




Test de l'efficacité de l'hypovirulence naturelle pour la lutte biologique contre le chancre du châtaignier en conditions réelles

Simone Prospero¹ , Janine Melanie Schwarz^{1,2} , Marin Jezic³ , Deborah Marie Leigh^{1,4,5} ,
Mirna Ćurković-Perica³ , Marilena Idžojtić⁶ , Zorana Katanic⁷ , Ljiljana Krstin⁷ , Lucija Nuskern³ ,
Ivana Pavičić³ , Igor Poljak⁶ , Kiril Sotirovski⁸ , Mihajlo Risteski⁸ , Rosemary Vukovic⁷ , Daniel Rigling¹ 

1 Institut fédéral de recherches WSL, 8903 Birmensdorf, Suisse

2 Agroscope, Paysages agricoles et biodiversité, 8046 Zurich, Suisse

3 Division de microbiologie, Département de biologie, Faculté des sciences, Université de Zagreb, 10000 Zagreb, Croatie

4 Institut d'écologie, d'évolution et de diversité, Faculté des biosciences, Université Goethe de Francfort, Max-von-Laue-Str. 9, 60438 Francfort, Allemagne

5 Institut de recherche Senckenberg, Senckenberganlage 25, 60325 Francfort, Allemagne

6 Département de génétique forestière, de dendrologie et de botanique, Faculté de foresterie et de technologie du bois, Université de Zagreb, 10000 Zagreb, Croatie

7 Département de biologie, Université JJ Strossmayer d'Osijek, 31000 Osijek, Croatie

8 Hans Em Faculté des sciences forestières, d'architecture paysagère et de génie environnemental, Université Saints Cyrille et Méthode de Skopje, 1000 Skopje,

République de Macédoine du Nord

Auteur correspondant : Simone Prospero (simone.prospiero@wsl.ch)

Abstrait

L'accroissement de la connectivité mondiale a considérablement accéléré la fréquence des invasions biologiques dans la plupart des écosystèmes terrestres, y compris les forêts. Une fois établis dans un milieu naturel, les organismes envahissants sont difficiles à éradiquer ou à contenir ; les stratégies de gestion visent donc souvent à atténuer leurs impacts. L'utilisation de pesticides chimiques en forêt étant de plus en plus interdite, la lutte biologique contre les ravageurs et les maladies a pris de l'importance en tant qu'alternative respectueuse de l'environnement. L'hypovirulence induite par un virus chez le champignon responsable du chancre du châtaignier, *Cryphonectria parasitica*, est l'un des rares exemples réussis de lutte biologique contre un pathogène forestier envahissant. Cependant, des expériences testant la stabilité de ce système in situ font encore défaut. Dans cette étude, nous avons mené une expérience de terrain dans des châtaigniers présentant une hypovirulence naturellement établie en Suisse, en Croatie et en Macédoine du Nord afin d'évaluer l'efficacité de la lutte biologique contre le châtaignier par le virus CHV1.

Le mildiou est affecté par différentes structures de population selon la compatibilité végétative (vc). Nos résultats démontrent que CHV1 est un agent de lutte biologique très efficace contre *C. parasitica*.

Des chancres d'écorce de différents types vc, induits artificiellement, ont été rapidement infectés par des souches résidentes de CHV1, ce qui a considérablement réduit la croissance et la sporulation des chancres, augmentant ainsi les chances de survie des jeunes pousses de châtaignier infectées. En conditions réelles, les barrières d'incompatibilité végétative se sont avérées beaucoup moins restrictives pour la transmission du virus que prévu in vitro. De plus, notre étude démontre que l'immigration de nouveaux génotypes fongiques dans les chancres existants est une composante intrinsèque de l'épidémiologie de *C. parasitica*, contribuant significativement à la propagation du CHV1. Ces résultats sont particulièrement encourageants pour assurer le succès de la lutte biologique contre le chancre du châtaignier en Europe, par l'intermédiaire de l'hypovirulence.

Cependant, nos conclusions ne peuvent être automatiquement transposées à des types vc génétiquement éloignés provenant de l'extérieur de l'Europe, dont l'introduction accidentelle doit être évitée.

Mots clés : *Castanea sativa*, *Cryphonectria parasitica* hypovirus 1, interaction champignon-mycovirus, pathogènes invasifs



Rédacteur scientifique : Feng Cai

Reçu le 1er octobre 2025

Accepté le 10 décembre 2025

Publié le 26 janvier 2026

Citation : Prospero S, Schwarz JM, Jezic M, Leigh DM, Ćurković-Perica M, Idžojtić M, Katanic Z, Krstin L, Nuskern L, Pavičić I, Poljak I, Sotirovski K, Risteski M, Vuković R, Rigling D (2026)

Tester l'efficacité de l'hypovirulence naturelle pour la lutte biologique contre le chancre du châtaignier en conditions réelles.

IMA Fungus 17 : e173675. <https://doi.org/10.3897/imafungus.17.173675>

Droits d'auteur : © Simone Prospero et al.

Cet article est en libre accès et distribué selon les termes de la licence Creative Commons Attribution.

Licence (Attribution 4.0 International – CC BY 4.0).

Introduction

L'augmentation mondiale de la connectivité a considérablement accéléré la fréquence des invasions biologiques. Les écosystèmes forestiers n'ont pas été épargnés, et l'introduction accidentelle de pathogènes fongiques ou d'insectes ravageurs a entraîné des dommages écologiques et économiques dramatiques (Ramsfield et al. 2016 ; Liebhold et al. 2017 ; Thakur et al. 2019). Une fois implantés dans un milieu non invasivement favorisé, les organismes invasifs sont difficiles à éradiquer ou à contenir ; les mesures de gestion visent donc souvent à limiter les dégâts. L'utilisation de pesticides chimiques en forêt étant désormais interdite dans la plupart des pays européens, la lutte contre les pathogènes invasifs des arbres forestiers repose principalement sur des pratiques culturales (Prospero et Cleary 2017), la sélection de variétés résistantes (Pike et al. 2021) et/ou la lutte biologique (Kenis et al. 2019 ; Prospero et al. 2021).

L'hypovirulence induite par un virus chez le champignon responsable du chancre du châtaignier, *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr, est l'un des rares exemples de réussite de la lutte biologique contre une maladie forestière invasive (Ćurković-Perica et al. 2022).

(Ascomycota) est un parasite nécrotrophe qui provoque des lésions potentiellement mortelles de l'écorce (appelées chancres de l'écorce) sur les espèces de *Castanea* (Rigling et Prospero 2018). Introduit au début du XXe siècle d'Asie en Amérique du Nord (Dutech et al.

En 2012, *Cryphonectria parasitica* a entraîné l'extinction fonctionnelle du châtaignier d'Amérique (*Castanea dentata* (Marsh.) Borkh.), espèce indigène et très sensible. En Europe, une forte gravité de la maladie a été observée sur le châtaignier européen (*Castanea sativa* Mill.), également sensible, uniquement durant les deux premières décennies suivant sa détection officielle (1938). Par la suite, les épidémies ont évolué vers une forme moins virulente en raison de l'émergence d'une hypovirulence. Cette hypovirulence est due à une infection de *C. parasitica* par le mycovirus parasitaire *Cryphonectria hypovirus 1* (CHV1) ; cette interaction est bien établie, le virus étant présent dans l'aire de répartition naturelle du champignon (Hillman et Suzuki, 2004). Les souches de *C. parasitica* infectées par CHV1 sont caractérisées par une virulence réduite (Nuss 2005 ; Rigling et al. 2021) grâce à laquelle elles induisent des chancres superficiels ou de cicatrisation (guérison), qui cessent de s'étendre (ci-après « chancres passifs »), permettant à l'arbre infecté de survivre (Heiniger et Rigling 1994).

Le CHV1 ne possède pas de phase extracellulaire et ne peut se propager qu'à l'intérieur du champignon. Le virus peut être transmis verticalement dans les spores asexuées (conidies), mais pas dans les ascospores sexuées (Anagnostakis 1988 ; Prospero et al. 2006). La transmission horizontale du virus entre souches de *C. parasitica* peut se produire par anastomose hyphale, mais elle est limitée par un système d'incompatibilité végétative qui déclenche la mort cellulaire par contact entre les hyphes incompatibles (Anagnostakis 1977). L'incompatibilité végétative chez *C. parasitica* est contrôlée par au moins six loci vic dialléliques non liés (Cortesi et Milgroom 1998) : deux souches sont compatibles, c'est-à-dire qu'elles appartiennent au même type de compatibilité végétative (vc), si elles possèdent les mêmes allèles à tous les loci vic. La transmission du virus est limitée entre les champignons.

Les souches de *C. parasitica* de génotype gal sont hétéroalléliques au niveau des loci vic, mais dans la nature, les taux de transmission du CHV1 entre souches de *C. parasitica* de types vc différents sont estimés nettement supérieurs à ceux observés en laboratoire (Carbone et al., 2004 ; Bryner et al., 2014). Ceci suggère fortement que l'influence de la barrière d'incompatibilité végétative sur la propagation du CHV1 au sein des populations naturelles de *C. parasitica* devrait être étudiée plus en détail afin d'évaluer le potentiel de transmission virale, notamment dans le cadre de la lutte biologique, et, à terme, de mieux comprendre les interactions hôte-parasite en conditions naturelles.

L'hypovirulence naturelle est désormais largement répandue dans de nombreuses régions châtaigneraies d'Europe (Rigling et Prospero 2018), ce qui explique le taux de survie élevé des arbres infectés. Cependant, l'interaction entre le châtaignier européen (*C. sativa*, arbre hôte), *C. parasitica* (champignon pathogène) et CHV1 (hyperparasite, agent de lutte biologique) est récente sur le plan évolutif, et sa stabilité à long terme reste incertaine. Des conditions environnementales défavorables à l'hôte (par exemple, la sécheresse) peuvent favoriser le pathogène, entraînant une recrudescence du chancre du châtaignier. L'introduction de nouveaux types de virulence fongiques ou une augmentation de la fréquence des types rares pourrait freiner la propagation de CHV1 et réduire l'efficacité de la lutte biologique par hypovirulence.

Des études antérieures menées dans des châtaigniers européens avec une hypovirulence naturelle établie ont indiqué que les chancres de *C. parasitica* exempts de virus deviennent infectés par le virus en quelques années et que différents types de vc ont été détectés dans les chancres au fil du temps (Bissegger et al. 1997 ; Bryner et al. 2014 ; Ježić et al. 2018).

Dans ces études, cependant, les souches fongiques étaient distinguées uniquement par leur vc de type, tandis que les souches CHV1 n'ont pas été caractérisées plus en détail au niveau moléculaire. Des marqueurs supplémentaires pour les souches fongiques (c.-à-d. les génotypes microsatellites) et les souches virales (c.-à-d. le séquençage) permettraient d'approfondir la compréhension de la dynamique d'infection dans les chancres du chancre du châtaignier.

Dans cette étude, nous avons mené une expérience de terrain dans trois pays européens (Suisse, Croatie et Macédoine du Nord) où l'hypovirulence est naturellement établie, afin d'évaluer l'efficacité de la lutte biologique contre le chancre du châtaignier par le CHV1 sous différentes structures de population de types vc. Nous avons induit artificiellement des chancres d'écorce avec des génotypes de *C. parasitica* exempts de virus et génétiquement identifiables, appartenant à des types vc présents à prévalence variable dans les populations fongiques locales. Dans les chancres nouvellement induits, nous avons suivi l'incidence de l'infection par le CHV1, l'immigration de nouveaux types et génotypes vc, ainsi que le développement des chancres (croissance, activité et sporulation) sur une période de 26 mois. De plus, les souches de CHV1 ayant infecté naturellement les chancres induits artificiellement ont été partiellement séquencées afin d'être comparées aux populations résidentes de CHV1 et d'évaluer l'évolution de leur diversité au fil du temps. Ceci nous a permis de tester (1) comment les contraintes d'incompatibilité végétative et la prévalence du CHV1 dans les populations résidentes de *C. parasitica*

la population affecte la probabilité d'une infection par le CHV1, (2) si une infection par le CHV1 est généralement associée à l'immigration de nouveaux génotypes fongiques, et (3) si une infection par le CHV1 affecte négativement le développement du chancre, indépendamment du type vc fongique présent dans le chancre.

Matériels et méthodes

Sites d'étude et populations résidentes de *C. parasitica*

L'étude a été menée sur six sites différents présentant une hypovirulence naturellement établie, situés en Suisse (CH ; Contone, Orselina), en Croatie (HR ; Kašt, Ozalj) et en Macédoine du Nord (MK ; Kalishte, Smolare), couvrant l'aire de répartition de *Castanea sativa* en Europe centrale et du Sud-Est (Tableau 1). Tous les sites échantillonnés étaient constitués de taillis de châtaigniers avec des rejets d'environ 15 ans (diamètre de la tige de 6 à 15 cm). L'incidence de la maladie sur un site donné (c.-à-d. les rejets présentant des chancres visibles sur l'écorce) variait de 62 % (Kalishte, MK) à 83 % (Smolare, MK) (Tableau 1). Les populations résidentes de *C. parasitica* et de CHV1 ont été échantillonnées en mai 2014.

Tableau 1. Situation du chancre du châtaignier sur les six sites expérimentaux en Suisse, en Croatie et en Macédoine du Nord et génotypes multilocus (MLG) de *Cryphonectria parasitica* sélectionnés pour l'inoculation artificielle de germes sains de *Castanea sativa*.

Caractéristiques	Suisse (CH)		Croatie (HR)		Macédoine du Nord (MK)	
	Par exemple	Orselin	Caste	Ozajj	Kalishte	Smolare
Coordonnées (N, E)	46,14649, 8,92168	46,18176, 8,79486	45,698015, 15,369578	45,61287, 15,477857	41,138922, 20,643926	41,370943, 22,903064
Altitude (m au-dessus du niveau de la mer)	306	647	435	136	789	481
Incidence du chancre du châtaignier ¹	75%	68%	68%	73%	62%	83%
Prévalence de l'hypovirulence en 2014 ²	57,7%	75%	38,5%	33,3%	46,5%	25,8%
Prévalence du type vc dans la population ³	UE-1 : 16 %	UE-1 : 29 %	UE-1 : 42 %	UE-1 : 28 %	UE-12 : 100 % UE-12 : 100 %	
	UE-12 : 4 %	UE-12 : 0 %	UE-2 : 24 %	UE-2 : 36 %		
C. parasitica MLGs inoculés (type vc) ⁴	Cp37 (UE-1)	Cp37 (UE-1)	Cp37 (UE-1)	Cp37 (UE-1) Cp93	Cp93 (UE-12) Cp93 (UE-12)	
	CP21 (UE-12)	CP21 (UE-12)	Cp2 (UE-2)	Cp2 (UE-2)		

¹ Pourcentage de pousses de châtaignier infectées (c'est-à-dire présentant au moins un chancre de l'écorce).

² Pourcentage de chancres du châtaignier infectés par le CHV1 (Ježić et al. 2021).

³ Prévalence dans la population résidente de *C. parasitica* des types vc auxquels appartenaient les MLG de *C. parasitica* utilisés pour initier les chancres de l'écorce.

⁴ MLG de *Cryphonectria parasitica* ont été nommés comme dans Prospero et Rigling (2012).

Le début de l'expérience a permis de caractériser : la diversité des types vc et des génotypes microsatellites de *C. parasitica*, ainsi que la diversité des sous-types et la diversité génétique du CHV1 (Ježić et al., 2021). De 25,8 % (Smolare, Macédoine du Nord) à 75 % (Orselina, Suisse) des chancres échantillonnés étaient infectés par le CHV1 (tableau 1), et toutes les souches virales appartenaient au sous-type italien (Ježić et al., 2021). Dans les populations suisse et croate, 8 à 16 types vc différents ont été détectés, les plus fréquents étant EU-1 et EU-2, tandis que tous les isolats de Macédoine du Nord appartenaient au type vc EU-12 (Ježić et al., 2021).

Inoculations artificielles de *Cryphonectria parasitica*

Les isolats fongiques utilisés pour induire les nouveaux chancres de l'écorce ont été sélectionnés sur la base de marqueurs microsatellites afin que leur génotype multilocus (MLG) soit absent de la population résidente de *C. parasitica* (voir le matériel supplémentaire 1 pour plus de détails). En Suisse et en Croatie, deux MLG différents ont été utilisés pour chaque site : en Suisse, les MLG Cp37 (type vc EU-1) et Cp21 (EU-12), et en Croatie, les MLG Cp37 (EU-1) et Cp2 (EU-2) (tableau 1). Un seul MLG (Cp93) de type vc EU-12 a été inoculé en Macédoine du Nord. Les MLG sélectionnés appartenaient au vc

Les types de *C. parasitica* sont présents à des fréquences variables au sein des populations locales, allant de rares (EU-12 en Suisse) à communs (EU-1 en Suisse, EU-1 et EU-2 en Croatie) et dominants (EU-12 en Macédoine du Nord) (Tableau 1). Avant l'inoculation, la virulence (absence de CHV1) de tous les isolats sélectionnés a été vérifiée par culture et RT-PCR, comme décrit ci-dessous.

En août 2014, en Croatie et en Suisse, 20 groupes de pousses de châtaignier par site (espacés d'au moins 5 m) ont été sélectionnés et deux pousses saines de chaque groupe ont été inoculées, chacune avec l'un des MLG cibles de *C. parasitica*. Sur chaque site de Macédoine du Nord, 25 pousses provenant de différents groupes situés à la même distance que dans les deux autres pays ont été inoculées avec

Les inoculations des MLG sélectionnés ont été réalisées comme suit. Après désinfection de l'écorce à l'éthanol à 70 %, un trou de 5 mm de diamètre a été pratiqué jusqu'au cambium à l'aide d'un emporte-pièce. Deux tapis mycéliens prélevés à la périphérie des cultures de *C. parasitica* MLG sélectionnés (préalablement cultivés pendant sept jours à 25 °C à l'obscurité sur gélose pomme de terre dextrose (39 g/L ; Difco, Voight Global)) ont été utilisés.

Distribution, Lawrence, MD)) ont été placés dans le trou créé à l'aide d'une spatule. La plaie a ensuite été scellée avec de la cire d'arbre disponible dans le commerce afin d'éviter la dessiccation ainsi que la colonisation de l'écorce par d'autres microbes.

Évaluation du développement du chancre

Le développement des chancres induits artificiellement a été évalué à quatre reprises sur une période de 26 mois (novembre 2014, mai 2015, octobre 2015 et octobre 2016). La longueur et la largeur des chancres ont été mesurées à l'aide d'une règle millimétrée, et l'activité (active, avec une bordure rougeâtre ; passive, sans bordure rougeâtre, mais avec une surface noire ; intermédiaire) ainsi que la présence de stromas (0 = aucun ; 1 = 1 à 9 ; 2 = 10 à 30 ; 3 = > 30 stromas visibles) à la surface des chancres ont été évaluées visuellement (Bryner et al., 2013 ; Prospero et Rigling, 2016). La surface de chaque chancre a été calculée pour chaque date d'échantillonnage à l'aide de la formule de l'aire d'une ellipse. Une éventuelle infection par le CHV1 ou la présence de nouveaux groupes fonctionnels de *C. parasitica* (MLG) dans les chancres ont été déterminées par réisolement de *C. parasitica* à partir des chancres inoculés artificiellement. À cette fin, trois échantillons d'écorce (bord supérieur, partie médiane, bord inférieur ; Fig. 1) ont été prélevés sur chaque chancre à l'aide d'une aiguille à biopsie de moelle osseuse (calibre Jamshidi, 2 mm de diamètre ; Baxter, Deerfield, IL, États-Unis), stérilisée à la flamme entre chaque prélèvement. Les plaies ainsi créées ont été recouvertes de cire d'arbre. Pour l'isolement de *C. parasitica*, les échantillons d'écorce ont été désinfectés en surface à l'éthanol à 70 % puis déposés sur des plaques de gélose. Afin d'obtenir des cultures pures, les mycéliums ayant proliféré (environ 3 × 3 mm) ont ensuite été transférés sur milieu PDA.

Pour tester si un échantillonnage répété, c'est-à-dire une blessure artificielle par chancre, affecterait le taux d'infection par CHV1 (*C. parasitica* est un parasite de blessure), aux deux premières dates (novembre 2014, mai 2015), des ré-isolements n'ont été effectués que sur la moitié des chancres de chaque site d'étude.

Détermination des types de vc et de l'infection par le CHV1

Les types de compatibilité végétative (vc) des isolats de *C. parasitica* prélevés à chaque point d'échantillonnage ont été déterminés comme suit. Chaque isolat a d'abord été apparié sur des plaques de PDA avec deux (Suisse et Croatie) ou un (Nord de la Macédoine) isolats de *C. parasitica* utilisés pour les inoculations sur le site spécifique, comme décrit par Bissegger et al. (1997). Les isolats incompatibles avec les types vc testés ont ensuite été analysés par PCR multilocus (Mlinarec et al. 2018 ; Cornejo et al. 2019).

Les isolats infectés par le CHV1 ont été identifiés par leur morphologie de culture spécifique (orange : sans virus ; blanc : infectés par le virus ; Choi et Nuss, 1992) sur les mêmes plaques de PDA que pour le typage vc. L'infection par le CHV1 des isolats blancs a été vérifiée par RT-PCR et séquençage (voir ci-dessous).

Extraction d'ADN et d'ARN

Le mycélium de *Cryphonectria parasitica* destiné à l'extraction d'ARN ou d'ADN a été cultivé sur des plaques de PDA recouvertes de cellophane (Celloclair Inc., Liestal, Suisse, 80 mm de diamètre) selon la méthode décrite par Hoegger et al. (2000). Les mycéliums ont été récoltés et l'ADN et l'ARN ont été extraits à l'aide de kits d'extraction disponibles dans le commerce.

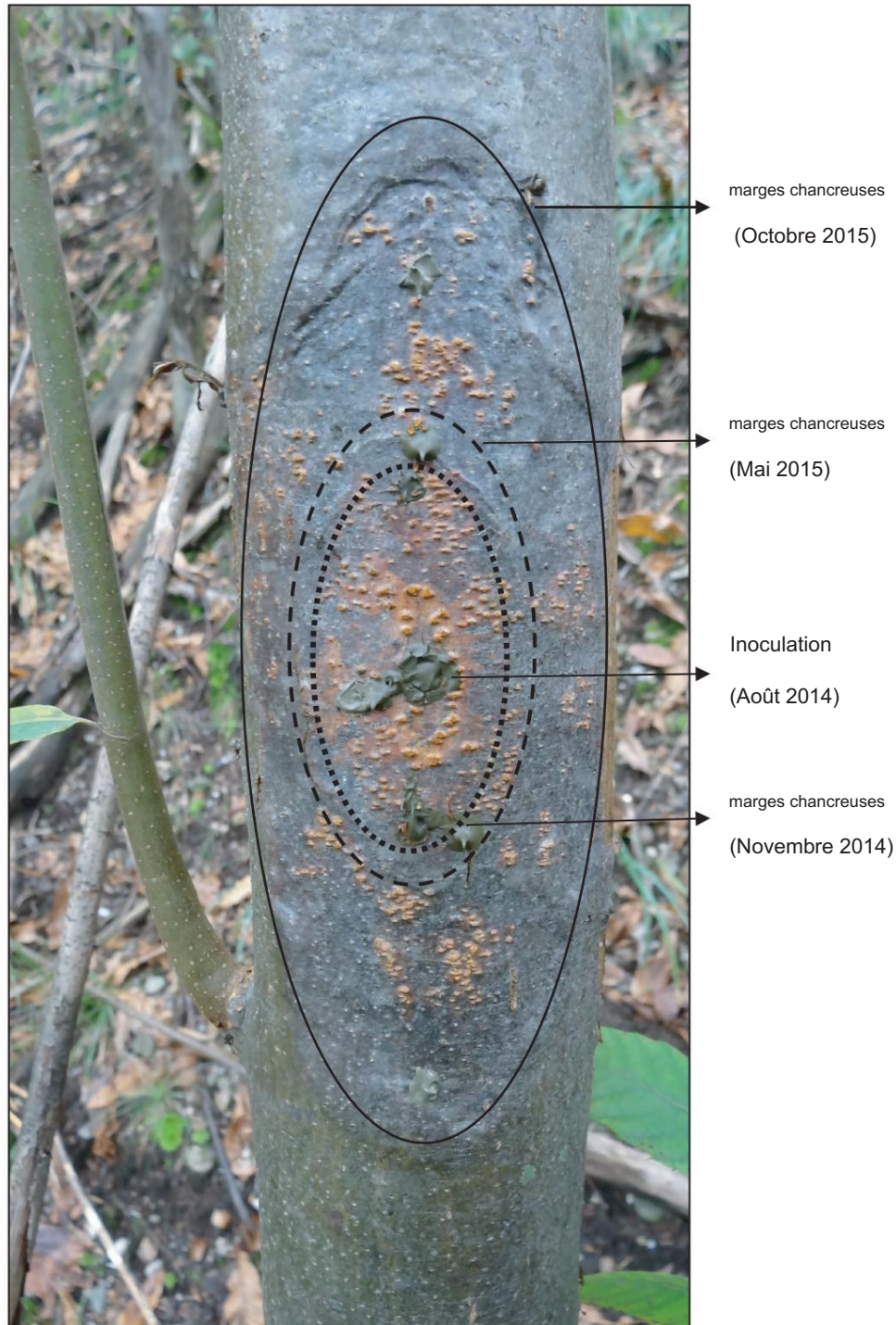


Figure 1. Évolution temporelle d'un chancre de l'écorce à *Cryphonectria parasitica* de type vc EU-12, inoculé artificiellement à Contone (Suisse). Après inoculation en août 2014, lors de chaque prélèvement (novembre 2014, mai 2015 et octobre 2015), trois échantillons d'écorce (un sur le bord supérieur, un au centre du chancre et un sur le bord inférieur) ont été prélevés à l'aide d'une aiguille à biopsie (2 mm de diamètre) et les plaies ainsi créées ont été recouvertes de cire d'arbre. Ce chancre est resté exempt de virus pendant toute la durée de l'étude.

Génotypage par microsatellites d'isolats de *Cryphonectria parasitica*

Tous les isolats récupérés en octobre 2015 et 2016 à partir des chancres induits artificiellement ont été génotypés à 10 locus microsatellites (séquences répétées simples, SSR) comme décrit par Prospero et Rigling (2012). Les produits de PCR ont été analysés sur

Un séquenceur ABI 3730 (Applied Biosystems, Carlsbad, CA) a été utilisé, avec ROX-400 comme standard de taille interne. La taille des allèles a été déterminée à l'aide du logiciel Gene-Mapper® 5 (Applied Biosystems™). Les géotypes multilocus ont été nommés selon la convention établie par Prospero et Rigling (2012).

Séquençage du CHV1

L'ARN purifié a été transcrit en ADN complémentaire (ADNc) avec des amorces hexamères aléatoires en utilisant soit le kit de synthèse d'ADNc de première chaîne Maxima (Thermo Fisher Scientific), soit le système de transcription inverse GoScript™ (Promega Corporation, Madison, États-Unis).

Une partie de la région ORF-A du CHV1 a été amplifiée par PCR et séquencée selon la méthode décrite par Ježić et al. (2021). Les séquences virales ont été éditées avec le logiciel CLC Main Workbench 7 (CLC bio). Avant l'assemblage des séquences directes et inverses, la fonction d'identification des pics secondaires a été exécutée avec l'option « fraction de la hauteur maximale des pics pour l'identification : 0,8 ». Les séquences assemblées ont ensuite été comparées à une séquence de référence du CHV1 (numéro d'accès GenBank : [JX969928](#)). Les codes d'ambiguïté de l'IUPAC ont été utilisés en cas de pics secondaires et de positions présentant un nucléotide incertain. Des alignements ont été créés séparément pour chaque site expérimental et incluaient toutes les séquences récupérées à partir des chancres induits artificiellement.

Analyses statistiques

Afin d'étudier l'effet d'une infection par le CHV1 sur l'expansion des chancres d'écorce induits artificiellement, les surfaces des chancres infectés et non infectés par le virus ont été comparées à chaque date d'échantillonnage. Un chancre était considéré comme infecté par le virus pour une date d'échantillonnage donnée s'il contenait au moins un isolat de *C. parasitica* infecté par le virus à cette date ou à une date antérieure (c'est-à-dire que si des isolats de *C. parasitica* infectés par le virus étaient obtenus une fois à partir d'un chancre, ce dernier était systématiquement considéré comme infecté par le virus par la suite). Les surfaces des chancres infectés et non infectés par le virus à chaque date ont été comparées par un test U de Mann-Whitney unilatéral à l'aide du logiciel statistique R.

L'effet de l'échantillonnage des chancres sur l'infection virale a été testé par des tests du chi carré. Pour chaque site d'étude, la fréquence d'infection virale en octobre 2015 a été comparée entre les chancres échantillonnés en novembre 2014 et mai 2015 et ceux échantillonnés pour la première fois en octobre 2015.

Effet de l'incompatibilité végétative sur l'infection virale

Afin d'évaluer l'effet des barrières d'incompatibilité végétative sur l'infection virale en conditions naturelles, nous avons comparé, sur chaque site d'étude, le taux d'infection attendu par le CHV1 pour chaque type de vc utilisé pour initier les nouveaux chancres de l'écorce avec le taux d'infection observé des chancres inoculés à chaque date d'échantillonnage. Les taux d'infection attendus ont été calculés à partir des taux de transmission virale in vitro pour chaque locus vic hétéroallélique publiés par Cortesi et al. (2001) et de la prévalence des isolats infectés par le virus dans chaque type de vc présent au sein des populations résidentes (données de Ježić et al., 2021). D'après les résultats de Cortesi et al. (2001), nous avons considéré un effet additif sur les taux de transmission du CHV1 si plusieurs locus vic étaient hétéroalléliques. Le taux d'infection attendu a ensuite été calculé comme la moyenne des taux de transmission pour tous les types de vc.

combinaisons (types de vc présents dans la population résidente versus vc inoculés) types) pondérés par la fréquence des isolats infectés par le virus dans chaque population. Pour la Macédoine du Nord, le taux d'infection attendu par le chancre correspondait à la fréquence des isolats infectés par le virus dans chaque population (telle que publiée dans Ježić et al., 2021), le type vc inoculé étant EU-12 et les populations initiales étant exclusivement composées de ce type. La différence entre le taux d'infection virale observé et le taux attendu a ensuite été calculée pour chaque site, type vc et date d'échantillonnage. La corrélation entre les taux d'infection observés et attendus a été testée pour chaque date d'échantillonnage par un test de corrélation de Spearman.

Origine des souches de CHV1 dans les chancres

Sur chaque site, à l'exception de Smolare (seulement 15 séquences disponibles), la relation entre les souches de CHV1 isolées des chancres artificiels lors des quatre prélèvements (novembre 2014, mai 2015, octobre 2015 et octobre 2016) et les souches de la population résidente de CHV1 (mai 2014) a été étudiée par une analyse discriminante en composantes principales (ADCP, Jombart et al., 2010) à l'aide du package adegenet (Jombart et Ahmed, 2011). Pour l'ADCP, toutes les souches de CHV1 issues des chancres artificiels ont été regroupées. Les alignements au format FASTA de chaque population ont été importés dans R avec le package ape (Paradis et al.).

2004). Après correction des clones (c.-à-d. suppression des séquences identiques au sein d'une population), l'ensemble de données comprenait 53 séquences pour Contone (24 issues de la population résidente, 29 issues des chancres artificiels), 58 séquences pour Orselina (33/25), 39 séquences pour Kašt (10/29), 28 séquences pour Ozalj (7/21) et 37 séquences pour Kalishte (14/23). Les séquences des populations suisses de CHV1 mesuraient 582 pb, tandis que celles des populations croate et nord-macédonienne mesuraient 552 pb. Sur chaque site, la différenciation génétique entre la population résidente de CHV1 et la population de CHV1 présente dans les chancres artificiels a été testée ($p < 0,05$) par une analyse de la variance moléculaire (AMOVA) à l'aide du logiciel pegas (Paradis 2010).

Analyse des souches de CHV1 dans les chancres au fil du temps

Pour chaque pays, toutes les séquences CHV1 obtenues à partir des chancres aux quatre dates d'échantillonnage ont été regroupées en souches à l'aide de l'outil en ligne FaBox (Villesen 2007). Les souches CHV1 ont été définies comme celles présentant des séquences identiques ou ne différant que par un pic secondaire à une seule position. L'identité et le nombre de souches détectées au fil du temps dans les mêmes chancres ont ensuite été enregistrés pour chaque chancre ayant fait l'objet d'au moins deux échantillonnages de séquences CHV1.

Résultats

Infection des chancres par le CHV1

Lors du premier prélèvement en novembre 2014 (soit trois mois après l'apparition des chancres artificiels), des isolats de *C. parasitica* infectés par le virus ont été retrouvés dans les chancres d'écorce initialement exempts de virus sur tous les sites, à l'exception d'Ozalj (HR), avec une incidence allant de 9,1 % (Smolare, MK) à 58,3 % (Kalishte, MK) (Fig. 2). Sur les deux sites suisses, l'incidence du CHV1 était plus élevée dans les chancres communs.

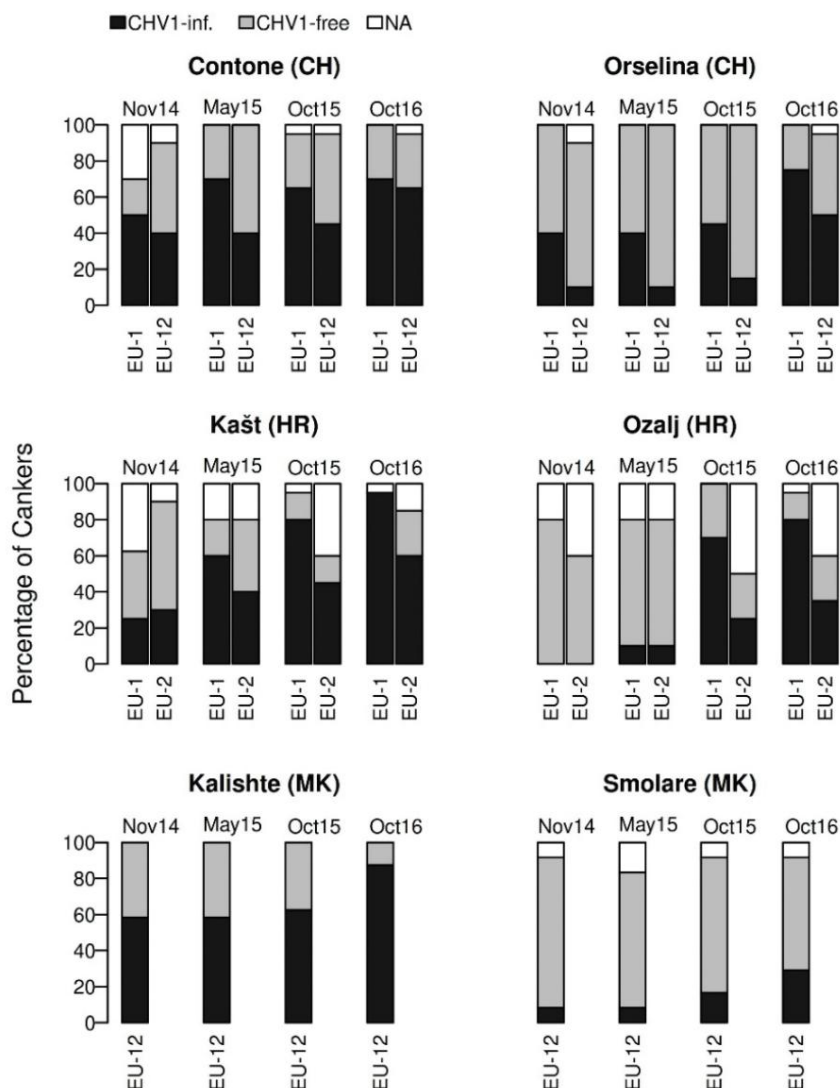


Figure 2. Pourcentage de chancres d'écorce à *Cryphonectria parasitica* infectés par le CHV1 aux quatre dates d'échantillonnage (novembre 2014, mai 2015, octobre 2015 et octobre 2016) sur les sites étudiés en Suisse (Contone, Orselina), en Croatie (Kašt, Ozalj) et en Macédoine du Nord (Kalishte, Smolare). Sur les sites suisses, les données concernent les chancres initiés par les deux génotypes multilocus des types vc EU-1 et EU-12, et sur les sites croates, par les types vc EU-1 et EU-2 ; en Macédoine du Nord, seul le type EU-12 a été utilisé pour les inoculations. Les données des graphiques représentent les infections cumulées, c'est-à-dire que si un *C. parasitica* est infecté par le CHV1, il est infecté par un autre type vc. L'isolat a été obtenu une seule fois à partir d'un chancre, lequel a ensuite toujours été considéré comme infecté. CHV1-inf., % de chancres infectés par le CHV1 ; CHV1-free, % de chancres non infectés par le CHV1 ; NA, données manquantes en raison d'un isolement infructueux.

le type vc (EU-1) que dans ceux du type vc rare (EU-12). En Croatie, des taux d'infection virale similaires dans les chancres des deux types vc ont été détectés à Kašt (HR) (Fig. 2). À Ozalj, les premières infections virales ont été observées en mai 2015, avec 12,5 % des chancres présentant des isolats de *C. parasitica* infectés par le CHV1. L'incidence globale des chancres infectés par le virus a augmenté au fil du temps sur les six sites (Fig. 2). À la fin de l'expérience (octobre 2016), 64,1 % (Orselina) et 69,2 % (Contone) des chancres sur les sites suisses étaient infectés par le virus. En Croatie, l'incidence des chancres infectés par le virus était de 74,2 % (Ozalj) et 86,1 % (Kašt), et en Macédoine du Nord, de 31,8 % (Smolare) et 87,5 % (Kalishte).

En novembre 2014 et mai 2015, seule la moitié des chancres d'écorce provoqués artificiellement ont été échantillonnés, tandis que tous l'ont été en octobre 2015. Cela a permis d'évaluer l'effet de l'échantillonnage (c.-à-d. la blessure causée par le chancre) sur le virus

Taux d'infection. Les tests du chi carré n'ont montré aucune différence significative ($P > 0,05$) dans le taux d'infection virale entre les chancres préalablement échantillonnés et non échantillonnés sur tous les sites d'étude, indiquant que la procédure d'échantillonnage appliquée n'avait aucune influence sur la probabilité qu'un chancre soit infecté par le CHV1.

D'après l'analyse de séquences, 66,2 % des chancres induits artificiellement et infectés par le CHV1 au cours de l'expérience étaient dus à une seule souche de CHV1 qui a persisté dans le temps (tableau 2 ; voir le matériel supplémentaire 2 pour plus de détails). Ceci s'applique aux chancres de tous les types vc, à l'exception des chancres EU-1 en Croatie, où deux souches de CHV1 étaient prédominantes (46,7 %). Dans cinq chancres infectés par le CHV1 (un EU-12 en Suisse, trois EU-1 en Croatie et un EU-12 en Macédoine du Nord), trois souches de CHV1-Des souches ont été détectées (tableau 2). L'analyse DAPC a révélé, sur chaque site, un chevauchement partiel à quasi complet entre les souches de CHV1 issues des chancres naturels (population résidente) et celles isolées des chancres induits artificiellement (figure 3). Ce résultat a été confirmé par l'AMOVA, qui n'a révélé aucune différenciation significative entre les deux populations de CHV1 sur aucun des sites, avec seulement 0 à 6,8 % de la variance génétique expliquée par les différences entre les deux populations (données non présentées).

Effet de l'incompatibilité végétative sur l'infection des chancres par le CHV1

Du premier (novembre 2014) au dernier (octobre 2016) prélèvements effectués à Contone (Suisse) et Kašt (Croatie), les taux d'infection virale observés dans les chancres induits artificiellement, pour les deux types de vc, étaient supérieurs aux taux attendus compte tenu de la diversité des types de vc et de l'incidence du CHV1 dans les populations locales de *C. parasitica* (Fig. 4 ; voir le matériel supplémentaire 3 pour plus de détails). Les autres sites suisses (Orselina) et croates (Ozalj) ont initialement présenté des taux d'infection virale similaires (Orselina) ou inférieurs (Ozalj) aux taux attendus pour les chancres des deux types de vc. Cependant, l'incidence du CHV1 dans les chancres a augmenté au fil du temps et, à la fin de l'expérience, elle était également supérieure aux prévisions dans ces deux populations. En Macédoine du Nord, les deux sites ont présenté une évolution similaire des taux d'infection virale, mais une situation initiale différente. À Kalishte, le taux d'infection observé était plus élevé que prévu dès le début, tandis qu'à Smolare, il est resté inférieur aux prévisions jusqu'au dernier échantillonnage (octobre 2016), moment où il est devenu légèrement plus élevé.

Tableau 2. Souches de CHV1 détectées dans des chancres d'écorce individuels de *Cryphonectria parasitica* sur au moins deux dates d'échantillonnage.

Pays, type de vc inoculé	Chancres (n°) ¹	Séquences CHV1 (n°) ²	Souches CHV1 (n°) ³	Nombre de souches de CHV1 par chancre		
				Un	Deux	Trois
Suisse						
UE-1	19	102	18	17 (89,5) ⁴	2 (10,5)	0 (0)
UE-12	10	57	14	6 (60,0)	3 (30,0)	1 (10,0)
Croatie						
UE-1	15	61	25	5 (33,3)	7 (46,7)	3 (20,0)
UE-2	9	23	10	7 (77,8)	2 (22,2)	0 (0)
Macédoine du Nord						
UE-12	12	52	17	8 (66,7)	3 (25,0)	1 (8,3)
Total	65	295	NA ⁵	43 (66,2)	17 (26,1)	5 (7,7)

1. Nombre de chancres infectés par le CHV1 pour lesquels des séquences de CHV1 ont été obtenues à au moins deux dates d'échantillonnage (novembre 2014, mai 2015, octobre 2015, octobre 2016 ; voir le matériel supplémentaire 2 pour plus de détails). Les chancres pour lesquels des séquences de CHV1 n'ont été obtenues qu'à une seule date d'échantillonnage sont exclus.

2 Nombre total de séquences CHV1 analysées.

3. Nombre total de souches de CHV1. Les souches ont une séquence identique ou ne diffèrent que par un seul pic secondaire à une position unique.

⁴Pourcentages entre parenthèses.

5 Non applicable car les souches de CHV1 ont été attribuées par pays.

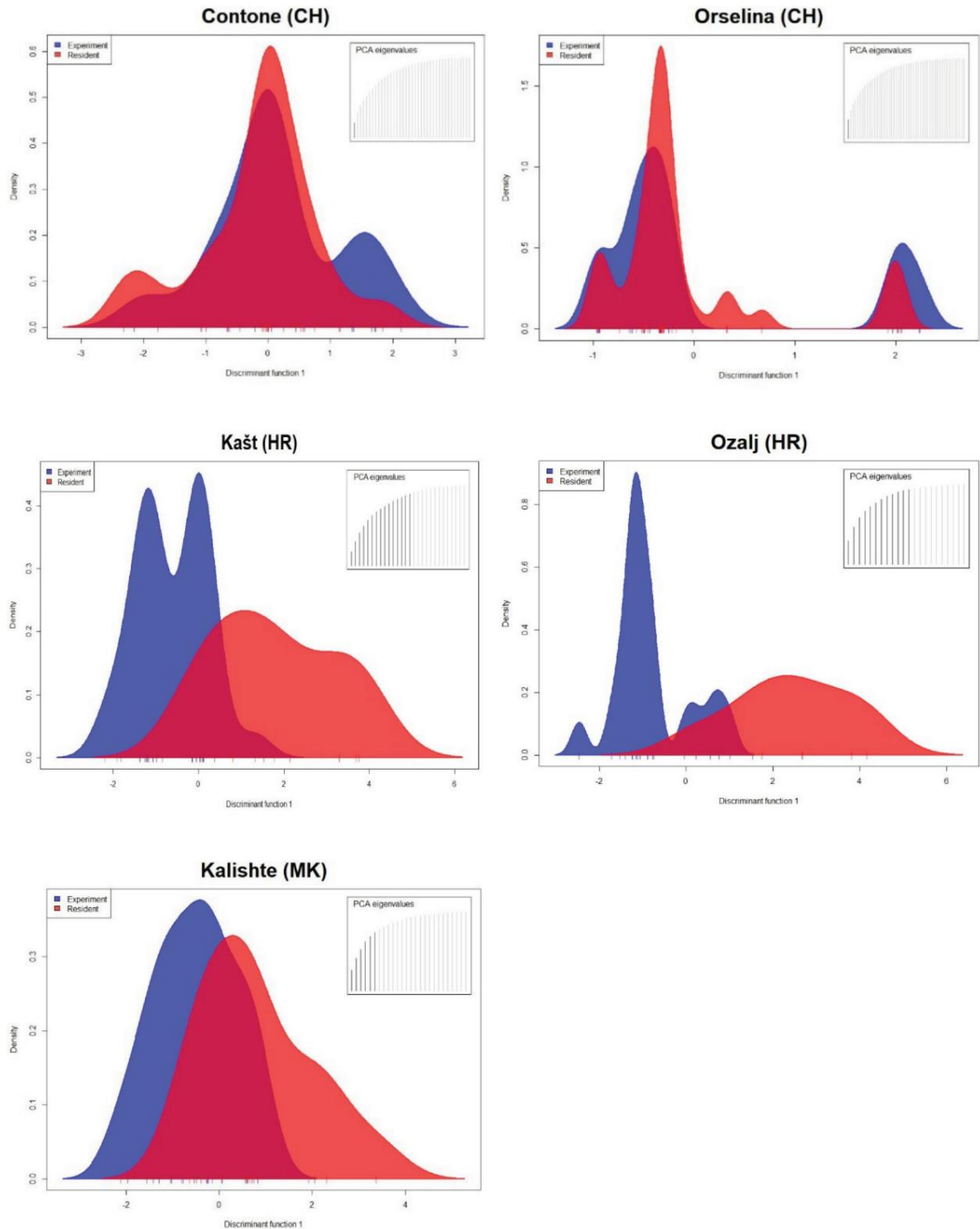


Figure 3. Analyse discriminante des composantes principales des séquences CHV1 obtenues au cours de l'expérience à Contone et Orselina (Suisse), Kašt et Ozalj (Croatie) et Kalishte (Macédoine du Nord) à partir de la population résidente de chancres (Résident, rouge) et à partir des chancres initiés artificiellement (Expérience, bleu).

Sur l'ensemble des sites et pour tous les types de virus, lors des deux premières dates d'échantillonnage, une corrélation faible à modérée et non significative a été observée entre les taux d'infection virale observés et attendus (coefficient de corrélation de Spearman = 0,13 en novembre = 2014; $r_s = 0,38$, $P = 0,27$ en mai 2015), qui est devenu très faible dans la suite d'échantillonnages ($r_s = -0,09$, $P = 0,80$ en octobre 2015 ; $r_s = 0,16$, $P = 0,65$ en octobre 2016).

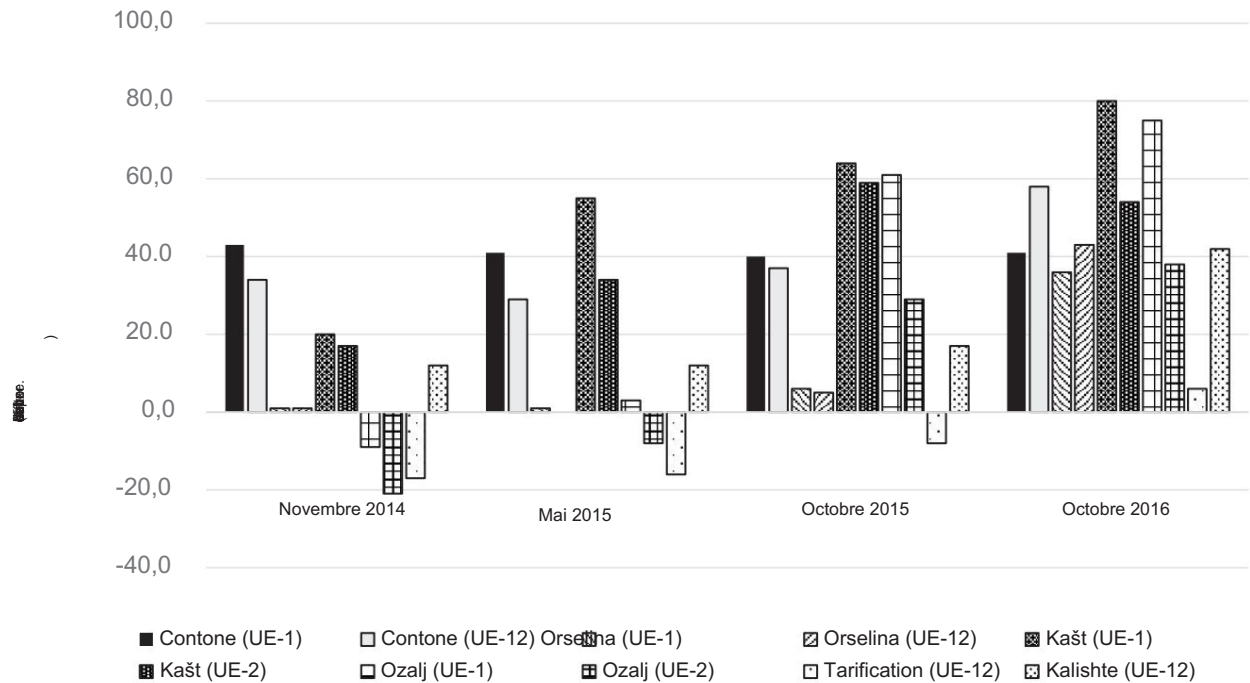


Figure 4. Différences entre les taux d'infection observés et attendus (d'après les taux de transmission virale in vitro pour chaque locus vic publiés par Cortesi et al. (2001)) par le CHV1 des chancres à *Cryphonectria parasitica* induits artificiellement en Suisse (Contone, Orselina), en Croatie (Kašt, Ozalj) et en Macédoine du Nord (Kalishte, Smolare) aux quatre dates d'échantillonnage (novembre 2014, mai 2015, octobre 2015 et octobre 2016). Pour plus de détails, voir le matériel supplémentaire 1.

Effet d'une infection par le CHV1 sur le développement du chancre

L'infection par le CHV1 a eu un effet négatif significatif sur le développement du chancre en Suisse et en Macédoine du Nord, mais pas en Croatie (Fig. 5). En Suisse, des différences significatives de taille entre les chancres infectés et non infectés par le virus ont été observées dès le troisième prélèvement (octobre 2015, soit 14 mois après l'inoculation) et se sont accentuées un an plus tard (octobre 2016). Sur les deux sites de Macédoine du Nord, le temps de réaction de l'expansion du chancre à l'infection par le CHV1 a varié considérablement. À Kalishte, la réduction de taille des chancres infectés par le virus était déjà significative en mai 2015, tandis qu'à Smolare, les différences n'étaient perceptibles qu'au dernier prélèvement, en octobre 2016 (Fig. 5).

L'évaluation de l'activité des chancres à la fin de l'expérience a montré que 42,4 % des chancres d'écorce étaient actifs (c'est-à-dire avec une bordure rougeâtre indiquant que le champignon est toujours en croissance), 33,8 % passifs (c'est-à-dire sans bordure rougeâtre, indiquant que le chancre a cessé de se développer) et 23,8 % intermédiaires. Les chancres passifs étaient présents sur tous les sites, avec une incidence allant de 9,1 % (Smolare, MK) à 44,4 % (Kašt, HR), et étaient plus fréquents parmi les chancres infectés par un virus (39,6 %) que parmi les chancres non infectés (8,8 %).

Lors du dernier prélèvement, 51,3 % (Contone, Suisse) à 100 % (Smolare, Macédoine du Nord) des chancres de l'écorce présentaient des stromas de *C. parasitica* à leur surface, avec une valeur moyenne estimée allant de 1,1 (Contone, Suisse) à 2,5 (Smolare, Macédoine du Nord) sur une valeur maximale possible de 3. Sur quatre des six sites, on a observé davantage de chancres sporulants non infectés par le virus que de chancres infectés, sauf à Kašt où des stromas ont été observés sur 60 % des chancres non infectés et 87,1 % des chancres infectés, et à Smolare où tous les chancres présentaient des stromas visibles. Sur tous les sites, la valeur moyenne estimée des stromas était plus élevée sur les chancres non infectés (intervalle : 2–3) que sur les chancres infectés (intervalle : 0,7–2).

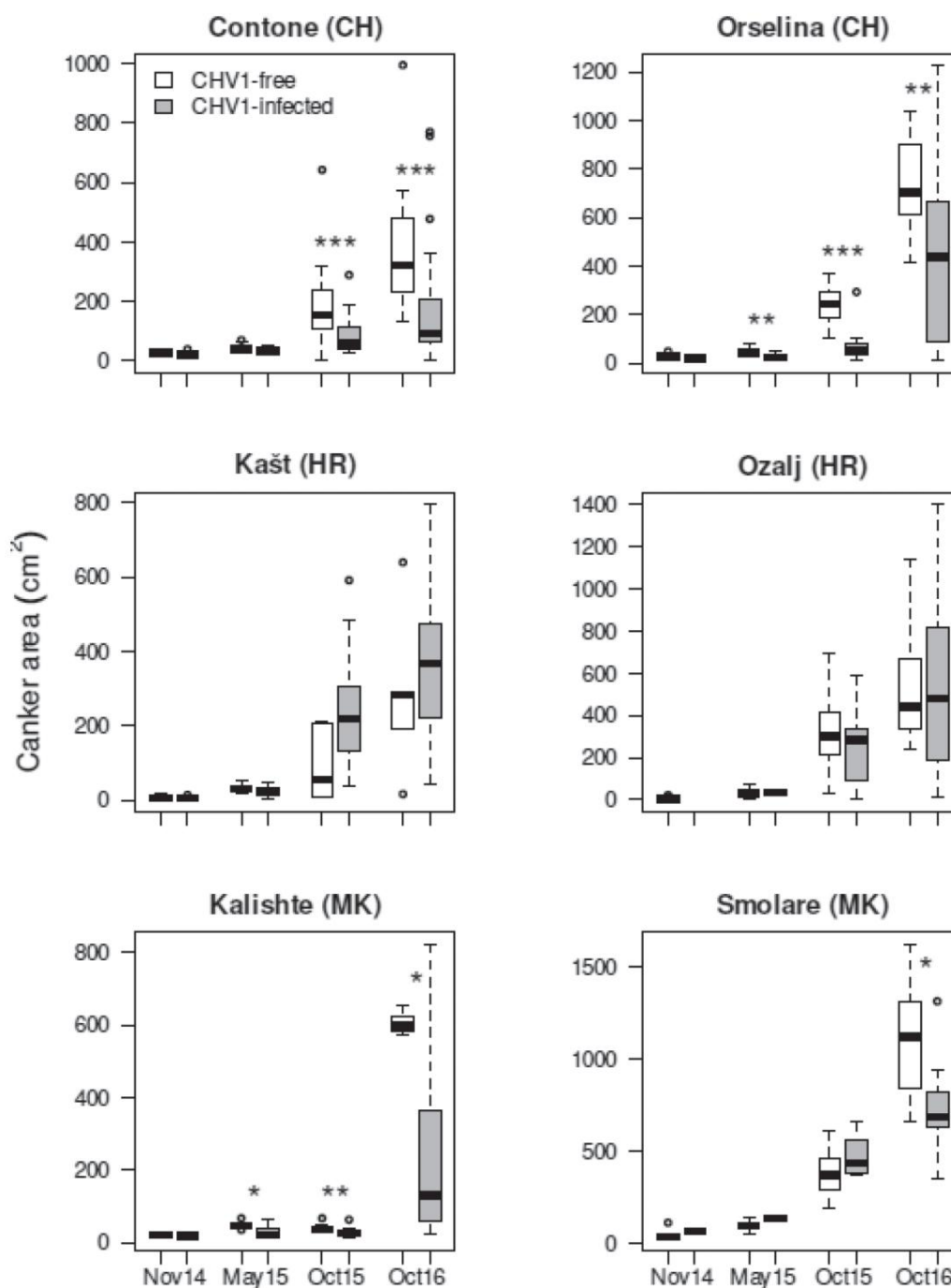


Figure 5. Évolution des chancres de l'écorce de *Cryphonectria parasitica*, infectés ou non par le CHV1, au cours de l'expérience (novembre 2014 à octobre 2016) sur les six sites étudiés en Suisse (Contone, Orselina), en Croatie (Kašt, Ozalj) et en Macédoine du Nord (Kalishte, Smolare). Les barres blanches représentent les chancres non infectés et les barres grises, les chancres infectés par le CHV1. Les différences significatives de surface entre les chancres infectés et non infectés par le CHV1 à un moment donné sont indiquées par des astérisques (test U de Mann-Whitney : *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$).

Dynamique des MLG de *Cryphonectria parasitica* au sein des chancres

Sur tous les sites pour les deux dates d'échantillonnage (octobre 2015 et octobre 2016), les MLG de *C. parasitica* initialement inoculés ont été récupérés à partir des chancres d'écorce inoculés. Cependant, la prévalence globale a diminué à 67,2 % des isolats en octobre 2015, puis à 56 % en octobre 2016 (tableau 3). En Suisse, les MLG fongiques d'origine étaient plus fréquents dans les isolats provenant des chancres du type vc rare.

Tableau 3. Génotypes multilocus (MLG) et types vc des isolats de *Cryphonectria parasitica* récupérés en octobre 2015 et octobre 2016 à partir des chancres d'écorce initiés artificiellement en Suisse, en Croatie et en Macédoine du Nord.

Pays, type de vc inoculé	Octobre 2015				Octobre 2016			
	Isolats (Non)	MLG original et type VC 1	Nouveau MLG, VC type 2 d'origine	Nouveau MLG, nouveau type VC 3	Isolats (Non)	MLG original et type VC 1	Nouveau MLG, VC type 2 d'origine	Nouveau MLG, nouveau type VC 3
Suisse								
UE-1	97	53 (54,6)	38 (39,2)	6 (6,2)	87	41 (47,1)	34 (39,1) 2	12 (13,8)
UE-12	113	108 (95,6)	0	5 (4,4)	79	70 (88,6)	(2,5)	7 (8,9)
Croatie								
UE-1	80	63 (78,8)	16 (20,0) 5	1 (1,2)	79	49 (62,0)	30 (38,0) 9	0
UE-2	31	19 (61,3)	(16,1)	7 (22,6)	34	22 (64,7)	(26,5)	3 (8,8)
Macédoine du Nord								
UE-12	100	40 (40,0)	60 (60,0)	0	85	22 (25,9)	63 (74,1)	0
Total	421	283 (67,2)	119 (28,3)	19 (4,5)	364	204 (56,0)	138 (37,9)	22 (6,1)

1 Nombre (entre parenthèses %) d'isolats présentant le même type MLG et vc que lors de l'inoculation initiale.

2 Nombre (entre parenthèses %) d'isolats avec un MLG différent, mais le même type vc que celui initialement inoculé.

3 Nombre (entre parenthèses %) d'isolats avec un type MLG et vc différent de celui initialement inoculé.

(EU-12) que du type vc commun (EU-1). Les chancres de type vc commun (EU-1) étaient plus fréquemment colonisés par de nouveaux MLG de *C. parasitica* du même type vc que par de nouveaux MLG de types vc différents. En Croatie, les isolats des MLG et types vc originaux étaient prédominants en octobre 2015 et octobre 2016 dans les chancres des deux types vc. En Macédoine du Nord, aux deux dates d'échantillonnage, tous les nouveaux MLG étaient du type vc original EU-12, qui est le type vc dominant dans les populations locales.

À la fin de l'expérience (octobre 2016), des MLG de *C. parasitica* différents de celui initialement inoculé ont été trouvés dans les chancres d'écorce infectés et non infectés par le virus, dans des proportions à peu près similaires (tableau 4) ; environ 45 % des chancres ne présentaient que le MLG initial, 45 % présentaient des MLG mixtes et 10 % ne présentaient que de nouveaux MLG. La plupart des nouveaux MLG (71,4 % dans les chancres infectés par le virus et 80,6 % dans les chancres non infectés par le virus) étaient des MLG de *C. parasitica* différents de celui initialement inoculé.

Tableau 4. Génotypes multilocus (MLG) de *Cryphonectria parasitica* récupérés à partir de chancres d'écorce initiés artificiellement en Suisse, en Croatie et en Macédoine du Nord qui sont devenus infectés par le CHV1 ou sont restés exempts de CHV1 en octobre 2016. Le tableau montre les résultats combinés de l'échantillonnage de 2015 et 2016.

	chancres infectés par le CHV1						chancres exempts de CHV1					
	N°1	Original MLG seulement2	Mixte MLGs3	Nouveaux MLG seulement4	type vc de nouveaux MLGs5		Original MLG uniquement	Mixte MLG	Nouveaux MLG uniquement	type VC de nouveaux MLG		
					Comme inoculé	Différent				Comme inoculé	Différent	
Suisse												
UE-1	29	9 (31,0) 14 (48,3) 14 (60,9)		6 (20,7)	10 (50,0) 10 (50,0) 11 2 (22,2) 7		2 (18,2) 4 (36,4) 14 (93,3)		5 (45,4)	7 (77,8)	2 (22,2)	
UE-12	23	9 (39,1)		0	(77,8) 15		1 (6,7)		0	0	1 (100,0)	
Croatie												
UE-1	35	17 (48,6) 13 (37,1) 9 (47,4)		5 (14,3)	17 (94,4) 6	1 (5,6) 1 (33,3) 2 (66,7) 4 (40,0) 10 5 (50,0) 2			0	2 (100,0) 2	0	
UE-2	19	8 (42,1)		2 (10,5)	(60,0) (20,0)				3 (30,0)	(40,0)	3 (60,0)	
Nord Macédoine												
UE-12	27 7 (25,9) 18 (66,7) 14 (100,0) 133 56 (422) 72 (26,9) 105 (1,3) 55 (71,4) 22 (28,6) 57 26 45 (22,2) 140 (47,8) 14,0) 25 (80,6)								0		0	
Total											6 (19,4)	

1 Nombre total de chancres, à l'exclusion de ceux dont aucun isolat de *C. parasitica* n'a pu être récupéré en 2015 et 2016.

2 Nombre (entre parenthèses %) de chancres à partir desquels seul le *C. parasitica* MLG initialement inoculé a été réisolé en 2015 et 2016.

3 Nombre (entre parenthèses %) de chancres à partir desquels les MLG de *C. parasitica* initialement inoculés ainsi que les nouveaux MLG ont été réisolés au moins une année d'échantillonnage.

4 Nombre (entre parenthèses %) de chancres à partir desquels seuls de nouveaux MLG de *C. parasitica* ont été réisolés en 2015 et 2016.

5. Nombre (entre parenthèses %) de chancres à partir desquels de nouveaux MLG de type vc inoculé ou différent ont été récupérés. Si un chancre a produit de nouveaux MLG de types vc différents et inoculés, il a été comptabilisé comme un chancre de type vc différent.

Les chancres (ker) appartenait au même type vc que la souche initialement inoculée. En Suisse, les chancres du type vc rare (EU-12) présentaient une prévalence plus élevée du MLG d'origine que les chancres du type vc commun EU-1. Ce phénomène était particulièrement marqué pour les chancres exempts de virus. En Croatie, les chancres infectés par le CHV1 présentaient une composition en MLG similaire (originel, mixte, nouveau) pour les deux types vc initialement inoculés. Ce n'était pas le cas pour les chancres exempts de CHV1, mais ce résultat pourrait être partiellement dû au faible nombre de chancres EU-1 (3) à partir desquels *C. parasitica* a pu être isolé. En Macédoine du Nord, 66,7 % des chancres infectés par le CHV1 et 77,8 % des chancres exempts de CHV1 présentaient des MLG mixtes (tableau 4).

Discussion

Un grand avantage de la lutte biologique est sa durabilité potentielle, qui élimine le besoin d'une réintroduction continue de l'agent de lutte biologique (Kenis et al. 2019). Cependant, lorsque le BCA est un mycovirus parasite présent exclusivement dans le cytoplasme d'un champignon pathogène, l'incompatibilité végétative constitue un mécanisme d'exclusion important qui peut limiter sa dissémination dans la population fongique. L'incompatibilité végétative limite les échanges cytoplasmiques entre souches fongiques incompatibles et, par conséquent, la propagation des mycovirus (Caten 1972). Dans cette étude, nous avons testé l'efficacité du CHV1, agent de lutte biologique naturel contre le chancre du châtaignier, au sein de populations européennes de *C. parasitica* présentant une hypovirulence naturelle. Pour ce faire, nous avons induit artificiellement des chancres de l'écorce à l'aide d'isolats de *C. parasitica* exempts de virus, appartenant à différents génotypes multilocus et types vc, et nous avons suivi leur évolution pendant 26 mois (août 2014 – octobre 2016).

Des chancres d'écorce, induits artificiellement par des types vc locaux, ont été infectés par le CHV1 au cours de l'expérience sur tous les sites expérimentaux. Indépendamment de la fréquence du type vc responsable du chancre dans la population locale de *C. parasitica*, la probabilité d'infection des chancres par le CHV1 a augmenté significativement avec le temps. Vingt-six mois après leur apparition, 32 à 88 % des chancres (selon le site) étaient infectés par le CHV1 et, sur tous les sites, les taux d'infection étaient supérieurs aux prévisions d'un modèle basé sur les taux de transmission *in vitro* publiés par Cortesi et al. (2001). Ces résultats reposent très probablement sur plusieurs conditions : premièrement, la présence d'une quantité suffisante d'inoculum hypovirulent dans la population locale de *C. parasitica*. Étant donné que les chancres induits artificiellement ont été infectés par des souches résidentes de CHV1, on peut supposer que les conidies infectées par le CHV1 sont produites localement au sein de la parcelle d'étude ou dans les châtaigniers environnants. Étant donné la faible capacité de *C. parasitica* à sporuler sur les chancres infectés par un virus présents sur les arbres vivants (Prospero et al., 2006), dans les châtaigniers présentant une hypovirulence établie, l'écorce du bois de châtaignier fraîchement mort (par exemple, les branches cassées, les souches) peut constituer une source importante d'inoculum hypovirulent, comme l'ont démontré expérimentalement Meyer et al. (2019). Le taux élevé d'infection des chancres par le CHV1 pourrait également résulter d'une grande efficacité de *C. parasitica* infecté par le CHV1.

Les conidies transmettent le virus à d'autres souches fongiques après germination et contact physique. Dans la plupart des chancres, nous n'avons pu identifier qu'une seule souche de CHV1 qui a persisté dans le temps ; ainsi, généralement, un seul virus infecte un chancre. Ceci confirme des résultats antérieurs selon lesquels les infections à CHV1 semblent être causées par un seul événement infectieux, la population virale au sein d'un chancre provenant d'une seule souche de CHV1, ce qui signifie que les infections sont chroniques pour le champignon.

hôte (Leigh et al. 2021). Par conséquent, contrairement à ce que nous avons observé pour *C. parasitica* (voir ci-dessous), les chancres semblent constituer un environnement stable pour le CHV1. Deuxièmement, la présence de vecteurs efficaces pour le CHV1. Les conidies sont principalement dispersées par les éclaboussures de pluie ou entraînées le long de la tige (Griffin 1986). Cependant, les oiseaux, les insectes, les acariens ou les poussières transportées par le vent peuvent également les transporter sur de plus longues distances (Heald et Studhalter 1914 ; Wendt et al. 1983 ; Russin et al. 1984). Troisièmement, comme le suggèrent des études antérieures (par exemple, Carbone et al. 2004 ; Brusini et al. 2011 ; Bryner et Rigling 2012), le système d'incompatibilité végétative chez *C. parasitica* est intrinsèquement semble être plus perméable que ce que l'on suppose généralement d'après les données *in vitro*. Cela devient particulièrement évident si l'on considère le facteur temps et la nature pérenne des chancres du châtaignier. Alors que, durant la première année de l'expérience, nous avons observé des taux de transmission virale inférieurs ou égaux aux valeurs estimées,

Pour plusieurs chancres inoculés, à la fin de l'expérience, tous les chancres, quel que soit le génotype de *C. parasitica* initialement inoculé, présentaient des taux d'infection virale supérieurs aux prévisions. Les différences observées entre les sites quant à la prévalence du CHV1 dans les chancres induits artificiellement, pour tous les types vc, pourraient être dues à des variations dans l'une des trois conditions mentionnées précédemment. Cependant, d'autres variables spécifiques au site (par exemple, la température et l'humidité de l'air) ou des facteurs propres au système (par exemple, la virulence locale du virus) ont également pu influencer la propagation du CHV1. Il est à noter que la prévalence la plus faible de CHV1 à la fin de l'expérience a été observée à Smolare, une population de Macédoine du Nord composée d'un seul type vc (EU-12). Compte tenu de l'absence de barrières dues à l'incompatibilité végétative, en théorie, de telles populations clonales de *C. parasitica* devraient être facilement colonisées par le CHV1. Cependant, cette population présentait également la plus faible prévalence naturelle du virus avant le début de notre expérience (Ježić et al. 2021), ce qui a probablement eu un impact sur le taux d'infection et a entraîné une prévalence plus faible à la fin de l'expérience.

Une infection par le CHV1 a entraîné une diminution significative du taux d'expansion des chancres de l'écorce en Suisse et en Macédoine du Nord, et ce, relativement rapidement. En Croatie, à la fin de l'expérience, aucune différence notable de taille n'a été observée entre les chancres infectés et non infectés. Plusieurs facteurs pourraient expliquer ce résultat : une infection tardive par le CHV1 (particulièrement à Ozalj), une virulence moindre des souches locales de CHV1, ou une plus grande sensibilité des populations locales de châtaigniers à *C. parasitica* (Ježić et al., 2024). L'infection virale a induit une diminution significative du taux de sporulation sur tous les sites, mais cet effet n'est devenu visible qu'à la fin de l'expérience. Des réductions du taux d'expansion des chancres infectés par le virus ont déjà été rapportées, notamment par Bissegger et al. (1997) et Bryner et al. (2014).

Ces résultats suggèrent que l'effet d'une infection par le CHV1 sur le développement du chancre est généralement marqué et rapide. Sachant que les chancres non infectés par le virus se développent assez rapidement (dans notre étude : croissance moyenne de 16 cm par an ; données non présentées), une réponse rapide, c'est-à-dire un arrêt de la croissance du chancre après infection par le CHV1, est probablement nécessaire à la survie de l'arbre. Compte tenu de cette observation et de la propagation efficace du CHV1, nous pensons que les chancres infectés ne sont pas mortels pour les rejets de châtaignier. Dans plusieurs cas, nous avons observé la formation d'un cal sur les chancres infectés par l'hypovirus à la fin de l'expérience, ce qui indique que le processus de cicatrisation induit par les arbres hôtes a déjà commencé (voir le matériel supplémentaire 4).

L'infection par le CHV1 semblait ralentir, mais non stopper complètement, la progression du chancre, il est primordial que cette infection ait lieu le plus tôt possible après l'apparition du chancre.

La réduction de la sporulation de *C. parasitica* à la surface des chancres de l'écorce a un effet ambivalent sur la lutte biologique contre le chancre du châtaignier, car elle diminue les risques de propagation tant pour le pathogène que pour l'agent de lutte biologique. Compte tenu de l'importance des spores asexuées pour la dissémination du CHV1 (Prospero et al., 2006), une souche idéale de CHV1 pour la lutte biologique devrait être capable de réduire significativement l'expansion des chancres sans inhiber complètement la sporulation de la souche fongique infectée, et de préférence produire des conidies présentant une forte incidence de CHV1.

L'utilisation de marqueurs microsatellites a permis de détecter de nouveaux génotypes de *C. parasitica* dans les chancres induits artificiellement, pour tous les types vc, sur l'ensemble des sites d'étude. Ceci révèle que les chancres d'écorce, pérennes et apparemment stables, constituent en réalité un environnement très dynamique pour le pathogène. Un chancre existant peut être envahi non seulement par de nouvelles souches de son propre type vc, mais aussi par de nouvelles souches de types vc différents. Un renouvellement des souches de *C. parasitica* de différents types vc a été précédemment rapporté par Ježić et al. (2018) dans des chancres d'écorce naturels en Croatie, rééchantillonnés sur une période de trois ans. Concernant l'épidémiologie du chancre du châtaignier, ce phénomène montre que non seulement l'écorce saine, mais aussi l'écorce déjà colonisée (chancre) peuvent constituer un substrat propice à de nouvelles infections par *C. parasitica*.

Globalement, la présence de l'agent de lutte biologique dans un chancre de l'écorce ne semble pas avoir d'incidence significative sur les chances d'établissement de nouveaux génotypes fongiques au sein du chancre. Au contraire, l'immigration observée de nouveaux *C. parasitica* L'introduction de génotypes dans les chancres existants constitue la base de l'infection de ces chancres par le CHV1, car le virus ne possède pas de phase extracellulaire et ne peut se propager qu'accompagné du champignon. Le CHV1 étant transmis uniquement par des spores asexuées (conidies), on peut supposer que les conidies infectées transportent le virus vers de nouveaux chancres. La transmission virale a alors lieu après la germination des conidies, suivie d'une anastomose hyphale avec la souche de *C. parasitica* responsable du chancre. Les ascospores sexuées (toujours exemptes de virus) et les conidies exemptes de virus ne sont pas impliquées dans la propagation du CHV1, mais ont très probablement contribué à l'établissement de nouvelles souches fongiques au sein des chancres existants, car de nouveaux génotypes fongiques ont également été trouvés dans des chancres exempts de virus. Notre étude suggère que l'introduction de nouveaux génotypes dans les chancres existants est un processus inhérent à l'épidémiologie de *C. parasitica*, contribuant significativement à la propagation du CHV1.

Conclusion

Notre expérience en plein champ a démontré la grande efficacité du CHV1 comme agent de lutte biologique contre le chancre du châtaignier chez des populations de *C. parasitica* présentant une hypovirulence naturelle. De nouveaux chancres de différents types vc ont été rapidement infectés par le CHV1, ce qui a principalement affecté négativement leur activité (croissance et sporulation), augmentant ainsi les chances de survie des rejets de châtaignier. De plus, les barrières d'incompatibilité végétative se sont avérées beaucoup moins efficaces en conditions réelles que ne le laissaient présager les expériences de transmission virale in vitro.

Ce résultat est particulièrement favorable au succès de la lutte biologique contre le chancre du châtaignier en Europe par hypovirulence, bien qu'un point critique potentiel doive être mentionné. Les génotypes vc de *C. parasitica* utilisés pour induire les chancres étaient déjà présents dans les châtaigniers ou la région concernés ; autrement dit, l'introduction de nouveaux chancres n'a pas modifié significativement la diversité génétique (y compris les génotypes vc).

diversité de types) de la population fongique résidente. Par conséquent, nos résultats et conclusions ne peuvent pas être automatiquement transposés à des types vc génétiquement éloignés.

Ces souches se rencontrent dans les populations de *C. parasitica* hors d'Europe (par exemple, en Asie, en Géorgie caucasienne ; Dutech et al., 2012 ; Prospero et al., 2013). Par conséquent, pour garantir le succès de l'hypovirulence en Europe à l'avenir, il est fortement recommandé de renforcer les mesures phytosanitaires actuelles visant à prévenir l'introduction de nouveaux génotypes de *C. parasitica* qui, quelle que soit leur origine géographique, se sont révélés virulents sur les jeunes plants de châtaignier (Dennert et al., 2013).

Remerciements

Cette étude a bénéficié du soutien de la Contribution suisse à l'élargissement dans le cadre du Programme de recherche croato-suisse (projet n° IZHRZ0_180651 : Dynamique de l'infection virale dans la lutte biologique contre un champignon pathogène par un mycovirus) et du projet Weave Suisse-Croatie « Diversité et interactions du microbiome du chancre de l'écorce du chancre du châtaignier (DiveIn-Biome) » (projet du Fonds national suisse de la recherche scientifique n° 10.001.741 ; projet de la Fondation croate pour la science n° HRZZ IPCH-2023-10-1986). Nous remercions Esther Jung, Sven Ulrich et Quirin Kupper pour leur précieuse aide en laboratoire, ainsi qu'Iva Franić pour son aide concernant les analyses réalisées avec le logiciel R.

Informations Complémentaires

Conflit d'intérêts

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts.

Déclaration éthique

Aucune déclaration éthique n'a été rapportée.

Utilisation de l'IA

Aucune utilisation de l'IA n'a été signalée.

Respect des réglementations nationales et internationales

Toutes les souches fongiques utilisées dans cette étude ont été obtenues légalement, dans le respect de la Convention sur la diversité biologique (Convention de Rio).

Financement

Contribution suisse à l'élargissement dans le cadre du programme de recherche croato-suisse, Fonds national suisse de la recherche scientifique, Fondation croate pour la science.

Contributions des auteurs

SP, MJ, MCP, KS, DR : Conceptualisation, Méthodologie, Acquisition de financement ; JMS, DML, MJ, SP, DR : Analyse formelle, Investigation, Visualisation, Rédaction – Version originale, Rédaction – Révision et édition ; MCP, MI, ZK, LK, LN, IPa, IPo, MR, RV, KS : Investigation, Rédaction – Révision et édition.

ORCID de l'auteur

Simone Prospero <https://orcid.org/0000-0002-9129-8556>

Janine Mélanie Schwarz <https://orcid.org/0000-0003-2150-8156>

Marin Jezic <https://orcid.org/0000-0003-3029-7274>

Deborah Marie Leigh <https://orcid.org/0000-0003-3902-2568>

Mirna Curković-Perica <https://orcid.org/0000-0001-6592-6101>
 Marilena Idzović <https://orcid.org/0000-0001-9728-3059>
 Zorana Katanić <https://orcid.org/0000-0001-5555-6434>
 Ljiljana Krstin <https://orcid.org/0000-0002-8542-2741>
 Lucija Nuskern <https://orcid.org/0000-0002-2074-5339>
 Ivana Pavičić <https://orcid.org/0009-0002-0600-9316>
 Igor Poljak <https://orcid.org/0000-0002-8346-1683>
 Kiril Sotirovski <https://orcid.org/0000-0002-6217-4706>
 Mihajlo Risteski <https://orcid.org/0000-0002-3372-4991>
 Romarin Vuković <https://orcid.org/0000-0002-2324-3617>
 Daniel Rigling <https://orcid.org/0000-0002-4338-5364>

Disponibilité des données

Toutes les données qui étayent les conclusions de cette étude sont disponibles dans le texte principal ou dans les informations supplémentaires.

Références

- Anagnostakis SL (1977) Incompatibilité végétative chez *Endothia parasitica*. *Experimental Mycology* 1 : 306–316. [https://doi.org/10.1016/S0147-5975\(77\)80006-6](https://doi.org/10.1016/S0147-5975(77)80006-6)
- Anagnostakis SL (1988) *Cryphonectria parasitica*, agent causal du chancre du châtaignier. *Advances in Plant Pathology* 6 : 123–136. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-033706-4.50011-6>
- Bissegger M, Rigling D, Heiniger U (1997) Structure de la population et développement de la maladie causée par *Cryphonectria parasitica* dans les châtaigneraies européennes en présence d'hypovirulence naturelle. *Phytopathology* 87 : 50-59. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1997.87.1.50>
- Brusini J, Robin C (2013) Transmission des mycovirus réexaminée par appariement in situ d'isolats végétativement incompatibles de *Cryphonectria parasitica*. *Journal of Virological Methods* 187 : 435–442. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2012.11.025>
- Bryner SF, Rigling D (2012) Virulence de l'hypovirus et incompatibilité végétative dans les populations du champignon du chancre du châtaignier. *Phytopathology* 102 : 1161–1167. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-12-0013-R>
- Bryner SF, Sotirovski K, Akilli S et al. (2013) Valeur informative de la morphologie des chancres sur la présence ou l'absence d'infection virale dans les chancres du chancre du châtaignier. *Forest Pathology* 43 : 496-504. <https://doi.org/10.1111/efp.12063>
- Bryner SF, Prospero S, Rigling D (2014) Dynamique de l'infection par l'hypovirus *Cryphonectria* dans les chancres du chancre du châtaignier. *Phytopathology* 104 : 918–925. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-13-0069-R>
- Carbone I, Liu YC, Hillman BI et al. (2004) Recombinaison et migration de l'hypovirus *Cryphonectria* 1, déduites des généalogies géniques et de la coalescence. *Genetics* 166 : 1611–1629. <https://doi.org/10.1534/genetics.166.4.1611>
- Caten CE (1972) Incompatibilité végétative et infection cytoplasmique chez les champignons. *Journal of General Microbiology* 72 : 221–229. <https://doi.org/10.1099/00221287-72-2-221>
- Choi GH, Nuss DL (1992) Hypovirulence du champignon responsable du chancre du châtaignier conférée par un ADNc viral infectieux. *Science* 257 : 800-804. <https://doi.org/10.1126/science.1496400>
- Cornejo C, Šever B, Kupper Q et al. (2019) Un test de génotypage multiplexé pour déterminer l'incompatibilité végétative et le type d'accouplement chez *Cryphonectria parasitica*. *European Journal of Plant Pathology* 155 : 81–91. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01751-w>

- Cortesi P, McCulloch CE, Song H et al. (2001) Contrôle génétique de la transmission horizontale du virus chez le champignon responsable du chancre du châtaignier, *Cryphonectria parasitica*. *Genetics* 159 : 107–118. <https://doi.org/10.1093/genetics/159.1.107>
- Cortesi P, Milgroom MG (1998) Génétique de l'incompatibilité végétative chez *Cryphonectria parasitica*. *Applied and Environmental Microbiology* 64 : 2988–2994. <https://doi.org/10.1128/aem.64.8.2988-2994.1998>
- Ćurković-Perica M, Ježić M, Rigling D (2022) Les mycovirus comme éléments antivirulents des agents pathogènes fongiques. Dans : Hurst CJ (éd.) *Le rôle biologique d'un virus*. *Advances in Environmental Microbiology* 9. Springer Nature Switzerland AG, 209–249. https://doi.org/10.1007/978-3-030-85395-2_7
- Dennert F, Meyer JB, Rigling D et al. (2019) Évaluation du risque phytosanitaire posé par une invasion intraspécifique de *Cryphonectria parasitica* en Europe. *Phytopathology* 109 : 2055–2063. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-19-0197-R>
- Dutech C, Barres B, Bridier J et al. (2012) Le tour du monde du champignon responsable du chancre du châtaignier : introductions successives d'origines diverses chez un champignon pathogène invasif des plantes. *Molecular Ecology* 21 : 3931–3946. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05575.x>
- Griffin GJ (1986) Le chancre du châtaignier et sa lutte. *Horticultural Reviews* 8 : 291–336. <https://doi.org/10.1002/9781118060810.ch8>
- Heald FD, Studhalter RA (1914) Les oiseaux comme vecteurs du champignon du chancre du châtaignier. *Journal of Agricultural Research* 2 : 405–422.
- Heiniger U, Rigling D (1994) Lutte biologique contre le chancre du châtaignier en Europe. *Annal Review of Phytopathology* 32 : 581–599. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.32.090194.003053>
- Hillman BI, Suzuki N (2004) Virus du champignon responsable du chancre du châtaignier. *Advances Virus Research* 63 : 423–472. [https://doi.org/10.1016/S0065-3527\(04\)63007-7](https://doi.org/10.1016/S0065-3527(04)63007-7)
- Hoegger PJ, Rigling D, Holdenrieder O et al. (2000) Structure génétique des populations nouvellement établies de *Cryphonectria parasitica*. *Mycological Research* 104 : 1108–1116. <https://doi.org/10.1017/S0953756299002397>
- Ježić M, Mlinarec M, Vuković R et al. (2018) Les changements dans les populations de *Cryphonectria parasitica* affectent la lutte biologique naturelle contre le chancre du châtaignier. *Phytopathology* 108 : 870–877. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-17-0252-R>
- Ježić M, Schwarz JM, Prospero S et al. (2021) Structure génétique temporelle et spatiale de la population de *Cryphonectria parasitica* et de son hypovirus associé dans une zone d'invasion du chancre du châtaignier en Europe. *Phytopathology* 111 : 1327–1337. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-20-0405-R>
- Ježić M, Nuskern L, Peranić K et al. (2024) Variabilité régionale de la tolérance du châtaignier (*Castanea sativa*) à la brûlure. *Plantes* 13 : 3060. <https://doi.org/10.3390/plantes13213060>
- Jombart T, Ahmed I (2011) adegenet 1.3-1 : nouveaux outils pour l'analyse des données SNP à l'échelle du génome. *Bioinformatics* 27 : 3070–3071. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr521>
- Jombart T, Devillard S, Balloux F (2010) Analyse discriminante des composantes principales : une nouvelle méthode pour l'analyse des populations génétiquement structurées. *BMC Genetics* 11 : 94. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-11-94>
- Kenis M, Hurley BP, Colombari F et al. (2019) *Guide de la lutte biologique classique contre les insectes ravageurs dans les forêts plantées et naturelles*, FAO Forestry Paper No. 182. Rome, FAO.
- Leigh DM, Peranić K, Prospero S et al. (2021) Le séquençage à longues lectures révèle les facteurs évolutifs de la diversité intra-hôte lors d'infections naturelles par des mycovirus à ARN. *Virus Evolution* 7 : 1–14. <https://doi.org/10.1093/ve/veab101>

- Liebholt AM, Brockerhoff EG, Kalisz S et al. (2017) Invasions biologiques dans les écosystèmes forestiers. *Biological Invasions* 19 : 3437–3458. <https://doi.org/10.1007/s10530-017-1458-5>
- Meyer JB, Chalmandrier L, Fässler F et al. (2019) Rôle du bois mort frais dans l'épidémiologie et la lutte biologique contre un champignon pathogène invasif des arbres. *Plant Disease* 103 : 430–438. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-18-0796-RE>
- Mlinarec, J, Ježić M, Ćosić J et al. (2018) Un test PCR multilocus révèle une grande diversité de types de compatibilité végétative dans les populations de *Cryphonectria parasitica* en Croatie. *Pathologie végétale* 67 : 741–749. <https://doi.org/10.1111/ppa.12751>
- Nuss DL (2005) Hypovirulence : mycovirus à l'interface champignon-plante. *Nature Reviews Microbiology* 3 : 632–642. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1206>
- Paradis E, Claude J, Strimmer K (2004) APE : analyses de la phylogénétique et de l'évolution en langage R. *Bioinformatics* 20 : 289–290. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg412>
- Paradis E (2010) pegas : un package R pour la génétique des populations avec une approche intégrée et modulaire. *Bioinformatics* 26 : 419–420. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp696>
- Pike CC, Koch J, Nelson CD (2021) Amélioration génétique pour la résistance aux ravageurs des arbres : succès, défis et guide pour l'avenir. *Journal of Forestry* 119(1) : 96–105. <https://doi.org/10.1093/jofore/fvaa049>
- Prospero S, Rigling D (2012) Génétique de l'invasion du champignon responsable du chancre du châtaignier, *Cryphonectria parasitica*, en Suisse. *Phytopathology* 102 : 73–82. <https://doi.org/10.1094/PHTO-02-11-0055>
- Prospero S, Rigling D (2016) Utilisation de marqueurs moléculaires pour évaluer l'établissement et la propagation d'un mycovirus appliqué comme agent de lutte biologique contre le chancre du châtaignier. *BioControl* 61 : 313–323. <https://doi.org/10.1007/s10526-015-9713-0>
- Prospero S, Cleary M (2017) Effets de la variabilité de l'hôte sur la propagation des forêts envahissantes maladies. *Forêts* 8 : 80. <https://doi.org/10.3390/f8030080>
- Prospero S, Conedera M, Heiniger U et al. (2006) Activité saprophyte et sporulation de *Cryphonectria parasitica* sur bois de châtaignier mort dans des forêts à hypovirulence naturellement établie. *Phytopathology* 96 : 1337–1344. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-1337>
- Prospero S, Lutz A, Tavazde B et al. (2013) Découverte d'un nouveau pool génétique et d'une grande diversité génétique du champignon responsable du chancre du châtaignier, *Cryphonectria parasitica*, en Géorgie caucasienne. *Infection, Genetics and Evolution* 20 : 131–139. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.08.009>
- Prospero S, Botella L, Santini A et al. (2021) Lutte biologique contre les maladies forestières émergentes : comment passer des rêves à la réalité ? *Forest Ecology and Management* 496 : 119377. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2021.119377>
- Ramsfield TD, Bentz BJ, Faccoli M et al. (2016) La santé des forêts dans un monde en mutation : effets de la mondialisation et du changement climatique sur les impacts des insectes et des pathogènes forestiers. *Forestry* 89 : 245–252. <https://doi.org/10.1093/forestry/cpw018>
- Rigling D, Prospero S (2018) *Cryphonectria parasitica*, l'agent causal du chancre du châtaignier : historique de l'invasion, biologie des populations et lutte contre la maladie. *Molecular Plant Pathology* 19 : 7–20. <https://doi.org/10.1111/mpp.12542>
- Rigling D, Robin C, Prospero S (2021) Lutte biologique par les mycovirus. *Encyclopédie de virologie* (quatrième édition), Elsevier 4 : 468–477. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809633-8.21516-1>
- Russin JS, Shain L, Nordin GL (1984) Insectes vecteurs de souches virulentes et hypovirulentes cytoplasmiques du champignon responsable du chancre du châtaignier. *Journal of Economic Entomology* 77 : 838–846. <https://doi.org/10.1093/jee/77.4.838>

Thakur MP, van der Putten WA, Cobben MMP et al. (2019) Invasions microbiennes dans les écosystèmes terrestres. *Nature Reviews Microbiology* 1 : 621–631. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0236-z>

Villesen P (2007) FaBox : une boîte à outils en ligne pour les séquences fasta. *Molecular Ecology Notes* 7 : 965–968. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01821.x>

Wendt R, Weidhaas J, Griffin GJ et al. (1983) Association d' *Endothia parasitica* avec des acariens isolés de chancres sur des châtaigniers américains. *Plant Disease* 67: 757–758. <https://doi.org/10.1094/PD-67-757>

Matériel supplémentaire 1

Génotypes multilocus de *Cryphonectria parasitica* résidents et inoculés dans les six sites d'étude

Auteurs : Simone Prospero, Janine Melanie Schwarz, Marin Ježić, Deborah Marie Leigh, Mirna Ćurković-Perica, Marilena Idžojić, Zorana Katanić, Ljiljana Krstin, Lucija Nusk-ern, Ivana Pavičić, Igor Poljak, Kiril Sotirovski, Mihajlo Risteski, Rosemary Vuković, Daniel Rigling

Type de données : xlsx

Note explicative : Génotypes microsatellites résidents et inoculés de *Cryphonectria parasitica*.

Avis de droit d'auteur : cet ensemble de données est mis à disposition sous la licence Open Database License (<http://opendatacommons.org/licenses/odbl/1.0/>). La licence Open Database License (ODbL) est un accord de licence destiné à permettre aux utilisateurs de partager, modifier et utiliser librement cet ensemble de données tout en maintenant cette même liberté pour les autres, à condition que la source originale et l'auteur (ou les auteurs) soient crédités.

Lien : <https://doi.org/10.3897/imafungus.17.173675.suppl1>

Matériel supplémentaire 2

Des souches de CHV1 ont été détectées dans des chancres d'écorce individuels causés par *Cryphonectria parasitica*, à au moins deux dates d'échantillonnage en Suisse, en Croatie et en Macédoine du Nord.

Auteurs : Simone Prospero, Janine Melanie Schwarz, Marin Ježić, Deborah Marie Leigh, Mirna Ćurković-Perica, Marilena Idžojić, Zorana Katanić, Ljiljana Krstin, Lucija Nusk-ern, Ivana Pavičić, Igor Poljak, Kiril Sotirovski, Mihajlo Risteski, Rosemary Vuković, Daniel Rigling

Type de données : xlsx

Note explicative : des souches de CHV1 ont été détectées dans les chancres provoqués artificiellement.

Avis de droit d'auteur : cet ensemble de données est mis à disposition sous la licence Open Database License (<http://opendatacommons.org/licenses/odbl/1.0/>). La licence Open Database License (ODbL) est un accord de licence destiné à permettre aux utilisateurs de partager, modifier et utiliser librement cet ensemble de données tout en maintenant cette même liberté pour les autres, à condition que la source originale et l'auteur (ou les auteurs) soient crédités.

Lien : <https://doi.org/10.3897/imafungus.17.173675.suppl2>

Matériel supplémentaire 3

Taux d'infection par le chancre attendu par le CHV1 et taux d'infection par le chancre observés aux quatre points d'échantillonnage des six sites d'étude en Suisse, Croatie et Macédoine du Nord

Auteurs : Simone Prospero, Janine Melanie Schwarz, Marin Ježić, Deborah Marie Leigh, Mirna Ćurković-Perica, Marilena Idžojtić, Zorana Katanić, Ljiljana Krstin, Lucija Nusk-ern, Ivana Pavičić, Igor Poljak, Kiril Sotirovski, Mihajlo Risteski, Rosemary Vuković, Daniel Rigling

Type de données : xlsx

Note explicative : Taux d'infection par le CHV1 des chancres provoqués artificiellement.

Avis de droit d'auteur : cet ensemble de données est mis à disposition sous la licence Open Database License (<http://opendatacommons.org/licenses/odbl/1.0/>). La licence Open Database License (ODbL) est un accord de licence destiné à permettre aux utilisateurs de partager, modifier et utiliser librement cet ensemble de données tout en maintenant cette même liberté pour les autres, à condition que la source originale et l'auteur (ou les auteurs) soient crédités.

Lien : <https://doi.org/10.3897/imafungus.17.173675.suppl3>

Matériel supplémentaire 4

Développement de chancres de l'écorce à *Cryphonectria parasitica* induits artificiellement.

Auteurs : Simone Prospero, Janine Melanie Schwarz, Marin Ježić, Deborah Marie Leigh, Mirna Ćurković-Perica, Marilena Idžojtić, Zorana Katanić, Ljiljana Krstin, Lucija Nusk-ern, Ivana Pavičić, Igor Poljak, Kiril Sotirovski, Mihajlo Risteski, Rosemary Vuković, Daniel Rigling

Type de données : pdf

Note explicative : Morphologie des chancres d'écorce provoqués artificiellement.

Avis de droit d'auteur : cet ensemble de données est mis à disposition sous la licence Open Database License (<http://opendatacommons.org/licenses/odbl/1.0/>). La licence Open Database License (ODbL) est un accord de licence destiné à permettre aux utilisateurs de partager, modifier et utiliser librement cet ensemble de données tout en maintenant cette même liberté pour les autres, à condition que la source originale et l'auteur (ou les auteurs) soient crédités.

Lien : <https://doi.org/10.3897/imafungus.17.173675.suppl4>