



**HAL**  
open science

## La rouille du peuplier : un pathosystème modèle

Pascal Frey, Jean Pinon

► **To cite this version:**

Pascal Frey, Jean Pinon. La rouille du peuplier : un pathosystème modèle. Biofutur, 2004, 247, pp.28-32. hal-02681634

**HAL Id: hal-02681634**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02681634>**

Submitted on 31 May 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.

# La rouille du peuplier : un pathosystème modèle

*La rouille du peuplier, principalement causée par le champignon pathogène *Melampsora larici-populina*, est aujourd'hui la maladie la plus préoccupante pour la populiculture européenne. Avec sa capacité à contourner rapidement les gènes de résistance mis sur le marché, ce champignon oblige les améliorateurs à explorer de nouvelles stratégies de sélection pour tenter d'obtenir une résistance durable.*

\* Inra Centre de Nancy, Pathologie Forestière, 54280 Champenoux, frey@nancy.inra.fr, pinon@nancy.inra.fr

Pascal Frey\* et Jean Pinon\*

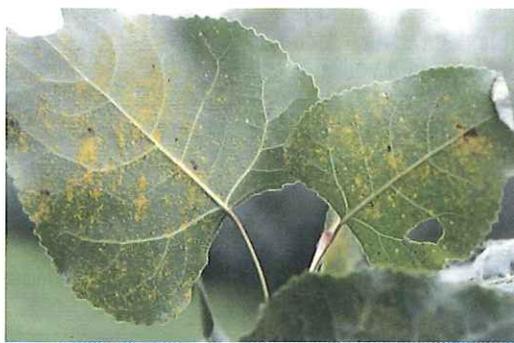
(1) J.E. Eckenwalder (1996) *Systematics and evolution of Populus*. In RF Stettler, HD Bradshaw Jr, PE Heilman, and TM Hinckley (eds). *Biology of Populus and its implications for management and conservation*. NRC Research Press, Ottawa, ON, Canada, p. 7-32.

(2) R.F. Stettler, L. Zsuffa R. Wu (1996) *The role of hybridization in the genetic manipulation of Populus*. In RF Stettler, HD Bradshaw Jr, PE Heilman and TM Hinckley (eds). *Biology of Populus and its implications for management and conservation*. NRC Research Press, Ottawa, ON, Canada, p. 87-112.

(3) J. Pinon et al. (2001) *La Forêt Privée* 258, 25-32

La famille des Salicacées comprend les genres *Populus* (peupliers et trembles) et *Salix* (saules). Le genre *Populus* se divise en six sections (ensembles d'espèces ayant des caractéristiques morphologiques et écologiques proches) et en 29 espèces (1). Les peupliers sont des espèces essentiellement pionnières, héliophiles et thermophiles, appréciant les sols bien alimentés en eau, et pouvant s'adapter à des climats et des sols divers. Le peuplier est un arbre à croissance très rapide, mais à courte durée de vie. Du fait de sa dioïcité (individus mâles et femelles séparés), le peuplier a la faculté de s'hybrider facilement au niveau interspécifique, voire même intersectionnel dans certains cas. Cette propriété peut lui permettre de bénéficier de l'effet de vigueur hybride (hétérosis), qui autorise la sélection d'hybrides à forte croissance et à forte productivité (2). Enfin, la propagation des peupliers se fait essentiellement par multiplication végétative ce qui permet la plantation et la commercialisation de variétés clonales.

En France, le peuplier est la deuxième essence feuillue productrice de grumes après les chênes (voir l'article de A. Berthelot et al. p. 20). Les peupleraies françaises sont conduites en futaies monoclonales régulières, à courte révolution (15 à 20 ans), ce qui en fait l'un des



Feuilles de peuplier euraméricain infectées par la rouille

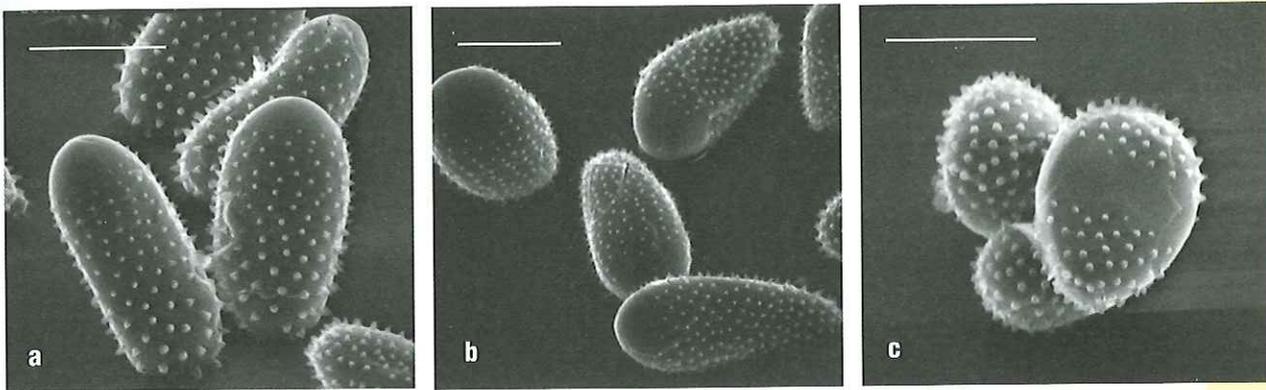
écosystèmes forestiers les plus simplifiés. Elles sont constituées essentiellement d'hybrides interaméricains (*P. trichocarpa* x *P. deltoides*) et euraméricains

(*P. deltoides* x *P. nigra*). La peupleraie française présente une faible diversité, malgré les 130 cultivars inscrits aux catalogues des pays de l'Union européenne, ce qui la rend très sensible aux agresseurs biotiques. Parmi les

agents pathogènes, on trouve des bactéries, telles que *Xanthomonas populi*, agent du chancre bactérien, et des champignons tels que *Marssonina brunnea*, qui cause la brunissure des feuilles et *Melampsora larici-populina*, responsable de la rouille foliaire. Cette dernière est la maladie fongique la plus répandue actuellement en Europe et occasionnant le plus de dégâts sur les peupliers cultivés. La tolérance à ces principales maladies constitue donc un critère de sélection important dans les programmes d'amélioration (3).

## Les symptômes et les dégâts

La rouille foliaire du peuplier est un symptôme provoqué par plusieurs espèces fongiques appartenant au genre *Melampsora*. Le nom de la maladie vient de la couleur orangée que prend le feuillage



© D. LE THIEC, INRA NANCY

**Figure 1** Urédospores de trois espèces de *Melampsora* observées au microscope électronique à balayage

(barre = 10 µm) :

**a**, *M. larici-populina* ;

**b**, *M. allii-populina* ;

**c**, *M. medusae*.

lors d'une infection forte par le champignon. En effet, le parasite produit des pustules orangées, les urédies, sur la face inférieure des feuilles de peuplier (photo). Ces urédies produisent des spores, les urédospores, qui peuvent disséminer la maladie sur des distances parfois considérables. Les feuilles infectées voient leur activité photosynthétique nettement réduite. La succession de cycles de multiplication asexuée pendant l'été provoque une défeuillaison partielle ou totale de l'arbre, qui perturbe fortement la mise en réserve de substances carbonées et azotées qui a lieu normalement à l'automne. Des épidémies répétées de rouille peuvent conduire à des pertes de croissance en circonférence pouvant atteindre 60 % (4). Ces attaques répétées provoquent également un affaiblissement général des arbres, qui sont ensuite la proie d'autres parasites, dits secondaires, tels que le champignon *Discosporium populeum*, qui peuvent ensuite causer la mort des arbres.

### Plusieurs espèces de *Melampsora*

Les *Melampsora* spp. appartiennent à la classe des Hémibasidiomycètes et à l'ordre des Urédinales. Trois espèces sévissent sur les peupliers hybrides cultivés en Europe : *Melampsora larici-populina* et *M. allii-populina*, toutes deux d'origine eurasiatique, et *M. medusae* d'origine nord-américaine. Seules les deux dernières espèces causent des dégâts importants sur les peupliers cultivés en France. En outre, il existe cinq autres espèces de *Melampsora* qui infectent les peupliers blancs et trembles. Ces peupliers étant très peu cultivés en Europe, l'incidence économique de la rouille est négligeable.

Les *Melampsora* des peupliers présentent un cycle biologique complexe qui fait intervenir une deuxième plante-hôte pour leur reproduction sexuée (voir encadré p.30). Au stade urédien sur le peuplier, les trois espèces de *Melampsora* des peupliers cultivés se distinguent aisément sur la base de critères morphologiques observables au microscope photonique ou électronique : les mensurations, la forme, ainsi que la position des échinulations (sortes de piquants à la surface des urédospores) sont caractéristiques de chaque espèce (figure 1 a, b, c).

Nous avons développé une méthode de diagnostic moléculaire de ces trois espèces, basée sur la PCR à l'aide d'amorces spécifiques d'espèce. Cette méthode permet d'identifier l'espèce avec certitude à certains stades du cycle biologique du champignon pour lesquels les critères morphologiques ne sont pas discriminants, tels que les écidies et les télies (voir encadré p.30). Cette méthode permet surtout de détecter une espèce très largement minoritaire en mélange avec une autre espèce. C'est le cas notamment de l'espèce nord-américaine *M. medusae*, qui est très rare en Europe. Cette espèce étant classée comme organisme de quarantaine dans l'Union européenne, le Laboratoire National de la Protection des Végétaux (LNPV) procède chaque année à des contrôles dans toutes les pépinières produisant des plants de peuplier en France, afin de s'assurer de l'absence de *M. medusae*. Jusqu'ici, la méthode de détection officielle était basée sur des critères morphologiques des urédospores. En 2004, le LNPV a proposé le remplacement de cette méthode par la méthode moléculaire, dont la sensibilité est nettement supérieure. Il sera ainsi possible de détecter une dizaine d'urédospores de *M. medusae* en mélange dans plusieurs millions d'urédospores de *M. larici-populina*.

### Virulences et résistances

Depuis les années 70, les programmes de sélection variétale pour la résistance à la rouille foliaire, menés en Belgique, en Italie et aux Pays-Bas, ont conduit à la sélection et la diffusion en Europe de nombreux cultivars de peuplier euraméricains et interaméricains présentant des résistances complètes à *M. larici-populina*. Ce type de résistance présente en général un déterminisme monogénique et dominant, ce qui le rend *a priori* facilement contournable par un agent pathogène. En effet, après plusieurs années de culture, certaines résistances complètes se sont effondrées, rendant ces cultivars sensibles à la maladie. L'analyse des isolats de *M. larici-populina* capables de contourner ces résistances a montré qu'elles avaient acquis, vraisemblablement par mutation, une nouvelle virulence. Ainsi, au cours des 30 dernières années, huit virulences ont été découvertes (5). Chacune de ces virulences confère au champignon la capacité de contourner un gène de résistance complète sélectionné chez le peuplier. Il s'agit donc d'une interaction qualitative qui se traduit par la présence ou l'absence de la maladie, quelle que soit son intensité, pour un cultivar donné. Le cas le plus lourd de conséquences pour la populiculture française est celui du contournement du gène de résistance R7. Ce gène de résistance complète a été sélectionné à partir de *P. deltoides* indépendamment dans plusieurs types

(4) F. Gastine, A. Berthelot, A. Bouvet (2003)

*La protection phytosanitaire du cultivar «Beaupré» est-elle efficace ?*

Fiche Informations-Forêt Afocel 2-2003, fasc. n° 667, 6 p.

(5) J. Pinon, P. Frey (2004) *Interactions between poplar clones and Melampsora populations and their implications for breeding for durable resistance*. In McCracken AR, M.H.Pei (eds). *Rusts on Willow and Poplar*. CABI Publishing, Wallingford, UK (sous presse).

de croisements menés dans les différents instituts de sélection du peuplier, en particulier dans le cultivar belge «Beaupré». Ce cultivar, du fait de ses qualités exceptionnelles de croissance et de qualité du bois, a connu un succès extraordinaire dans la moitié nord de la France, représentant jusqu'à 80 % des peupliers plantés en Picardie dans les années 1990. En 1994, *M. larici-populina* a acquis la capacité de contourner le gène de résistance R7, du fait de l'apparition de la virulence 7 (6). Entre 1995 et 1999, une épidémie de rouille sans précédent, due à ces nouveaux isolats «Vir 7» du champignon, a envahi l'ensemble du territoire français (7).

Ces interactions de type qualitatif entre la rouille et le peuplier pourraient entrer dans le cadre théorique de la relation gène-pour-gène (8). Cette relation stipule qu'à chaque gène de résistance chez la plante-hôte correspond un gène d'avorulence (ou un facteur de virulence) chez l'agent pathogène (voir encadré p.32). Bien que non démontrée formellement à ce jour, en raison de la difficulté à maîtriser les croisements chez *M. larici-populina*, et en raison de la durée nécessaire pour effectuer un croisement F2 chez le peuplier, la relation gène-pour-gène est fortement suggérée dans le cas du pathosystème peuplier-rouille.

Au delà des interactions qualitatives, il existe également des interactions quantitatives entre la rouille et le peuplier. En effet, dans le cas d'une interaction compatible entre un isolat de *M. larici-populina* et un cultivar de peuplier, la quantité de maladie peut varier, en fonction de l'agressivité de l'isolat et en fonction de la résistance partielle du cultivar. La résistance partielle, contrairement à la résistance complète, n'empêche pas la maladie, mais elle en réduit l'incidence,



et elle est considérée en général comme efficace contre tous les isolats de l'agent pathogène. De plus, son déterminisme génétique est poly- ou oligogénique, donc elle est *a priori* moins facilement contournable par l'agent pathogène. Le programme français d'amélioration génétique du peuplier, réuni actuellement sous forme d'un Groupement d'Intérêt Scientifique (GIS peuplier), vise à sélectionner de nouveaux cultivars présentant une résistance durable à la rouille, c'est-à-dire un niveau élevé de résistance partielle (voir l'article de C. Bastien p. 33).

## Des populations du champignon en évolution rapide

L'étude de la composante qualitative du pouvoir pathogène de *M. larici-populina* nous a permis de mieux comprendre l'évolution de ses populations au cours du temps. En effet, chaque isolat du champignon peut présenter une ou plusieurs des huit virulences connues à ce jour. On

(6) J. Pinon (1995) *Rev. For. Fr.* 47, 230-4

(7) J. Pinon, P. Frey, C. Husson, A. Schipfer (1998) *Poplar rust (Melampsora larici-populina)* :

*the development of E4 pathotypes in France since 1994. Proceedings First IUFRO Rusts of Forest Trees Working Party Conference, 2-7 Aug. 1998, Saariselkä, Finland. Finnish Forest Research Institute, Research Papers 712, 57-64.*

(8) H.H. Flor (1971) *Annu. Rev. Phytopathol.* 9, 275-96

## Un cycle biologique complexe

Parmi les champignons, les agents de rouille (Urédinales) se distinguent par leur cycle biologique très original. La plupart des Urédinales, comme *M. larici-populina*, sont hétéroïques car leur cycle biologique nécessite la présence de deux plantes hôtes, qui appartiennent en général à des groupes taxonomiques très éloignés. Ce caractère d'hétéroïsmie a été découvert au 19<sup>e</sup> siècle dans le cas de la rouille noire du blé, puis de très nombreux cas ont été découverts chez la plupart des agents de rouille. Ainsi, *M. larici-populina* nécessite le peuplier (hôte principal ou télien) et le mélèze (hôte alternant ou écidien) pour effectuer son cycle. De plus, *M. larici-populina* est un agent de rouille macrocyclique, car produisant cinq types de spores successifs au cours de son cycle (figure 2).

La phase importante dans l'épidémiologie de la maladie est le stade urédien sur peuplier, pendant laquelle le champignon est sous forme dicaryotique ( $n + n$  chromosomes). Les urédospores germent à la surface inférieure des feuilles de peuplier, le champignon pénètre dans la feuille par les stomates et envahit le parenchyme foliaire. Après une semaine environ, des pustules orangées, les urédies, apparaissent à la face inférieure des feuilles. Les urédies produisent des quantités énormes d'urédospores (2 500 à 5 000 urédospores par urédie et par jour),

qui sont disséminées par le vent et infectent d'autres feuilles de peuplier. Si les conditions sont favorables, une dizaine de cycles de multiplication asexuée peuvent se succéder pendant l'été.

À l'automne, le champignon forme des télies contenant des téliospores ( $n + n$ ), qui apparaissent comme des croûtes noires à la face supérieure des feuilles. Le champignon hiverne dans les feuilles mortes de peuplier au sol. Au printemps, la caryogamie (fusion des deux noyaux) se produit dans les téliospores, qui émettent des basides diploïdes ( $2n$ ). Les basides subissent immédiatement une méiose et produisent des basidiospores haploïdes ( $n$ ), de polarité + ou -, qui sont disséminées à faible distance par le vent. Ces basidiospores infectent les jeunes aiguilles du mélèze et forment des fructifications : les spermogonies, de polarité + ou -. Les spermogonies produisent des spermaties haploïdes ( $n$ ), qui fécondent les spermogonies de polarité opposée : c'est la plasmogamie (fusion des deux cytoplasmes), qui aboutit à la formation d'un mycélium dicaryotique. Ce mycélium forme une fructification sur l'aiguille de mélèze, l'écidie, qui produit des écidiospores dicaryotiques ( $n + n$ ). Enfin, les écidiospores, disséminées par le vent sur des grandes distances, infectent à nouveau l'hôte télien, le peuplier.



© D.P.

appelle pathotype l'ensemble des isolats qui possèdent la même combinaison de virulences. En théorie, avec huit virulences, on peut définir  $2^8$  soit 256 pathotypes différents. À ce jour, près de 60 pathotypes ont été identifiés dans la nature. Une caractérisation des populations de *M. larici-populina* à l'aide des marqueurs phénotypiques que constituent les virulences consiste à réaliser des tests de pathotypage pour un grand nombre d'isolats récoltés dans un site donné (figure 3). Pour ce test, chaque isolat est inoculé sur des disques foliaires de la gamme différentielle de cultivars de peupliers. Cette gamme différentielle se compose de huit cultivars portant chacun un gène de résistance complète, nommés R1 à R8.

Le suivi temporel sur plus de 15 ans de l'évolution des pathotypes de *M. larici-populina* a ainsi montré que les populations évoluaient rapidement suite au déploiement de certains gènes de résistance dans la peupleraie française (5). Ainsi la fréquence des virulences nécessaires à l'infection de certains cultivars a augmenté rapidement. Malheureusement, contrairement aux productions agricoles annuelles, pour lesquelles on peut remplacer rapidement un gène de résistance par

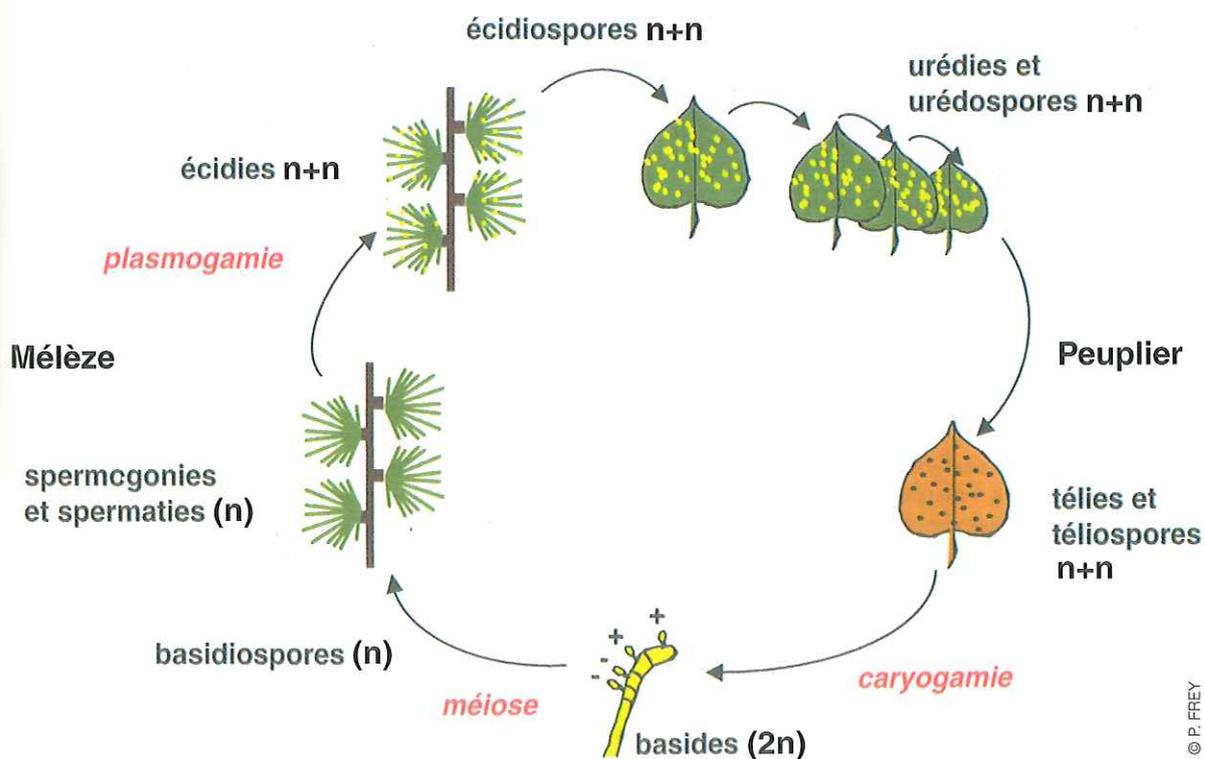
un autre, la pérennité du peuplier rend cette stratégie caduque. Ce constat renforce l'intérêt d'une stratégie d'amélioration du peuplier basée sur la résistance durable.

De plus, sous notre climat tempéré, *M. larici-populina* semble incapable de survivre sous forme d'urédospores d'une année à l'autre. Le passage par le mélèze est donc obligatoire. Or cette phase de reproduction sexuée favorise l'apparition de nouveaux pathotypes par recombinaison des virulences. Ainsi, chaque année de nouveaux pathotypes apparaissent, ce qui confère une très grande adaptabilité au champignon.

### Peupleraies cultivées et peupleraies sauvages

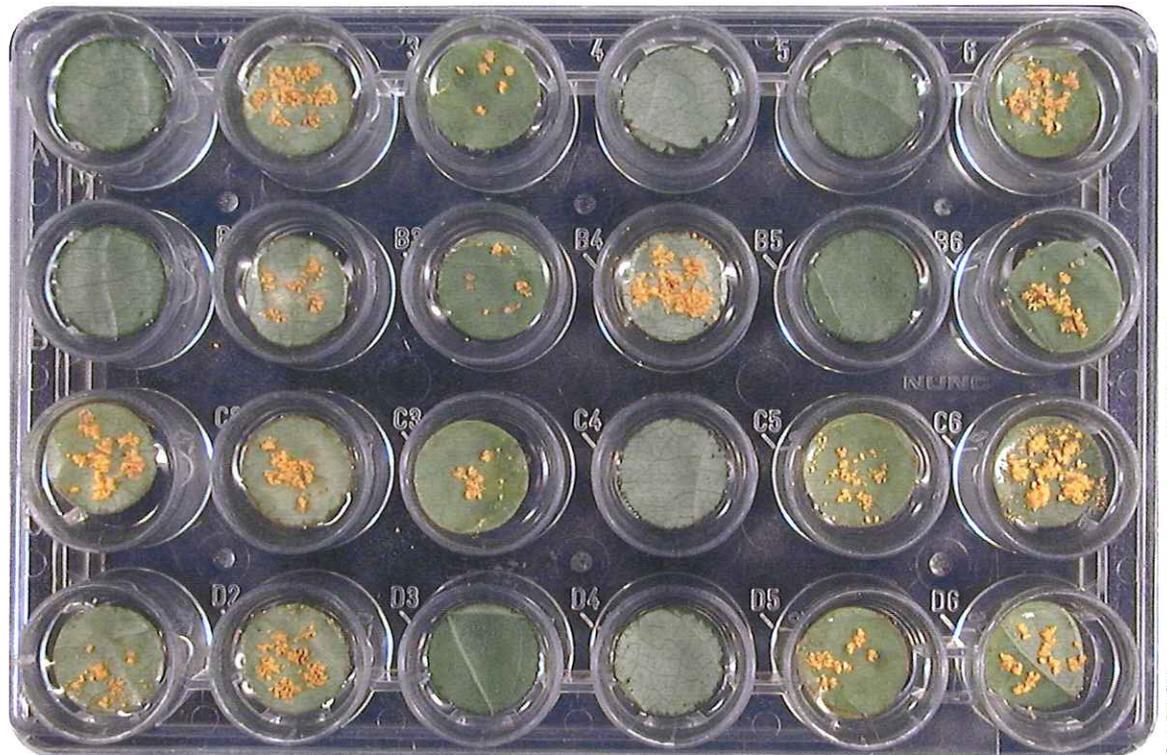
Tirant parti de la présence en France de peupleraies cultivées et de peupleraies sauvages, constituées de ripisylves (forêts alluviales) de peuplier noir (*P. nigra*), nous avons comparé des populations de *M. larici-populina* récoltées dans les deux types de peuple-

Figure 2



© P. FREY

## Clones différentiels



**Figure 3** Test de pathotypage d'isolats de *M. larici-populina* sur des disques foliaires de peuplier. En lignes, six cultivars de peupliers portant des gènes de résistance complète différents (sur les huit cultivars que comporte la gamme différentielle). En colonnes, quatre isolats de *M. larici-populina* appartenant à des pathotypes différents. La présence d'urédies (pustules orangées) sur le disque foliaire indique que l'interaction cultivars-isolat est compatible.

### La relation gène-pour-gène

La relation gène-pour-gène a été découverte dans les années 40 par le phytopathologiste américain H. H. Flor (8) dans le cadre de ses études sur la rouille du lin causée par *Melampsora lini*. Ce champignon étant autoïque, c'est-à-dire effectuant la totalité de son cycle biologique sur une seule plante hôte, le lin (*Linum usitatissimum*), les croisements s'en trouvaient facilités par rapport à un champignon hétéroïque. Flor avait noté des interactions de type résistance/virulence entre des variétés de lin et des isolats de *M. lini*. En réalisant des croisements entre les variétés de lin, Flor a montré que la résistance à la rouille était monogénique et dominante par rapport à la sensibilité. De façon similaire, en croisant des isolats de *M. lini*, il a montré que l'avirulence était monogénique et dominante par rapport à la virulence. Flor en a conclu qu'à chaque gène de résistance dominant chez la plante-hôte correspond un gène d'avirulence dominant chez le champignon. Cette relation, appelée gène-pour-gène, a ensuite été suggérée dans de nombreux pathosystèmes, avec des agents pathogènes ou des ravageurs variés (champignons, bactéries, virus, nématodes, insectes). À ce jour, elle n'a été formellement démontrée, soit par génétique classique comme dans le cas de la rouille du lin, soit par clonage des gènes de résistance et d'avirulence, que dans un nombre réduit de pathosystèmes.

En effet, *M. larici-populina* infecte ces deux types de peupleraies, mais son impact semble plus faible sur les peupliers sauvages. Nous avons montré que les populations de *M. larici-populina* récoltées dans les peupleraies cultivées avaient tendance à accumuler un grand nombre de virulences, dont certaines sont inutiles pour infecter les cultivars présents dans la plupart des régions. Au contraire, les populations récoltées dans les peupleraies sauvages présentent en général un nombre très faible de virulences (9, 10). L'étude du pathosystème sauvage constitue une source d'inspiration pour tendre vers un pathosystème cultivé plus stable.

### De nouvelles perspectives...

De nombreuses connaissances sur le pathosystème peuplier-rouille ont été accumulées ces dernières années, mais il reste beaucoup de zones d'ombre. De nouveaux marqueurs moléculaires (microsatellites) de *M. larici-populina* sont en cours de développement, afin d'aborder des questions de génétique des populations, tels que la quantification des flux entre les peupleraies cultivées et sauvages. Par ailleurs, le pathosystème peuplier-rouille a été choisi par plusieurs laboratoires comme un modèle d'étude des interactions plante-parasite (voir l'article de Francis Martin *et al.* p. 38). Enfin, faisant suite au séquençage du génome du peuplier, *M. larici-populina* a été proposé comme champignon pathogène du peuplier dont le génome complet pourrait être séquencé par le Département de l'Énergie américain. La connaissance du génome de ce champignon pathogène ouvrirait des perspectives extraordinaires pour la compréhension des mécanismes moléculaires qui régissent l'interaction avec le peuplier. Ainsi le pathosystème peuplier-rouille constitue un excellent modèle scientifique, associé à un réel enjeu économique pour une lutte dénuée d'intrants polluants. ●

(9) J. Pinon, P. Frey (1997) *Eur. J. Plant Pathol.* 103, 159-73

(10) P. Frey, P. Gérard, N. Feau, C. Husson, J. Pinon (2004) *Variability and population biology of Melampsora rusts on poplars*. In McCracken AR, Pei MH (eds). *Rusts on Willow and Poplar*. CABI Publishing, Wallingford, UK (sous presse).