

LE DIAGNOSTIC DES MALADIES FONGIQUES EN FORÊT

M. MORELET

On reconnaît qu'une plante est malade par comparaison avec des plantes saines. Le diagnostic consiste à caractériser et distinguer une maladie par ses signes propres. Son intérêt est double : il est utile au praticien dans la mesure où il débouche sur une méthode de lutte appropriée, et il permet de déceler l'apparition de nouvelles maladies ou de problèmes sanitaires nouveaux, qui susciteront éventuellement des travaux de recherche.

Les maladies des plantes peuvent être dues à différentes sortes d'organismes parasites (champignons, bactéries, nématodes, virus, etc...) ou à des facteurs abiotiques du milieu, agissant seuls ou en synergie. Il ne sera traité ici que du diagnostic des maladies provoquées en forêt par les champignons.

On adoptera pour l'illustrer une démarche logique : où rechercher le pathogène, comment le mettre en évidence, comment l'identifier ? Mais il convient, au préalable, d'attirer l'attention sur l'importance des observations de terrain et du prélèvement d'échantillons.

LE PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS

Le diagnostic se trouve facilité par la visite du site où la maladie sévit. Or le diagnosticien n'a pas toujours le loisir de mener l'enquête sur le terrain. C'est donc au praticien qu'il appartiendra dans bien des cas de l'effectuer. L'attention se portera d'abord sur le malade, ensuite sur son environnement.

La localisation des premiers symptômes, la symptomatologie d'ensemble, et la variabilité du syndrome, peuvent être déterminées par l'examen de plusieurs plantes malades, prises à différents stades de développement de la maladie. L'échantillon doit donc représenter tous les stades d'évolution de l'altération et comporter en outre la partie malade avec les tissus vivants qui sont autour.

Le type de répartition d'une maladie donne souvent des indications utiles sur sa cause probable. Il faut par exemple se poser les questions suivantes : est-elle répartie au hasard dans l'ensemble du peuplement ? Est-elle plus importante en bordure ? Sa propagation, en plantation, est-elle plus réduite entre rangs que dans les rangs ? Est-elle localisée à des zones basses ou mal drainées, sablonneuses ou caillouteuses ? Constate-t-on une extension localisée autour d'un foyer primaire ? Son apparition et sa gravité sont-elles différentes selon la sylviculture pratiquée ? Est-elle liée à un hôte particulier ?...

Tous ces renseignements doivent accompagner l'expédition rapide d'échantillons, frais et en bon état, pour permettre les observations, les isolements et autres travaux de laboratoire.

OÙ RECHERCHER LE PATHOGÈNE ?

Il est bon de connaître ou d'avoir à sa disposition des renseignements concernant les maladies déjà signalées sur l'hôte examiné. Pratiquement deux grands groupes peuvent être distingués : les maladies qui s'extériorisent par des symptômes nettement visibles et celles qui ne s'extériorisent pas ou qu'exceptionnellement.

Maladies apparentes

Elles sont très diverses et nombreuses. On peut les subdiviser en deux catégories : les maladies dont les symptômes relèvent de l'activité locale du pathogène, et celles dont les symptômes n'apparaissent pas toujours à l'endroit où agit la cause.

● *Le pathogène se trouve dans les tissus visiblement malades*

On recherchera avec attention les manifestations externes du parasite qui peut être à l'origine de la maladie.

Ces affections très nombreuses se localisent à un organe ou à une portion d'organe, engendrant différents types de symptômes :

— des déformations : rouille courbeuse des Pins (*Melampsora pinitorqua* Rostr.), balais de sorcière du Sapin (*Melampsorella caryophyllacearum* Schroet.), cloque foliaire du Peuplier (*Taphrina populina* Fr.) ;

— des macules : anthracnose du Chêne et du Hêtre (*Discula umbrinella* (Berk. et Br.) Morelet), tavelure des Trembles (*Pollaccia radiosa* (Lib.) Bald. et Cif.), bandes rouges des aiguilles de Pin (*Dothistroma septospora* (Dorog.) Morelet) ;

— des croûtes : croûtes noires des feuilles d'Érable (*Rhytisma acerinum* Fr.) ;

— des dessèchements : maladie à *Brunchorstia* des pousses des Pins (*Gremmeniella abietina* (Lagerb.) Morelet) ;

— des chancres : chancre du Mélèze (*Lachnellula willkommii* (Hartig) Dennis) ;

— des tumeurs : dorge du Sapin (*Melampsorella caryophyllacearum*) ;

— des suintements : encre du Chêne (*Phytophthora cinnamomi* Rands) ;

— des revêtements : blanc du Chêne (*Microsphaera alphitoides* Griffon et Maublanc), noir des aiguilles de Pin (*Herpotrichia coulteri* (Peck) Bose).

● *Le pathogène ne se trouve pas nécessairement dans les tissus malades*

Les symptômes aériens peuvent avoir pour origine des dégâts sur les racines ou dans le système vasculaire, d'où l'intérêt d'étudier la plante entière pour établir un diagnostic.

— Cas des flétrissements (trachéomycoses) : ils se manifestent par un dessèchement rapide du feuillage dû à une rupture du courant de sève, souvent au niveau du rameau porteur. C'est à cet endroit qu'il convient de rechercher le pathogène après sectionnement de l'organe.

On observe au niveau de l'aubier des taches brunes, petites, interrompues ou formant parfois un anneau complet occupant un ou plusieurs cernes. Tel est le cas de la graphiose de l'Orme (*Ophiostoma ulmi* (Buism.) Nannf.), de la verticilliose de l'Érable (*Verticillium dahliae* Klebahn).

— Cas des pourridiés : dans ce cas les symptômes aériens (jaunissement et dessèchement du feuillage et des branches, mort apoplectique...) ont pour origine une pourriture de l'écorce des racines. À ce niveau on peut constater, chez les résineux par exemple, la présence de feutrage mycélien sous-cortical qui est généralement l'indice d'une attaque d'Armillaire ou de *Fomes*, ou bien une décoloration brun sombre du cambium accompagnée de noircissements internes du bois dus à *Leptographium alacre* (Wingfield et Marasas) Morelet.

Maladies non apparentes ou difficiles à déceler

Il s'agit pour l'essentiel d'altération du bois sur pied. Contrairement aux précédentes, ces maladies ne s'extériorisent pas, ou qu'exceptionnellement *in fine*. L'infection ne met donc pas, immédiatement, en danger la vie de l'arbre, mais peut le rendre sensible au vent et quoi qu'il en soit déprécie le bois de la bille de pied.

Lorsqu'on découpe transversalement ou longitudinalement l'organe lignifié, on constate dans le bois la présence de colorations anormales et/ou de pourritures. On peut citer chez l'Épicéa, les attaques de *Stereum sanguinolentum* (Fr.) Fr. (Delaunoy, communication personnelle) et surtout de *Fomes* (*Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref.) ou chez le Peuplier celle de *Chondrostereum purpureum* (Pers. : Fr.) Pouzar.

COMMENT METTRE LE PATHOGENE EN ÉVIDENCE ?

Après avoir localisé le pathogène présumé, il convient de vérifier sa présence effective au niveau des lésions. Dans les cas les plus simples, il se manifeste de manière évidente par ses organes reproducteurs, visibles sur le site infecté.

Mais il arrive assez souvent, voire fréquemment dans le cas du *Phacidium infestans* Karst. des Pins, qu'aucun organe spécifique ne soit présent. Il faut alors recourir à certaines techniques de laboratoire pour les obtenir.

Organes caractéristiques du pathogène présents

Ils affectent des formes variées selon le mode de groupement des tissus fertiles. Ceux-ci sont, soit bien visibles, soit plus ou moins cachés dans un conceptacle.

Les tissus fertiles visibles du pathogène peuvent être disposés sans ordre (tavelure des Peupliers, blanc du Chêne, cloque dorée du Peuplier) ou groupés en coussinet (rouille au stade urédien des Salicacées, corail des essences feuillues à *Tubercularia vulgaris* (Tode) Fr.), ou en colonnette (stade parfait des rouilles de Genévriers, stade imparfait de la maladie hollandaise de l'Orme).

Mais la plupart du temps, en pathologie forestière, les tissus fertiles du pathogène se trouvent réunis à l'intérieur de conceptacles. Ceux-ci peuvent prendre des proportions importantes, tels les carpophores de pourridiés, mais le plus souvent, restent modestes. Ce sont des croûtes d'étendue variable (croûtes noires de l'Érable, stade parfait des rouilles des Salicacées), des

Diagnostic des maladies fongiques en forêt

tubes (rouille des aiguilles d'Épicéa), des vésicules (rouille vésiculeuse des Pins), des sphères superficielles (« rouille suisse » des aiguilles de Douglas) ou enfouies (anthracnose du Marronnier), des cupules superficielles (chancre du Mélèze) ou enfouies (balais de sorcière du Sapin), de petites lames concaves recouvertes par les tissus de l'hôte (anthracnose du Merisier)...

Il est des cas cependant où les fructifications du champignon, habituellement visibles, demandent plusieurs mois pour se manifester à l'extérieur, mais se trouvent déjà présentes et sporulantes dans la profondeur des tissus de l'hôte (cas des « cryptopycnides » de *Gremmeniella abietina*). L'épluchage des pousses de Pin atteintes de la maladie provoquée par ce champignon met en évidence les cryptopycnides permettant de ce fait un diagnostic précoce, bien utile.

Organes caractéristiques du pathogène absents

Le pathogène n'est présent dans les tissus lésés qu'à l'état mycélien donc non identifiable. Deux types de techniques vont être mises en œuvre afin d'obtenir les organes caractéristiques de celui-ci :

- *La chambre humide*

On peut induire les fructifications du pathogène, en disposant l'échantillon dans des conditions d'humidité, de chaleur et de lumière favorables à cette induction.

Mais il est souvent indispensable de procéder à une mise en culture.

- *Les isolements*

D'une manière générale, hormis le cas des parasites dits obligatoires (oïdium, rouilles), les champignons présents au niveau des lésions se cultivent sur des milieux nutritifs artificiels.

On prélève, après une désinfection de l'organe attaqué, un fragment de tissu malade que l'on dépose sur un milieu gélosé.

Le choix du milieu de culture dépend de la nature de l'organisme à isoler (ceux à base de maïs ou d'avoine conviennent particulièrement aux Ascomycètes). Dans certains cas, on peut utiliser des milieux de culture sélectifs, pour interdire par exemple le développement de contaminants (adjonction d'antibiotique contre les bactéries) ou pour séparer des genres voisins comme *Ceratocystis* Ell. et Hast. et *Ophiostoma* H. Syd. et Syd. (adjonction de cycloheximide)...

L'exposition à la lumière des cultures ainsi obtenues, et/ou l'introduction, sur le milieu, de fragments de végétal, favorisent la sporulation.

Parfois cependant, la culture reste stérile, nécessitant d'autres techniques d'identification.

IDENTIFICATION DE L'AGENT CAUSAL

On a essayé de baser le diagnostic d'une maladie sur les symptômes (il est des cas où cela suffit), mais on l'établit avec plus de certitude par l'identification du ou des agents pathogènes en cause. C'est la raison pour laquelle la recherche des fructifications, exposée précédemment, est primordiale. Celles-ci, une fois mises en évidence, sont examinées au microscope sous l'angle morphologique.

Techniques microscopiques

L'examen microscopique révèle la morphologie du mycélium, de l'appareil fructifère, et des spores elles-mêmes. Les données recueillies sont de nature qualitative et quantitative.

Ces examens microscopiques sont extrêmement importants car ils permettent de distinguer les divers groupes de champignons, et d'orienter la consultation des ouvrages spécialisés, indispensables à l'identification.

Il peut être également très utile de comparer le pathogène à un échantillon ou à une culture de référence. L'herbier mycologique et la mycothèque s'avèrent, à cet égard, des outils de travail très précieux.

- *Caractère causal de l'agent identifié*

Des cas très simples existent où la maladie est causée par un seul agent biotique. Il y a parfaite concordance entre les symptômes et l'agent causal, par exemple la cloque foliaire des Peupliers due à *Taphrina populina*.

Mais des problèmes délicats se posent souvent, au niveau de l'interprétation des informations, fournies par le terrain et le laboratoire, pour saisir correctement les causes de la maladie.

Les cas peuvent revêtir des formes de complexité croissante selon le type de problème rencontré.

Convergences symptomatologiques

Si des subtilités symptomatologiques permettent de distinguer des maladies à symptômes voisins mais d'origine différente, il arrive que des causes variées se traduisent par l'apparition de symptômes comparables. Le recours au microscope ou à la loupe binoculaire est alors indispensable pour établir un diagnostic correct et ne pas s'exposer à des méprises thérapeutiques. Les pousses des peupliers de la section *Leuce* présentent au printemps des extrémités noires, recroquevillées, dont les causes peuvent être cryptogamique (attaque de tavelure avec présence de *Pollaccia radiosa* (Lib.) Bald. et Cif.), climatique (les tissus tués par un gel tardif sont colonisés par *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link ex S.F. Gray) ou entomologique (présence dans les feuilles enroulées des larves du Cigarier, *Byctiscus betulae* L., Coléoptère, Curculionidé).

Agents compétiteurs

Quelques organismes pathogènes sont peu compétiteurs vis-à-vis des micro-organismes secondaires. Par exemple, les agents de la rouille vésiculeuse des écorces de Pins à cinq feuilles et à deux feuilles (respectivement *Cronartium ribicola* J.C. Fischer et *Cronartium flaccidum* (Alb. et Schw.) Wint.) se font parfois gagner de vitesse par le *Crumenulopsis sororia* (Karst.) Groves, qui occupe complètement le site colonisé antérieurement par la rouille au point qu'elle n'est plus visible.

Il peut résulter de ces compétitions une élimination précoce de l'agent pathogène des tissus malades. Dans ce cas, les tentatives d'isolement échouent si l'on ne dispose pas de tissus récemment infectés. Ainsi, une attaque de *Crumenulopsis sororia* sur jeune rameau de Pin d'Alep peut être colonisée activement par le *Sphaeropsis sapinea* (Fr.) Diko et Sutton qui masquera sur l'hôte le symptôme initial et sera seul obtenu en culture.

La compétition peut aussi être le fait de champignon hyperparasite. Dans ce cas les organes typiques du pathogène ne renferment plus leurs propres spores mais celles de l'hyperparasite. On peut citer l'envahissement des spores de *Cronartium ribicola* par *Tuberculina maxima* Rostr.

Enfin, un trop long transport, sous plastique, d'échantillons mal ressuyés, peut donner lieu à une intense colonisation de moisissures, qui provoque une pourriture de l'organe attaqué, interdisant souvent un diagnostic correct.

Agents difficiles à identifier et maladies nouvelles

La plupart des groupes de champignons pathogènes en forêt n'ont pas été étudiés en vue de déterminer leur gamme de variabilité naturelle et les caractéristiques les plus utiles à leur classification et à leur identification.

Il en résulte souvent une grande confusion et des incertitudes. En vue de répondre à la question : qui fait quoi ?, des études comparatives complémentaires sont nécessaires pour développer les concepts taxinomiques utiles aux cliniciens. De telles études se sont en effet montrées récemment fructueuses. On sait, par exemple, maintenant, que l'« Armillaire couleur de miel » bien connu de tous, couvre en réalité en Europe cinq espèces différentes, bien définies du point de vue linéen et distinctes morphologiquement d'après leurs carpophores. Pour le pathologiste, l'intérêt de ces distinctions tient au fait que ces espèces ne présentent pas toutes le même caractère pathogène. Et même en l'absence de carpophores, il est désormais possible d'identifier au niveau spécifique l'Armillaire à partir du mycélium : soit par l'étude de sa morphologie *in vitro* en conditions standardisées, mieux par sa compatibilité sexuelle en culture vis-à-vis des espèces de référence.

La difficulté augmente avec le diagnostic d'un complexe maladif à causes multiples qui demande une séparation et une identification de chacune des causes possibles. Tel est le cas du dépérissement des Chênes, et du rôle éventuel des *Ophiostoma*, dont les formes conidiennes sont si mal connues qu'une révision taxinomique du groupe est indispensable.

Ces cas extrêmes ne relèvent plus du diagnosticien mais de la recherche. Il en est de même pour le diagnostic des maladies non décrites ou inconnues qui nécessitent leur reproduction expérimentale.

Les différentes phases d'exploitation d'un échantillon au laboratoire, exposées depuis le paragraphe « Comment mettre le pathogène en évidence » page 98, sont résumées dans la figure 1, page 102.

Autres méthodes

Les techniques d'étude au microscope, abordées précédemment, aboutissent à la mise en évidence des microcaractères morphologiques, sur lesquels reposent la classification et l'identification des champignons.

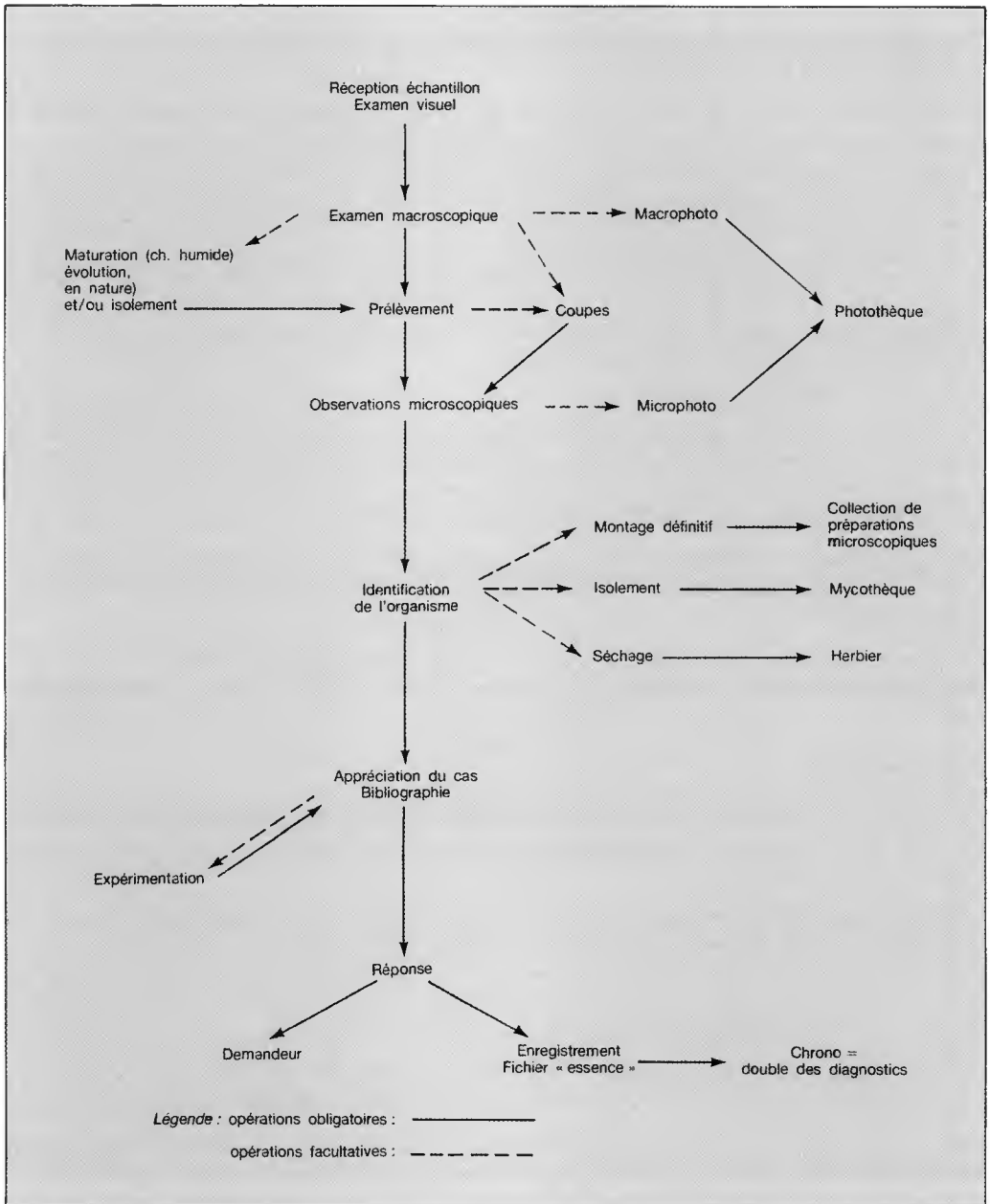
Mais il est, pour le pathologiste, un caractère d'importance, que la morphologie ne révèle pas toujours : c'est celui du pouvoir pathogène. À l'intérieur d'une espèce ou d'une variété morphologiquement identifiée, il existe des races ou des souches caractérisées essentiellement par leur aptitude à engendrer ou non une maladie. Pour les mettre en évidence il faut envisager le recours à d'autres méthodes de diagnostic.

La souche agressive d'*Ophiostoma ulmi*, introduite d'Amérique et fort dommageable, par exemple, se distingue aisément, *in vitro* sur milieu convenable, de la souche non agressive.

Une gamme d'hôtes différentiels, inoculés à l'aide de spores de la rouille des Peupliers due à *Melampsora populi* (Sow. : Fr.) Morelet, permet de mettre en évidence les deux races E1 et E2 connues en Europe chez cet agent. De la même manière, on peut déceler les deux races reconnues de la tavelure des Trembles (*V. tremulae* Aderh. var *tremulae*).

Les races géographiques du *Gremmeniella abietina* des Pins quant à elles nécessitent pour leur mise en évidence l'application de techniques sérologiques. Celles-ci sont aussi utilisées chez les Armillaires pour distinguer, de l'ensemble des autres espèces, l'*Armillaria mellea* (Vahl. : Fr.) Kumm., par un antigène particulier. En revanche, l'*Armillaria bulbosa* (Barla) Romagn. présente une bande protéique caractéristique, repérable en électrophorèse.

Figure 1 ORGANISATION DU SERVICE DE DIAGNOSTIC EN PATHOLOGIE FORESTIÈRE



Ainsi les nombreuses méthodes immunoenzymatiques, immunofluorescentes, biochimiques (sondes moléculaires, profils protéiques et d'acides gras...) surtout utilisées en virologie et bactériologie, apparaissent maintenant en mycologie et sont appelées à s'étendre dans l'avenir pour permettre dans certains cas un diagnostic plus fiable et plus précoce des maladies.

CONCLUSIONS

Le diagnostic d'une maladie a pour objectif premier d'établir une relation de cause à effet. Néanmoins, son établissement subit un certain nombre de contraintes, qui peuvent être levées par un choix judicieux de l'échantillon à analyser.

Il doit obligatoirement se doubler d'un pronostic vital ou fonctionnel de la maladie, ce qui confère une indéniable importance aux observations de terrain. En effet, pour comprendre pourquoi une maladie se manifeste de façon grave, à un moment ou à un endroit donné, il faut connaître les divers facteurs, en particulier ceux du milieu, qui agissent sur la croissance et le développement tant du pathogène que de l'hôte, et qui conditionnent la manifestation, la répartition et la gravité de la maladie.

Ces deux aspects, qualitatif et quantitatif, sont capitaux puisqu'ils déterminent le choix et la nature de l'intervention à envisager.

D'un point de vue pratique, le diagnostic exige un savoir-faire et une expérience que ne possède pas d'emblée le praticien, ce qui l'oblige le plus souvent à recourir aux services du spécialiste. Ces compétences de spécialiste doivent se trouver réunies au sein de l'Organisation chargée de la Surveillance phytosanitaire de la forêt, pour qu'elle soit à même d'assumer l'intégralité du diagnostic (terrain et laboratoire) et d'assister les sylviculteurs dans la recherche des solutions possibles.

En outre, et du moins dans les cas les plus simples et les mieux définissables, l'autodiagnostic par système expert rendrait d'appréciables services.

Enfin, en ce qui concerne l'identification proprement dite des pathogènes forestiers, des progrès substantiels restent à accomplir sur deux plans :

— celui de la morphologie, où des défauts importants de connaissance subsistent au niveau de certains taxa, qui conduisent à une imprécision, parfois regrettable, du diagnostic ;

— celui du pouvoir pathogène, pour lequel, comme nous l'avons vu, l'approche morphologique peut se révéler insuffisante. Des méthodes d'appréciation du pouvoir pathogène seront à développer, surtout si la variabilité des espèces forestières cultivées se réduit à l'avenir, induisant une adaptation concomitante des pathogènes.

M. MORELET

Laboratoire de Pathologie forestière

CENTRE DE RECHERCHES FORESTIÈRES (INRA)

BP 35

CHAMPENOUX 54280 SEICHAMPS

LISTE DE RÉFÉRENCES UTILES AU DIAGNOSTIC

● Ouvrages indispensables ou utiles à l'observateur de base

INFORMATION technique pour la surveillance et la protection phytosanitaire de la forêt. — Grenoble :
CEMAGREF, 1973-1975.
fascicule I, 1973, 28 fiches.
fascicule II, 1975, 25 fiches.

M. MORELET

LANIER (L.), JOLY (P.), BONDOUX (P.), BELLEMÈRE (A.). — Mycologie et pathologie forestières. — Paris : Masson, 1976-1978.

Tome I : Mycologie forestière, 1978, 487 p.

Tome II : Pathologie forestière, 1976, 478 p.

PEACE (T.R.). — Pathology of trees and shrubs. — Oxford : Clarendon Press, 1962. — 753 p.

SINCLAIR (W.A.), LYON (H.H.), JOHNSON (W.T.). — Diseases of trees and shrubs. — Cornell University Press, 1987. — 574 p.

● Pour aller plus loin

Techniques mycologiques :

BLANCHARD (R.O.), TATTAR (T.A.). — Field and laboratory guide to tree pathology. — New-York : Academic Press, 1981. — 285 p.

Monographies :

ARX (J.A. von). — The genera of fungi sporulating in pure culture. — Cramer Lehre, 1970. — 288 p. (3^e édition en 1981).

DENNIS (R.W.G.). — British ascomycetes. — Cramer Lehre, 1968. — 455 p. (3^e édition en 1978).

SUTTON (B.C.). — The Coelomycetes. — Kew : CMI, 1980. — 696 p.

VIENNOT-BOURGIN (G.). — Mildious, oïdiums, caries, charbons, rouilles des plantes de France. — Paris : Lechevalier, 1956. — 296 p.

● Les mycothèques

Centraalbureau voor schimmelcultures. P.O. Box 273, 3740 AG BAARN (Pays-Bas). Dernier catalogue : 31^e édition en 1987.

Culture collection of the Commonwealth Mycological Institute. Ferry Lane - Kew - Surrey TW9 3 AF Angleterre. Dernier catalogue : 8^e édition en 1982.
