineux*. Thèse de doctorat : Université de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy, France.
- Aguayo J. et al., 2013. Strong genetic differentiation between North American and European populations of *Phytophthora alni* subsp. *uniformis*. *Phytopathology*, **103**, 190-199.
- Anderson P.K. et al., 2004. Emerging infectious diseases of plants: pathogen pollution, climate change and agrotechnology drivers. *Trends Ecol. Evol.*, **19**, 535-544.
- Brasier C.M. & Kirk S.A., 2001. Comparative aggressiveness of standard and variant hybrid alder *Phytophthora*s, *Phytophthora cambivora* and other *Phytophthora* species on bark of *Alnus*, *Quercus* and other woody hosts. *Plant Pathol.*, **50**, 218-229.
- Brasier C.M. et al., 2004. *Phytophthora alni* sp. nov. and its variants: designation of emerging heteroploid hybrid pathogens spreading on *Alnus* trees. *Mycol. Res.*, **108**, 1172-1184.
- Chandelier A., Delhaye N. & Helson M., 2011. First report of the ash dieback pathogen *Hymenoscyphus pseudoalbidus* (anamorph *Chalara fraxinea*) on *Fraxinus excelsior* in Belgium. *Plant Dis.*, **95**, 220.
- Claessens H., 2005. *L'aulne glutineux, ses stations et sa sylviculture*. Namur, Belgique : Forêt Wallonne asbl.

- Debruxelles N., De Merlier D. & Dufays E., 2003. *La maladie de l'aulne. Que faire ?* Fiche d'information sur la maladie de l'aulne. Namur, Belgique : DGRNE.
- Delcan J. & Brasier C.M., 2001. Oospore viability and variation in zoospore and hyphal tip derivatives of the hybrid alder *Phytophthora*. *Forest Pathol.*, **31**, 65-83.
- Delhaye N., Abras S., Chandelier A. & Fassotte C., 2010. *Guide visuel des bioagresseurs potentiels des ligneux rivulaires en Wallonie*. Namur, Belgique : DGRNE.
- Denman S., Kirk S.A., Brasier C.M. & Webber J.F., 2005. *In vitro* leaf inoculation studies as an indication of tree foliage susceptibility to *Phytophthora ramorum* in the UK. *Plant Pathol.*, **54**, 512-521.
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), 2012. First report of *Chalara fraxinea* in the United Kingdom. *EPPO Reporting Service*, 4, 2012/080.
- Elegbede C.F. et al., 2010. A statistical model to detect asymptomatic infectious individuals with an application in the *Phytophthora alni*-induced Alder decline. *Phytopathology*, **100**, 1262-1269.
- Gibbs J.N., 1994. *Phytophthora* root disease of common alder. *Forestry Commission Information Note*, **258**.
- Gibbs J.N., Lipscombe M.A. & Peace A.J., 1999. The impact of *Phytophthora* disease on riparian populations of common alder (*Alnus glutinosa*) in southern Britain. *Eur. J. Forest Pathol.*, **29**, 39-50.
- Goss E.M. et al., 2009. Population genetic analysis infers migration pathways of *Phytophthora ramorum* in US nurseries. *PLoS Pathog.* **5**, e1000583.
- Goss E.M. et al., 2011. *Phytophthora ramorum* in Canada: Evidence for migration within North America and from Europe. *Phytopathology*, **101**, 166-171.
- Grosclaude C., Olivier R., Pizzuto J.C. & Romiti C., 1991. Étude expérimentale du transport de l'inoculum de *Ceratocystis fimbriata* f. *platani* par l'eau d'une rivière. *Eur. J. Forest Pathol.*, **21**, 168-171.
- Gross A., Grünig C.R., Queloz V. & Holdenrieder O., 2012a. A molecular toolkit for population genetic investigations of the ash dieback pathogen *Hymenoscyphus pseudoalbidus*. *Forest Pathol.*, **42**, 252-264.
- Gross A., Zaffarano P.L., Duo A. & Grünig C.R., 2012b. Reproductive mode and life cycle of the ash dieback pathogen *Hymenoscyphus pseudoalbidus*. *Fungal Genet. Biol.*, **49**, 977-986.
- Husson C. et al., 2011. *Chalara fraxinea* is an invasive pathogen in France. *Eur. J. Plant Pathol.*, **130**, 311-324.
- Husson C. et al., 2012. Occurrence of *Hymenoscyphus pseudoalbidus* on infected ash logs. *Plant Pathol.*, **61**, 889-895.
- Ioos R., Andrieux A., Marçais B. & Frey P., 2006. Genetic characterization of the natural hybrid species *Phytophthora alni* as inferred from nuclear and mitochondrial DNA analyses. *Fungal Genet. Biol.*, **43**, 511-529.

- Ioos R., Kowalski T., Husson C. & Holdenrieder O., 2009. Rapid in planta detection of *Chalara fraxinea* by real time PCR assay using dual-labeled probe. *Eur. J. Plant Pathol.*, **125**, 329-335.
- Jules E., Kauffman M., Ritts W. & Carroll A., 2002. Spread of an invasive pathogen over a variable landscape: a nonnative root rot on Port Oxford cedar. *Ecology*, **83**, 3167-3181.
- Jung T. & Blaschke M., 2004. *Phytophthora* root and collar rot of alders in Bavaria: distribution, modes of spread and possible management strategies. *Plant Pathol.*, **53**, 197-208.
- Kowalski T., 2006. *Chalara fraxinea* sp. nov. associated with dieback of ash (*Fraxinus excelsior*) in Poland. *Forest Pathol.*, **36**, 264-270.
- McKinney L.V., Nielsen L.R., Hansen J.K. & Kjær E.D., 2011. Presence of natural genetic resistance in *Fraxinus excelsior* (Oleraceae) to *Chalara fraxinea* (Ascomycota): an emerging infectious disease. *Heredity*, **106**, 788-797.
- Queloz V. et al., 2011. Cryptic speciation in *Hymenoscyphus albidus*. *Forest Pathol.*, **41**, 133-142.
- Santini A., Barzanti G.P. & Capretti P., 2003. Susceptibility of some mesophilic hardwoods to alder *Phytophthora*. *J. Phytopathol.*, **151**, 406-410.
- Semal J. et al., 1989. *Traité de pathologie végétale*. Gembloux, Belgique : Presses agronomiques de Gembloux.
- Streito J.C., 2003. *Phytophthora* disease of alder: Identification and distribution. In: Gibbs J.N., van Dijk C. & Webber J., eds. *Phytophthora disease of Alder in Europe*. London, HMSO: Forestry Commission. Bulletin **126**, 25-38.
- Thoirain B., Husson C. & Marçais B., 2007. Risk factors for the *Phytophthora*-induced decline of Alder in Northeastern France. *Phytopathology*, **97**, 99-105.
- Timmermann V. et al., 2011. Ash dieback: pathogen spread and diurnal patterns of ascospore dispersal, with special emphasis on Norway. *EPPO Bulletin*, **41**, 1-7.
- Tjosvold S.A., Chambers D.L., Davidson J.M. & Rizzo D.M., 2002. Incidence of *Phytophthora ramorum* inoculum found in soil collected from a hiking trail and hikers'shoes in a California park. First Sudden Oak Death Science Symposium, 15-18 September, 2002, Monterey, USA.
- Webber J., Gibbs J. & Hendry S., 2004. *Phytophthora* Disease of Alder. *Forestry Commission Information Note*, **6**.
- Zhao Y. et al., 2013. *Hymenoscyphus pseudoalbidus*, the correct name for *Lambertella albida* reported from Japan. *Mycotaxon*, **122**, 25-41.