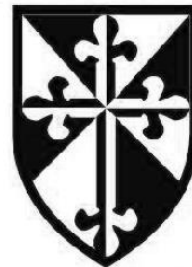




Année de la Biologie Projet scientifique

INSTITUT
SAINT-DOMINIQUE



MORTEFONTAINE
depuis 1947

La Chalarose du frêne, une menace pour la biodiversité

FAUCONNIER Roman, HADJ NACEUR Arezki, HOFFMANN Benjamin, JOFFRIN Lylou, KOSTECKI Melvin, MAGENDIE Florian,
MARMASSE Solveig, NOIRET Louise, ROCCA Timothée, SIMAR Emrick, VILLENFIN Lauriane, YEREMIAN NADIM Margo

Problématique :

En quoi l'étude des frênes sains ou résistants peut-elle sauver la population des frênes ?

A Saint Dominique, nous avons la chance de posséder un grand parc rempli d'arbres, et c'est pourquoi, quand le projet scientifique nous a été proposé, nous avons pensé à profiter de ce cadre pour y mener des recherches.

Une entreprise venue étudier les arbres du parc nous a alerté d'un dépérissement de nos frênes. Nous nous sommes renseignés et avons appris que ces arbres étaient atteints d'une maladie appelée Chalarose.

Nous avons alors décidé d'en faire un sujet de recherche, pour tenter de sauver nos arbres.

Nos professeures en charge du projet, Mme Prévost et Mme Zouari, nous ont fourni le rapport effectué par l'ESF (une entreprise qui a étudié tous les arbres de notre parc) qui nous a fourni des informations précieuses.



Nous nous sommes alors demandés quelles étaient les initiatives mises en place pour lutter contre la Chalarose, et quels étaient les effets de cette maladie que nous pouvions observer autour de nous.

Nous allons d'abord parler de nos recherches sur la Chalarose puis dans un second temps des études sur le terrain, à Saint Dominique mais aussi dans d'autres endroits, que les recherches nous ont permises de faire.



Contacts et collaborations

Afin de mener à bien notre projet, nous avons contacté différentes personnes afin qu'elles nous guident et répondent à nos questions.

Nous sommes d'abord entrés en contact avec Mr Stéphane Brault, technicien à l'Office National des Forêts (ONF), pour obtenir des réponses à certaines de nos questions par une personne de terrain. Ses réponses ont été une parfaite entrée en matière.



Institut National de recherche
Agronomique et environnementale

Ensuite M Arnaud Dowkiw, docteur en agronomie, chargé de recherche à l'INRAE - l'UR AGPF de Val-de-Loire (site sur Orléans) et travaillant sur la génétique de la résistance du Frêne à un parasite fongique, la chalarose du frêne. Il a été notre contact principal, nous a fait part de ses avancées et nous a invité à visiter le site expérimental d'une plantation de frênes, Beauthiel Saints en Seine-et-Marne, appartenant à M. Rémi Foucher qui, en plus de son métier de cardiologue, est impliqué dans plusieurs projets scientifiques concernant la forêt.

Nous avons également contacté Mr Fernando Santos, gestionnaire de parcelles de forêt dans le domaine de Cossé Brissac, nous a permis d'étudier deux de leurs parcelles afin d'observer des frênes et d'augmenter la taille de notre échantillon.

Enfin, Mr Benoit Cano du Centre national de la propriété forestière (CNPf)-haut de France nous a donné quelques conseils pour l'étude des arbres, c'est à dire identifier chez eux la présence de la chalarose.



I. Quelques informations sur le frêne et la Chalarose

Nous avons trouvé les informations dont nous avons besoin par une recherche numérique.

Ces informations ont ensuite été confirmées par MM. Brault et Dowkiw. Le frêne est un arbre feuillu faisant partie de la famille des Oléacées et vivant en grande partie dans les forêts tempérées d'Asie, d'Europe et d'Amérique du Nord. Il existe environ 40 espèces dans le monde dont 3 sont présentes en Europe : le frêne élevé ou frêne commun (*Fraxinus excelsior*), le frêne à feuilles étroites (*Fraxinus angustifolia*) et le frêne à fleurs (*Fraxinus ornus*).

Chalara Fraxinea est le nom donné à la forme asexuée du champignon, et Hymenoscyphus fraxineus est le nom donné à la forme sexuée depuis 2013. C'est une espèce de champignons pathogènes qui provoque une maladie fongique (terme général utilisé pour décrire les conditions médicales qui se produisent lorsque certains types de champignons infectent un hôte vivant.) que l'on appelle la chalarose ou "maladie du flétrissement du frêne".

Ce champignon touche les feuilles et les pousses des arbres, c'est donc au printemps au moment de la pousse que l'arbre est infecté avec des dégâts visibles début juillet.

Le pathogène, *Hymenoscyphus fraxineus*, champignon ascomycète, se transmet par voie aérienne. Les spores sont dispersées de mai à septembre, se déposent sur feuilles et les branches. Les arbres montrent peu de symptômes. Ils sont affectés au niveau des feuilles mais le champignon ne passe pas dans les rameaux et ne provoque pas forcément de dépérissement. La transmission se fait également directement par dépôt de spores au niveau du collet, souvent la cause de la mortalité des arbres.



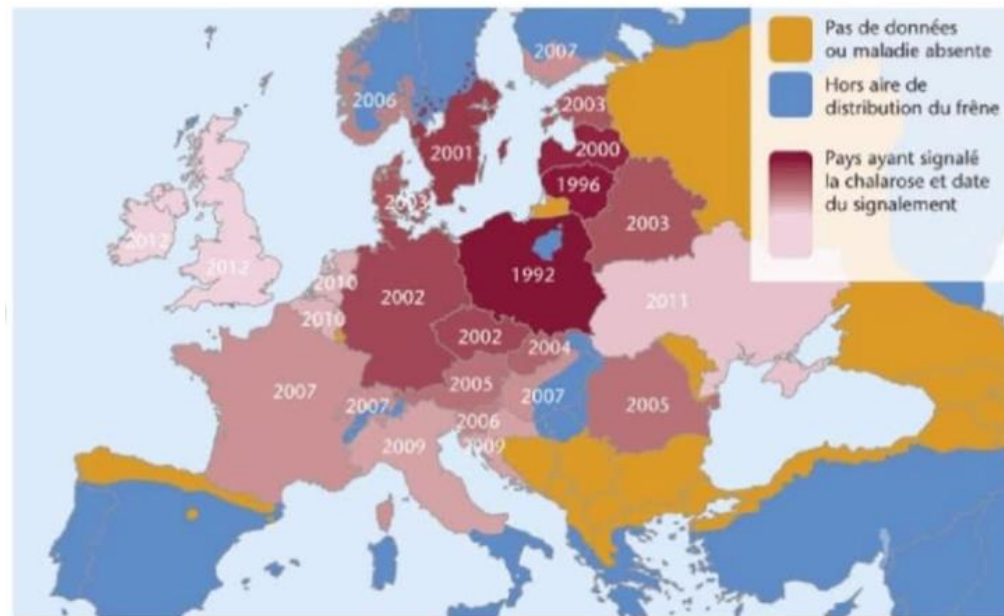
Frêne commun sain



Frêne commun atteint

1. Quelques informations sur le frêne et la Chalarose

Ce champignon est à l'origine un décomposeur du bois mort sur les frênes asiatiques. Il a migré dans le monde probablement à cause des humains et est devenu mortel pour le frêne commun qui ne connaissait pas cet agresseur dans son patrimoine génétique et immunitaire. Il est apparu pour la première fois en Europe en Pologne en 1992 et a été observé pour la première fois en Haute-Saône en 2007. Sa progression en France est d'environ 70 km par an dans le Nord et 50 km dans le Sud. Dans l'Oise et dans toute la zone infectée ce sont 98% des frênes qui sont touchés, l'Oise étant un environnement humide propice à la propagation du champignon.



Carte de répartition de l'apparition de la Chalarose en Europe:

Cette récolte a pour objectif de sécuriser les forêts pour retirer les arbres contaminés, afin de vendre du bois pour obtenir quelques revenus pour reboiser, mais aussi pour diminuer la quantité de frênes et réduire la possibilité de reproduction du champignon.

Actuellement, il est impossible d'endiguer la propagation de Chalarose car pratiquement tous les frênes d'Europe sont infectés. Les pistes vont vers le suivi et la reproduction des 2% de résistants et des hybridations avec d'autres frênes comme le frêne de Mandchourie, originaire de Chine et insensible à la maladie.

Matériels et Méthodes

Matériels :

- 1) Arbres du parc de saint Dominique de Mortefontaine, 11 frênes , *Fraxinus Exelsior*
- 2) Arbres du domaine de Cossé Brissac (plantations des écuries de Mortefontaine) *Fraxinus Exelsior*
- 3) Arbres de la plantation expérimentale du Dr Foucher à Beauthel-Saints (77), *Fraxinus Exelsior*, *Fraxinus Ornus*.
- 4) Champignon *hyménocyphus Fraxineus* ou *chalara fraxinea*.

Méthode :

Observations : - La forme des bourgeons (elle nous permet de reconnaître les frênes)

- De l'arbre (taille du houppier, nombre de branches et de feuilles, présence de gourmands, des cicatrices faites par le champignon (pas de travail sur les feuilles à cause de la saison, nécroses au niveau du collet, tronc déséquilibré)
- l'environnement (présence ou non de sous bois, d'autres essences ou monoculture), dentifier l'âge, ...

Mesures :

- Circonférence
- - Hauteur
- - Test du marteau

Culture des champignons :

Rachis inoculés par des mycélium du champignon ramassés par le Dr Dowkiw et les élèves

Maintien d'un milieu humide à une température de 17 °C à l'abri de la lumière.

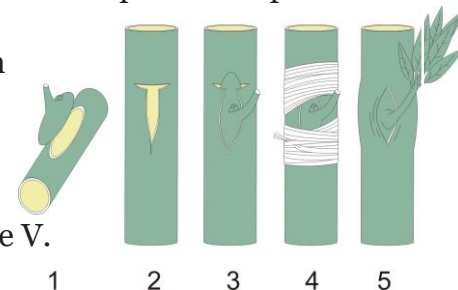
Grefe en écusson

- Le greffon est prélevé le jour du greffage. Il est constitué d'un bourgeon de l'année bien développé.
- Faire une entaille en forme de T sur le porte greffe puis à y insérer u greffon.
- Une fois l'œil inséré dans l'entaille, il doit être précisément placé afin que la sève puisse circuler entre les deux éléments
- Ensuite, ligaturer, en commençant par le haut, avec un ruban
- à greffe en laissant juste dépasser l'œil et son pétiole.

Grefe par incrustation (en fente) :

C'est une technique De greffage dite « à rameau détaché » :

- Le porte greffe et le greffon sont tous deux entaillés en forme de V.
- un rameau, ou greffon, est mis en contact avec un porte greffe



II. Nos observations des arbres du parc de saint Dominique

Le parc de Saint Dominique, mesurant 12 hectares et abritant 256 arbres, nous a incité à étudier ses arbres, et plus précisément les frênes touchés par la maladie de la chalarose. Nous avons commencé par essayer de détecter la maladie sur chacun des arbres, en étudiant la taille du houppier, le collet et la présence de gourmands. Nous avons aussi observé les cicatrices, les nécroses dues au champignon surtout au niveau du collet. La présence de sous-bois autour de l'arbre favorise aussi la présence du champignon et la présence d'autres essences limite la contamination ou au moins la progression du champignon.



Identifier les arbres malades:



Les nécroses au collet, souvent en forme de triangle comme ici, sont un des principaux facteurs de dégradation de l'état sanitaire des arbres touchés.



Nous avons ensuite observé le houppier, pour regarder si des rameaux sont morts ou si le feuillage se flétrit, mais en période hivernale ce n'est pas possible. Cependant M. Fernando Santos nous a montré que le frêne était en mauvaise santé si son houppier était déséquilibré, comme ici.



Les jeunes branches peuvent prendre une couleur beige-orangé. Peu observables à Saint-Dominique elles sont très hautes,

Quelques exemples de frênes du parc de l'institut Saint-Dominique Mortefontaine

L'arbre n°187

Coupé peu après nos observations car en très mauvais état

Circonférence : 190 cm

Aspect du houppier : équilibré

Etat sanitaire : mauvais (rapport de l'ESP)

Observations : nombreuses branches mortes, nombreux gourmands verticaux, indice de la chalarose (traces de nécroses)

Isolé mais quand même touché



L'Arbre n°220

Circonférence : 160 cm

Aspect du houppier : déséquilibré

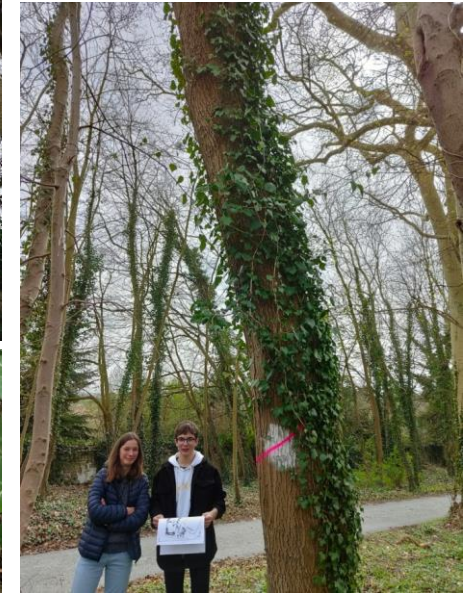
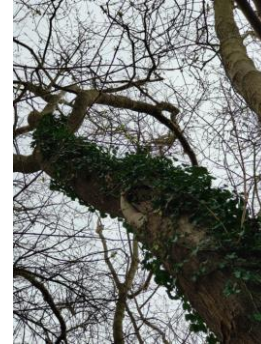
Observations : légères plaies sur le tronc, plaies
ouvertes à 6m, l'arbre penche sur le chemin

Rapport de l'ESP:

État sanitaire : mauvais

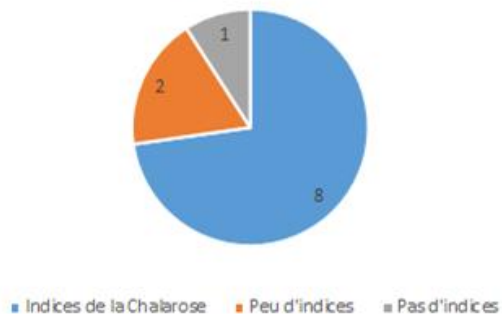
Durée de survie : 5 ans

Intervention à réaliser : coupe totale de l'arbre



Nous avons ensuite rassemblé toutes les données dans un tableau. On peut voir que le plupart des frênes de notre parc sont atteints à différents degrés de gravité. La plupart ne survivront pas plus de 5 ans.

Proportion des frênes du parc atteints par la Chalarose



Arbre	Aspect houppier	Cicatrices	Indice de la chalarose
187	Equilibré Plusieurs branches sont mortes	Aucune	Oui
89	Equilibré	Aucune	Moyen
110 en ilot	Equilibré Plusieurs branches sont mortes	Aucune	
103	Equilibré	sur quelques branches	Oui, sur quelques branches
121 bouquet (4)	Déséquilibré, penché	Aucune	Oui
129	Equilibré	sur quelques branches	Oui, au niveau du houppier
175 Ilot	Déséquilibré	Aucune	Oui
194 bis	Equilibré	Aucune	Oui
197	Equilibré, Cime morte qui se fissure	Nombreuses plaies anciennes sur tronc	Oui
217 bis	Equilibré	Forme de flamme sur le collet	Oui
220	Déséquilibré	Légère plaie sur le tronc Deuxième plaie ouverte à 6 m	Oui

Tableau de résultats d'observation des frênes du parc de l'Institut Saint-Dominique de Mortefontaine

Nous avons ensuite rassemblé dans un deuxième tableau les recommandations de l'ESF :

	Etat sanitaire	Survie	Interventions à réaliser
187	Mauvais	5 ans	A couper
89	Bon, signe moyen de Chalarose	5 ans	A surveiller
110 en îlot	Bon à moyen	30 ans	Eclaircir les baliveaux et tailler les fruitiers
103	Moyen	5 ans	A surveiller
121	Mauvais	5 ans	A couper
129	Se dégrade	5 ans	A couper
175 (îlot)	Mauvais	inconnue	A couper
194 bis	Mauvais	5 ans	A couper
196	Mauvais	5 ans	A couper
217 bis	Mauvais	5 ans	A couper
220	Mauvais	5 ans	A couper

Tableau de caractéristiques et recommandations pour les frênes du parc de l'Institut Saint-Dominique de Mortefontaine

III. Nos observations des arbres des plantations de Cossé Brissac

Nous avons également visité le domaine des Cossé Brissac, une famille qui possède une plantation non loin de notre école, afin d'élargir le nombre d'arbres étudiés.

Nous avons tout d'abord visité une parcelle d'arbres jeunes, âgés de 20 ans, en monoculture sur un terrain agricole. Nous avons constaté que la plupart des arbres de la plantation étaient morts. Ensuite, nous avons vu une deuxième parcelle plus ancienne, diversifiée, avec plusieurs essences d'arbres. Les frênes étaient pour la plupart malades mais encore vivants. Nous y avons trouvé un frêne assez vieux. Il était vigoureux et en bonne santé alors qu'autour de lui les frênes présentaient des cicatrices et des signes de la chalarose.

On en a donc conclu que soit qu'il n'avait pas été contaminé par le champignon, soit qu'il était résistant à la maladie, et donc très intéressant. Nous avons compris grâce à nos observations que l'âge influe sur la résistance de l'arbre, et que la Chalarose se transmet moins vite dans un environnement composé de plusieurs essences sur la parcelle.

Ces hypothèses ont été ensuite confirmées par M. Dowkiw.



De plus, il était intéressant d'entendre le point de vue d'une personne de terrain. Il nous a appris à reconnaître quelques espèces d'arbres car nous avions du mal. Il nous a également aidé à reconnaître les symptômes de la maladie.

Enfin, cette visite était intéressante car Fernando Santos nous a présenté l'utilisation qu'il faisait des arbres (bois de chauffages, planches,...) en fonction de la qualité du bois, en mettant en avant les conséquences économiques de la propagation d'une maladie comme celle que nous étudions.

Cette photo montre la plantation contenant uniquement des frênes. L'endroit est fantomatique. Ils n'ont pas pu résister car ils étaient jeunes. De plus, ils étaient tous les uns à côté des autres. Cette monoculture a sûrement permis une propagation plus rapide de la maladie.



Ce frêne était dans la parcelle plus diversifiée. On a pu voir un arbre résistant ne présentant aucun symptôme de la maladie.

IV. Nos observations des arbres de Beautheil-Saint

La présentation de M. Dowkiw

La sortie à Beautheil-Saint était très attendue car nous allions enfin rencontrer M. Dowkiw, un spécialiste des frênes, et voir les expériences mises en place par l'INRAE afin de sauver cette essence.

Le matin, nous avons assisté à la présentation de M. Dowkiw. Nous avons appris comment reconnaître les différents genres de frênes (les mâles, les femelles et les hermaphrodites) et les trois espèces de frênes présentes en France ainsi que leurs caractéristiques. On retrouve le frêne à fleur, qui est résistant à la chalarose et qui se reproduit grâce aux insectes, le frêne commun qui est sensible à la chalarose, qui jaunit en automne et qui a un usage forestier, ainsi que le frêne oxyphylle qui est lui aussi sensible à la chalarose, qui a moins d'intérêt forestier et qui rougit en automne. De plus, les frênes peuvent parfois se croiser et créer des frênes « hybrides » qui sont plus difficiles à reconnaître. On en trouve par exemple en Val de Loire. **Nous avons donc pu étudier les frênes de Saint-Dominique et en conclure que ce sont des frênes communs, *Fraxinus Excelsior*.** M. Dowkiw nous a aussi expliqué que ce n'est qu'en 2006 que les scientifiques ont découvert que la chalarose était une forme sexuée d'un champignon qui existait déjà et qui n'était à l'origine pas pathogène, mais qu'on ne savait toujours pas comment cette maladie était arrivé en Europe.



Frêne commun



Frêne oxyphylle



Frêne à fleurs

Dans un deuxième temps, M. Dowkiw nous a expliqué les mesures mises en place par l'INRAE afin de lutter contre la Chalarose. Nous avons beaucoup appris sur leurs méthodes, à savoir l'identification de gènes de résistance, la sélection, l'hybridation, le clonage, le bouturage, la greffe.

Initialement, les scientifiques voulaient reproduire les frênes résistants à la Chalarose entre eux, puis vendre ces échantillons résistants aux forestiers.



Nous avons également présenté notre travail aux scientifiques qui nous avaient accueillis.

Néanmoins, ils se sont rendus compte que seulement 40% des gènes de résistance sont transmis aux descendants., les générations étant très longues et la progression de la chalarose très rapide, ils ont abandonné axe de recherche. La reproduction n'étant pas un moyen efficace pour lutter contre cette maladie, l'INRAE s'est donc tournée vers le clonage des arbres résistants.

Néanmoins bouturer le frêne (planter une de ses branches) est très difficile, bien plus que de bouturer une vigne par exemple. M. Dowkiw et ses collègues se sont tournés vers la greffe, seule autre solution, afin de cloner les arbres résistants



La visite de la plantation

Dans la forêt, Mr Foucher nous a parlé de ses différents projets forestiers.

Pour cela, un membre de la LPO (lutte pour la protection des oiseaux) nous a parlé de projets mis en place pour favoriser la biodiversité, comme une mare ou des nichoirs à mésange... Il nous a aussi mis au défi de compter le nombre d'espèces d'oiseaux qu'on entendait. Seulement un élève a réussi à trouver le bon nombre.

Mr. Dowkiw et MrFoucher nous ont aussi appris à reconnaître certains arbres comme le hêtre, le charme et le peuplier. Nous avons repéré des frênes atteints à différents stades de la Chalarose (houpplier déséquilibré, nécroses...)



M. Dowkiw nous a également expliqué que les frênes sont plus vulnérables à d'autres parasites lorsqu'ils sont touchés par la Chalarose.

En effet, nous avons trouvé un frêne presque entièrement dépourvu d'écorce car il avait été envahi par des scolytes qui normalement se développent chez les épicéas et qui ont détruit pratiquement toute l'écorce. On a pu le reconnaître grâce aux travées bien visibles qu'il laisse dans le bois en se reproduisant.

En retirant un peu d'écorce, nous avons même pu trouver un scolyte.



Une travée



Un scolyte



Les recherches menées par l'INRAE dans la plantation de M. Foucher ont pour but de sélectionner des frênes résistants afin qu'ils remplacent dans le futur les frênes non résistants. 50 frênes du domaine apparaissant comme résistants ont été choisis pour que leurs branches soit pour chacun greffées sur une dizaine de jeunes troncs d'arbre d'une espèce différente. Ainsi 10 groupes contenant chacun les greffes de tous les frênes de départ ont été formés, pour être comparés.

L'objectif est de voir s'ils sont résistants ou non en les laissant pousser afin d'être sûr que ce n'est pas leur âge qui donnait l'impression de n'être pas atteints.

Quand nous avons visité le site, les arbres avaient été plantés depuis un an et demi, et un grand nombre d'entre eux étaient effectivement malades. Nous avons estimé le nombre de frênes saints à moins de 30% alors même qu'ils avaient été choisis parmi des arbres semblant résistants...

Malheureusement, la plupart des frênes ont été sabotés car le lieu n'avait pas été tenu secret. En effet, certaines personnes de la région voient d'un mauvais œil les expérimentations sur les végétaux.



Les 500 pousses de frênes plantées par l'INRAE

Clonage des résistants par greffe

Le bouturage et le greffage sont deux formes de multiplication végétative des plantes. La différenciation et la totipotence sont les bases de cette multiplication. La bouture est réalisée sur un substrat minéral alors que la greffe est effectuée sur un substrat organique, un végétal dont le système racinaire est déjà développé.



Cet arbre est un exemple de ceux ayant résisté à la chalarose, le tronc et les bourgeons sont parfaitement clair et sain.



Cet arbre n'est pas résistant à la chalarose car nous observons que le bas du tronc est vert, donc sain mais que le haut est rose/orangé, ce qui signifie que les branches sont mortes à cause de la chalarose.



Cet arbre est un exemple ayant résisté à la chalarose, le tronc est parfaitement clair et sain. Nous voyons aussi très clairement les traces de sabotage.

V. Culture du champignon

M. Dowkiw nous a ensuite parlé des pétiotes que nous avons ensuite ramassées. Les pétiotes (des restes feuilles décomposées) de frênes sont naturellement inoculés par des mycélium du champignon.

De retour à Saint Dominique, nous avons disposé les pétiotes dans des bacs à dissection. Nous avons maintenu dans un milieu humide à une température de 17 °C à l'abri de la lumière.



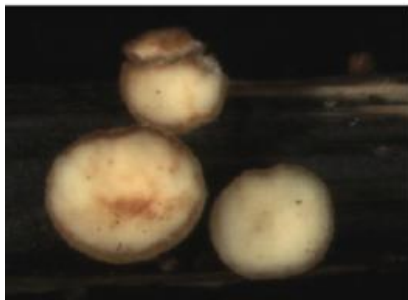
Ramassage de pétiotes à Beautheil-Saint



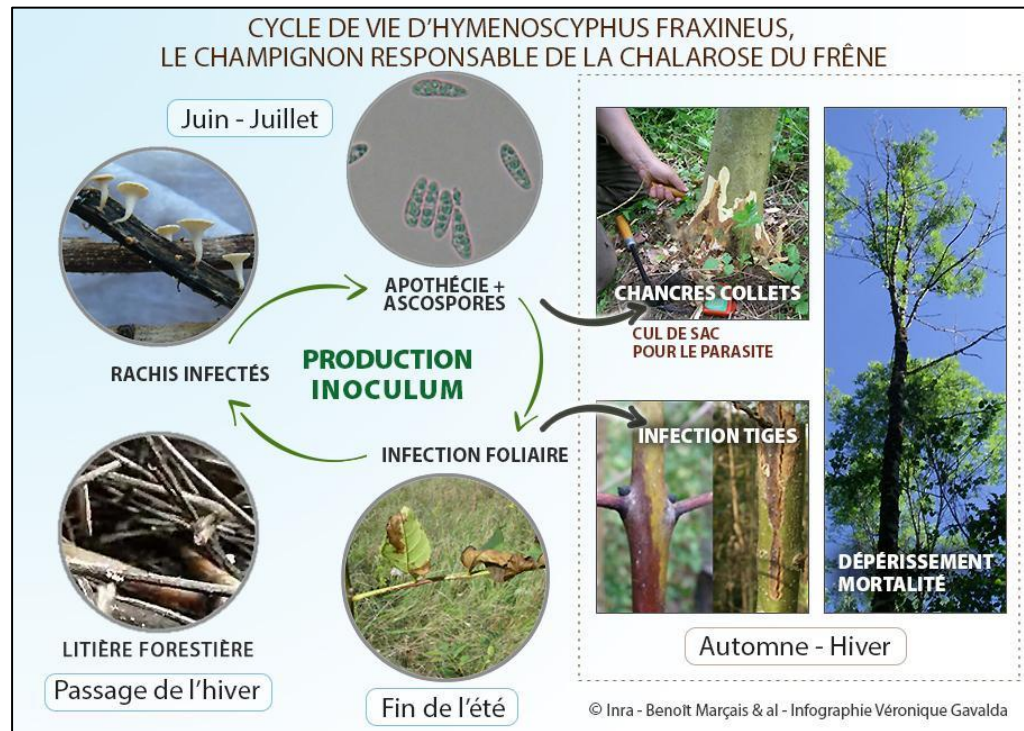
Ce que l'on devrait observer d'ici un mois sur nos pétiotes de frênes

Etant donné que le parasite était déjà sur notre site, nous avons pu commencer une culture du champignon afin d'observer son cycle. La culture est en cours. Le cycle étant assez long, nous n'avons pas encore obtenu de fructifications visibles.

Nous espérons observer des fructifications.
Ainsi nous pourrions prélever des apothécies et observer les ascospores au microscope optique.



Fructification d'*Hymenoscyphus fraxineus* sur des rachis tombé dans la litière



Conclusion

Bien que notre travail ne soit pas tout à fait terminé, nous avons pu observer les ravages provoqués par cette épidémie. En effet, presque tous les arbres du parc, de la plantation des Cossé Brissac ainsi que ceux de de la plantation de M. Foucher sont contaminés et pour certains l'infection est assez avancée. Lors de notre recherche de frênes résistants nous avons constaté que ces individus étaient très rares. Nous pensons en avoir identifié un seul. Notre travail d'identification d'expérimentation se poursuivra lorsque les arbres auront fleuri.

Les scientifiques essayent différentes méthodes pour sauver le frêne. La piste privilégiée est le clonage des individus résistants. La méthode censée être la plus efficace est le bouturage mais les difficultés rencontrées les a dirigés vers le greffage.

Il est vivement recommandé de préserver les frênes peu dépérissants qui constituent très certainement un réservoir d'individus tolérants qui assureront une nouvelle génération de frênes plus résistants à la maladie (immunité du végétal)

Ce travail nous a permis de prendre conscience du danger qui pèse sur les frênes autour de nous à cause d'un seul parasite, la Chalarose, et de la potentielle disparition d'une espèce végétale, influant sur la biodiversité.

Nous nous sommes également rendu compte que les frênes ne sont pas les seuls arbres à être touchés par les maladies. En effet, dans notre région, on peut voir que la plupart des marronniers sont en train de mourir. Dans le parc de Saint Dominique plusieurs marronniers ont été coupés ainsi que des chênes, des platanes et des érables. Il en est de même dans toutes les forêts de la France.

Ce dépérissement est dû à des espèces invasives qui ont été importées comme l'oïdium, un champignon parasite du chêne et la pyrale du buis, une chenille qui décime le buis.

Ainsi, on pourrait penser que le problème vient du comportement humain souvent lié aux échanges commerciaux.

L'importation de végétaux présente donc un très gros risque pour la flore, et c'est pourquoi, il existe de nombreuses réglementations. Mais malgré cela, de nombreuses espèces invasives parviennent quand même en France.



Bibliographie

- Le frêne : Face à la Chalarose, B. Cano, G. Cousseau, A. Dowkiw, C. Husson, B. Marçais et F-X. Saintonge
- L'émergence de la chalarose en France. Claude Husson - Revue forestière française, AgroParisTech. LXX - 6-2018. 613 – 620

Sitographie

- FRAXINUS - Les frênes, la chalarose et l'INRA Val de Loire : www.fraxinus.fr
- DRAAF (direction générale de l'alimentation, de l'agriculture et de la forêt) : www.draaf.grand-est.agriculture.gouv.fr/https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01760779/document
- Clématite.net : <https://www.clematite.net/arbres/99997792-frene-blanc-autumn-purple-3565421181396.html>
- Plantes-risque. Info : <https://plantes-risque.info/plantes/frene-a-fleurs/>
- Chalfrax : <https://chalfrax.cnpf.fr/>
- INRAE : <http://ephytia.inra.fr/fr>