



**Etude des maladies émergentes sur Aulne et Frêne en ripisylve
sur le bassin Rhin-Meuse**

Convention 13C75002 entre l'AERM et l'INRA Nancy établie en juin 2013

Rapport final – novembre 2017

Claude Husson et Benoit Marçais

INRA, UMR1136 Interactions Arbres-Microorganismes, F-54280 Champenoux, France

Table des matières

Introduction.....	1
Tâche 1 : la ripisylve du bassin Rhin-Meuse face aux attaques de <i>Chalara fraxinea</i>	2
Tâche 2 : impact de <i>Phytophthora alni</i> sur la démographie d'une aulnaie	8
Tâche 3 : pression de sélection exercée par <i>Phytophthora alni</i> sur la population d'aulnes.....	15
Tâche 4 : Evaluation en milieu naturel de la résistance disponible chez l'aulne vis-à-vis de <i>P. alni</i>	20
Delivrables	23
Bibliographie.....	24

Introduction

Initialement décrite en trois sous-espèces, la taxonomie du complexe d'espèces *Phytophthora alni* est aujourd'hui clairement définie. *Phytophthora x alni*, l'agent responsable du dépérissement des aulnes en Europe, est un hybride triploïde récemment créé dont les deux espèces parentales sont *P. uniformis* et *P. x multiformis*. *Phytophthora uniformis* est une espèce diploïde introduite en Europe dont l'origine est probablement nord-américaine. *Phytophthora x multiformis* est une espèce hybride tétraploïde dont l'origine géographique et parentale est inconnue. Ces deux espèces parentales sont peu agressives. Seule *P. x alni* cause des dépérissements importants chez les aulnes glutineux en ripisylves. C'est un agent pathogène du sol dont les spores infectent le système racinaire et la base des troncs provoquant des nécroses racinaires et au collet des arbres, une défeuillaison du houppier, une réduction de la croissance et parfois des mortalités, notamment chez les jeunes aulnes.

Chalara fraxinea est l'agent pathogène responsable du dépérissement du frêne commun en Europe, appelé la chararose. Il forme en été des fructifications blanches sur les rachis de feuilles de la litière (forme sexuée *Hymenoscyphus fraxineus*) qui produisent des spores dispersées par le vent. Ces spores infectent et nécrosent les feuilles, tiges et branches des arbres, et parfois aussi la base du tronc. Les arbres dépérissent et la mortalité est fréquente chez les plus jeunes arbres. C'est une espèce exotique, originaire d'Asie Orientale et introduite en Europe de l'Est où les premiers dépérissements ont été observés au milieu des années 1990. La maladie s'est ensuite propagée rapidement vers l'ouest pour atteindre la France 10 ans plus tard. Aujourd'hui, seuls les départements du sud sont totalement indemnes.

L'objectif global de l'étude est d'estimer l'impact de ces deux maladies émergentes en ripisylves sur Aulne et Frêne, dues à *Phytophthora x alni* et *Chalara fraxinea* respectivement, dans le but de fournir des éléments pour la gestion de ces espèces le long des cours d'eau dans le bassin Rhin-Meuse. L'étude est déclinée en quatre tâches. Ce rapport final dresse un bilan des travaux et analyses entrepris durant le projet.

Tâche 1 : la ripisylve du bassin Rhin-Meuse face aux attaques de *Chalara fraxinea*

En 2004, dans le cadre d'un programme financé par l'AERM, nous avons mis en place un réseau de 78 placettes avec présence d'aulnes réparties sur 58 sites et 56 cours d'eau différents pour une étude épidémiologique de la maladie de l'aulne. Pour chaque placette, de nombreuses caractéristiques écologiques ont été recensées, dont la présence ou non de frênes. Ce réseau a été réutilisé pour cette étude 2014-2017 pour faire un état des lieux global du frêne commun le long des cours d'eau dans le bassin lorrain.

Description des expérimentations et résultats

En septembre-octobre 2014, 20 placettes avec présence de frênes ont été sélectionnées et mises en place dans le but de suivre leur état sanitaire et leur croissance. Par définition, une placette est située le long d'un cours d'eau où tous les frênes vivants d'une hauteur supérieure à 130 cm sont recensés et étiquetés sur une distance à la berge d'environ 5 m et sur une longueur variant de 17 à 401 m (tableau 1). Pour chaque arbre, la circonférence est mesurée et l'état sanitaire du houppier est noté selon le barème suivant : 0, aucun dépérissement ; 1, dépérissement inférieur à 10% ; 2, dépérissement entre 10 et 50% ; 3, dépérissement supérieur à 50% ; 4, mort. Enfin la présence/absence de nécroses au collet des arbres est notée. Lors de coupée, les trois plus grosses tiges de l'arbre sont étiquetées et notées individuellement. En tout, 268 arbres et 407 tiges ont été recensés en 2014. Les placettes ont été suivies chaque année jusqu'en 2017. Il s'agit de dispositifs ouverts, c'est-à-dire que tous les ans, les nouveaux arbres dépassant 130 cm de hauteur sont recrutés et inclus dans le suivi. Signalons que le site de Granges-sur-Vologne n'a pas été noté en 2017 car tous les frênes ont été abattus.

La première année de notation en 2014 révèle que toutes les placettes présentent au moins un frêne avec des symptômes typiques de chalarose. La présence de *Chalara fraxinea* a été confirmée par biologie moléculaire dans tous les sites. Ainsi, environ 5 ans après l'arrivée de la maladie dans la région, aucune ripisylve contenant des frênes n'est totalement indemne de maladie.

Le taux de dépérissement en 2014 est élevé : un tiers des arbres sont peu ou pas dépérissants, un tiers présentent un dépérissement de 10 à 50% et un tiers de plus de 50% (Figure 1). Le dépérissement a progressé en 2015 puis en 2016 mais s'est stabilisé ensuite

(Figure 2). En effet, globalement, les arbres avaient un dépérissement moyen du houppier de 40% en 2014, 48% en 2015, 55% en 2016 et 52% en 2017. Cette tendance est vraie dans la plupart des sites suivis (Figure 3).

Commune	Cours d'eau	Nombre d'arbres	longueur de la placette (m)	densité de tiges / 100m	X	Y
Ambacourt	Madon	13	163	50	6.154	48.349
Ars sur Moselle	Moselle	12	55	68	6.081	49.069
Autrey	Mortagne	16	352	6	6.682	48.304
Azerailles	Meurthe	12	142	8	6.709	48.475
Cons-la-Granville	Chiers	18	138	15	5.699	49.487
Damelevières	Meurthe	10	144	16	6.386	48.563
Eloyes	Moselle	16	117	16	6.609	48.093
Fraize	Meurthe	13	401	4	6.975	48.184
Frizon	Avière	13	141	12	6.367	48.283
Gavisse	Boler	13	65	28	6.281	49.435
Granges-sur-Vologne	Vologne	13	238	7	6.839	48.121
Guinglange	Nied allemande	14	48	60	6.527	49.074
Koenigsmacker	Canner	12	131	18	6.272	49.389
Lavelines-devant-Bruyères	Neune	13	119	19	6.751	48.185
Longuyon	Crusnes	13	152	11	5.617	49.439
Millery	Moselle	6	228	6	6.120	48.809
Moyen	Mortagne	12	33	101	6.567	48.4798
Onville	Rupt-de-Mad	26	31	119	5.946	49.004
St-Maurice-sur-Mortagne	Mortagne	9	17	95	6.586	48.396
Thionville	Kiessel	14	140	43	6.177	49.393

Tableau 1 : Liste des placettes de frêne et effectif en 2014 (X, Y coordonnées WGS84)

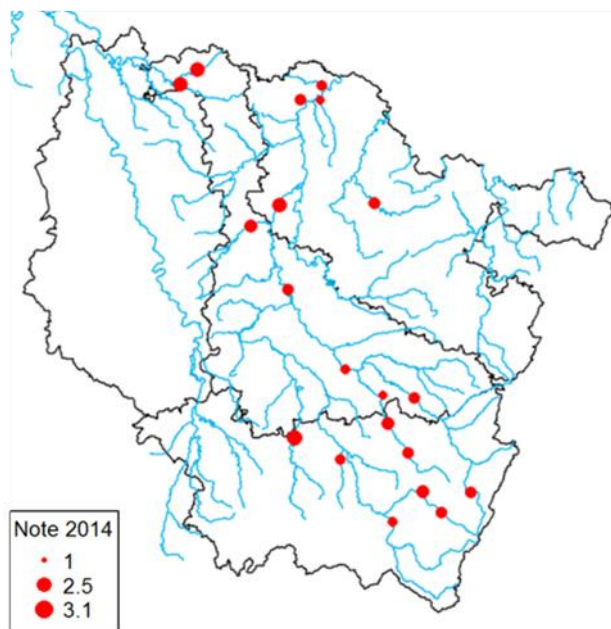


Figure 1 : localisation des sites et dépérissement moyen du houppier des frênes en 2014 (sur une échelle de 1 à 4 : 1, arbre sain, 4, arbre mort).

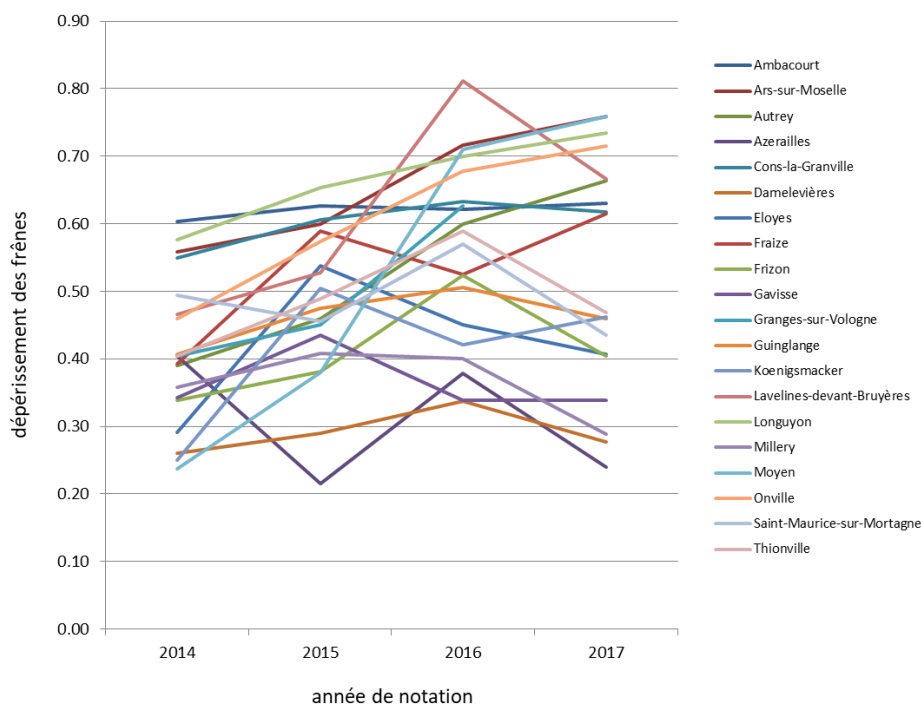


Figure 2 : Evolution du dépérissement moyen des frênes de 2014 à 2017 (en pourcentage de houppiers dépérissants).

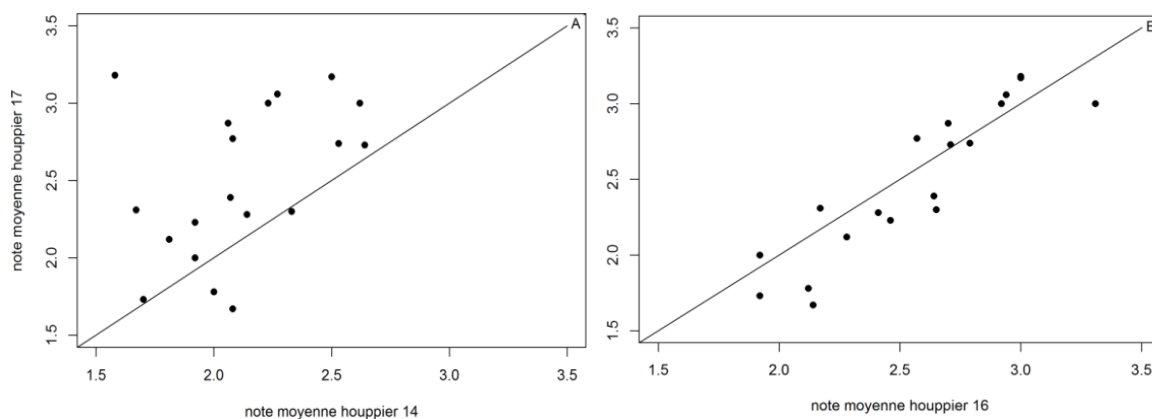


Figure 3 : Note moyenne 2017 par site en fonction des notes de 2014 (A, à gauche) et 2016 (B, à droite). Chaque point représente un site.

Le deuxième symptôme majeur causé par la chalarose est les nécroses au collet des arbres (partie basse du tronc). Parmi les arbres de plus de 5 cm de diamètre, environ 4% présentent une nécrose en 2017, systématiquement de taille réduite (moins de 25% de la circonférence du collet). Seuls les jeunes arbres sont nécrosés (diamètre de 5 à 20 cm). Tous les arbres d'un diamètre supérieur à 20 cm sont totalement sains au niveau du collet. Il y a une forte disparité des sites sur ce critère, le site de Lavelines-devant-Bruyères présentant 40% d'arbres chancreux. A Lavelines, une plantation de frênes très fortement infectés à proximité

immédiate de la ripisylve a très certainement favorisé l'apparition de nécroses sur les frênes en bordure de rivière via une forte production d'inoculum (spores infectieuses) dans la placette. Sur les autres sites, les arbres chancreux sont rares. Cependant, leur nombre a augmenté entre 2014 et 2017, passant de 1,2% à 2,8%.

Le taux de mortalité annuelle des arbres (dans le cas de cépée, un arbre étant considéré mort quand toutes les tiges sont mortes) a été de 3,9% en 2015, 6,8% en 2016 et 2,7% en 2017. Le taux de mortalité calculé par brins séparément donne des résultats similaires. Ces données confirment la progression de la maladie entre 2014 et 2016 et la stagnation en 2017. La mortalité est très dépendante de la taille des arbres. En effet, en 2016, elle était de 30% chez les semis-gaulis (moins de 5 cm de diamètre), et de 10 à 15% pour les bas-perchis (5 à 20 cm). Aucune mortalité n'a été observée chez les arbres adultes de plus de 20 cm de diamètre.

Les effectifs en frênes ont baissé chaque année de 5 à 6%. Cette baisse est due d'une part à la mortalité des arbres non compensées par le recrutement de nouveaux frênes et, d'autre part, à l'abattage d'arbres vivants. Entre 2014 et 2017, 33 arbres sont morts, 24 nouveaux arbres sont apparus (dépassant la hauteur de 130 cm) et 34 arbres ont été abattus.

La croissance des arbres a été impactée par la chalarose. Plus les arbres sont dépérissants, plus la croissance est ralentie. En moyenne, la croissance des arbres très infectés est réduite de 50% par rapport aux arbres sains chez les jeunes arbres (moins de 25 cm de diamètre) et de 21% chez les arbres adultes (Figure 4).

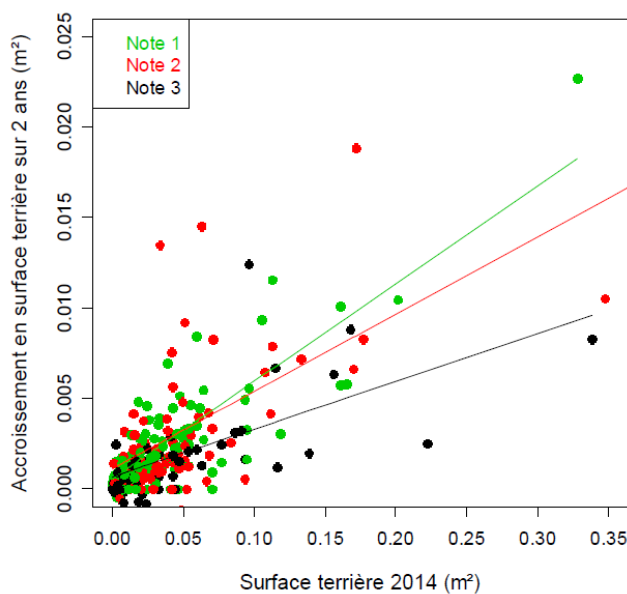


Figure 4 : accroissement de la surface terrière des arbres de 2014 à 2016

Comparaison de l'impact de la chararose en ripisylve et en forêt

Le frêne occupe 4% de la surface forestière en France, avec localement un fort enjeu économique comme dans les Hauts-de-France où il existe de nombreux peuplements monospécifiques. En ripisylve, comme en forêt, la sévérité de la maladie est d'autant plus élevée que les arbres sont jeunes. Par contre, l'impact global est beaucoup moins fort en ripisylve qu'en forêt. Cela se traduit par différentes variables : la fréquence de nécroses au collet (5% en ripisylve versus 80% en forêt), la fréquence d'arbres encore sains (20 à 30% versus 2%, figure 5) et le taux de mortalité (0% versus 3 à 4 % pour les arbres adultes de plus de 20 cm de diamètre). Par ailleurs, lors d'une étude de l'effet du paysage sur la chararose à une échelle communale, il a été montré que les frênes hors forêt (le long des routes, des rivières et dans les haies) sont moins infectés qu'en forêt. Cette étude à l'échelle d'un bassin versant sur des frênes le long de cours d'eau confirme cette différence. Les facteurs explicatifs avancés sont le rôle de la température plus élevée dans le houppier de frênes localisés hors forêt. En effet, le pathogène supporte mal les températures supérieures à 35°C en été, qui limitent l'infection foliaire et le passage du pathogène de la feuille à la tige. Le 2^{ème} facteur explicatif est l'effet Allee¹. La maladie est densité hôte dépendante. La densité en frênes hors forêt (en ripisylve) est le plus souvent beaucoup plus faible qu'en forêt. *Chalara fraxinea* ne bénéficie ainsi d'une densité hôte (le frêne) pas suffisamment élevée pour s'établir réellement sur les placettes de bord de cours d'eau.

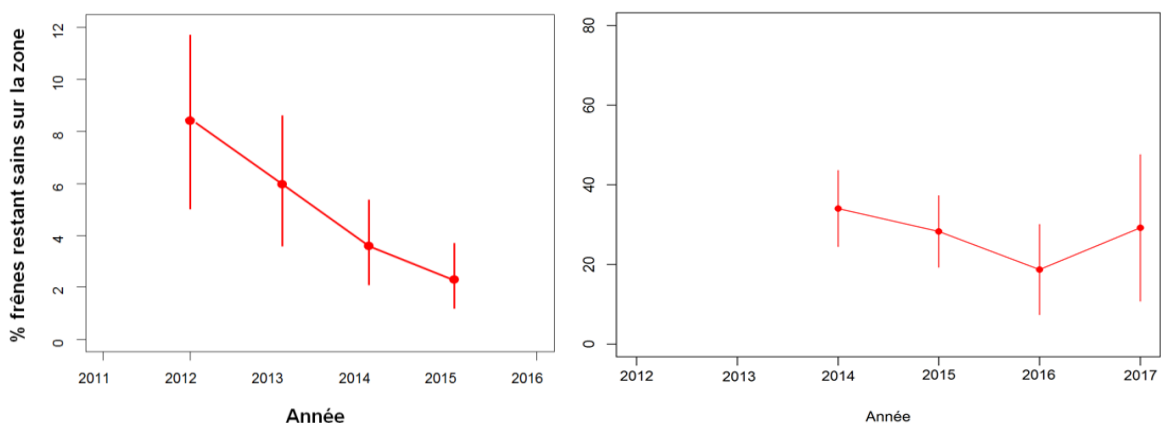


Figure 5 : fréquence d'arbres asymptomatiques en forêt (à gauche) et en ripisylve (à droite).

¹ L'effet Allee est un phénomène de dépendance positive en la densité en écologie des populations, caractérisé par une corrélation positive entre la densité d'une population et son taux de croissance. Il se manifeste chez certaines espèces et seulement pour de faibles effectifs

Bilan de l'étude de l'impact de la chalarose en ripisylve

En résumé, les frênes sont largement touchés par la chalarose en ripisylve. Plus de deux tiers des arbres sont malades, modifiant sensiblement le couvert le long des cours d'eau où le frêne domine. La chalarose est particulièrement létale chez les très jeunes arbres. C'est pourquoi, lorsque le frêne commun est maintenu dans les listes d'espèces des programmes de plantations en ripisylves, de très faibles taux de reprises sont à prévoir pour cette essence. Par ailleurs, les arbres plus âgés sont dépérissants mais très peu meurent, même 7 ans après l'arrivée de la maladie dans la région. A titre d'exemple, il n'a été noté aucune mortalité chez les frênes de plus de 20 cm de diamètre au cours de ces 4 années d'étude. Enfin, d'autres études ont clairement montré que certains individus présentent une résistance génétique au pathogène et que cette résistance est transmissible à la descendance. Par conséquent, il est recommandé de ne pas effectuer d'abattages massifs des frênes adultes, même si la maladie est bien installée. Il est en effet nécessaire de préserver les frênes adultes sains ou peu dépérissants car ils constituent la source des prochaines régénérations de frênes tolérants à la maladie et ils continuent de jouer un rôle écologique en ripisylve. Seuls les frênes fortement dépérissants et/ou présentant des nécroses au collet peuvent faire l'objet d'un abattage en raison d'un risque élevé de chablis. Il est nécessaire de diffuser largement cette recommandation car, au cours de l'étude, des abattages massifs (Granges-sur-Vologne) ont été observés.

Globalement, même si l'impact de la chalarose peut être fort localement dans la frênaie, l'équilibre des écosystèmes ripicoles n'est pas remis en cause et l'avenir de l'espèce *Fraxinus excelsior* n'est pas en danger dans le bassin Rhin-Meuse. A court et moyen terme, le frêne sera très peu ou pas renouvelé, les régénérations naturelles de semis étant fortement impactés. Les effectifs en frênes vont donc diminuer en ripisylve. Cependant, à long terme, le frêne commun devrait garder sa place le long des cours d'eau, à condition toutefois que la gestion des frênes existants soit raisonnée.

Tâche 2 : impact de *Phytophthora alni* sur la démographie d'une aulnaie

Dès le milieu des années 1990, il a été établi que *Phytophthora alni* est un pathogène qui cause des dépérissements des aulnes, mais aussi des mortalités. Une des questions cruciales était donc de déterminer comment la population d'aulnes évolue sous l'impact de cet agent pathogène et quel est l'avenir des aulnes en bordure de rivière en termes de couvert végétal et de démographie. C'est pourquoi une large étude de 15 années a été entreprise sur un long transect d'aulnes où la maladie est bien présente.

A partir de 2002, tous les aulnes d'une hauteur supérieure à 130 cm et localisés entre Gosselming et Berthelming sur la Sarre (environ 4 km de rive) ont été étiquetés, géoréférencés et suivis individuellement (Figure 5).

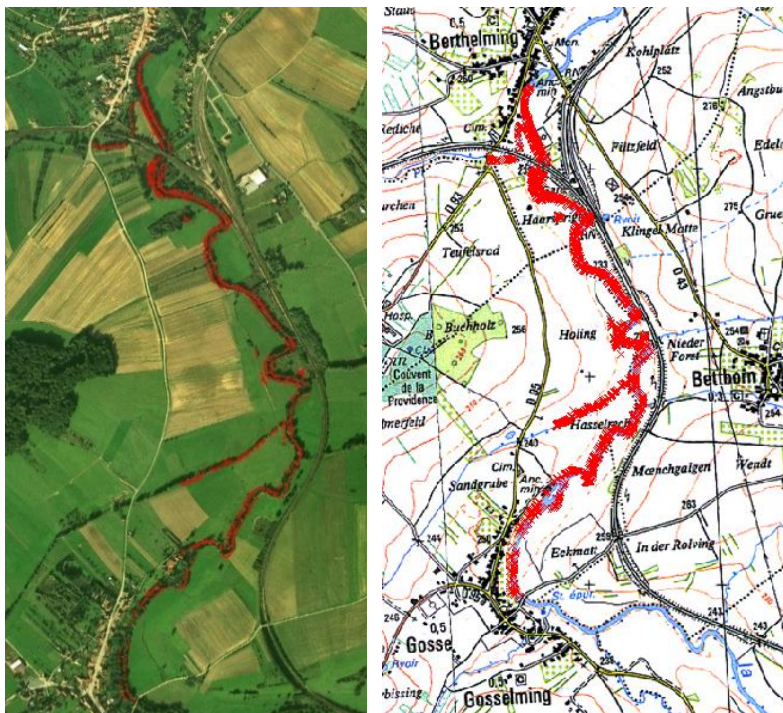


Figure 5 : localisation de la placette de suivi des aulnes (croix rouges) le long de la Sarre entre Gosselming (en bas) et Berthelming (en haut). Photographie aérienne à gauche, carte IGN à droite

L'état sanitaire des aulnes a été noté chaque année pour le houppier (1, aucun dépérissement; 2, dépérissement inférieur à 50% ; 3, dépérissement supérieur à 50% ; 4, mort) et la présence/absence de chancre au collet. La circonférence à 130 cm de haut a été mesurée tous les 2 ans indiquant l'évolution de la surface terrière des arbres (surface de la tige à 130 cm). Lors de coupes, les trois plus grosses tiges de l'arbre ont été étiquetées et notées

individuellement. Le dispositif était ouvert, c'est-à-dire que chaque année, les nouveaux aulnes dépassant 130 cm ont été recrutés dans le dispositif. Au total, près de 3500 aulnes ont été suivis depuis 2002 et jusqu'en 2017. L'évolution de la démographie et du dépérissement de l'aulnaie se résume ainsi. La prévalence de maladie est très élevée : 40 à 50% des aulnes présentent des signes de dépérissements. La prévalence fluctue périodiquement mais reste globalement stable sur la période des 15 années (Figure 6). Le constat général est que la rémission est possible chez un arbre infecté, notamment chez les arbres adultes, et que la rémission ou incidence est conditionnée par le climat. En effet, Aguayo et al. (2014, *Global Change Biology*, doi: 10.1111/gcb.12601) ont montré que les hivers doux sont favorables à la survie de l'agent pathogène dans le sol et induisent ainsi durant la saison de végétation qui suit une forte incidence de maladie. Inversement, durant les hivers froids, la population du pathogène se réduit, favorisant une rémission des frênes l'année suivante. Cet effet a aussi été démontré à l'échelle locale dans notre étude sur la Sarre. En effet, lorsque la température hivernale moyenne a été inférieure à 3,5°C, l'état sanitaire des aulnes s'est amélioré l'année suivante. Au contraire, lorsque la température a été supérieure à 3,5°C, le dépérissement des aulnes s'est accru (Figure 7). Globalement, sur les 15 années d'étude, hivers doux et froids se sont succédés, rendant ainsi stable l'état sanitaire des arbres.

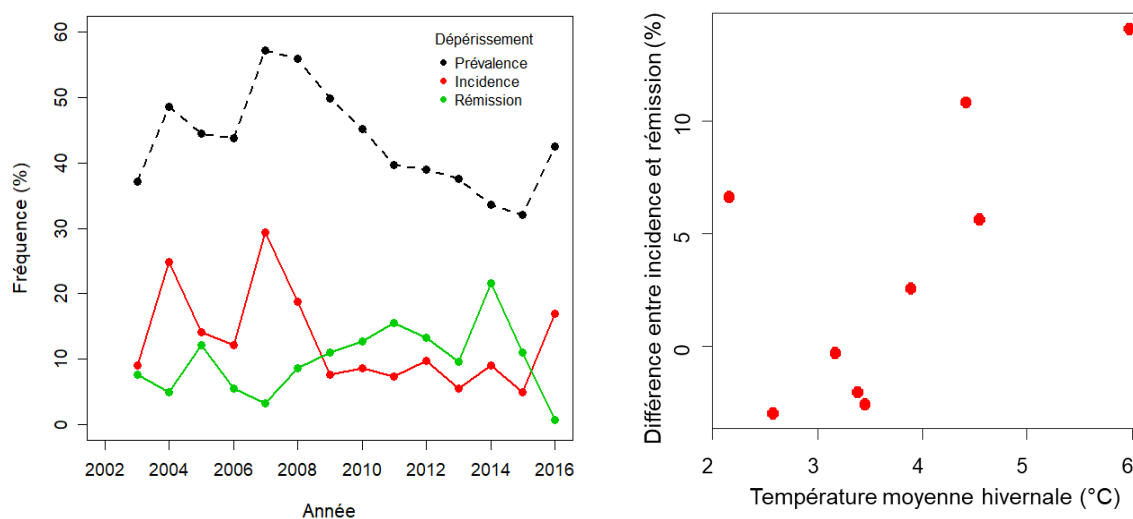


Figure 6, à gauche : Evolution du dépérissement des aulnes sur la placette Gosselming-Berthelming

Figure 7, à droite : Effet des températures hivernales (novembre à mars) sur le dépérissement des aulnes de la Sarre

En termes de croissance et d'effectifs, la situation a largement évolué sur la Sarre depuis 2002. Comme attendu avant le début de l'étude, la mortalité annuelle chez les aulnes est globalement assez élevée mais très variable selon leur statut (sanitaire ou âge) des arbres. *Phytophthora alni* est bien l'agent principal responsable de cette mortalité. Ce sont les arbres dépérissants (avec des symptômes typiques de la maladie) qui meurent en majorité (Figure 8). Par ailleurs, il existe une forte disparité selon la taille des plants. En effet, alors que 45% des arbres dépérissants de moins de 3 cm dbh (diamètre à 130 cm de haut) meurent chaque année, seuls 1 à 2% meurent chez les dépérissants de plus de 15 cm dbh (Figure 8). Cette disparité est bien illustrée par le nombre médian d'années entre le 1^{er} symptôme apparu et la mort d'un sujet (tableau 2 et figure 9) : 50% des jeunes aulnes dépérissants de 1-2 cm et 2-5 cm de diamètre meurent 3 et 8 ans, respectivement, après les premiers signes de maladie. Au-delà d'un diamètre de 5 cm, le nombre médian d'année n'a pas pu être établi, et est donc supérieur à 15 années.

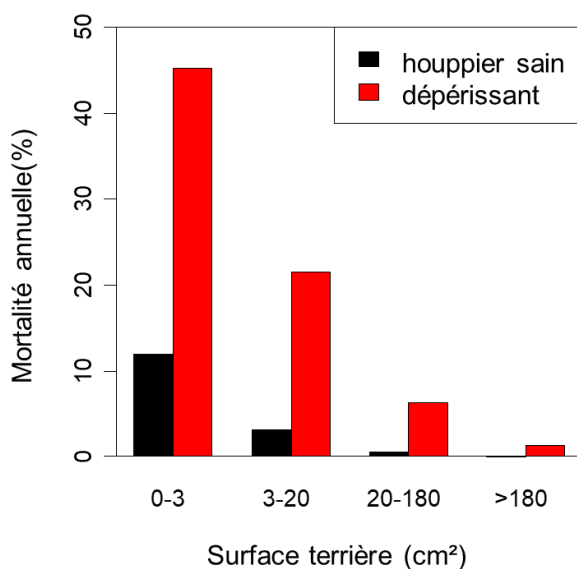


Figure 8 : mortalité annuelle chez les aulnes sains et dépérissants

Gabarit des individus (diamètre en cm)	Nombre d'années médian [IC à 95%] entre 1er symptôme et mort	Mortalité à 10 ans après 1 ^{er} symptôme [IC à 95%]
1-2	3 [3, 4]	92% [85, 96]
2-5	8 [10, >12]	65% [60, 69]
5-15	>15	26% [18, 25]
15-40	>15	15% [11, 18]
>40	>15	7% [2, 8]

Tableau 2 : taux de survie médian et taux de mortalité en fonction de la taille des individus

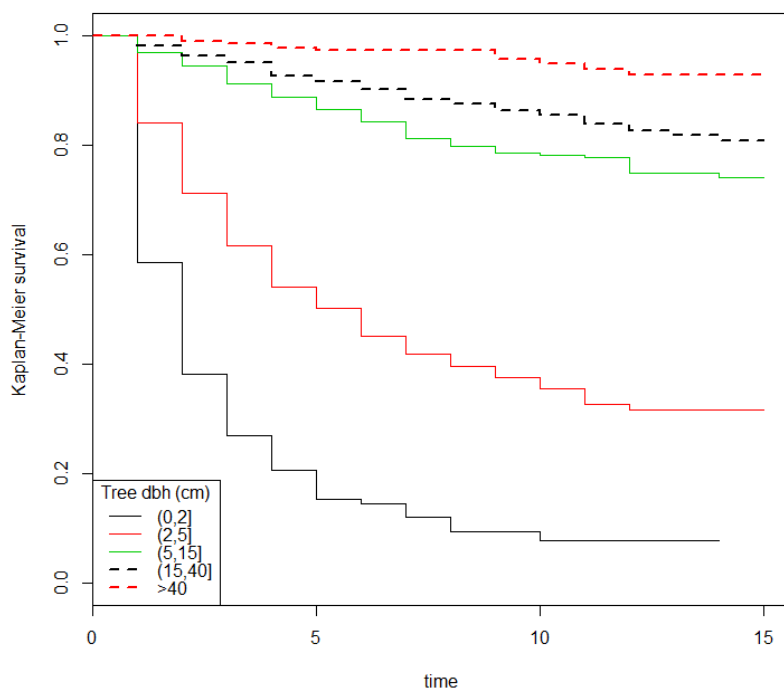


Figure 9 : Taux de survie médian en fonction du diamètre des arbres (dbh=diamètre à 130 cm)

Globalement, depuis 2002, la mortalité annuelle oscille entre 3,5 et 5%. Celle-ci était largement compensée avant 2006 par l'arrivée de nouveaux semis d'aulnes (recrutement). Mais après 2009, le nombre de morts est chaque année plus important que le nombre de nouvelles recrues (Figure 10). Ainsi, l'effectif total d'aulnes a chuté de 20% entre 2006 et 2016 passant d'environ 2200 à 1750 sujets (Figure 11). Cependant, la surface terrière² des aulnes n'a jamais cessé d'augmenter depuis 2002. En effet, les jeunes arbres de moins de 5 cm comptent peu dans la surface terrière totale des aulnes. De plus, les moyens et gros aulnes meurent peu et continuent de croître malgré leur dépérissement. Ainsi, le couvert en feuillus d'aulnes a augmenté en dépit d'une diminution du nombre total d'arbres.

² La surface terrière d'un peuplement correspond à la surface de toutes les sections transversales des troncs à 1,30 m de hauteur des arbres présents dans une aire définie. Elle s'exprime habituellement en m²/ha.

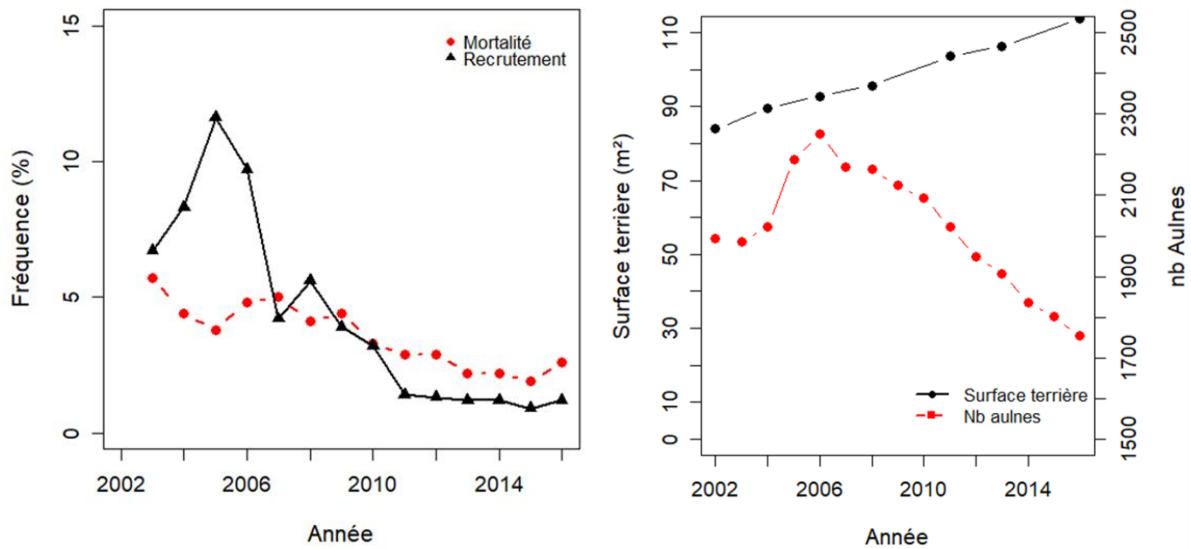


Figure 10, à gauche : Mortalité annuelle et fréquence de nouvelles recrues d’aulnes dans le dispositif de la Sarre

Figure 11, à droite : Evolution de la surface terrière des aulnes (en noir) et de la démographie (en rouge)

Au final, grâce aux individus de plus de 10-15 cm de diamètre, l’aulne est toujours bien implanté dans le dispositif. Cela cache toutefois le très faible recrutement en semis d’aulnes qui ne compensent pas les mortalités et qu’il convient d’étudier. Entre 2002 et 2008, le recrutement était particulièrement élevé dans les linéaires ouverts peu denses en aulnes (Figure 12). Puis, il s’est effondré et aujourd’hui, le nombre de nouvelles recrues d’aulnes est très faible sur tout le transect, quel que soit la densité du couvert en aulnes. Les aulnes ont toutefois un comportement agrégatif : la figure 13 montre que les semis apparaissent généralement à proximité immédiate (moins de 1 m) d’un aulne préexistant. La question de la chute de recrutement reste à élucider. Etant donné que dans notre expérimentation, le recrutement n’est effectué que sur les arbres dépassant 130 cm, il est possible que les semis soient tués par le pathogène avant d’atteindre cette taille, échappant ainsi aux observations. Une autre possibilité est d’ordre mécanique. La conformation des berges a peut-être évolué depuis 2006-2008 rendant plus difficile l’installation de nouveaux semis.

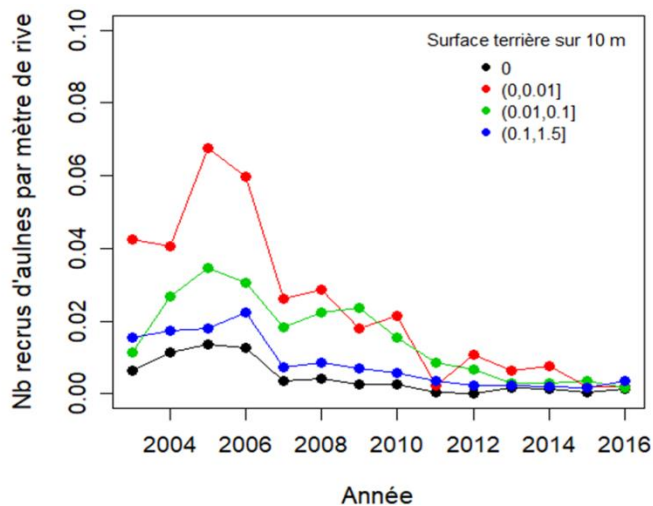


Figure 12: Evolution du nombre de nouveaux aulnes recrutés en fonction de la surface terrière (couvert) de la zone où il se trouve.

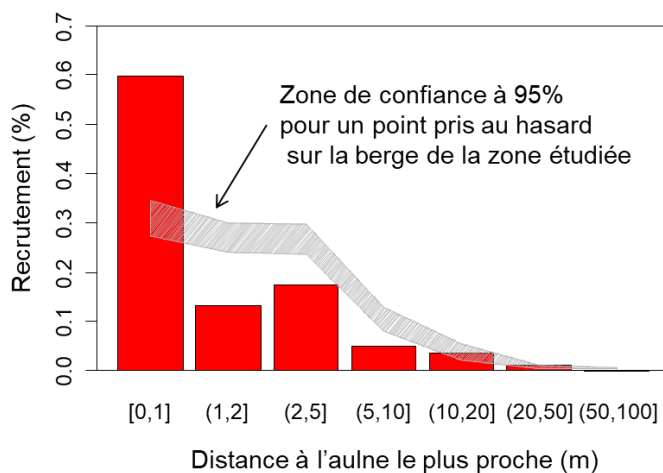


Figure 13 : Configuration du recrutement de semis selon les aulnes déjà en place

Poursuite et complément de l'expérimentation

Un des résultats majeurs de cette étude sur la démographie des aulnes le long de la Sarre est la baisse très significative de la régénération naturelle en termes d'effectif. Une des causes possibles est le dépérissement/la mortalité des tous jeunes semis (moins de 130 cm de hauteur) dues à *P. alni*. Ces petits sujets n'ont en effet pas pris en compte dans notre étude depuis 2002.

Tous les arbres du dispositif (approximativement 1800 individus) ne seront plus suivis à l'avenir pour leur croissance et état sanitaire. Deux objectifs seront toutefois poursuivis pour comprendre la chute des effectifs en aulnes. Le premier consiste à poursuivre le repérage

chaque année des nouveaux arbres de plus de 130 cm pour accumuler de nouvelles données sur le recrutement. Le 2^{ème} objectif consiste à estimer l'impact réel de *P. alni* sur le recrutement. Des jeunes arbres (franc-pied ou cépée) de moins de 5 cm de diamètre et isolés (pas d'aulnes à proximité immédiate, 5 m en amont et en aval) ont été repérés. En 2016, quinze arbres ont été rentrés dans ce dispositif qui constituent autant de placettes (l'effectif sera augmenté dans la mesure du possible chaque année). Nous faisons l'hypothèse que ces placettes sont propices à la régénération naturelle. Il s'agit de comprendre pourquoi d'autres jeunes semis n'apparaissent pas dans leur voisinage. Chaque année, tous les semis d'aulnes de toute taille qui pousseront au voisinage seront repérés et étiquetés. Les placettes seront traitées de 2 façons : pour la moitié, les arbres repérés seront traités avec du fosétyl (Aliette), un anti-Phytophthora préventif, et pour l'autre moitié, aucune action ne sera entreprise. Le but est ainsi de montrer si l'activité pathogène des Phytophthoras est responsable de l'absence de nouveaux recrutements.

Bilan de l'impact de *P. alni* sur les aulnes dans le Nord-Est de la France

En résumé, cette étude montre que le peuplement d'aulnes en bordure de la Sarre est fortement impacté (dépérissement et mortalité) par des infections dues à l'agent pathogène tellurique *Phytophthora alni*. Le nombre total d'aulnes chute depuis 2006. Cette diminution est essentiellement liée à un très faible taux de recrutement (nouveaux semis) qui ne compense pas le nombre de morts. Ce sont les très jeunes semis qui meurent massivement, 3 à 8 ans après leur première infection. Cependant, la surface terrière globale du peuplement d'aulnes augmente continuellement grâce à un très faible taux de mortalité chez les arbres d'âge moyen et adultes. Les hivers froids, même s'ils ne sont que périodiques, limitent le développement du pathogène et favorise ainsi la rémission des arbres. Ainsi, à court et moyen terme, l'agent pathogène ne remet pas en cause le maintien de la ripisylve dans le Nord-Est de la France, même si celle-ci est riche en aulnes. A plus long terme, si le taux de régénération naturelle d'aulnes reste faible, alors la place de cette espèce en ripisylve est compromise. Ainsi, identifier les causes qui impactent la régénération naturelle d'aulnes est une question importante qu'il faudrait élucider pour affiner l'avenir de l'aulne en ripisylve. Notons toutefois qu'il existe très probablement de la sélection naturelle d'individus résistants à la maladie (voir tâche 3 du projet) qui participerait alors au maintien de l'espèce Aulne glutineux le long des cours d'eau.

Tâche 3 : pression de sélection exercée par *Phytophthora alni* sur la population d'aulnes

L'objectif de cette tâche est de savoir si la présence de l'agent pathogène *P. alni* dans le bassin Rhin-Meuse depuis environ 30 ans conduit petit à petit à une sélection d'une population d'arbres plus tolérants à la maladie.

Expérimentation A

Le dispositif de la Sarre entre Gosselming et Berthelming a servi de base pour l'expérimentation présentée ici. En effet, sur ce site, le taux de mortalité annuelle est élevé et il touche essentiellement les jeunes semis. Il est donc envisageable que *P. alni* exerce une pression de sélection chez les aulnes et éliminant progressivement les individus les plus sensibles à la maladie. La population de jeunes semis d'aulnes constituent un échantillonnage de choix pour tester cette hypothèse.

Un échantillonnage a été réalisé en 2010-2011. Deux catégories d'aulnes ont été repérées parmi les individus suivis dans le dispositif. La première catégorie, que nous nommerons Exposé, est constituée d'aulnes à l'état de jeunes semis en 2002 et toujours en vie en 2013. La deuxième, que nous nommerons Non Exposé, est constituée de jeunes semis d'aulnes recrutés en 2010. Chaque plant a été cloné par bouturage et élevé en serre en pot jusqu'à leur inoculation. Le bouturage et l'élevage en serre ont été réalisés chez nos collègues du Centre de Recherche Agronomique de Wallonie (CRA-W) à Gembloux (Belgique). Au total, 18 plants Exposés et 28 Non Exposés étaient disponibles pour l'expérimentation. Ces plants ont été inoculés avec *P. alni* pour estimer leur résistance vis-à-vis de l'agent pathogène. La méthode d'inoculation est une méthode classiquement utilisée chez les *Phytophthoras* du sol qui attaquent les fines racines. Grosso modo, des grains de millet mélangé à du jus de légumes est ensemencé par un isolat de *P. alni* et mis à incuber pendant quelques jours à 20°C. Le jus de légumes est fréquemment utilisé en mycologie pour cultiver des isolats de *Phytophthora* sp. ; c'est un apport nutritionnel à l'agent pathogène. Une dose de millet inoculé est ensuite ajoutée dans le sol de chaque plant d'aulne en pot et les pots sont envoyés deux fois pour favoriser la production de spores infectieuses. L'inoculation a été réalisée en août et octobre 2013 puis les symptômes ont été notés en avril 2014 : taille des lésions nécrotiques au collet et sur racines et masse de fines racines (diamètre inférieur à 1 mm).

L'inoculation a été réussie sur 17 individus Exposés et 22 Non Exposés (présence de lésions dues à *P. alni* sur collet ou racines). Parmi les inoculations réussies, 82% des plants Exposés présentaient des lésions au collet contre 91% pour les Non Exposés. La surface de ces lésions au collet n'était pas significativement différentes entre les deux lots. Sur racines, bien que la fréquence de lésions étaient identiques (76 et 77% des plants Exposés et Non Exposés, respectivement), la surface des lésions sur les Non Exposés était significativement plus élevées que sur les Exposés ($\chi^2=2.07$, $p=0.046$, Figure 14). Les témoins (non inoculés) ne présentaient aucune nécrose sur tiges ou racines.

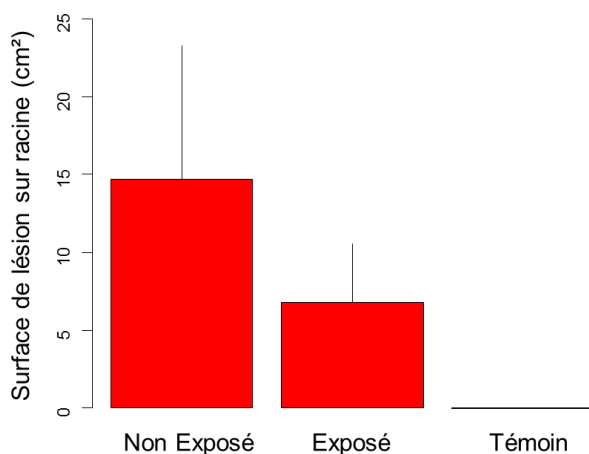


Figure 14 : Surface de lésions sur racines en fonction des traitements.

De façon logique, la masse de fines racines est liée à la taille des plants (estimée par le diamètre au collet). Cependant, l'interaction traitement x diamètre au collet est statistiquement significative ($F= 4.9$, $P= 0.011$) pour la variable masse de fines racines : les individus Non Exposés présentent une masse de fines racines, rapportées à la taille du plant, significativement plus faible que les individus Exposés ou les témoins (Figure 15).

En résumé, les plants Exposés, soumis à l'inoculum de *P. alni* dans leur milieu naturel et restés sains depuis leur recrutement dans le dispositif en 2002, présentent un seuil de résistance (évalué par la taille de lésion sur racines et la masse de fines racines) plus élevé que les plants nouvellement apparus dans le dispositif.

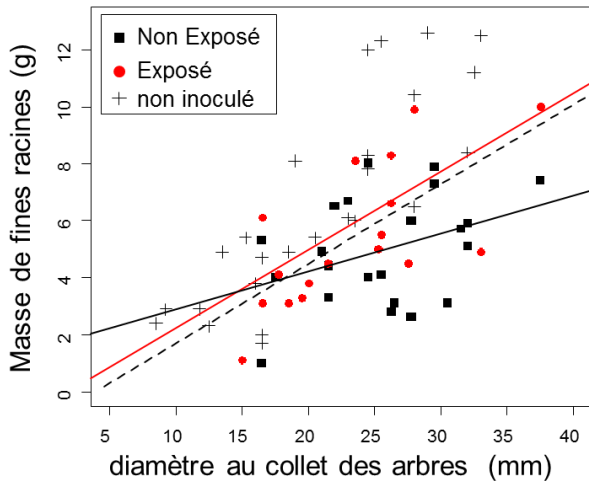


Figure 15 : Masse de fine racines des plants inoculés et des plants témoins

Expérimentation B

Le long de trois cours d'eau du bassin Rhin-Meuse (Sarre Rouge, Moselle et Giessen), un site localisé en Amont et un site localisé en Aval ont été sélectionnés pour chaque cours d'eau (Tableau 3, Figure 16). Nous considérons que les aulnes localisés en amont ont été très peu exposés durant leur vie à l'inoculum naturel de *P. alni*. Au contraire, les aulnes localisés en aval y ont été exposés. Pour chaque site, 30 jeunes semis ont été échantillonnés au hasard sur lesquels deux extrémités de pousses feuillées ont été prélevées en août 2014. Au total, 360 pousses (30 x 2 répétitions x 6 sites) ont été prélevées et inoculées au laboratoire le jour suivant la récolte selon la méthode décrite dans Chandelier et al. (2015). Grosso modo, il s'agit de tremper l'extrémité basse des pousses terminales feuillées (environ 15 cm de haut) dans une suspension de spores de *P. alni* à une concentration de 1000 spores / ml. Les pousses ont été mises à incuber à 20°C avec un programme jour/nuit dans un incubateur. La sensibilité des aulnes au pathogène est estimée 6 jours après inoculation par le niveau de flétrissement des pousses (1, pas de flétrissement ; 2, flétrissement en forme de crosse sans dessèchement ; 3, quelques feuilles sèches ; 4, feuilles desséchées ou tombées).

Les résultats montrent que les niveaux de flétrissement moyen des pousses prélevées sur les sites Aval (soumis à l'inoculum de *P. alni*) sont significativement plus faible que ceux mesurés sur les pousses provenant des sites Amont ($p < 0.001$). Il y a un effet rivière ($p = 0.03$) mais l'interaction rivière x amont/aval est non significatif, ce qui signifie que cette différence de sensibilité Amont / Aval est identique entre les trois cours d'eau testés (Figure 17). La figure 18 montre par ailleurs que les plants situés en Aval présentent une fréquence de note 2

plus élevée et une fréquence de note 3 plus faible. Le seuil de résistance des aulnes mesuré par cette méthode est donc plus élevé chez les aulnes soumis à l'inoculum de *P. alni* depuis plusieurs années.

Tableau 3 : liste des sites de prélèvement sur les semis d'aulnes

Rivière	Commune	Localisation	Coord X - wgs84	Coord Y - wgs84
Sarre rouge	Berthelming	aval	7.01649	48.82311
Sarre rouge	Abreschviller	amont	7.1273	48.6061
Giessen	Ebersmunster	aval	7.51785	48.31076
Giessen	Urbeis	amont	7.23805	48.32466
Moselle	Eloyes	aval	6.60825	48.09332
Moselle	Cornimont	amont	6.83345	47.97953

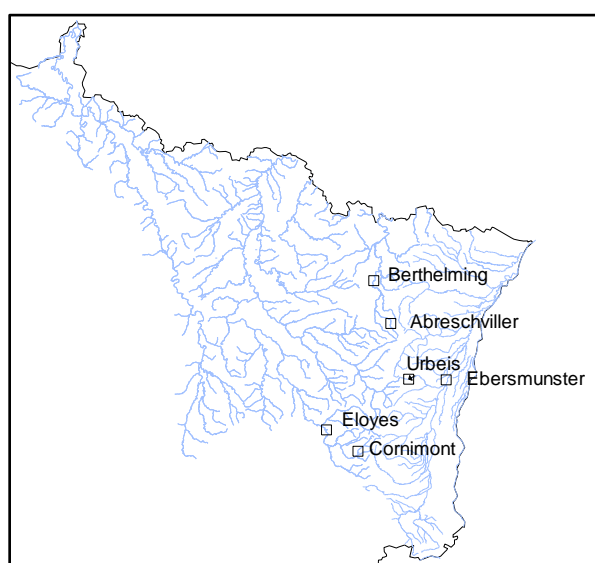


Figure 16 : localisation des 6 sites Amont-Aval de prélèvement sur jeunes semis d'aulnes.

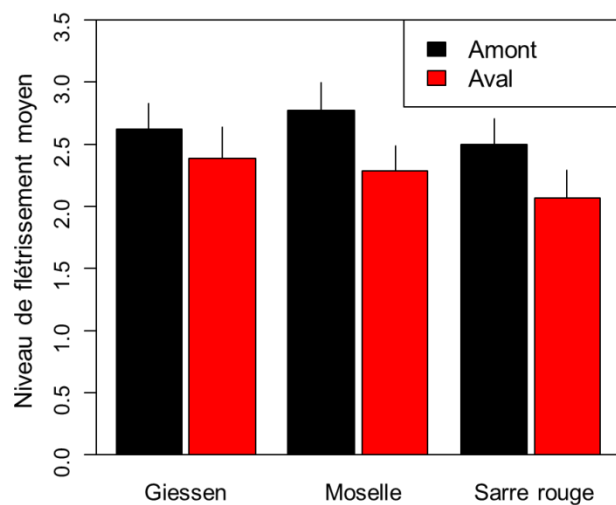


Figure 17 : Niveau de flétrissement moyen des pousses inoculées prélevées sur les 6 sites Amont-Aval

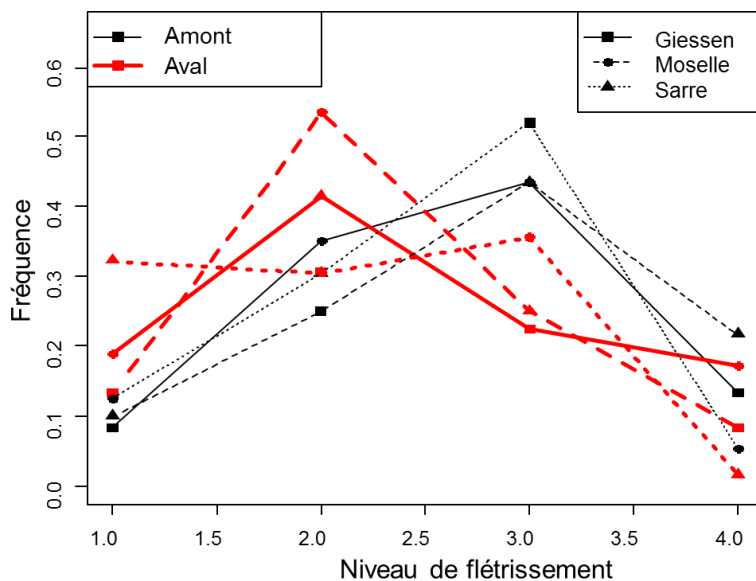


Figure 18 : Note de flétrissement des pousses inoculées prélevées sur les 6 sites Amont-Aval

Bilan sur la résistance de l'aune à *Phytophthora alni*

A partir de deux expérimentations basées sur un échantillonnage différent (échelle de temps dans l'expérimentation A et échelle spatiale dans l'expérimentation B) et sur une méthode de tests de sensibilité différente (inoculation du système racinaire versus pousses feuillées), nos résultats montrent que *P. alni* exerce sur une pression de sélection sur la population d'aunes. Une sélection naturelle pour la résistance à *P. alni* se produit, et celle-ci est perceptible sur un pas de temps d'une dizaine d'années. Les jeunes semis d'aunes qui restent vivants dans un environnement infecté seraient donc plus résistants à la maladie. Ceci a des conséquences sur la population d'aunes où des taux de dépérissement pourraient être plus faibles à l'avenir grâce à la sélection d'une population d'aunes moins sensibles à la maladie. L'évaluation de l'héritabilité* de cette résistance présumée n'a toutefois pas été abordée ici. Il s'agit d'établir dans quel ordre de grandeur cette résistance est transmissible génétiquement à la descendance. Son estimation demeure une question importante pour encore mieux appréhender l'impact sur les prochaines générations d'aunes et l'incidence de maladie dans les aulnaies où les conditions environnementales sont les plus favorables.

* part des facteurs génétiques dans la variation de l'expression d'un caractère phénotypique

Tâche 4 : Evaluation en milieu naturel de la résistance disponible chez l'aulne vis-à-vis de *P. alni*

Plusieurs milliers de jeunes semis de 1 ou 2 ans issus de lots de graines choisis aléatoirement ont été inoculés par immersion de leur système racinaire dans une suspension de spores de l'agent pathogène *P. alni* par le CRA de Gembloux en Belgique (Centre de Recherche Agronomiques). Les plants survivants ont constitué une collection d'aulnes potentiellement résistants à la maladie (aulnes sélectionnés), dont une partie a été confiée à l'INRA Nancy. En partenariat avec des prestataires locaux et sous conventions établies entre les deux parties, ces aulnes ont été plantés sur deux sites en bordure de rivière pour évaluer leur niveau de résistance en milieu naturel, le long de la Chiers (Longuyon) et de la Meuse (Donchery et Noyers-Pont-Maugis). Chaque site de plantation contient des plants sélectionnés pour leur résistance *in vitro* et des plants non sélectionnés (provenant d'un comptoir à graines) et jouant le rôle de témoin dans l'expérimentation. Les plants ont été suivis de 2014 à 2017 selon les mêmes méthodes que celles décrites précédemment dans le dispositif de la Sarre (croissance et état sanitaire).

Le site localisé à Longuyon a été mis en place en 2012 en partenariat avec le Syndicat Intercommunal d'aménagement de la Chiers et les propriétaires des placettes. Il comprenait 49 aulnes sélectionnés et 50 aulnes témoins. Les plants ont été installés rive gauche et rive droite et ont été notés en 2013, 2014 et 2016. Durant ces trois années, les plants ont été répertoriés selon trois catégories : vivant, mort ou disparu. Sur les 99 plants installés, 44 sont vivants en 2016. 55% des plants sont morts ou disparus. Il reste 24 individus vivants de la population d'aulnes sélectionnés et 20 individus témoins. Les plants installés sur la rive droite ont subi le plus de perte : seuls 20% sont encore en place. La principale cause est probablement une forte concurrence de la végétation semi-ligneuse ou ligneuse à proximité et les crues de la Chiers. Sur la rive gauche, la placette est mieux entretenue et le taux de reprise est satisfaisant (70%). Les taux de mortalité entre les 2 types de populations d'aulnes (sélectionnés ou témoins) sont similaires, aux alentours de 45% en 4 ans. Il en est de même pour les taux d'accroissement des plants encore vivants en 2016 : la circonférence des plants a

été multipliée par 4 entre 2013 et 2016 pour les 2 types de populations. Il n'a pas été relevé de symptômes typiques de la maladie (présence de nécrose au collet des arbres, feuillage clairsemé et jaunissant). Les causes de mortalité ne peuvent pas être clairement définies. Le plus probable est que la mortalité soit surtout due à une mauvaise reprise des plants et une sévère concurrence.

Le site le long de la Meuse a été mis en place en 2013 en partenariat avec la Communauté de Communes du Pays sedanais. Il comprenait deux placettes de plantations, à Donchery (25 plants) et à Noyers-Pont-Maugis (84 plants) où les arbres ont été notés en 2014 et 2016. Beaucoup d'arbres sont morts, ont disparu ou ont perdu leur étiquetage pour diverses raisons : sites peu entretenus par le prestataire avec beaucoup de végétation concurrente (Donchery), travaux de construction après plantation d'une piste cyclable en bordure de la Meuse (Noyers). Au total, en 2016, 36 arbres sont vivants (15 à Donchery et 21 à Noyers) parmi lesquels 13 individus sélectionnés, 13 témoins et 10 d'origine inconnue.

Les expérimentations ne sont pas suffisamment avancées pour répondre aujourd'hui aux objectifs initiaux. Pour cela, plusieurs années de suivis et d'enquêtes sont encore nécessaires sur les arbres encore en place pour cumuler des données de recherche et les analyser. Les effectifs réduits d'aulnes en raison des difficultés de reprise et des activités humaines (travaux) peuvent compromettre les objectifs de l'expérimentation. Les notations pluriannuelles seront poursuivies et les résultats et conclusions seront présentés aux partenaires et aux propriétaires comme convenu dans les conventions d'expérimentations.

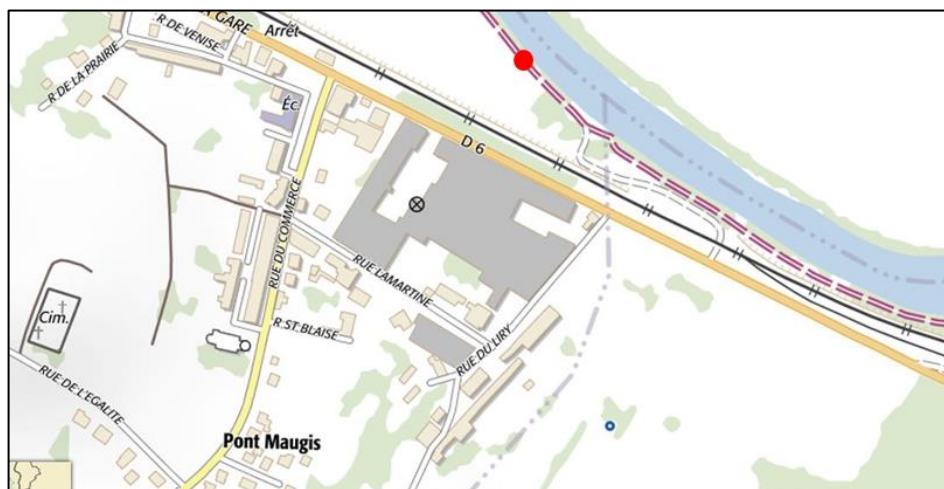
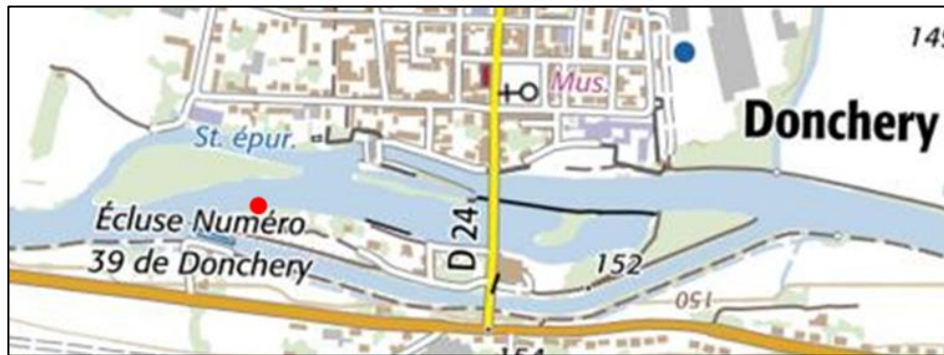


Figure 16 : localisation des sites de plantations (point rouge) en photo aérienne et carte IGN à Donchery (en haut) et à Noyers-Pont-Maugis (en bas)

Delivrables

Husson C., Marçais B. 2015. La chalarose du frêne, une nouvelle maladie invasive en Europe. Plaquelette d'information à destination des gestionnaires de cours d'eau. Eds. Agence de l'Eau Rhin-Meuse, juin 2015, 6 p

Les références suivantes mentionnent l'Agence de l'Eau Rhin-Meuse dans les remerciements en tant que financeur :

Chandelier A., Husson C., Druart P., Marçais B. 2015. Assessment of inoculation methods for screening black alder resistance to *Phytophthora xalni*. Plant Pathology, 65, 441–450

Husson C., Caël O., Scordia T., Grosdidier M., Marçais B. 2015. La Chalarose du Frêne. Journée de Formation DSF, 27-28 août 2015, Merlimont, France (présentation orale)

Husson C., Caël O., Scordia T., Marçais B. 2014. Fréquence de la chalarose dans les régénérations de frêne et en ripisylve. 14^{ème} rencontre du Groupe Francophone de Pathologie Forestière, Hendaye, France, 13-16 octobre 2014 (communication orale)

Husson C. et Marçais B. 2017. Chalarose du frêne et autres maladies invasives. Il est possible de mieux protéger les forêts. The Conversation, mis en ligne le 23 janvier 2017. Consultable sur [internet](#).

Husson C., Caël O., Dowkiw A., Delahaye L., Saintonge F.X., Chandelier A., Marçais B. 2016. Estimation de la mortalité induite par la chalarose en France et en Belgique. 15^{ème} rencontre du Groupe Francophone de Pathologie Forestière, Ramatuelle, France, 25-27 septembre 2016 (présentation orale)

Marçais B., Nagy Z., Husson C. Long term impact of *Phytophthora xalni* on a riparian alder population. 7th IUFRO Forest Phytophthora Research Workshop, Esquel, Argentina, 10-14 November 2014 (communication orale)

Marçais B., Husson C. 2014. Does *Phytophthora xalni* induce selection for resistance? 7th IUFRO Forest Phytophthora Research Workshop, Esquel, Argentina, 10-14 November 2014 (communication orale).

Mingeot D., Husson C., Mertens P., Watillon B., Bertin P., Druart P. 2016. Genetic diversity and genetic structure of black alder (*Alnus glutinosa* [L.] Gaertn) in the cross-border area Belgium - Luxembourg - France. Tree Genetics & Genomes 12, doi 10.1007/s11295-016-0981-3.

Deux articles sont en cours de rédaction à partir des données de ce projet :

Ash dieback in riparian forest in northeastern France. Revue ciblée : Forest Pathology

Long term impact of *Phytophthora xalni* on a riparian alder population. Revue à définir

Bibliographie

Aguayo J., Adams G. C., Halkett F., Catal M., Husson C., Nagy Z. A., Hansen E. M., Marçais B. and Frey P. 2013. Strong genetic differentiation between North American and European populations of *Phytophthora alni* subsp. *uniformis*. *Phytopathology* 103: 190-199.

Baral H-O, Queloz V, Hosoya T. 2014. *Hymenoscyphus fraxineus*, the correct scientific name for the fungus causing ash dieback in Europe. *IMA Fungus*. 5:79–80

Husson C., Aguayo J., Revellin C., Frey P., Ioos R., Marçais B. 2015. Evidence for homoploid speciation in *Phytophthora alni* supports taxonomic reclassification in this species complex. *Fungal Genetics and Biology* 77, 12-21.

Husson C., Dowkiw A., F.-X. Saintonge, Marçais B. 2016. La chalarose du frêne en France. *Forêt-Entreprise* 228, 10-13.