UNIVERSITÉ DE LORRAINE | BIBLIOTHÈQUES UNIVERSITAIRES

AVERTISSEMENT
DROIT D'AUTEUR

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document. Toute contrefaçon, plagiat ou reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact bibliothèque : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr
(Cette adresse ne permet pas de contacter les auteurs)

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

UNIVERSITÉ DE LORRAINE
34 COURS LÉOPOLD — CS 25233
54052 NANCY CEDEX
TÉL : 03 54 50 54 00
CONTACT@UNIV-LORRAINE.FR
WWW.UNIV-LORRAINE.FR

Ecole doctorale n°607 SIReNa
INRAE – Unité Mixte de Recherche Interactions Arbres-Microorganismes
ANSES – Laboratoire de la Santé des Végétaux - Mycologie

Thèse de doctorat

Présentée et soutenue publiquement pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LORRAINE

Mention : Biologie et écologie des forêts et des agrosystèmes

Par Elodie MULLER

Sous la direction de Benoit Marçais, Jaime Aguayo et Mireia Gomez-Gallego

Dynamique écologique d'un pathogène envahissant : *Cryptostroma corticale* sur l'érable sycomore

Soutenance publique le 18 décembre 2025

Membres du jury :

Directeurs de thèse	Mr Benoit Marçais	Directeur de recherche, INRAE Grand Est, France
	Mr Jaime Aguayo	Chargé de recherche, ANSES Nancy, France
Encadrante	Mme Gòmez-Gallego Mireia	Ingénieure de recherche, INRAE Grand Est, France
Président du jury	Mr Philippe Reignault	Professeur, ANSES Angers, France
Rapporteurs	Mr Marc Bardin	Directeur de recherche, INRAE Avignon, France
	Mme Catherine Abadie	Directrice de recherche, CIRAD Montpellier, France
Examinatrice	Mme Marie Grosdidier	Ingénieure de recherche, INRAE Avignon, France

Remerciements

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude aux membres de mon jury **Catherine Abadie**, **Marc Bardin**, **Marie Grosdidier** et **Philippe Reignault**, qui ont accepté d'évaluer ce travail de recherche.

Je remercie également les membres de mon comité de suivi **Marc Buée**, **Cyril Dutech** et **Frédéric Suffert** pour leurs remarques constructives et pertinentes, ainsi que leur expertise et les échanges qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Je souhaite ensuite adresser mes remerciements les plus sincères à mes trois encadrants, **Mireia**, **Jaime** et **Benoît**. Merci à vous trois pour votre accompagnement, votre disponibilité et votre confiance tout au long de cette aventure. Mireia, merci pour ta bienveillance, ton écoute et ta capacité à remettre les choses en perspective lorsque tout semblait trop flou ou trop grand. Jaime, merci pour ton enthousiasme communicatif, ton exigence scientifique et les nombreuses discussions qui ont nourri ma réflexion. Benoît, merci pour ton regard toujours juste, le partage de tes connaissances et ton soutien constant. Vous avez chacun contribué, à votre manière, à faire de cette thèse une expérience aussi formatrice qu'humaine. Ce fur un réel plaisir d'aller sur le terrain avec vous malgré les conditions climatiques parfois extrêmes.

Je remercie également toutes les personnes qui ont collaboré de près ou de loin à ce travail :

À **l'équipe ECPF de l'INRAE** : Agathe, Ammar, Anaïs, Axelle, Bénédicte, Benoît, Christophe, Claude, Fabien, Jérémy, Kadiatou, Méline, Mireia, Pascal, Romain, Scott, Thomas. Un grand merci à toute l'équipe pour les moments partagés en salle café, les discussions scientifiques ou complètement décalées : ils ont rendu cette thèse bien plus agréable à vivre. Tout particulièrement, un immense merci à **Axelle** et **Anaïs**, pour tous vos conseils labo, et d'avoir été toujours disponibles pour mes plaintes, mes doutes et les fous rires. Merci à **Claude** pour tes remarques toujours pertinentes et tes conseils avisés. Merci à **Anatole** pour ton excellent travail de stage de M1, à **Thomas** pour les longues et (je le sais) fastidieuses manipulations sur les pièges à spores et pour nos conversations. Merci à toi **Méline** pour nos conversations, complaintes diverses et variées, et ton soutien. Merci **Giuliana et Kadiatou** pour votre bonne humeur pendant vos stages, je vous souhaite le meilleur pour vos thèses. Merci **Fabien** pour tes conseils avisés dans les moments difficiles.

À **l'équipe LSV Mycologie de l'ANSES** : Arielle, Camille, Carole, Cécile, Céline, Jaime, Marion, Marylise, Pablo, Quentin, Renaud, Sylvie, Samuel et Véronique. Particulièrement, un très

grand merci à **Cécile**, tu m'as transmis le goût de la recherche dès mes stages de master et tu m'as guidée avec bienveillance tout au long de mon parcours. Merci **Céline** pour tes conseils toujours justes, **Carole** pour ta disponibilité légendaire (même face à mes questions de curiosité), et évidemment merci à **Arielle, Camille et Marylise**, vous êtes mes piliers. Merci à toute l'équipe, pour votre soutien au fil des années ainsi que tous les repas et pauses café partagés toujours dans la bonne humeur.

De l'autre côté de l'Atlantique, je souhaite remercier **Jared** pour son accueil dans son laboratoire, sa disponibilité et sa grande gentillesse. Merci à **Milica**, qui m'a ouvert sa porte et m'a accueillie avec une bienveillance rare, merci d'avoir pris soin de moi pendant cette période si spéciale. Merci à **Alex** et **Ricardo** pour leur patience infinie face à mes débuts hésitants en analyses de données génomiques, j'ai tant appris grâce à vous. Et merci à **Zac** pour ses conseils avisés en codage, toujours précieux. Merci également à toute l'équipe pour l'accueil et les repas avec les postdocs. Enfin, merci à ma team **Lucia**, **Milica**, **Alex**, **Bruno**, **Srijana**, **Sergio**, **Amelie** et **Hugo** pour toutes les sorties, qu'elles aient eu lieu dans la nature ou au bar : *Downward Dog*, *Squirrels and Peacock forever !*

Merci aussi à tous ceux qui ont été présents tout au long de ces années : les amies et amis qui m'ont portée, encouragée, et qui, je le sais, ne me lâcheront jamais.

Mes amis toujours prêts à me changer les idées autant au bar qu'en soirée jeux ou à la salle : **Arielle**, **Thibault**, **Marine**, **Benoit**, **Vanille**, **Esteban**, **Fanny**, **Simon**, **Arthur**.
Mes amis de loin mais jamais vraiment très loin : Merci Ma **Tartine** d'être toujours présente pour moi, me soutenir, me faire rire et me remotiver dans les moments difficiles. Ma **Clairette**, toujours douce et pétillante, merci pour notre voyage incroyable. Un trio infernal de blagues de merde finalement. **Greg**, mon double d'Avignon, tu sais déjà. **Thomas**, toujours des mots réfléchis et justes.
Alexia, un soutien sans faille, on refait des escapades imprévues à Europa Park quand tu veux.
Mes **Morganes**, sur le même continent ou sur un autre, mes influenceuses préférées.
Ma clic', toujours présente depuis le collège et le lycée : **Emeline**, **Léa**, **Camille**, **Clara** et **Céleste**. Sans oublier **Yann** et nos challenges de muscu du dimanche matin.

Enfin, je remercie du fond du cœur **mes parents, ma sœur et Hugo**, pour leur soutien indéfectible, leur patience et leur confiance en moi, même dans les moments de doute.

Vous m'avez tous aidés, de quelque façon que ce soit, à me construire et à faire de moi ce que je suis aujourd'hui.

Table des matières

Remerciements I

Table des matières III

Liste des figures VII

Liste des tables XI

Introduction générale 1

1. Contexte général 3

1.1. Les changements globaux 3

1.2. Les émergences de maladies en forêt 5

1.3. Les maladies émergentes déclenchées par la sécheresse 9

2. La maladie de la suie causée par *Cryptostroma corticale* 11

2.1. La répartition dans le monde 11

2.2. Les symptômes de la maladie de la suie 12

2.3. Taxonomie et histoire de la description de *Cryptostroma corticale* 15

2.4. Cycle de vie de *Cryptostroma corticale* 17

2.5. L'émergence de la maladie liée au climat 18

2.6. Biologie de *Cryptostroma corticale* 20

2.7. Les méthodes d'identification et de détection 24

3. Les hôtes reportés 25

4. La maladie des écorceurs d'érable 27

5. Axes de recherches et objectifs de la thèse 29

CHAPITRE 1 : Prévalence dans les hôtes asymptomatiques – Etude en France 31

Widespread latent presence of *Cryptostroma corticale* in sycamore maple in France 33

ABSTRACT 34

1. INTRODUCTION 35

2. MATERIAL AND METHODS 37

2.1. Field sampling 37
2.2. DNA extraction and detection in asymptomatic-looking trees 40
2.3. Isolation from symptomatic samples 42
2.4. Statistical analyses 42
3. RESULTS 44
3.1. Disease prevalence 44
3.2. Latent *C. corticale* prevalence in asymptomatic trees 45
3.3. Environmental variables 47
4. DISCUSSION 49
5. ACKNOWLEGMENT 54
6. REFERENCES 54
7. SUPPLEMENTARY DATA 59
CHAPITRE 2 : Distribution dans les tissus de l'hôte asymptomatique 63
Latent distribution of *Cryptostroma corticale* in asymptomatic woody tissues of sycamore maple trees 65
ABSTRACT 66
1. INTRODUCTION 67
2. MATERIALS AND METHODS 69
2.1. Field sampling 69
2.2. Sample treatment and *Cryptostroma corticale* detection 71
2.3. *Cryptostroma corticale* isolation 72
2.4. Statistical analyses 72
3. RESULTS 73
3.1. Stained wood in sampled trees 73
3.2. Impact of height and depth on latent presence of *Cryptostroma corticale* 75
3.3. Comparison of sampling methods 76
3.4. *Cryptostroma corticale* isolation 77
4. DISCUSSION 78

5. ACKOWLEDGEMENTS 80
6. REFERENCES 81
CHAPITRE 3 : Aérobiologie du pathogène 85
Cryptostroma corticale spore production pattern across seasons in different landscapes 87
ABSTRACT 88
1. INTRODUCTION 89
2. MATERIALS AND METHODS 91
2.1. Field sampling 91
2.2. Sample treatment and *Cryptostroma corticale* detection 93
2.3. Climatic data 94
2.4. Statistical analyses 95
3. RESULTS 95
3.1. Phenology of *C. corticale* 95
3.2. Sampling methods 97
3.3. Climatic variables and distance to infected trees affect airborne spore presence 97
4. DISCUSSION 100
5. ACKNOWLEDGEMENTS 104
6. REFERENCES 104
Discussion générale 109
1. Avancées sur l'étiologie de la maladie de la suie 111
2. De nouvelles pistes sur la dispersion de *C. corticale* 115
3. Implications pour la gestion de la maladie de la suie 119
Références 123
Résumé 135
Abstract 136

Liste des figures

Figure 1 : Interactions responsables de l'émergence de maladie, par l'évolution de la virulence d'un pathogène ou de son introduction, par l'arrivée d'un nouvel hôte sensible ou l'affaiblissement d'un hôte présent, ou encore par un environnement dégradé. (Issu de Robin and Desprez-Loustau, 2018). 6

Figure 2 : Schéma des mécanismes d'invasion biologique pour les pathogènes forestiers, issu de Paap et al. 2022. 8

Figure 3 : Carte résumant les premières mentions de la maladie de la suie causée par *Cryptostroma corticale*. 11

Figure 4 : Signes précoces de la maladie de la suie. (a) Mortalité de branches dans le houppier ; (b) Présence de gourmands sur le tronc ; (c) Colorations vert-brun à l'intérieur du bois sur arbre sans symptômes apparents après abattage (Photographie de M. Gomez-Gallego) et (d) Colorations vert-brun à l'intérieur du bois sur des grumes coupées (issu de Burgdorf et al. 2025)..... 13

Figure 5 : Symptômes avancés de la maladie de la suie. (a) et (b) Stroma noir développé sous l'écorce d'érables sycomores dans un parc urbain de Nancy. (c) Spores de *Cryptostroma corticale* issues de ces symptômes vu au microscope optique x400..... 14

Figure 6 : Symptômes similaires à *Cryptostroma corticale* causés par (a) *Nectria cinnabarina* (source : Buckinghamshire Fungus Group); (b) *Nemania serpens* (issu de Pourmoghaddam et al., 2022) ; (c) et (d) *Lopadostoma* spp. (issu de Jaklitsch et al., 2014) ; (e) *Eutypa maura* (issu de Botany in Scotland). 15

Figure 7 : Arbre phylogénétique partiel incluant *Cryptostroma corticale*, issu de Tanney et al. 2024. 16

Figure 8 : Cycle de vie de *Cryptostroma corticale* 17

Figure 9 : (a) Croissance in vitro de *C. corticale* à différentes températures d'après Alcock et Wheeler, 1983 ; (b) Mycélium de *Cryptostroma corticale* (LSVM1510) sur milieu artificiel (PDA) après 2 mois de croissance à 25°C. 19

Figure 10 : Modèle prédictif des mentions de la maladie de la suie en fonction du déficit hydrique en France et en Suisse entre 1990 et 2021, issu de Muller et al. 2023..... 20

Figure 11 : Issu de Gregory et Waller 1951 : (a) Schéma de la position et de la structure du stroma noir : Pg, phellogen, R, roof stroma, Col, columns, Cap, capillitium, Sp, spores mass, Phi, phialide layer, F, floor stroma, Phl, phloem, C.S, cambial stroma, M.R., medullary ray ; (b) Schéma des étapes de développement de conidiophores. 21

Figure 12 : Spores de *Cryptostroma corticale* (a) issu de Ogris et al. 2015 et (b) issu de Burgdorf et al. 2022. 22

Figure 13: Carte de la répartition naturelle de l'érable sycomore (*A. pseudoplatanus*) en Europe (zone bleue) et les croix bleues représentent les aires d'introduction et de naturalisation (source EUFORGEN2022 : https://www.euforgen.org/species/acer-pseudoplatanus/) 26
Figure 14 : (a) Records of SBD in France on maples from the DSF database between 1989 and 2024 (red dots), cities from sampled regions of the study (black squares) and natural sycamore maple distribution range (green, EUFORGEN); (b) Selected urban (black), peri-urban (orange) and forest plots (green). 38
Figure 15: Percentage of trees with symptoms of SBD validated by qPCR for each plot type (Urban, Peri-urban and Forest). 44
Figure 16 : Proportion of sampled trees with presence of *C. corticale* per plot type (urban, peri-urban and forest in asymptomatic sycamore maple trees). No significant difference was detected ($p > 0.05$). 46
Figure 17 : Relationship between latent presence of *C. corticale* in sampled trees and local frequency of SBD in the DSF database between 1989 and 2023 within a 50-km buffer around each plot. No relationship was detected ($p > 0.05$). 46
Figure 18 : Proportion of *C. corticale* positive trees as a function of black branches in the crown. The asterix indicates a significant difference ($p < 0.05$). 47
Figure 19 : Importance of variables classified with random forest, with 500 trees and optimal number of randomised variables. Variables improve model fit when mean decrease in accuracy is positive. BA_{susc} = Basal area of susceptible hosts (*A. pseudoplatanus*, *A. platanoides* and *A. campestre*); $P\text{-}ETP_{veg}$ = Water deficit during vegetative season; $P\text{-}ETP_{spr}$ = Water deficit during spring; $P\text{-}ETP_{sum}$ = Water deficit during summer; TX_{veg} = Average daily maximal temperature during vegetative season; TX_{spr} = Average daily maximal temperature during spring; TX_{sum} = Average daily maximal temperature during summer; N25 = Number of days with temperature above 25°C; BA_{ap} = Basal area of *A. pseudoplatanus;* CD_{plot} = Mean percentage of crown dieback in the plot; BB_{plot} = Presence of black branches in the plot; ES_{plot} = Presence of epicormic shoots in the plot; SBD_{val} = Presence of SBD in the plot confirmed by qPCR or isolation. 48
Figure 20 : Model prediction of the endophytic presence of *C. corticale* in sampled trees without SBD symptoms for (a) cumulated water balance in the vegetative season for the 3 previous years (from April to August); and (b) basal area of susceptible hosts (*A. campestre*, *A. platanoides* and *A. pseudoplatanus*) within 50 km of the plots. In both figures, red line is the prediction with the presence of black branches in the tree crown of at least one tree in the plot, and blue line is the prediction without the presence of black branches in the plot. Shaded areas represent the 95% confidence intervals. 49
Figure 21 : Map with the sampled plots (black squares) in the North of France. Red dots are SBD records from the French Forest Health Department database between 1989 and 2024. 69

Figure 22 : (a) Sampling plan at different heights on asymptomatic *Acer pseudoplatanus* trees, red lines represent all cross-sections (tree image generated by Chat GPT) (b) Sampling in a cross-section of at least 8 cm of diameter, in red, the systematic procedure of sampling at different depths and in green additional sampling of stained wood if present within the cross-section. 70
Figure 23 : Stained wood observed during sampling. (a) Cross-section with brown stain. (b) Green stains under the cambium. (c) View of a longitudinal cut of a cross-section. (d) Cross-section with black stain in the centre. (e) Lateral view of a cross-section with brown to black stains. 74
Figure 24 : Model predictions of the presences of stains as a function of sample depth (distance to the cambium). Lines are the predictions at three different tree heights. Shaded areas represent the 95% confidence intervals. Points are proportion of samples with stains at the three different tree heights. 75
Figure 25 : Model predictions of the *C. corticale* detection in unstained (yellow curve), in green-stained (green curve) and brown-stained (brown curve) wood as a function of tree height. Line is the prediction and the shaded area represents the 95% confidence interval. Points are the proportion of positive samples at the different tree heights. Point size represents the number of observations from 1 to 17. 76
Figure 26: Location of the sampled plots 92
Figure 27: (a) Passive spore traps with captors (adhesive surface) in white and negative control in a bag; (b) Active spore traps 93
Figure 28 : (a) Comparison between passive traps (violet line) and active traps (orange line) showing the detection rate of *C. corticale* spores along the year. (b) Comparison of the number of spores detected between three location types in forest (green line), peri-urban (blue line) and urban (orange line), for both types of spore traps. (c) Biweekly climatic data over the year of spore traps' exposure: cumulative precipitation in mm (light blue histogram), mean of daily maximum temperature in °C (burgundy line), mean wind speed in m/s (grey line) and mean relative humidity in % (dark blue line). 96
Figure 29 : Model prediction of the detection of *C. corticale* spores as a function of the mean wind speed (m/s) for active (purple) and passive (orange) spore traps. Lines are the predictions for passive or active spore traps. Shaded areas represent the 95% confidence intervals. Points are the observed number of detected spores for the different values of wind speed. 98
Figure 30: Predicted numbers of C. corticale spores as a function of (a) the daily maximum temperature (°C); and (b) the relative humidity (%) for the 30 days before exposure period, in both plot, wind speed was fixed to 2.88 m/s (median of our dataset). Lines are the predictions. Shaded areas represent the 95% confidence intervals. Points are the observed number of detected spores. 99

Figure 31: Predicted probability of *C. corticale* detection as a function of the distance to the closest diseased tree. Grey points represent the observed proportion of positive traps at each distance class. Model predictions are shown with cyan line, and shaded area represent the 95% confidence intervals. 100

Liste des tables

Table 1 : Variables observed, calculated or estimated at the tree and plot level in this study..... 39

Table 2 : Prevalence in asymptomatic sycamore maple trees in the different regions sampled in this study and the cumulative prevalence in France. N: number of trees sampled in urban, peri-urban and forest plots altogether..... 45

Table 3 : Sampled trees with coordinates and distance to the closest disease outbreak. The projection system of the coordinates is WGS84..... 70

Table 4 : Number and colour of stains found on samples, with the number of positive samples to *C. corticale* specific qPCR assay. Depth represent the mean distance from the cambium ± the standard error. '***' p-value < 0.0001; '**' p-value < 0.001. The differences stated here refer to the absence of stains. 75

Table 5 : Contingency tables with number of samples where *C. corticale* was detected with the systematic sampling along the entire tree compared to the simplified sampling with a cork-borer (a) at the collar (0 m), and (b) at a height of 1.30 m. 77

Table 6 : Other species found within the woody tissues of sampled *Acer pseudoplatanus* by isolation, confirmed by Sanger sequencing (ITS5-4)..... 78

Table 7 : Coordinates of the studied plots (wgs84) and distance from samplers to closest tree with SBD 92

Table 8 : Comparison for the detection of *C. corticale* on the two types of spore traps..... 97

Introduction générale

1. Contexte général

1.1. Les changements globaux

Les changements globaux, désignent un ensemble de modifications à l'échelle de la planète affectant les composantes physiques, biologiques et socio-économiques de façon significative et simultanée. Ces changements incluent le changement climatique, le changement d'usage des sols, la perturbation des cycles biogéochimiques, la pollution, ainsi que le déplacement des espèces au-delà de leurs aires géographiques natives (Tanentzap and Kolmakova, 2023).

Le changement climatique se traduit par l'augmentation de la fréquence et du nombre d'événements climatiques extrêmes observés depuis les années 1950 (IPCC, 2023a). Parmi ces phénomènes on peut noter, en particulier, la multiplication des épisodes de vagues de chaleur, de sécheresses, de fortes précipitations et d'inondations. Certaines régions connaissent déjà une intensification des sécheresses, notamment par augmentation de l'évapotranspiration : avec des températures élevées, l'évapotranspiration augmente, ce qui accentue le stress hydrique même si les précipitations ne baissent pas beaucoup (ICPP, 2023b). Le groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat, le GIEC, note que l'empreinte humaine (émissions de gaz à effet de serre, changements dans la composition atmosphérique) est très probablement la cause principale de ces augmentations de chaleur extrême déjà observées. Toutefois, des incertitudes restent présentes : dans de nombreuses régions, il y a un faible ou moyen degré de confiance quant à l'attribution directe au changement climatique de ces épisodes climatiques extrêmes (ICPP, 2023a).

La vulnérabilité des arbres en milieu urbain est amplifiée : l'effet d'îlot de chaleur urbain, les surfaces imperméabilisées, les sols compactés, la pollution de l'air, accentuent le stress thermique et hydrique, et réduit la capacité des arbres à maintenir une physiologie normale. Une étude récente comparant des espèces d'arbres en milieux urbains versus des arbres en milieux ruraux dans les villes de New York et Boston a montré que les arbres urbains souffrent plus pendant les vagues de chaleur et périodes de sécheresse que les arbres ruraux (Warner et al., 2024). De plus, une étude en Nouvelle-Zélande montre qu'une augmentation de la fréquence et de l'intensité des sécheresses favorise l'expression de

nombreuses maladies des plantes, car le stress hydrique affaiblit les défenses physiologiques des cultures et augmente leur sensibilité aux agents pathogènes (Wakelin et al., 2018).

D'autres facteurs anthropiques sont également liés à ces changements globaux, notamment la modification d'utilisation des territoires, l'augmentation de nos fréquences et longueurs de déplacement et l'augmentation des échanges commerciaux à travers le monde.

Les changements d'usage de sols ont un impact sur la vulnérabilité des forêts. D'un côté, en France, la plupart des changements d'utilisation des sols concernent les terres agricoles qui, depuis 1990, diminuent en surface au profit de l'urbanisation principalement (*L'environnement en France – édition 2019 | Rapport de synthèse*, 2019). D'un autre côté, on observe un doublement de la surface forestière française entre 1908 et 2024 du fait de la déprise agricole et rurale (Inventaire Forestier National, 2024). En revanche, le dépérissement et le taux de mortalité forestier n'ont pas cessé d'augmenter pendant les dernières décennies. En plus de la variation en surface, les affectations des sols entrainent une fragmentation forestière qui modifie les interactions entre hôtes, pathogènes et vecteurs (Holdenrieder et al., 2004; Plantegenest et al., 2007). Les pratiques de gestion forestière peuvent aussi introduire des facteurs de vulnérabilité, comme l'extension de l'usage de certaines espèces d'arbres. Par exemple, le Douglas est devenu en une cinquantaine d'années une espèce significative représentant 5% de la forêt française (Inventaire Forestier National, 2024).

La fragmentation forestière comporte une augmentation de la connectivité entre écosystèmes naturels, agricoles et urbains qui facilite la circulation des agents pathogènes entre milieux, favorisant, par exemple l'apparition de nouvelles maladies dans les forêts périurbaines ou fragmentées (Desprez-Loustau et al., 2007; Guégan et al., 2023; Perkins and Matlack, 2002). Le commerce de plants forestiers pour la reforestation ou l'ornementation urbaine peut servir de pont biologique entre régions autrefois isolées (Brasier, 2008). Les interfaces urbaine-forestière et agricole-forestière peuvent jouer le rôle de passerelles en créant de nouvelles opportunités d'infection et de nouvelles associations agent pathogène-hôte (Guégan et al., 2023; Paap et al., 2017).

L'augmentation du commerce international et des flux de marchandises, notamment de plantes ornementales, de bois et de produits forestiers, constitue l'un des principaux vecteurs d'introduction d'organismes exotiques (insectes, champignons, bactéries, nématodes, Sikes et al., 2018). Selon le rapport IPBES sur les espèces exotiques envahissantes (2023), le volume des échanges mondiaux a été multiplié par plus de sept depuis les années 1970, ce qui a considérablement augmenté les opportunités d'introductions accidentelles (Roy et al., 2024). L'importation de plants est, en effet, l'une des voies principales d'introduction accidentelle de champignons pathogènes dans de nouvelles aires

géographiques (Ghelardini et al., 2017; Puertolas et al., 2021). Les plants introduits peuvent être porteurs de champignons vraisemblablement inoffensifs, étant donné la coévolution leurs hôtes dans leur aire d'origine et l'absence de symptômes, mais qui pourraient éventuellement causer des dégâts dans des nouveaux hôtes et environnements et se disperser dans de nouvelles aires géographiques (Desprez-Loustau et al., 2016; Loo, 2009). Ces introductions sont donc souvent cryptiques, les pathogènes étant transportés dans les substrats, les semences, les tissus végétaux asymptomatiques, mais également dans des produits transformés ou manufacturés contenant des matières végétales (Santini et al., 2013; Vannini et al., 2012).

Le contexte actuel de changement global, modifiant significativement le climat, crée des conditions propices à l'émergence de pathogènes forestiers notamment ceux qui profitent de la fragilité de leurs hôtes. Les événements climatiques extrêmes, tels que les sécheresses ou les épisodes de fortes chaleurs, affaiblissent les arbres et peuvent également favoriser une expression accrue de la virulence de certains agents pathogènes (Desprez-Loustau et al., 2006). Les écosystèmes forestiers comme les arbres en milieu urbain subissent ainsi des pressions croissantes liées à la combinaison du changement climatique et des stress d'origine anthropique.

1.2. Les émergences de maladies en forêt

Une émergence est définie comme « une maladie dont l'incidence réelle augmente de manière significative dans une population donnée, d'une région donnée et durant une période donnée, par rapport à la situation épidémiologique habituelle de cette maladie » (Toma, 2003).

Différents mécanismes directement liés aux changements globaux participent à l'émergence de maladies. Elles peuvent être liées à l'introduction d'un nouvel agent pathogène dans une région où il n'était pas présent avant (Blackburn et al., 2011; Wingfield et al., 2017) ou être liées à la recrudescence d'un agent pathogène déjà présent dont la virulence, la fréquence ou la distribution augmente sur l'effet des changements environnementaux (Desprez-Loustau et al., 2006; Sturrock et al., 2011). Historiquement, le contexte d'apparition d'une maladie émergente s'inscrit dans le cadre conceptuel du « triangle de la maladie » formulé par Stevens en 1960, qui explique la sévérité d'une maladie par l'adéquation entre trois composantes : l'agent pathogène, l'hôte et l'environnement. Une modification de l'un ou plusieurs de ces composants (la virulence du pathogène, la susceptibilité de l'hôte ou les conditions environnementales) peut accroître cette adéquation et entraîner l'émergence d'une maladie (Figure 1). Parmi les sept facteurs listés par Ghelardini et al. (2016) comme responsables d'émergence, l'introduction d'agents pathogènes exotiques est la principale cause modifiant la composante agent pathogène. L'apparition de nouvelles souches virulentes, un essor d'espèces fongiques hybrides ou l'établissement de nouvelles associations entre vecteurs et agents pathogène

peuvent aussi modifier la virulence du pathogène. Le changement climatique est le principal facteur modifiant l'environnement. Enfin, la mise en place de nouvelles cultures et pratiques culturales modifient la composante hôte du triangle parasitaire. Ces émergences sont en constante augmentation au cours des deux derniers siècles (Robin and Desprez-Loustau, 2018; Santini et al., 2013).

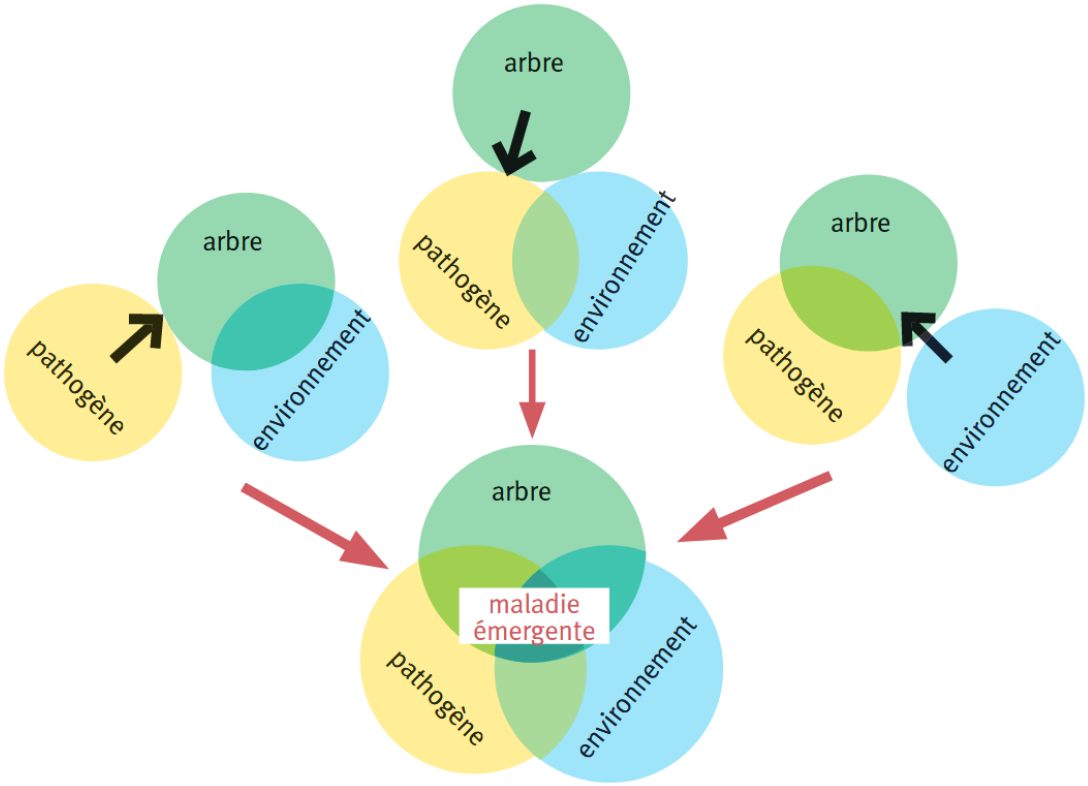


Figure 1 : Interactions responsables de l'émergence de maladie, par l'évolution de la virulence d'un pathogène ou de son introduction, par l'arrivée d'un nouvel hôte sensible ou l'affaiblissement d'un hôte présent, ou encore par un environnement dégradé. (Issu de Robin and Desprez-Loustau, 2018).

Parmi les espèces exotiques introduites, certaines se sont révélées particulièrement dommageables pour les écosystèmes forestiers, provoquant des perturbations durables dans la composition et le fonctionnement des peuplements. L'introduction en France, en 1907, d'*Erysiphe alphitoides* responsable de l'oïdium du chêne a entraîné d'importants dégâts dans les chênaies au début du 20ème siècle, avant que la sévérité de la maladie ne diminue progressivement (Desprez-Loustau et al., 2019). La succession d'introductions d'espèces du genre *Ophiostoma*, responsables de la graphiose de l'orme, ont eu des conséquences majeures et ont conduit à la quasi-disparition des ormes dans les forêts européennes (Brasier, 1991; Gibbs, 1978). Plus récemment, la chalarose du frêne causée par *Hymenoscyphus fraxineus*, illustre bien la dynamique d'une invasion à grande échelle et en particulier la latence souvent importante entre introduction et phase invasive. Probablement introduit en Europe dans les années 1960-1970 depuis l'Asie (Agan et al., 2023), l'agent pathogène a d'abord été détecté

dans les pays baltes avant que les premières épidémies ne soient signalées dans les années 1990 en Europe du Nord et de l'Est. La maladie s'est ensuite propagée à travers l'Europe centrale dans les années 2000 et a colonisé la France entre 2007 et aujourd'hui (Marçais et al., 2022).

Les mécanismes d'invasions biologiques sont décrits comme suivant 4 phases principales que sont : le transport, l'introduction, l'établissement et l'expansion (Figure 2). Chacune de ces phases présente des barrières pour arriver au succès de l'invasion (Blackburn et al., 2011; Paap et al., 2022; Wingfield et al., 2017). La première étape du processus d'invasion correspond au transfert de l'organisme depuis son aire d'origine vers un nouveau territoire, ce qui implique le franchissement d'une barrière géographique (Santini et al., 2013; Sikes et al., 2018). Pour cela, l'espèce doit être en mesure de survivre aux conditions lors du transport. Dans le cas des agents pathogènes, il nécessite un support biologique ou inerte assurant le maintien du pathogène (Ghelardini et al., 2017). La seconde étape est l'introduction dans un nouvel environnement, au cours de laquelle l'espèce doit s'adapter aux conditions locales. Dans de nombreux cas, cette étape se produit d'abord dans les milieux artificiels tels que les pépinières, les parcs, ou zones de stockage, qui vont jouer un rôle d'interface entre le milieu d'origine et les écosystèmes naturels (Paap et al., 2017). La troisième étape est l'établissement de la population dans un nouvel environnement naturel, c'est-à-dire réussir à survivre, se reproduire et maintenir une population viable. Pour cela, il doit rencontrer un hôte compatible, ce qui implique souvent un saut d'hôte (Paap et al., 2022). L'espèce introduite devra, d'autre part, passer d'un environnement relativement stable à un milieu naturel variable et soumis aux contraintes biotiques et abiotiques. Pour cela elle devra bénéficier de conditions environnementales favorables. L'espèce doit donc avoir un potentiel colonisateur important avec un taux de reproduction, un accès aux ressources et un taux de survie suffisamment important. De plus, les conditions climatiques peuvent favoriser cette étape. L'écosystème devra être vulnérable à l'établissement et à la prolifération d'une espèce introduite. Elle dépend notamment du degré de perturbation du milieu, de la disponibilité en ressources, ainsi que de la richesse et de la diversité spécifique de la communauté locale (Daly et al., 2023). Si l'espèce introduite parvient à s'établir, elle entre dans la dernière phase de l'invasion, qui est l'expansion dans de nouvelles zones. Cette propagation sera limitée par la capacité de dispersion de l'espèce et la disponibilité des habitats. La dispersion peut s'effectuer par diverses voies, comme le transport de spores par le vent, l'eau ou les insectes vecteurs. La structure du paysage aura un impact important sur cette étape, notamment la présence de corridors écologiques qui influent fortement sur la dynamique spatiale de cette propagation (Paap et al., 2022).

Très peu d'espèces arrivent à franchir toutes ces barrières et aboutir à un succès d'invasion. Les estimations disponibles suggèrent un taux de réussite de 10% (Williamson, 2006). Toutefois, les impacts économiques et écologiques des espèces invasives peuvent être considérables. Les coûts

économiques liés aux invasions biologiques sont comparables à ceux des aléas naturels tels que les tempêtes, les inondations ou les séismes, avec toutefois une augmentation plus rapide dans les dernières décennies (Turbelin et al., 2023). Une estimation du coût des organismes invasifs en Grande-Bretagne montre que les agents pathogènes de ligneux, et en particulier la chalarose et *Phytophthora ramorum* sont parmi les invasions les plus dommageables du point de vue économique (Eschen et al., 2023).

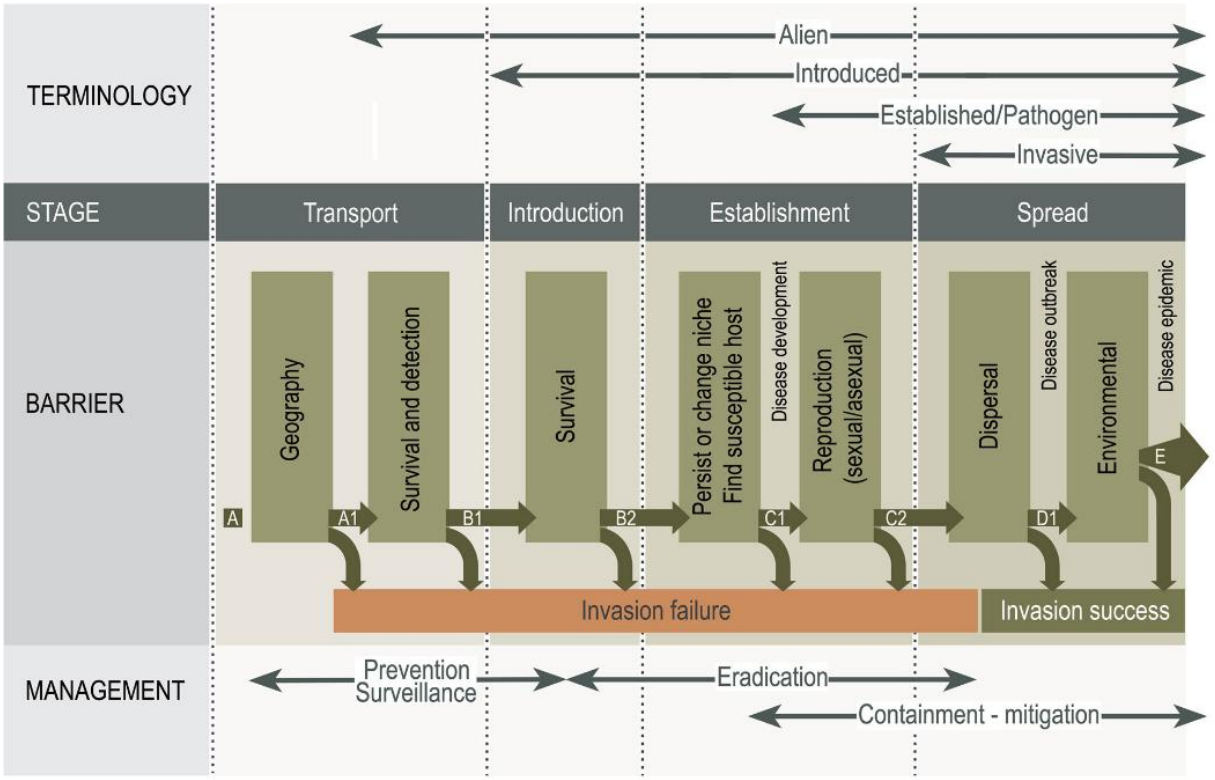


Figure 2 : Schéma des mécanismes d'invasion biologique pour les pathogènes forestiers, issu de Paap et al. 2022.

Afin de limiter l'introduction et la propagation de nouveaux organismes, des stratégies de surveillance et d'intervention sont mises en œuvre à différentes étapes du processus d'invasion. Celles-ci incluent des détections précoces aux points d'entrées (ports et aéroports), la surveillance des pépinières et du commerce de plants ainsi que la prévention de l'établissement par des actions rapides d'éradications des foyers émergents. L'efficacité de ces mesures repose sur la capacité de détection. Souvent, les infections sont précédées d'une phase de latence durant laquelle la population introduite se développe sous le seuil de détection, sans causer de symptômes avant une expansion rapide.

1.3. Les maladies émergentes déclenchées par la sécheresse

Un cas emblématique de maladie émergente liée au changement climatique est celui des champignons endophytes affectant les ligneux. Ces agents pathogènes appartiennent souvent à l'ordre des Xylariales ou à la famille des *Botryophaeriaceae*. Ils représentent la catégorie d'agents pathogènes de ligneux les plus favorisés par un stress hydrique de leur hôte (Jactel et al., 2012). Leur émergence a été associée au changement climatique, en particulier à l'accroissement des températures estivales ou de la sévérité des sécheresses (Fabre et al., 2011; Muller et al., 2023).

Les Xylariales, sont représentés par le genre *Biscogniauxia* (*B. mediterranea* sur chêne, *B. nummularia* sur hêtre en Europe). *Biscogniauxia mediterranea*, responsable du charbon du chêne, se maintient sous forme endophyte dans le bois vivant des chênes (*Quercus ilex*, *Q. pubescens*, *Q. robur, Q. suber*), sans symptômes apparents. Lors de sécheresses prolongées, la réduction du potentiel hydrique des tissus déclenche la colonisation cambiale, menant à des lésions corticales, puis à la mort de branches ou d'arbres entiers (Costa et al., 2022; Ghanbary et al., 2017). Un autre exemple de maladies émergentes causés par des champignons de l'ordre Xylariales est la maladie de la suie, sujet de la présente thèse (cf. section 2).

Les Botryosphaeriaceae regroupent un ensemble de champignons à large spectre d'hôtes, souvent présents sous forme endophyte dans les tissus ligneux (Batista et al., 2021; Slippers and Wingfield, 2007; Tanney et al., 2025). Sous conditions normales, ces champignons coexistent avec leur hôte sans provoquer de symptômes apparents. Cependant, lors d'un stress abiotique (sécheresse, grêle, blessure, canicule, gel), ils peuvent rapidement coloniser les tissus et causer nécroses corticales, chancres et dépérissements (Slippers and Wingfield, 2007). Des espèces telles que *Diplodia sapinea*, *Neofusicoccum parvum*, *Botryosphaeria dothidea* ou *Lasiodiplodia theobromae* ont été impliquées dans des épisodes de dépérissement post-sécheresse (Brodde et al., 2023; Garbelotto et al., 2025; Haenzi et al., 2021; Osorio et al., 2017; Pérez et al., 2010). Chez les conifères, *D. sapinea* provoque des nécroses sur aiguilles et pousses de l'année, notamment sur *Pinus nigra* et *P. sylvestris* en Europe (Piou et al., 1991). C'est l'agent pathogène endophyte du bois le plus étudié dans la littérature. Il est présent de façon latente dans l'écorce des pousses de pins (Flowers et al., 2001, 2006) et il peut aussi être présent dans du bois sain (Stanosz et al., 2005). Il est présent de façon très large dans les peuplements de pins : ainsi, Fabre et al. (2011) montrent qu'il est présent sur des cônes dans presque tous les peuplements de pins sylvestres et pins noirs du réseau systématique de suivi des forêts en France. Ce champignon est particulièrement favorisé par les stress hydriques (Blodgett et al., 1997; Desprez-Loustau et al., 2006), mais aussi les orages de grêle (Oliva et al., 2014; Swart and Wingfield, 1991).

Dans le cas de ces parasites, l'émergence de la maladie sera liée à un changement de comportement d'endophyte à pathogène, généralement à l'occasion d'un évènement météorologique extrême. Néanmoins, le mécanisme permettant à une infection latente de basculer vers la pathogénicité est encore mal compris (Bhunjun et al., 2023; Nwe et al., 2024). Ce changement de comportement est toutefois associé à des facteurs environnementaux, et/ou à des modifications de type physiologique et biochimique au sein de leur hôte (Stergiopoulos and Gordon, 2014). Il a été par exemple montré, dans le cas de *D. sapinea*, que ce déclenchement du comportement pathogène pourrait être associé à une modification du microbiote environnant affectant la disponibilité en métabolites clés produits par les arbres stressés par l'accident climatique (Oliva et al., 2021). Le développement de ces maladies se termine par la production d'inoculum qui peut se disperser et créer de nouveaux foyers ou de nouvelles infections latentes. Comprendre les patrons de dispersion, la répartition du pathogène sur le territoire et le cycle biologique du pathogène sont des thématiques de recherche majeures dans la compréhension de l'épidémiologie de ces maladies fongiques.

2. La maladie de la suie causée par *Cryptostroma corticale*

2.1. La répartition dans le monde

La première mention de la maladie de la suie –Sooty Bark Disease, en anglais (SBD)– a été reportée en 1945 au parc *Wanstead* à Londres sur érables sycomores (Figure 3). La maladie est signalé sur une centaine d'arbres répartis sur 70 hectares qui, par précaution, sont coupés et brûlés (Gregory et al., 1949). En 1949, une nouvelle étude montre que des lésions sporulantes sont présentes sur des souches d'arbres abattus en 1948, mais également sur des arbres qui semblaient sains les années précédentes. Suite à cette étude, tous les arbres symptomatiques sont abattus au printemps 1949. Toutefois, la maladie continue à progresser, avec environ 60 nouvelles infections observées en 1950 dans le parc et l'agent responsable, *Cryptostroma corticale* n'est identifié qu'en 1951 (Gregory and Waller, 1951). Les mentions de *C. corticale* ne se sont pas limitées à ce parc, le parasite étant également présent dans des jardins privés et dans d'autres localités (Gregory and Waller, 1951). Après sa découverte, la maladie ne progresse pas rapidement, étant même considérée en 1962 comme maladie en déclin (Abbott et al., 1977; Peace, 1962). À partir de 1976, des foyers actifs de la maladie sont de nouveau mentionnés, et il est suggéré que cette recrudescence est due aux conditions climatiques favorables, en particulier la sécheresse, plutôt qu'à une évolution du pathogène lui-même (Young, 1978).

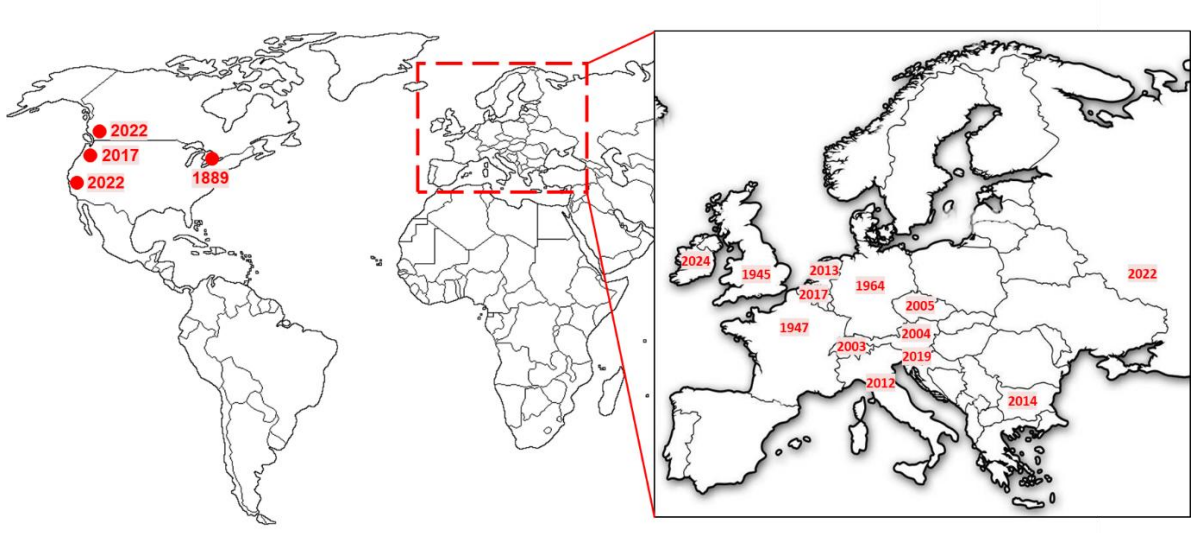


Figure 3 : Carte résumant les premières mentions de la maladie de la suie causée par Cryptostroma corticale.

En France, la première mention de la maladie date de 1947 au Bois de Vincennes, près de Paris (Moreau and Moreau, 1951). La première mention à Berlin en Allemagne remonte à 1964 (Plate and

Schneider, 1965). Jusqu'alors, les mentions, très localisées, n'ont pas suscité une inquiétude importante. Or, depuis les années 2000, la maladie de la suie de l'érable est signalée et progresse dans plusieurs pays d'Europe, et à partir de 2017 en Amérique du Nord (Figure 3).

En Europe, cette nouvelle émergence de la maladie est d'abord signalée en Suisse en 2003, où la maladie a été observée sur plusieurs érables sycomores (*Acer pseudoplatanus*) au Tessin, puis autour du lac Léman au cours de la décennie suivante (Meier et al., 2003), avant d'être à nouveau rapportée en 2014 (Cochard et al., 2015). En Autriche, la maladie a été détectée dès 2004 sur érable sycomore (Cech, 2004). En République tchèque, sa présence est connue depuis 2005 dans les parcs urbains de Prague (Koukol et al., 2015). Aux Pays-Bas, il a été identifié en 2013 dans du bois de chauffage provenant d'un érable sycomore abattu dans la province de Noord-Holland (*EPPO Global Database*, n.d.). En Italie, la maladie a été signalée en 2012 dans les Apennins sur érable sycomore, les arbres infectés ayant été coupés ; de nouveaux foyers ont été observés en 2022, touchant à la fois des érables sycomores et champêtres (Oliveira Longa et al., 2016; Schlößer et al., 2024). En Bulgarie, un cas a été rapporté en 2014 sur un érable plane dans un parc urbain à Sofia (Bencheva, 2014), suivi de détections en Belgique, près de Liège, en 2017 (*La lettre d'info OWSF*, 2023). La Slovénie a signalé la maladie sur érable sycomore en 2019 (Ogris et al., 2021), et l'Irlande a récemment confirmé un foyer en 2024 dans le parc Phoenix à Dublin (Byrne et al., 2025). De nouvelles mentions ont également été rapportées en Allemagne (Langer et al., 2023; Metzler, 2006; Schlößer, 2025) et en France (base de données du Département de la Santé des Forêts ; Muller et al., 2023). Une mention a également été reportée en Russie occidentale en 2022 sur érable sycomore (Gninenko et al., 2024).

En Amérique du Nord, la maladie a été observée pour la première fois dans le Nord-Ouest : aux États-Unis, à Seattle (État de Washington), en 2017 sur plusieurs espèces d'érables, dont l'érable sycomore (Brooks et al., 2023), puis au Canada, à Vancouver (Colombie-Britannique), en 2022 sur érable sycomore également (Tanney et al., 2024). En novembre 2022 et février 2023, plusieurs érables (*Acer saccharinum* et *A. platanoides*) ont été signalés comme affectés par la maladie de la suie dans une zone résidentielle à Sacramento (Californie ; Garbelotto et al., 2024). Ces signalements illustrent la large répartition géographique et la progression continue de la maladie au cours des deux dernières décennies.

2.2. Les symptômes de la maladie de la suie

Les premiers symptômes de SBD observés sont non spécifiques à la maladie tels que le flétrissement, des mortalités de branches (Figure 4a), la présence de gourmands (Figure 4b) et des colorations

internes du xylème (Figure 4c et d ; Gregory and Waller, 1951 ; Ogris et al., 2021). A un stade plus avancé de la maladie, les symptômes sont spécifiques, avec l'apparition de lésions verticales sur les branches et le tronc, le détachement de l'écorce qui laisse apparaître un stroma noir caractéristique (Figure 5a et b) sous l'écorce (Gregory and Waller, 1951). Ce stroma produit une grande quantité de spores brunes-noires (Figure 5c).

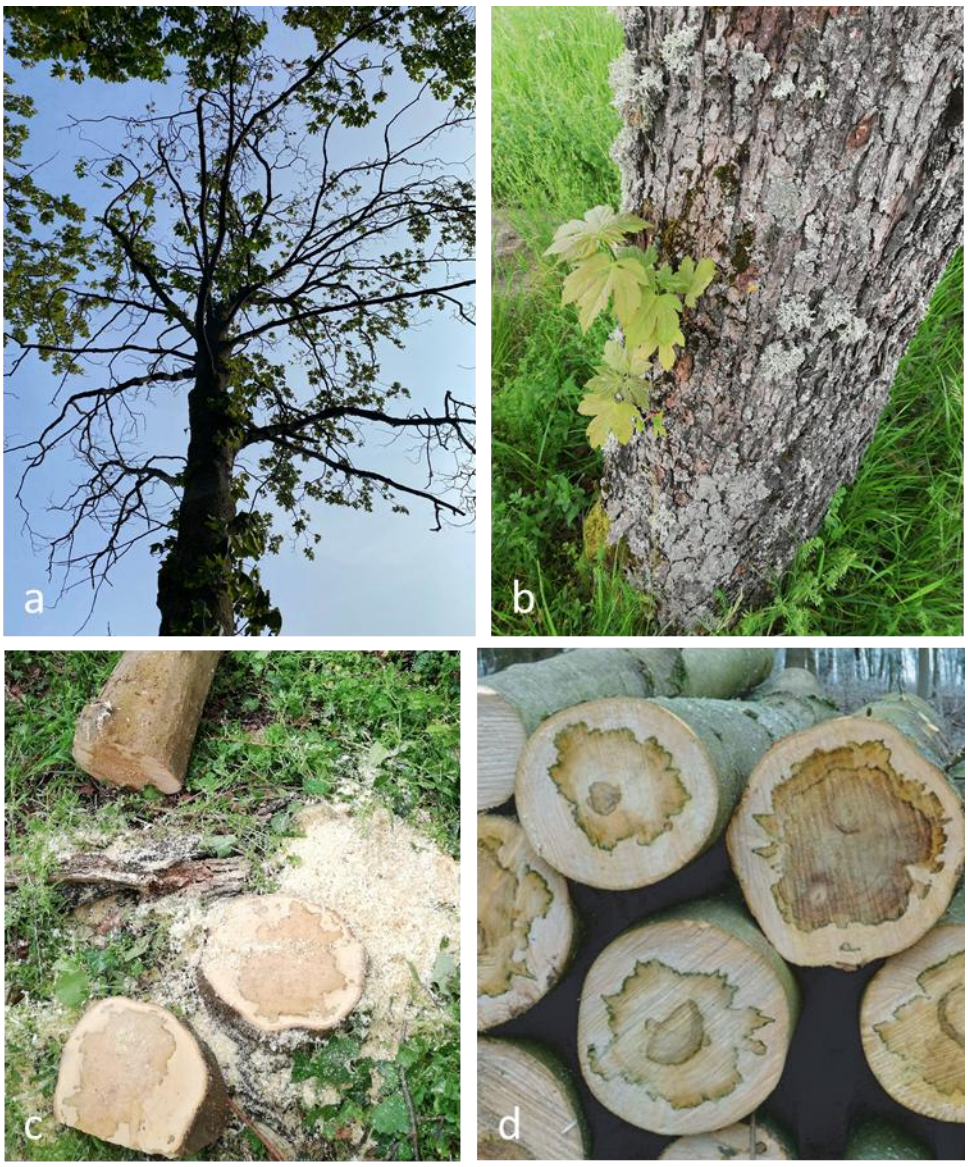


Figure 4 : Signes précoces de la maladie de la suie. (a) Mortalité de branches dans le houppier ; (b) Présence de gourmands sur le tronc ; (c) Colorations vert-brun à l'intérieur du bois sur arbre sans symptômes apparents après abattage (Photographie de M. Gomez-Gallego) et (d) Colorations vert-brun à l'intérieur du bois sur des grumes coupées (issu de Burgdorf et al. 2025).

Des colorations vert foncé à brun sont observées dans le bois à distance variable de la branche flétrie et s'étendent vers le bas et vers le haut de l'arbre (Gregory and Waller, 1951). L'hypothèse soulevée en 1949 par Gregory et Waller est qu'une fois l'infection déclarée, le pathogène circule dans les vaisseaux de haut en bas, provoquant ces colorations internes et produit ensuite des lésions corticales

quand il arrive au contact du cambium. Quand on détache l'écorce à l'endroit où il y a un symptôme, on retrouve des spores sur les deux côtés (sur le tronc et sur l'intérieur de l'écorce).

La progression de la maladie peut conduire à la mort rapide de l'arbre, souvent en quelques semaines à quelques mois après l'apparition des premiers symptômes visibles. Toutefois, un développement rapide des symptômes ne signifie pas une mort systématique de l'arbre, l'infection pouvant rester localisée, notamment dans les branches, sans entraîner la mort de l'arbre (Gibbs, 1997; Young, 1978). Les arbres atteints présentent alors des troncs fragilisés et des branches susceptibles de se rompre, augmentant le risque de chutes dans les zones fréquentées.

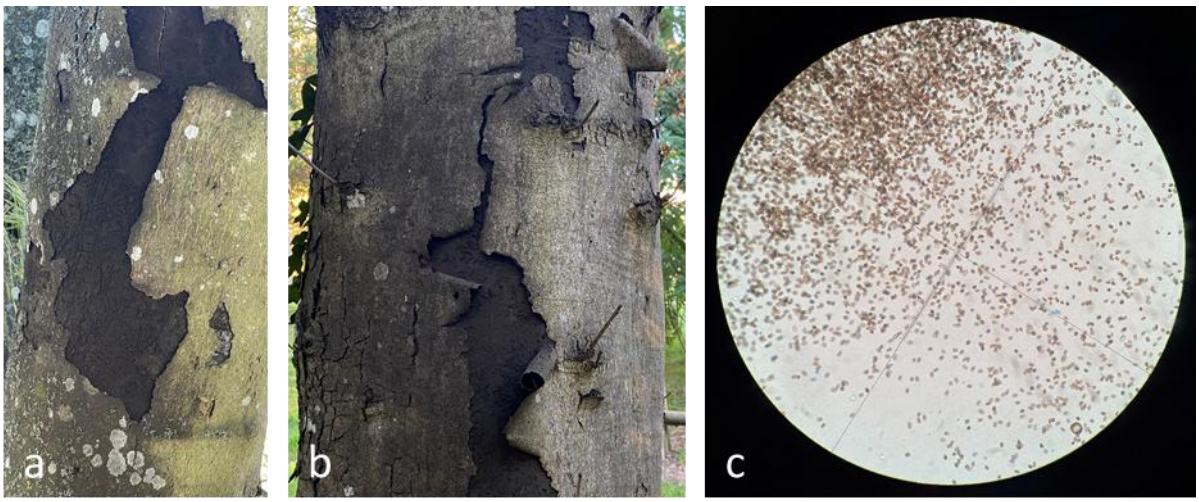


Figure 5 : Symptômes avancés de la maladie de la suie. (a) et (b) Stroma noir développé sous l'écorce d'érables sycomores dans un parc urbain de Nancy. (c) Spores de Cryptostroma corticale issues de ces symptômes vu au microscope optique x400.

La maladie de la suie tire son nom vernaculaire de l'aspect noirâtre et poudreux des lésions qui se développent sous l'écorce des arbres, l'abondante production des spores noires donnant une apparence de suie. Cependant, la présence de branches mortes prenant une coloration noire n'est pas systématiquement en lien avec *C. corticale.* D'autres champignons communs sur les branches mortes comme *Nectria cinnabarina* peuvent causer ce type de symptômes (Gregory and Waller, 1951). Toutefois, ce pathogène produit des petites fructifications rouges à noires assez caractéristiques sur les plaques d'écorce noires (Figure 6a). D'autres agents pathogènes, comme *Nemania serpens* (Figure 6b), *Lopadostoma* spp (Figure 6c et d) et *Eutypa maura* (Figure 6e), provoquent aussi des symptômes similaires à la suie (Schlößer et al., 2023).

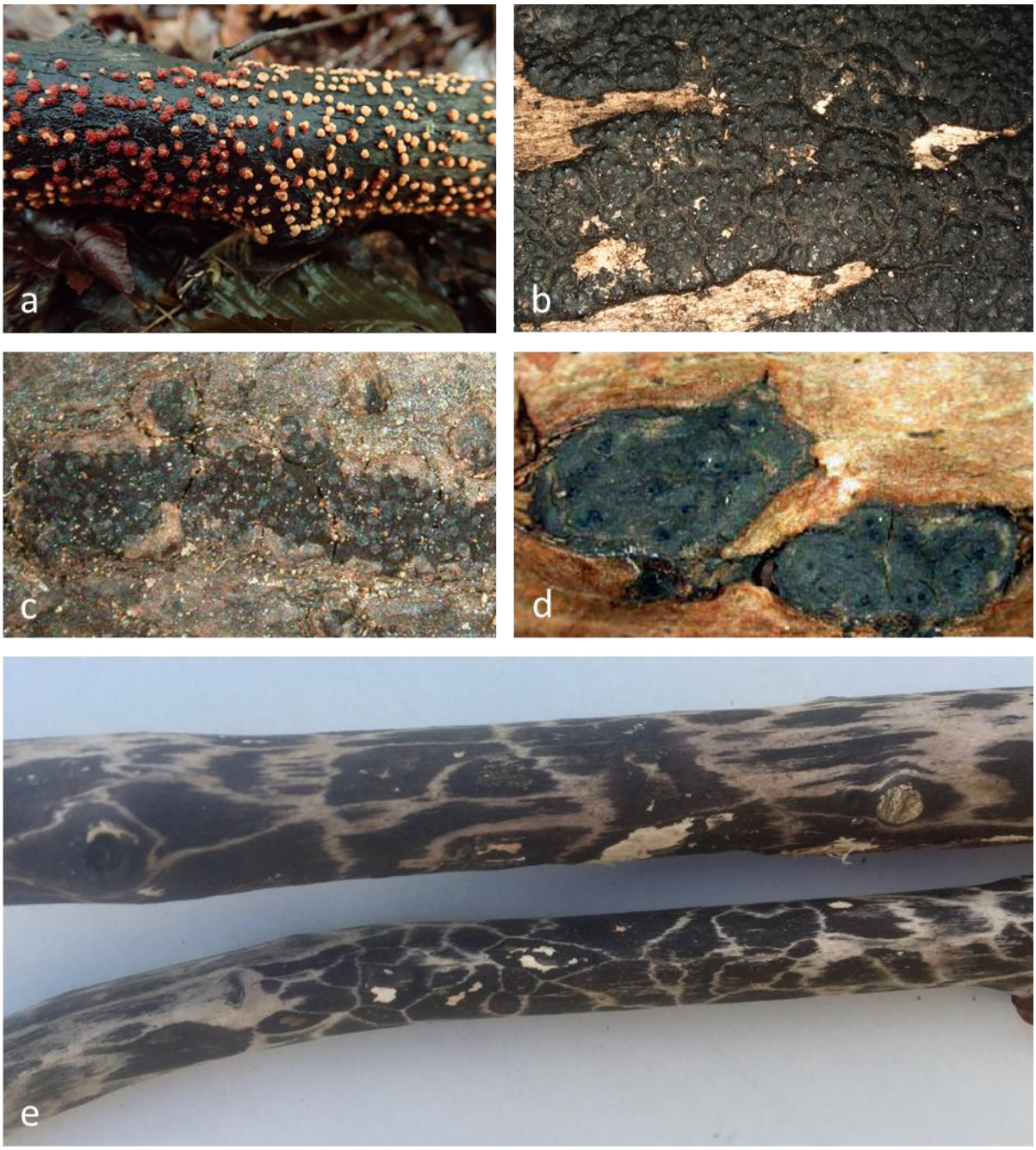


Figure 6 : Symptômes similaires à Cryptostroma corticale causés par (a) Nectria cinnabarina (source : Buckinghamshire Fungus Group); (b) Nemania serpens (issu de Pourmoghaddam et al., 2022) ; (c) et (d) Lopadostoma spp. (issu de Jaklitsch et al., 2014) ; (e) Eutypa maura (issu de Botany in Scotland).

2.3. Taxonomie et histoire de la description de *Cryptostroma corticale*

L'agent responsable de la maladie de la suie, *Cryptostroma corticale* (Ellis & Everh.) P.H. Greg. & S. Waller, est décrit pour la première fois en 1889 à London, Ontario au Canada (Ellis and Everhart, 1889). Identifié initialement comme *Coniosporium corticale*, il a été décrit comme un champignon présent sur du bois mort (Young, 1978).

Cryptostroma corticale est un champignon ascomycète, faisant partie de l'ordre des Xylariales. Il est la seule espèce du genre *Cryptostroma*, reclassé à cause de son stroma et de ses conidiophores (Gregory and Waller, 1951). La description des symptômes observés dans le parc Wanstead à Londres est validée comme étant ceux de *Coniosporium corticale* (Gregory and Waller, 1951). Des études phylogénétiques récentes ont permis d'avancer les connaissances sur sa position taxonomique, notamment la famille à laquelle il appartient (Figure 7). La première analyse phylogénétique montre que *C. corticale* est phylogénétiquement proche des genres *Biscogniauxia* et *Graphostroma* appartenant respectivement aux familles Xylariaceae et Graphostromataceae (Koukol et al., 2015). Une autre analyse phylogénétique place *C. corticale* au sein de la famille Graphostromataceae (Li et al., 2021). Des analyses récentes montrent le placement de *C. corticale* dans un clade phylogénétique avec son espèce sœur, *Biscogniauxia bartholomei* (Dicaire et al., 2025; Tanney et al., 2024). Sa position phylogénétique exacte n'est donc pas encore clairement définie.

La région d'origine de l'agent pathogène la plus probable est la région des Grands Lacs en Amérique du nord, mais cela reste à démontrer. Par contre, il est clair que le parasite est invasif en Europe. Une étude sur la structure de la population en Angleterre dans les années 80 suggère une diversité génétique structurée en groupe d'incompatibilité somatique (Bevercombe and Rayner, 1984). Ces informations reflètent, selon les auteurs, une propagation principalement clonale du pathogène mais avec des indices d'introductions multiples ou de croisements occasionnels. Les épidémies observées seraient dues à un déclenchement de la maladie liée à des conditions climatiques favorables dans des populations de *C. corticale* déjà établies (Bevercombe and Rayner, 1984).

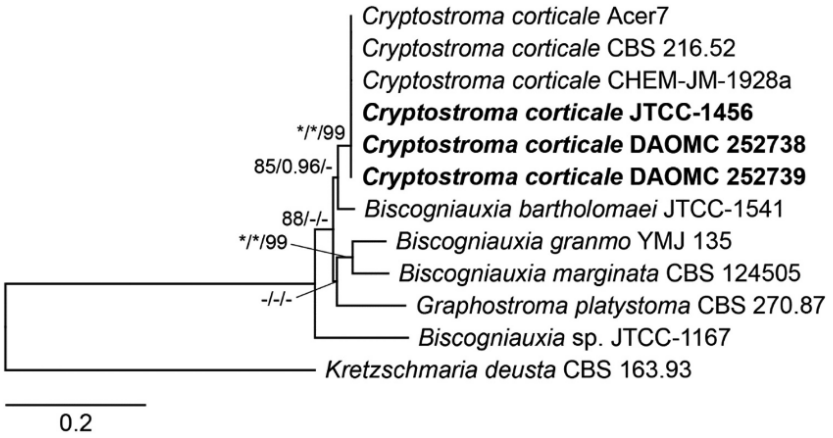


Fig. 3 Maximum likelihood (ML) phylogenetic tree obtained from an IQ-TREE analysis of *Cryptostroma corticale* and related *Biscogniauxia* species based on ITS, BenA and RPB2 sequences. Sequences obtained from *C. corticale* strains isolated from British Columbia are shown in bold. Numbers at the nodes correspond to SH-aLRT (≥80%), aBayes (≥0.95) and ultrafast bootstrap (≥95%) support values; an asterisk (*) indicates full support (100% or 1.0) and a hyphen (-) indicates support lower than the respective significant values. The scale bar shows the expected number of nucleotide substitutions per site.

Figure 7 : Arbre phylogénétique partiel incluant Cryptostroma corticale, issu de Tanney et al. 2024.

2.4. Cycle de vie de *Cryptostroma corticale*

C. corticale était considéré comme un champignon saprophyte associé au bois mort quand il a été initialement décrit en Amérique du Nord (Gregory and Waller, 1951; Plate and Schneider, 1965). Ce statut écologique a ensuite été révisé avec de nouvelles observations montrant sa capacité à infecter des arbres vivants et à provoquer des nécroses corticales sur des tissus d'hôtes affaiblis (Abbey, 1978). Abbey (1978) a également montré que le champignon pouvait germer dans les tissus de l'hôte et être réisolé expérimentalement après inoculation, confirmant son potentiel pathogène. Actuellement, *C. corticale* est reconnu comme un agent pathogène de faiblesse, avec une phase latente ou endophytique et une phase pathogène (Young, 1978). Le champignon peut persister dans les tissus internes de l'arbre sans provoquer de symptômes visibles. Cette phase asymptomatique correspond à une colonisation latente du bois au sein duquel le champignon reste quiescent jusqu'à ce que des conditions de stress de l'hôte déclenchent son développement actif et l'apparition du stroma noir (Figure 8). En 1978, Young mentionne que cette infection latente peut prendre plusieurs années, entre 6 et 7 ans, à se mettre en place tandis que les symptômes avancés peuvent se développer en une année. D'autres études menées en Europe ont confirmé la présence latente de *C. corticale* dans des érables sans symptômes visibles (Kelnarová et al., 2017; Schlößer et al., 2023).

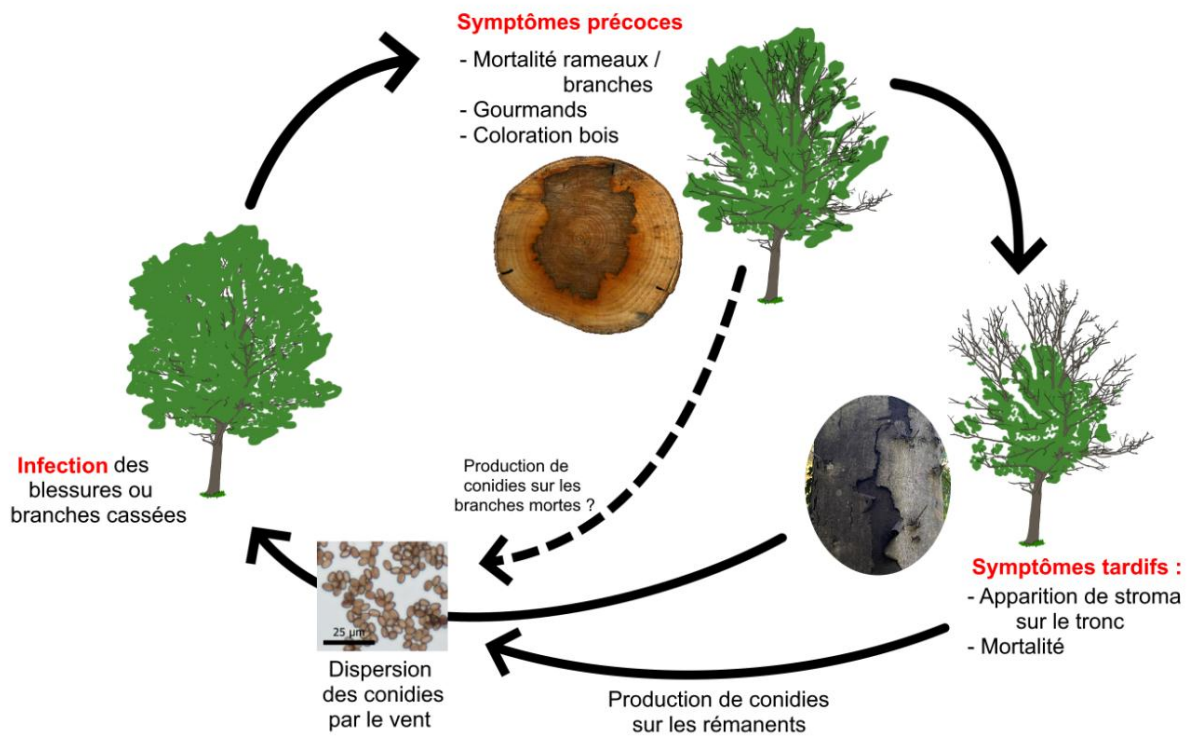


Figure 8 : Cycle de vie de Cryptostroma corticale

Des colorations, localisées dans l'aubier et le bois de cœur, constituent l'un des indices de colonisation interne par *C. corticale*. Elles ont été décrites dans les premières études de Townrow (1954), qui avait

isolé le champignon de bois coloré et de bois apparemment sain dans les tiges, mais aussi dans les racines. D'autres travaux ont ensuite confirmé la relation entre ces colorations brun-vert et la colonisation du bois par *C. corticale* (Alcock and Wheeler, 1983; Dickenson and Wheeler, 1981; Ogris et al., 2021), renforçant l'hypothèse selon laquelle ces colorations sont une manifestation précoce de l'activité du champignon dans les tissus ligneux. De plus, ces colorations vert-brun du bois ont été fréquemment observées chez les érables atteints de la maladie de la suie (Koukol et al., 2015; Ogris et al., 2021), mais aussi chez des arbres sans symptômes apparents ou présentant des signes de stress physiologique tels qu'un dépérissement ou une perte de vitalité (Burgdorf et al., 2025).

2.5. L'émergence de la maladie liée au climat

Le changement de comportement entre les phases latente et pathogène est corrélé à des facteurs environnementaux. Lorsque l'arbre subit un stress hydrique ou thermique, le développement de *C. corticale* entraîne l'apparition de symptômes, notamment la formation du stroma noir et la production de conidies caractéristiques (Gregory and Waller, 1951). Il n'est pas clair si l'apparition de colorations dans le bois, liée à une infection, est conditionnée par l'occurrence de stress ou si le stress ne fait qu'accélérer le développement de l'infection dans le bois avec pour conséquence l'atteinte du cambium et le développement des stromas.

Les conditions de température optimale pour le développement de *C. corticale* et la germination des spores ont été étudiées à plusieurs reprises. La figure 9a résume les résultats de l'étude de Alcock et Wheeler (1983) avec un optimum de croissance à 25°C sur milieu de culture artificiel (Figure 9b). Des études menées par Abbey (1978) ont montré d'autre part que *C. corticale* pouvait se développer jusqu'à 37°C, avec un optimum de croissance compris entre 25 et 30°C. De plus, les spores restent viables à 0°C, ce qui lui permet de persister durant l'hiver et de redémarrer son activité dès le retour de températures favorables (Abbey, 1978). Dickenson (1980) montrent que la germination des spores est optimale entre 20°C et 25°C et absente à 5°C.

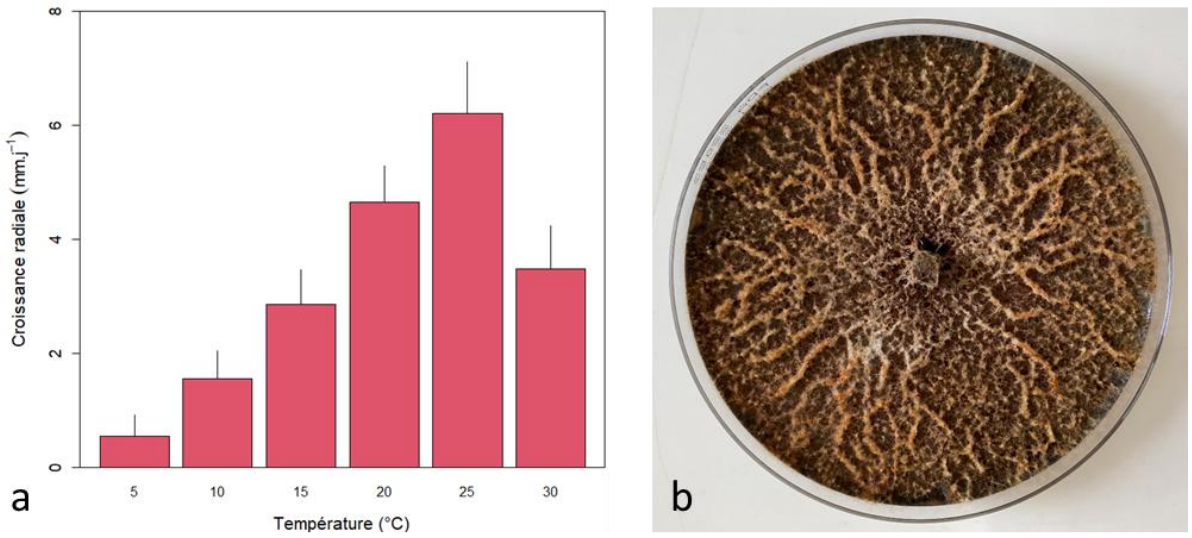


Figure 9 : (a) Croissance in vitro de C. corticale à différentes températures d'après Alcock et Wheeler, 1983 ; (b) Mycélium de Cryptostroma corticale (LSVM1510) sur milieu artificiel (PDA) après 2 mois de croissance à 25°C.

Les premières observations ont établi une corrélation directe entre les étés chauds et la survenue des épidémies. En Angleterre, les trois premiers épisodes de suie coïncidaient avec les étés exceptionnellement chauds de 1947, 1949 et 1955 (Paviour-Smith, 1976). Peace (1962) avait précédemment noté un maximum de l'activité du champignon en 1949, suivie d'un pic en 1950, puis d'un déclin progressif, avec une légère recrudescence en 1956. Des analyses ultérieures ont renforcé cette hypothèse. Young (1978) a mis en évidence une forte incidence de la température sur la dispersion et la manifestation des symptômes : les épidémies se produisent généralement un à deux ans après un été chaud, lorsque la température maximale quotidienne moyenne dépasse 23°C pendant un mois d'été. Les premiers foyers observés entre 1948 et 1951 ont ainsi été reliés aux étés exceptionnellement chauds de 1947 et 1949, tandis que les épisodes de 1955 et 1959 ont coïncidé avec de nouvelles vagues de chaleur. Les travaux de Gibbs (1997) ont confirmé cette dynamique : le champignon peut persister silencieusement dans un hôte, puis s'étendre rapidement lors de sécheresses ultérieures, lorsque les conditions deviennent favorables. Enfin, Muller et al. (2023) ont mis en évidence une corrélation entre les épisodes de sécheresse et les mentions de la maladie de la suie en France et en Suisse sur une base de données de mentions de la maladie pendant trois décennies (Figure 10).

Pour aller plus loin, Dickenson et Wheeler (1981), lors de tests d'inoculation en conditions contrôlées, ont démontré que le champignon se développait rapidement à 25°C sur de jeunes érables sycomores, particulièrement lorsque ceux-ci étaient soumis à un stress hydrique. Ces résultats expliquent la recrudescence d'épidémies après les étés chauds et secs, notamment celle observée en Angleterre en

1976, et expliquent le caractère dépendant du climat de la maladie. Ceci est confirmé par des études récentes, Ogris et al., (2021) montrant qu'en conditions de serre, les arbres stressés par manque d'eau développent des lésions plus longues et présentent une progression plus rapide de la maladie. Récemment, une étude a également mis en évidence que le déficit hydrique accentue significativement la sévérité de la maladie avec des lésions 2,5 fois plus grandes sur les hôtes en conditions de stress que sur les hôtes bien arrosés (Garbelotto, 2024). Dans le contexte du changement climatique actuel, marqué par la multiplication des étés chauds et secs, une augmentation de la fréquence et de l'intensité des épidémies est donc à prévoir.

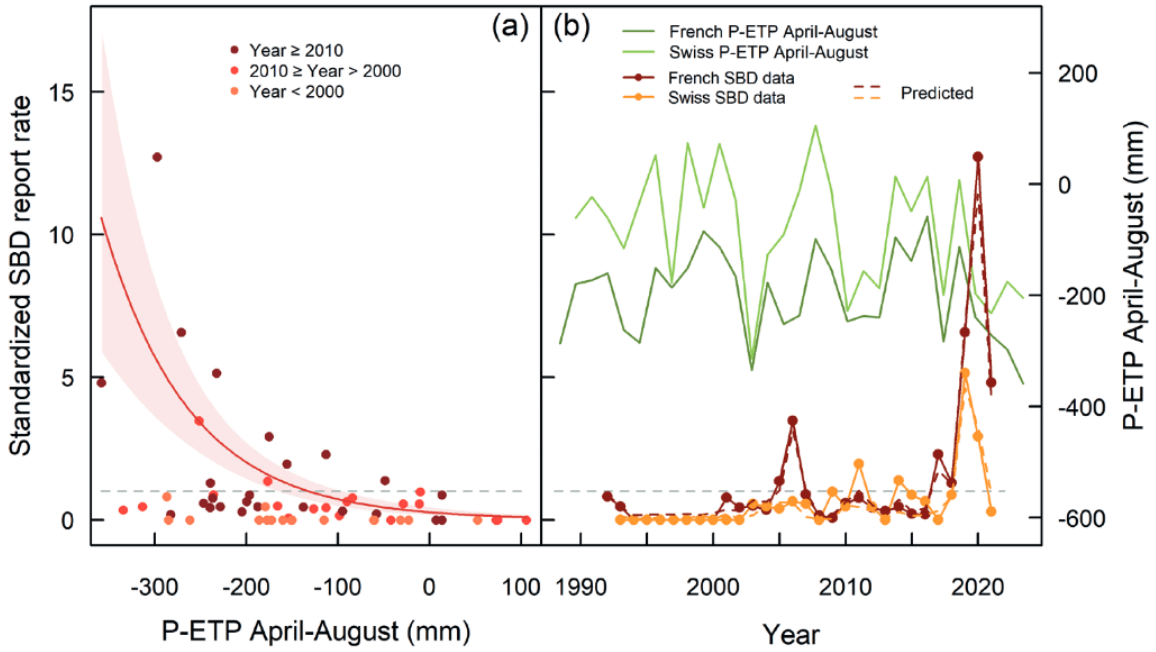


Figure 3. Model prediction of standardised SBD report rate as a function of water balance (measured as *P-ETP*) of the vegetative season (April-August) of the year previous to the disease report (**a**). Evolution of standardised SBD reports from 1990 to 2021 in France and Switzerland (**b**), and model predictions (Eq. 2). A dotted grey line indicates a standardised record rate that equals 1, above which the number of cases of the SBD is higher than average, and hence considered an outbreak of the disease.

Figure 10 : Modèle prédictif des mentions de la maladie de la suie en fonction du déficit hydrique en France et en Suisse entre 1990 et 2021, issu de Muller et al. 2023.

2.6. Biologie de *Cryptostroma corticale*

Dans des conditions environnementales favorables, *C. corticale* devient pathogène, se développe dans le bois jusqu'à atteindre le cambium formant une couche de spores sous l'écorce produisant les symptômes typiques de la maladie de la suie (Gregory and Waller, 1951).

Le mycélium se forme sous l'écorce des hôtes infectés, notamment dans les tissus du phloème et du cambium et pénètre faiblement le xylème (Gregory and Waller, 1951). Les hyphes s'étendent le long

des rayons médullaires et se compactent sous la couche externe du phellème et du phellogène, formant une plaque stromatique noire, reliée par des colonnes verticales. Ce qui va servir de base pour la formation des structures sporifères (Figure 11a). Avant la production de spores, le stroma va donc se développer sous l'écorce, et persistera après la dispersion des spores. À maturité, le plancher du stroma est couvert d'une couche continue de courts conidiophores, terminés par des phialides. Les conidies unicellulaires sont formées en chaînes à l'extrémité de ces phialides (Gregory and Waller, 1951 ; Figure 11b). De forme ovoïde à rectangulaire, ces conidies brunes mesurent environ 5,4 × 3,9 µm à 4,6 × 3,5 µm (Gregory and Waller, 1951 ; Figure 12a et b). Les spores s'accumulent dans la cavité entre la couche supérieure et inférieure du stroma, formant une masse noire sèche et sont responsables de cet aspect de suie (Gregory et al., 1949). Un système de fils capillitiaux (capillitium) attachés au plancher du stroma aide à retenir les spores sur les surfaces verticales du tronc ou des branches, facilitant leur dispersion progressive (Gregory and Waller, 1951).

A l'heure actuelle et depuis le report de Bevercombe et Rayner en 1984, aucun stade sexué n'a été identifié chez *C. corticale*, suggérant une propagation essentiellement asexuée par spores.

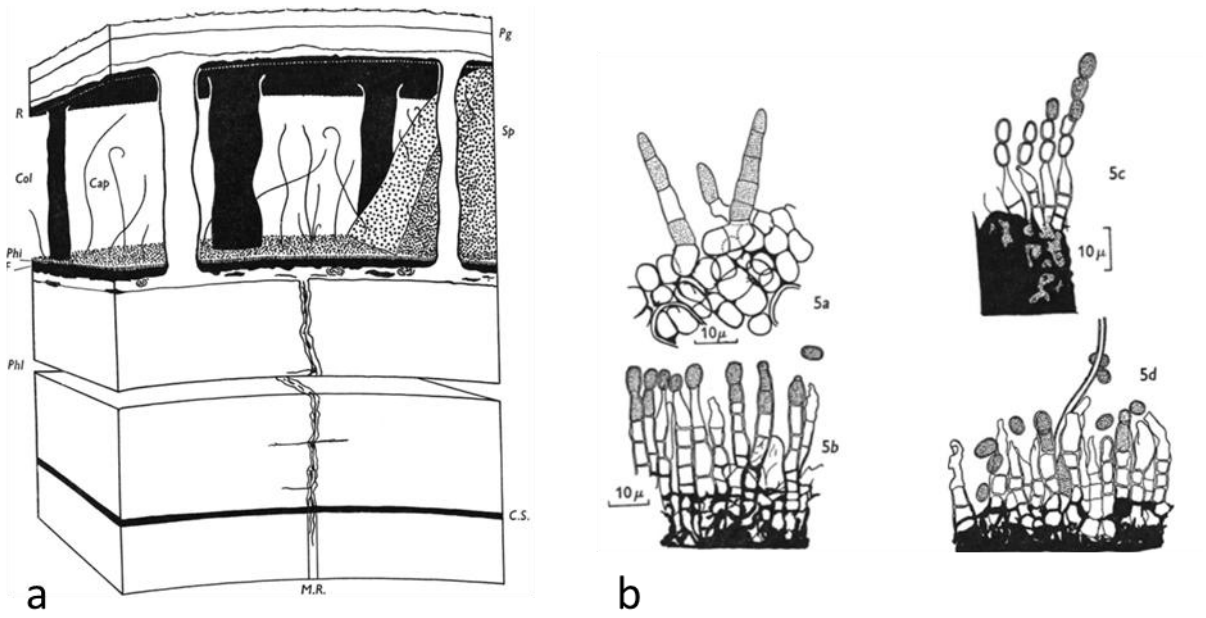


Figure 11 : Issu de Gregory et Waller 1951 : (a) Schéma de la position et de la structure du stroma noir : Pg, phellogen, R, roof stroma, Col, columns, Cap, capillitium, Sp, spores mass, Phi, phialide layer, F, floor stroma, Phl, phloem, C.S, cambial stroma, M.R., medullary ray ; (b) Schéma des étapes de développement de conidiophores.

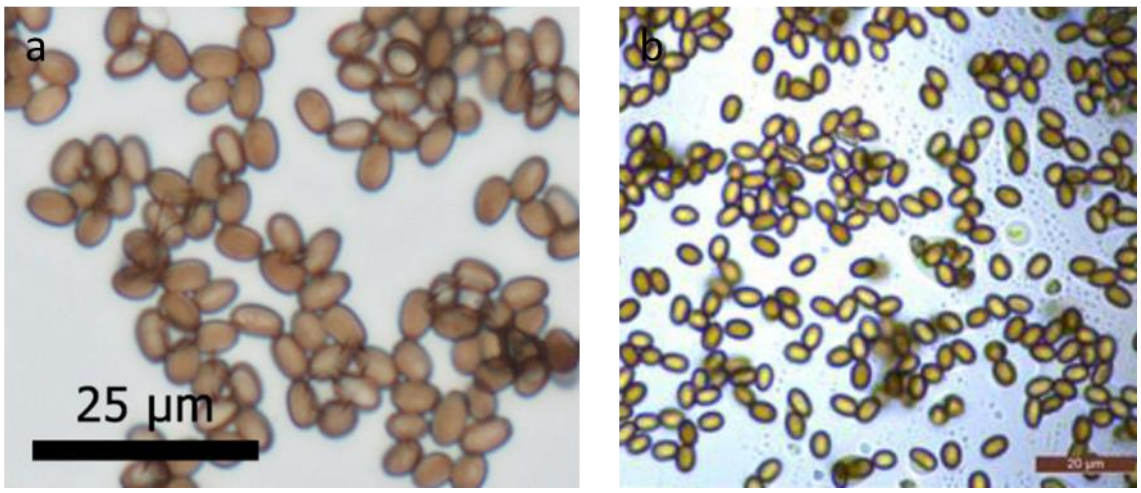


Figure 12 : Spores de Cryptostroma corticale (a) issu de Ogris et al. 2015 et (b) issu de Burgdorf et al. 2022.

La quantité de spores produite sur les stromas est très abondante et constitue un élément clé de son potentiel de dispersion. En effet, la quantité de spores produite peut être de 30-170 millions par centimètre carré (Gregory and Waller, 1951). Pour comparaison, ces auteurs estiment que le nombre d'urédospores produites par 80 ha de blé modérément infecté par *Puccinia graminis* sera la même que la quantité de conidies libérée par un seul érable infecté de 4,5 m de hauteur et d'un diamètre de 29 cm (environ 5×10^{13} spores). Les hôtes vivants ne sont pas les seuls responsables de la production de conidies. Il a été reporté à plusieurs reprises le développement de stromas sur des arbres coupés, des rémanents sains ou symptomatiques au moment de la coupe, mais également sur des planches sans écorce, reflétant la capacité saprophyte importante de ce pathogène (Burgdorf et al., 2025; Gregory and Waller, 1951; Nash-Wortham, 1967; Ogris et al., 2021; Towey et al., 1932).

Reporté comme dispersé de façon aérienne par le vent, ces conidies ont été détectés à une hauteur de 120 m dans une étude allemande (Burgdorf et al., 2022) et à une distance allant jusqu'à plus de 300 km des sources d'inoculum potentielles au cours d'une étude réalisé en France (Muller et al., 2023). Quelques études ont apporté des connaissances sur la phénologie du champignon. L'étude réalisée en 2018 en Allemagne (Burgdorf et al., 2022) a permis de mettre en évidence un pic de présence de spores dans l'air pendant l'été (juillet et août). Une autre étude réalisée en République Tchèque en 2022, a mis en évidence un pattern de présence dans l'air différent avec des pics de présence allant de mars à juin et un autre pic de présence en octobre (Dvořák et al., 2025). Ces différences observées ont été principalement expliquées par la différence de dispositifs utilisés mais également par la différence de conditions climatiques entre les deux stations. Notamment avec des températures trop élevées et des conditions trop humides lors des mois d'été pour les tchèques (Dvořák et al., 2025). A l'inverse, Burgdorf (2022) décrit des températures et un été particulièrement sec, comme étant les conditions

idéales de développement de spores. Les dynamiques de présence étant contradictoires et les facteurs influençant la production de spores ne sont pas encore élucidés.

D'autres facteurs ont été évoqués comme participant à la dispersion de cet agent pathogène. Notamment, Paviour-Smith (1976) mentionne une augmentation de certains insectes en même temps que l'augmentation de la maladie de la suie. Ces insectes qui se nourriraient des spores et aideraient également à la dispersion à d'autres arbres. En 1977, Abbott incrimine à son tour les écureuils comme potentiels vecteurs de spores. En effet, des spores ont été retrouvées dans la cavité buccale ainsi que dans les intestins et sur les griffes d'un écureuil. Après mise en culture, les spores retrouvées dans la cavité buccale et sur les griffes ont germé.

Les premiers tests d'inoculation suggèrent que cet agent pathogène, dispersé grâce à ces spores portées par le vent, entreraient dans l'hôte via des blessures et des extrémités de branches cassées souvent petites et en hauteur, puis pénétrerait les vaisseaux par capillarité avec l'aide de la pluie (Gregory and Waller, 1951). Les travaux de Townrow (1954) ont montré que les conidies ne rentrent pas dans les vaisseaux mais qu'il s'agit de la pénétration des hyphes de *C. corticale* à l'intérieur de la plaie. Cette étape nécessitait la présence d'humidité au niveau des blessures, condition indispensable à la germination et à l'invasion des tissus corticaux. Ces observations ont été précisées par Abbey (1978), qui a décrit l'entrée du champignon par des plaies résultant de dommages mécaniques, d'activités animales ou d'attaques d'insectes. L'infection peut ensuite rester localisée à la zone lésée ou, dans certains cas, devenir systémique lorsque le champignon progresse dans les tissus internes de l'arbre.

La présence de plaies est nécessaire à l'entrée du champignon. Dickenson (1980) a démontré que *C. corticale* ne traverse pas l'écorce intacte : il pénètre exclusivement par les blessures (tailles, fissures naturelles, galeries d'insectes) et colonise les tissus autour du point d'entrée, entraînant une coloration brun-verdâtre du bois. De plus, aucune infection n'a été observée via les cicatrices foliaires, ce qui confirme le rôle des plaies comme voie principale d'infection. Après pénétration, le mycélium se développe dans le bois sain en provoquant une zone de coloration dont l'intensité est corrélée à la présence du champignon (Dickenson, 1980). La progression du mycélium ralentit généralement après environ six semaines, probablement en raison d'une réaction de défense de l'hôte, voire dans certains cas, cette réponse permet la cicatrisation des tissus et la limitation de l'infection à une zone restreinte (Dickenson, 1980).

Les blessures causées par les griffes des écureuils peuvent également créer des plaies (91 arbres observés sur 100 présentent des marques laissées par les griffes), ce qui augmenterai la susceptibilité

de l'hôte à de nouvelles infections (Abbott et al., 1977). Toutefois, les éléments incriminants les insectes et les écureuils restent anecdotiques.

2.7. Les méthodes d'identification et de détection

Différentes approches sont utilisées afin d'identifier ou détecter *C. corticale* en fonction du matériel disponible et des objectifs. Des méthodes d'identification morphologique, basées sur l'observation du mycélium, des stromas et des conidies ont été très bien décrites (Dickenson, 1980; Gregory and Waller, 1951). À l'arrivée des méthodes moléculaires, des techniques plus sensibles ont été développées. La nested PCR a été utilisée pour détecter le pathogène dans des tissus sans symptômes apparents (Kelnarová et al., 2017), tandis que la qPCR permet une quantification rapide de l'ADN fongique (Muller et al., 2023). Cependant, il a été mis en évidence récemment que cette dernière n'est pas toujours spécifique, en particulier dans les régions nord-américaines où certaines espèces de Xylariales peuvent interférer avec le signal. Pour pallier cette limitation, une PCR couplée à la technique NALFIA a été développée, offrant une meilleure spécificité pour distinguer *C. corticale* des autres Xylariales présentes en Amérique du Nord (Dicaire et al., 2025). Ces espèces de Xylariales n'étant pas présentes en Europe, le test qPCR développé par Muller et al. (2023) et utilisé au cours de ce travail de recherche peut être utilisé.

3. Les hôtes reportés

La maladie de la suie touche principalement les érables (*Acer* spp.). Les érables reportés sont *A. pseudoplatanus*, l'érable sycomore ; *A. platanoides*, l'érable plane ; *A. campestre*, l'érable champêtre ; *A. macrophyllum*, l'érable à grandes feuilles ; *A. rubrum*, l'érable rouge ; *A. palmatum*, l'érable du Japon ; *A. japonicum*, l'érable du Japon à feuilles rondes et *A. circinatum*, l'érable circiné (Brooks et al., 2023; Koukol et al., 2015). Cependant, les postulats de Koch, c'est-à-dire la capacité d'une souche isolée à provoquer des symptômes sur un hôte sain, n'ont été vérifiés que pour l'érable sycomore (*A. pseudoplatanus*) et l'érable argenté (*A. saccharinum*) (Garbelotto et al., 2024).

La gamme d'hôte de *C. corticale* n'est pas complètement décrite car le pathogène a déjà été mentionné sur plusieurs autres espèces d'arbres : *Tilia* spp., *Betula* spp. (Cochard et al., 2015), et *Aesculus hippocastanum*, marronnier d'inde en Allemagne (Brenken et al., 2024). *C. corticale* a été isolé de *Fraxinus* excelsior, frêne commun, mais les postulats de Koch n'ont pas montré une capacité d'infection de cette espèce (Langer et al., 2023). L'hôte principal en Europe est toutefois l'érable sycomore (Dickenson, 1980; Ogris et al., 2021) qui représente, en France, 96% des mentions de la maladie de la suie dans la base de données du Département de la Santé des Forêts. C'est donc naturellement que les études pour mieux comprendre la biologie de *C. corticale* en Europe, ou la diversité, se basent sur cet hôte (Bußkamp et al., 2024; Lorenc, 2024; Schlößer et al., 2023).

L'érable sycomore (*Acer pseudoplatanus* L.) est une espèce originaire des régions montagneuses d'Europe centrale (Figure 13). Il est aujourd'hui très répandu et naturalisé dans le nord-ouest de l'Europe (Pasta et al., 2016). Cette essence présente plusieurs atouts écologiques et paysagers : elle résiste particulièrement bien au vent, ce qui en fait un arbre de protection efficace dans les zones côtières ou les exploitations agricoles situées en altitude. Son bois est utilisé pour divers travaux de menuiserie, et il joue un rôle dans le cycle des nutriments et la stabilisation des sols, notamment en milieu montagneux. Par ailleurs, sa tolérance aux niveaux élevés de pollution atmosphérique en fait une espèce appréciée pour l'aménagement urbain et les plantations d'agrément (Pasta et al., 2016). C'est en particulier une essence importante en zone alluviale.

Cette essence se développe souvent fortement dans les peuplements alluviaux de frênes touchés par l'épidémie de chalarose, étant identifié comme une essence qui pourrait remplacer le frêne dans son

habitat. En particulier dans les Hauts-de-France où le frêne occupait une place importante (source IFN), l'érable sycomore prend souvent une place dominante expliquant l'inquiétude des forestiers vis-à-vis de la maladie de la suie (Cano et al., 2021).



Figure 13: Carte de la répartition naturelle de l'érable sycomore (A. pseudoplatanus) en Europe (zone bleue) et les croix bleues représentent les aires d'introduction et de naturalisation (source EUFORGEN2022 : https://www.euforgen.org/species/acer-pseudoplatanus/)

4. La maladie des écorceurs d'érable

L'intérêt d'étudier la maladie de la suie provient, d'une part, de sa présence croissante en Europe et de son association avec le changement global et d'autre part, du fait que les spores de *C. corticale* peuvent provoquer chez l'Homme une pneumopathie d'hypersensibilité (Braun et al., 2021). Les personnes fortement exposées à ces spores hautement allergènes et pouvant développer la pneumopathie sont principalement les travailleurs du bois, les gardes forestiers, et les personnels des scieries. Cette maladie pulmonaire est appelée la maladie des écorceurs d'érables, Maple Bark Disease en anglais. La première mention de cette maladie a été reportée aux États-Unis, dans le Michigan en 1932. Des cas de maladies pulmonaires ont été décrits chez des bûcherons travaillant sur des troncs d'érables infectés (Towey et al., 1932). En 1962, d'autres cas de maladie des écorceurs d'érable sont reportés dans le nord du Wisconsin lors d'une épidémie dans une usine à papier (Wenzel and Emanuel, 1967).

Le diagnostic de cette maladie est complexe car ces symptômes ne sont pas spécifiques, cliniquement similaire à l'asthme allergique, une infection grippale ou à une pneumonie interstitielle (Braun et al., 2021). L'hypersensibilité pulmonaire peut conduire à une perte totale de la fonction pulmonaire pouvant amener au décès. Elle nécessite une collaboration entre plusieurs médecins pour obtenir un diagnostic (pneumologue, radiologue, pathologiste et médecin du travail). Diagnostiquée à temps, l'élimination du champignon et la non-exposition permet la guérison complète (Braun et al., 2021). Le développement d'un outil de diagnostic sérologique via le dosage des Immunoglobulines G (IgG) spécifiques contre *C. corticale* permettant de confirmer l'exposition et de fournir un support au diagnostic des cas suspects de pneumopathie d'hypersensibilité ont été menés (Kespohl et al., 2022). Cependant, les concentrations d'IgG spécifiques ne diffèrent pas nettement entre exposés et non-exposés, suggérant que la sérologie ne reflète pas simplement le niveau d'exposition mais pourrait être utile lors de suspicion clinique. Toutefois, il reste difficile d'obtenir un diagnostic avec certitude. Kespohl et al. soulignent l'importance d'une prévention active et la nécessité d'identifier rapidement les arbres infectés.

La prévention repose sur la protection individuelle des professionnels exposés, notamment durant l'abattage et l'élimination des arbres contaminés, ainsi que sur une surveillance accrue en contexte urbain et forestier. L'émergence de la maladie de la suie en Europe soulève la crainte d'une possible

augmentation du risque de cette pathologie chez l'Homme. Une meilleure connaissance de la progression réelle de l'épidémie en Europe et de l'agent responsable de la maladie apparaît donc nécessaire pour mieux les gérer. L'étude de la suie de l'érable s'intègre donc bien dans l'approche One Health (Destoumieux-Garzón et al., 2018).

5. Axes de recherches et objectifs de la thèse

L'épidémiologie de la maladie de la suie est complexe, car il y a plusieurs processus biologiques et environnementaux sous-jacents impliqués. D'une part, l'agent causal est un champignon envahissant, qui est en train de coloniser l'Europe et la côte ouest de l'Amérique du Nord. L'étendue de la colonisation de ce champignon pathogène en Europe ne peut pas être déterminée avec les données d'occurrence de la maladie, car il peut être présent de façon asymptomatique dans les hôtes. D'autre part, le développement de la maladie est fortement associé à des facteurs de stress environnementaux, tels que les épisodes de sécheresse, les canicules, ou des conditions de croissance défavorables en milieu urbain, qui favorisent l'apparition et l'aggravation des symptômes. La sévérité et la manifestation des symptômes varient selon les individus et semblent dépendre à la fois de la physiologie de l'hôte et des contraintes environnementales. L'observation fréquente de la maladie dans des zones urbaines suggère que ces environnements pourraient jouer un rôle dans l'introduction et la propagation initiale du pathogène, ainsi que dans la vulnérabilité accrue des arbres. Ces éléments suggèrent que la dynamique de la maladie ne résulte pas uniquement d'une infection opportuniste, mais d'une interaction complexe entre l'hôte, le pathogène et les conditions environnementales, de nombreux aspects restant encore à élucider.

L'objectif général de la thèse est donc de mieux comprendre les différents composants de l'épidémiologie de la maladie de la suie afin de mettre en avant de nouvelles pistes de recherche sur ce pathogène invasif et l'impact de cette maladie. Le travail de recherche sera organisé en trois axes.

Le premier axe de recherche porte sur une évaluation de la présence de *C. corticale* dans les érables sycomores sans symptômes apparents en France. Dans cet axe, l'hypothèse testée est que le champignon aurait été introduit par des plantations d'érables dans des zones urbaines et puis dispersé par le vent dans les aires naturelles avec présence d'érables sycomores. Observer la présence du champignon dans des hôtes sans symptômes apparents permettra de cartographier la colonisation réelle du champignon dans les principales zones de présence d'érable en France dans des zones urbaines, péri-urbaines et forestières.

Le second axe de recherche vise à éclaircir de manière plus ciblée la répartition du pathogène dans les tissus d'hôte sans symptômes apparents. En effet, le premier axe a soulevé des questions quant à la pertinence de la méthodologie d'échantillonnage. Observant une importante quantité de branches

mortes potentiellement infectées par *C. corticale* dans les houppiers, la prise d'échantillons au niveau du tronc aurait potentiellement sous-estimé la présence asymptomatique réelle de *C. corticale*.

Le dernier axe décrit la dynamique saisonnière de dispersion des spores. La dispersion de ce pathogène se faisant principalement par le vent. Mieux connaître ces dynamiques saisonnières permettrait de mieux évaluer la présence de ce pathogène dans les zones avec pour l'instant peu de signalements de suie. De plus, connaître les pics de présence de ces spores permettrait une meilleure gestion des arbres symptomatiques pour identifier les meilleures périodes pour supprimer les hôtes affectés. La mise en place de deux types de pièges à spores permettra de suivre la présence de *C. corticale* dans l'air tout au long de l'année et également de comparer deux méthodes d'échantillonnage afin de voir laquelle serait la plus pertinente pour un suivi de la dispersion du pathogène sur le territoire.

CHAPITRE 1 : Prévalence dans les hôtes asymptomatiques – Etude en France

Cette première étude a pour objectif d'avoir une idée plus précise de la répartition asymptomatique de *C. corticale* en France, dans l'aire de répartition de son hôte principal : l'érable sycomore. Puisque les premières mentions de la maladie de la suie sont principalement rapportées en ville et que le développement de *C. corticale* est favorisé par la chaleur et la sécheresse, les milieux urbains semblent plus favorables que les forêts au développement du parasite. Nous avons donc étudié la présence du champignon dans sa forme latente sur un gradient des milieux urbains vers les milieux plus naturels. Ce champignon pathogène est dispersé par le vent sur de longues distances, notre hypothèse est qu'il serait plus présent en milieu urbain et serait en mesure de coloniser les milieux naturels à partir de ces foyers urbains. D'autre part, les signalements de suie par le DSF sont moins fréquents dans la moitié sud de la France. Nous avons donc testé si ces moindres fréquences de suie sont associées à une présence plus faible de l'agent pathogène dans les peuplements. La présence de symptômes de suie renseigne mal sur la présence de *C. corticale*. Étudier sa présence latente dans des hôtes apparemment sans symptômes permettra d'avoir une meilleure connaissance de la répartition de ce pathogène sur le territoire et ainsi d'évaluer les risques futurs en cas de conditions climatiques favorables à son développement. L'hypothèse qui sera testée dans ce chapitre est donc la diffusion de l'agent pathogène depuis la ville vers les zones de présence naturelle des hôtes, en forêt.

Afin de tester notre hypothèse, nous avons échantillonné autour de 6 villes françaises au début de l'été 2023. Paris, Nancy et Strasbourg qui se situent dans une zone où le nombre de mentions de la maladie est assez élevé, ainsi que Lyon, Valence et Grenoble, où il n'y a pas ou très peu de mentions de la maladie. Pour chacune de ces aires, nous avons sélectionné des placettes selon un gradient d'anthropisation nous permettant de refléter l'état de stress impactant les érables. Au total, 585 érables sycomores asymptomatiques ont été échantillonnés, nous permettant d'avoir une quantité de données suffisante pour refléter la présence asymptomatique de *C. corticale*.

Les résultats de cette étude ont été retranscrits dans l'article suivant intitulé « Widespread latent presence of *Cryptostroma corticale* in sycamore maple in France » accepté avec des corrections mineures pour publication dans la revue Plant Pathology en Septembre 2025.

Widespread latent presence of *Cryptostroma corticale* in sycamore maple in France

Muller Elodie[1,2], Marçais Benoit[1], LeBoldus Jared[3,4], Husson Claude[5], Aguayo Jaime[2], Gomez-Gallego Mireia[1]

[1] Université de Lorraine, INRAE, UMR IAM 1136, 54000 Nancy, France

[2] ANSES, Laboratoire de la Santé des Végétaux, unité de Mycologie, USC INRAE 1480, Domaine de Pixérécourt, 54220 Malzéville, France

[3] Department of Botany and Plant Pathology, Oregon State University, 97331 Corvallis, Oregon, United States

[4] Forest Engineering, Resources and Management Department, Oregon State University, 97331 Corvallis, Oregon, United States.

[5] Département de la Santé des Forêts, DGAL, Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire, Paris, France

Corresponding author: Mireia Gomez-Gallego (mireia.gomez-gallego@inrae.fr)

Keywords: pathogen prevalence, anthropization, *Acer pseudoplatanus*, Sooty Bark Disease, urban tree, pathogen invasion

ABSTRACT

Increasingly-frequent drought events can favour forest disease emergence. Sooty Bark Disease (SBD) of *Acer pseudoplatanus* is a good example of this phenomenon. Records of its causal agent, *Cryptostroma corticale*, an invasive organism in Europe, have increased since the 2000s, in central and southern Europe. The pathogen is found asymptomatically in its host tissues and switches to a pathogenic lifestyle following abiotic stress. This latent phase hinders the pathogen's early detection. In this study, we assessed the prevalence of *C. corticale* in asymptomatic trees. Our study covered six regions, each including a city and its nearby peri-urban and forested ecosystems, reflecting a human incidence gradient. Three regions were selected with a high number of disease records, three others, with few records of SBD. We assessed by real-time PCR the pathogen's presence in 540 wood samples from asymptomatic maple trees. The prevalence was 13.6%, across all type of plots. The pathogen appears to be widespread in the natural sycamore maple stands in France, increasing the risk of disease development following future drought events. Host density and 3-year accumulated water deficit best explained detection of *C. corticale* presence in asymptomatic sycamore maples. However, the detection of the fungus was not related to the human influence level, as no significant differences were observed along the urban-to-forest gradient. Furthermore, *C. corticale* was detected in asymptomatic hosts even in regions with limited or recent reports of SBD, indicating that the local reporting frequency of the disease does not reflect the latent presence of the pathogen.

1. INTRODUCTION

Different mechanisms drive the emergence of fungal forest diseases in the context of climate change (Ghelardini et al., 2016). For example, the increase in temperature may allow some forest pathogens to colonise northern cooler areas which were previously unfavourable, either because the pathogen could not overwinter or because the temperature of the growing season was suboptimal. Wetter conditions can promote emergence by enhancing propagule dispersal and therefore the fitness of the pathogen. Alternatively, water shortage during more frequent droughts may weaken the host favouring their colonisation by pathogens (Eastburn et al., 2011; Scherm and Coakley, 2003; Tucker et al., 2011). Another major cause of forest disease emergence is the introduction of invasive fungal pathogens into new areas (Santini et al., 2013). Many pathogens are introduced by trade, in particular through the movement of infected plants and wood products. Plantings of ornamental trees in urban areas have been shown to represent an introduction pathway for pests and diseases to new areas, which may subsequently spread to natural environments (Paap et al., 2017). This was identified as an important pathway for *Phytophthora* species, such as *Phytophthora ramorum* (Goss et al., 2009; Grünwald et al., 2012).

Some fungal pathogens have an endophytic phase, lacking distinctive visual symptoms within the host (Schulz and Boyle, 2005; Sieber, 2007). These so-called latent pathogens can shift to a pathogenic phase when the physiology of their host is altered after environmental changes that lead to abiotic stress. *Diplodia sapinea* (Stanosz et al., 2001), *Biscogniauxia mediterranea* (Ghanbary et al., 2017) and *Cryptostroma corticale* (Muller et al., 2023; Ogris et al., 2021) are common examples of latent fungi whose pathogenicity is triggered by drought and hot temperatures. As they do not cause visible symptoms during the latent phase, early detection of these pathogens is challenging, particularly when they have been introduced to a new geographic area, and may not be widely distributed. This limitation in early detection may hinder the management of the disease, lowering the possibility of eradication or slowing the spread of the pathogen. Latent pathogens may remain asymptomatic in nursery

conditions and are therefore more easily spread by plantation in urban areas and forest ecosystems (Ghelardini et al., 2016; Stanosz et al., 1997). They can then cause significant disease outbreaks if the trees are exposed to stressful conditions such as drought which is expected to be more frequent in the context of climate change.

Cryptostroma corticale (Ellis & Everh.) P.H. Greg. & S. Waller is responsible for Sooty Bark disease (SBD) of maple trees (*Acer* spp.), an emergent disease in Europe. While the main host is *Acer pseudoplatanus*, it has also been reported to affect *A. platanoides* and *A. campestre*, as well as *Aesculus hippocastanum* (Brenken et al., 2024). The disease was first reported in Europe in an urban park in London (England) in 1945 (Gregory and Waller, 1951) and then in an urban forest in Paris (France) in 1947 (Moreau and Moreau, 1951). Since the 1990s, SBD was reported in forests across northern France. However, records of the disease in southern France remain rare according to the French Forest Health Department (Muller et al., 2023). Since the beginning of the twenty-first century, the disease spread throughout central and southern Europe and first reports were described in Austria, Germany, Netherlands, Bulgaria, Czech Republic, Switzerland, Italy, Belgium and in Slovenia (Muller et al., 2023; Tanney et al., 2024). More recently, the disease has been reported in the Pacific Northwest of the USA (Brooks et al., 2023; Garbelotto et al., 2024; Tanney et al., 2024) and in the West of Russia (Gninenko et al., 2024). Initial symptomatology is characterised by wilting of leaves and crown dieback (Dickenson and Wheeler, 1981; Gregory and Waller, 1951). In advanced stages of the disease, the pathogen incites extended necrosis of subcortical stem tissues which may lead to tree death. Peeling the bark of dead stems exposes a black stroma, which contains conidia of the fungus (Gibbs, 1997; Gregory and Waller, 1951; Peace, 1962). Reports of the pathogen are principally based on the microscopic observation of this stroma and the presence of conidia. However, *C. corticale* may be present in the trunk as a latent infection without any visible symptoms (Schlößer et al., 2023). Kelnarová et al. (2017) detected the pathogen in the wood of asymptomatic maples in urban parks in Prague with an incidence of 25%. Because of this dual-phase life cycle, with a latent and pathogenic phase, accurately assessing the actual prevalence of *C. corticale* in maple stands is challenging. Moreover, given that disease

expression requires the occurrence of drought stress, it is difficult to assess the extent of the presence of this exotic pathogen.

Climatic conditions leading to disease expression have been documented, with two-year cumulative water deficit dropping below -130 mm linked to SBD outbreaks (Muller et al., 2023). However, the disease risk first depends on how widespread *C. corticale* is in maple stands. Although first reports exist for SBD across Europe, the current distribution of the pathogen in its latent form remains unknown. Due to its latent nature, we do not know the distribution and prevalence of the pathogen in Europe limiting our ability to assess the risk of future SBD outbreaks.

The aim of this study was to evaluate the prevalence of the pathogen in asymptomatic trees in France within the natural range of sycamore maple. We hypothesised that the pathogen was dispersed along an urban-to-forest gradient, with higher prevalence of *C. corticale* in sycamore maples in urban settings, linked to introduction of the pathogen through planted urban trees and higher drought stress. Furthermore, latent infections would be more frequent in areas with a longer history of pathogen presence and with more frequent records of the disease presence compared to either recently or less affected regions.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Field sampling

Sycamore maple trees were sampled in France during the spring and summer of 2023. We selected six regions centred on a city in eastern France, i.e., within the natural range of sycamore maple (Figure 14, EUFORGEN database). In each region, there were three different plot types: forest, peri-urban and urban representing different degrees of human influence. The six French regions were selected based on the historical presence of the SBD as recorded in the French Forest Health Department (DSF, French acronym) database and the availability of urban tree inventories. The DSF database includes annual records of forest health problems reported in France by a network of foresters trained for the visual

diagnosis of abiotic, insect, or pathogen damage. We selected three regions with either the historical presence of SBD or with a high number of SBD records, in the vicinity of Paris, Nancy and Strasbourg, located in the North of France and three areas without the historical presence of SBD and few or no records of SBD, in the vicinity of Lyon, Grenoble and Valence, located in the South of France (Figure 14(a)). Plots were selected according to anthropization levels with the human influence index (Global Human Footprint Dataset, Version 2, 2005). This index considers human population pressure, human land use, infrastructure and human access, and is normalised by biome.

The map used for this study is a raster of 1-km grid cells, with a percentage for the relative human influence from 0 (limited influence) to 100 (strong influence). We chose three plots in each of the three human influence levels: urban, peri-urban and forest, with values of the Human Influence Index of 70 % to 90 %, 35 % to 70 %, and 15 % to 50 %, respectively. Planted trees were selected for urban plots from the available tree inventories, inside parks and from tree alignments in streets. Planted trees were also selected for peri-urban plots, along roads and canal sides. Non-planted trees were selected in forests. The distance of forest plots to the closest city plot ranged from 10 km to 62 km. We thus sampled a total of 54 plots (Figure 14(b), 6 regions x 3 plot types x 3 replicates, see Supplementary data, Table S1, for details). The list of selected plots is included in Supplementary Table S1.

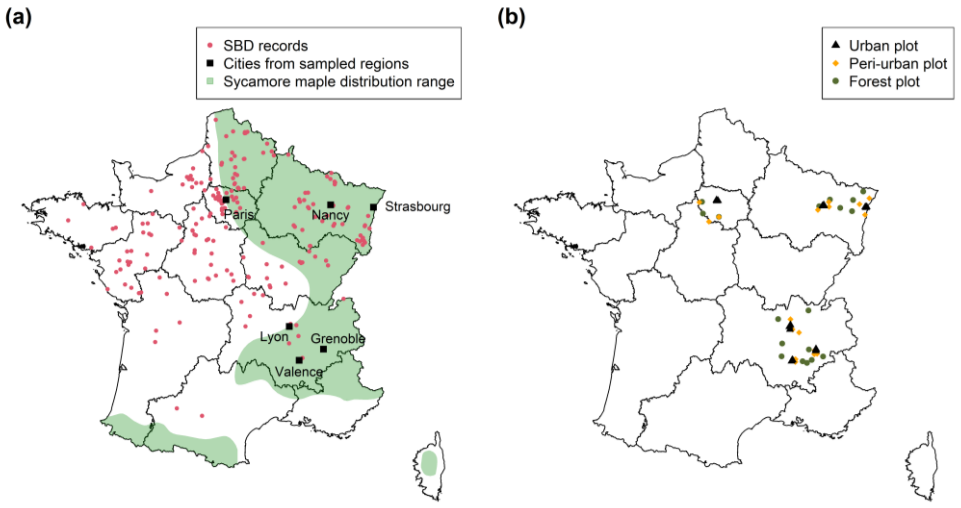


Figure 14 : (a) Records of SBD in France on maples from the DSF database between 1989 and 2024 (red dots), cities from sampled regions of the study (black squares) and natural sycamore maple distribution range (green, EUFORGEN); (b) Selected urban (black), peri-urban (orange) and forest plots (green).

To study the latent presence of *C. corticale*, we sampled trees that did not show any typical symptoms of the SBD, i.e. black stroma on the trunk. We only checked symptoms in the main trunk, and did not considered symptoms in the branches within the crown as they are difficult to reliably identify as SBD symptoms. However, the presence of black branches in the tree crown was reported for each tree. In each plot, ten *A. pseudoplatanus* trees were sampled. Those asymptomatic sycamore maples are hereafter called 'sampled trees'. Sampled trees were at least 10 m apart and had a diameter at breast height (DBH) over 7.5 cm. All parameters recorded at the tree and plot level are shown in Table 1. We took three samples per tree using a 6-mm cork-borer that was surface-sterilised with 70% ethanol between sampled trees. From each tree, one sample consisted of three equidistant pieces of wood taken at breast height. Prior to each sampling, the thick external bark was removed to enable the extraction of samples including the inner bark, the cambium, and sapwood to a depth of 1 cm. Each composite sample was stored in 2-ml Eppendorf tubes at room temperature until we returned in the laboratory.

All samples were kept in the laboratory at -80°C until further treatments. Trees with typical symptoms of SBD (i.e. those exhibiting black stroma on the main trunk) and/or black branches on the ground, if present, were also sampled for direct analysis to assess the presence of SBD in the area by isolation and species-specific qPCR.

Table 1: Variables observed, calculated or estimated at the tree and plot level in this study.

Variable	Level of observation	Description
DBH	tree	Diameter (cm) measured at a height of 1.30 m
SBD_{trunk}	tree	Presence of typical lesions of SDB on the trunk (excluded from sampled trees)
ES_{tree}	tree	Presence of epicormic shoots on the trunk
CD_{tree}	tree	Estimated percentage of loss in the tree crown (%)
BB_{tree}	tree	Presence of black branches in the tree crown
Human influence index	plot	Percentage for the relative Human Influence Index in the Global Human Footprint dataset (%)
BB_{plot}	plot	Presence of black branches in the plot
ES_{plot}	plot	Presence of epicormic shoots in the plot
CD_{plot}	plot	Mean percentage of crown dieback in the plot (%)

BA_{ap}	plot	Basal area of *A. pseudoplatanus* (m^2) within a buffer of 50 km around the plot according to the forest inventory data
BA_{susc}	plot	Basal area of *A. pseudoplatanus*, *A. platanoides* and *A. campestre* (m^2) within a buffer of 50 km around the plot according to the forest inventory data
Proportion of SBD records	plot	Proportion of SBD records within a buffer of 50 km around the plot, records from the DSF database from 1989 to 2023
$P\text{-}ETP_{veg}$	plot	Water deficit (mm) computed as the sum of the daily difference between rainfall and Penman-Monteith evapotranspiration, between April and August (growing season) during the 3 years before sampling
$P\text{-}ETP_{sum}$	plot	Water deficit (mm) computed as the sum of the daily difference between rainfall and Penman-Monteith evapotranspiration, in July and August during the 3 years before sampling
$P\text{-}ETP_{spr}$	plot	Water deficit (mm) computed as the sum of the daily difference between rainfall and Penman-Monteith evapotranspiration, between April and June during the 3 years before sampling
TX_{veg}	plot	Average daily maximal temperature (°C) between April and August (growing season) during the 3 years before sampling
TX_{sum}	plot	Average daily maximal temperature (°C) in July and August during the 3 years before sampling
TX_{spr}	plot	Average daily maximal temperature (°C) between April and June during the 3 years before sampling
N25	plot	Number of days with temperature above 25°C during the 3 years before sampling
SBD_{val}	plot	Presence of SBD in the plot confirmed by qPCR or isolation

2.2. DNA extraction and detection in asymptomatic-looking trees

Before DNA extraction, samples were lyophilised. They were kept at -30°C for 48 hours then gradually brought back to room temperature over the course of 12 hours with an increase in temperature of 5°C every hour. Subsequently, samples were stored at room temperature. We ground 20 mg of lyophilised tissues into a 1.5 ml Lysing Matrix A tube (MP Biomedicals) with a FastPrep® 24 homogeniser (MP

Biomedicals). The content of the tubes was ground twice for 1 min at 6.5 M/S and placed on ice for 5 min between the two rounds of grinding. We used DNeasy 96 Plant Kit (Qiagen) to extract genomic DNA, following the manufacturer's instructions with the following modifications. The first steps were conducted in individual tubes. Chemical lysis was performed by adding 400 µl of buffer AP1 with 1 µl of RNAse A and 1 µl of reagent DX to the sample. Incubation was conducted at 65°C for 20 minutes. The samples were mixed once after 10 minutes. Protein precipitation was performed with 130 µl of buffer P3, followed by a 10-minute incubation at -20°C. Tubes were centrifuged at 14 000 rpm for 5 minutes. The next steps were performed in 96 well plates, following the manufacturer's guidelines. DNA was eluted in a final volume of 100 µl of elution buffer.

The detection of the pathogen with species-specific primers was performed by real-time PCR (Muller et al., 2023) using 10-fold dilution of DNA extracts. Amplifications were performed with a Rotor-Gene Q thermocycler (Qiagen) in a 20 µl total volume containing 10 µl of 1X Takyon NoROX Probe Master Mix (Eurogentec), 0.3 µM of each primer (ccITS2F – forward: AGGTTGTGCTGTCCGGTG and SBD3R – reverse: AGCTCCTACCAACTACAGGGT), 0.1 µM of probe (SBD5P: FAM-ACCCTGTAGGAGGAGCTACCCTGTA-BHQ1), 2 µl of DNA template and PCR-grade water (up to 20µl). Thermal cycling conditions consisted of polymerase activation at 95°C for 10 minutes, followed by 40 cycles of 10 s at 95°C and 45 s at 62°C. A sample was considered as positive for *C. corticale*, if more than two of the three replicates were amplified (i.e. crossing the threshold line). Samples with none of the three replicates amplified were considered negative. If only one of the three replicates were amplified, another real-time PCR was performed for these samples without dilution. The sample was considered positive for *C. corticale* only if two replicates or more were positive obtained during the second step. All negative samples were amplified with a 18S Universal primer (Ioos et al., 2009) as an internal control (i.e. to test for the presence of PCR inhibitors). Negative samples for this test were considered to have poor DNA quality and were removed from the analysis. The cycle threshold (Ct) value for each reaction was determined using Rotor-Gene software version 2.3.5, setting the threshold line at 0.02 manually for all the experiments.

2.3. Isolation from symptomatic samples

We selected samples with typical symptoms of SBD, i.e. black stroma with conidia. Symptomatic samples were surface disinfested with 70 % ethanol and either a piece of wood or conidia, if present, were placed on malt chloramphenicol medium (12 g/L of malt extract, 15 g/L of agar, 2 ml/L of chloramphenicol solution at 220 ppm). We incubated samples for 7 to 30 days at 25 °C. Mycelium was subcultured on a new Petri dish containing malt chloramphenicol medium or potato dextrose agar medium (PDA; Difco, Maryland, USA). DNA was extracted from these pure cultures using DNeasy Mini Plant kit (Qiagen) following the manufacturer's instructions. DNA extracts were tested with the species-specific qPCR assay. Conditions and parameters of the qPCR were identical to the description above.

2.4. Statistical analyses

We estimated the prevalence of *C. corticale* as the percentage of positive trees among the total number of asymptomatic sampled trees in each plot. Several variables were related to *C. corticale* prevalence. The number of SBD records for each plot was derived from the DSF database by computing the sum of the number of disease records within 50 km from the centre of the plot using the records from 1989 to 2023. The host basal area was derived from the forest inventory database (IGN, website). All IGN plots in the 2005-2021 period within a 50 km radius were used. We computed the basal area for the main SBD host, sycamore maple, and for other maple species that can host the fungus (Table 1). The presence of symptomatic samples validated by either culture or qPCR were computed as SBD_{val} variable for each plot.

We chose climatic variables known to impact SBD occurrence: drought and high temperatures (Dickenson and Wheeler, 1981; Muller et al., 2023; Ogris et al., 2021). We obtained daily data from Meteo-France by selecting the closest SAFRAN database grid points to our plots. We computed drought as the accumulated water balance for the three previous years, calculated as the sum of the daily difference between rainfall (P) and Penman-Monteith evapotranspiration (ETP) in summer (July-

August, $P\text{-}ETP_{sum}$), in spring (April-June, $P\text{-}ETP_{spr}$), in the growing season (April-August, $P\text{-}ETP_{veg}$). High temperatures were computed as the average daily maximal temperature in summer (July-August, TX_{sum}), in spring (April-June, TX_{spr}) and in the growing season (April-August, TX_{veg}). The number of days where the temperature exceeded 25 °C during the three previous years (N25) was also calculated.

All statistical analyses were performed using R version 4.4.1 (R Development Core Team, 2024). We had two main hypotheses: (i) the pathogen was introduced to urban areas and then dispersed to forest ecosystems; and (ii) that latent infections were more frequent in regions with a longer history of pathogen presence compared to the recently affected regions. To test these hypotheses, we used the prevalence of *C. corticale* on asymptomatic maple trees as a response variable in a generalised additive mixed model including the human influence index values and the proportion of SBD records as fixed factors and the region and plot as random factors. The model was fit using the *gamm4* function (package *mgcv*). In a second analysis, we used the random forest algorithm (Breiman, 2001) to identify the main predictors of the prevalence of *C. corticale* on asymptomatic maple trees in France (function and package *randomForest*). We considered 15 plot-level variables as predictors of the proportion of trees with presence of *C. corticale* (Table 1). We optimised the *mtry* argument, i.e. the number of variables that are randomly selected at each tree node, by minimising the out-of-bag prediction error. We used the mean decrease in accuracy of each tree caused by the absence of a predictor to define the importance of the predictor. The predictors that did not involve an increase in the model accuracy were not considered for the next step. Finally, to test the impact of the selected predictors on *C. corticale* prevalence, we used a generalised additive mixed model with *C. corticale* prevalence as a response variable, the predictors selected in the random forest analysis as fixed factors, and the region and plot as random factor (*gamm4* function, package *mgcv*). We performed backward selection to obtain the optimal model.

3. RESULTS

3.1. Disease prevalence

Typical symptoms of SBD were found in 9 plots out of 54, i.e. 16.6 % of the sampled plots. In total, 13 symptomatic samples were collected from 9 plots from different trees and confirmed to be *C. corticale* either by isolation and qPCR (n = 10) or only by qPCR (n = 3) (Figure 15). Frequency of SBD symptoms was related neither to human influence nor to historical presence of the pathogen in the region (respectively, $z_{(1, 52)} = -0.480$; $p = 0.632$, $z_{(1, 52)} = -0.367$; $p = 0.713$).

We recorded black branches in sampled tree crowns in 68.5% of the sampled plots and symptoms of SBD were only found in plots with black branches in the crowns. However, the proportion of black branches and the proportion of trees with SBD were not correlated ($z_{(1, 52)} = 0.827$; $p = 0.4$). The proportion of epicormic shoots and the mean percentage of crown dieback were not correlated to detection of the pathogen in trees with SBD symptoms (respectively, $z_{(1, 52)} = 0.024$; $p = 0.98$, $z_{(1, 52)} = 0.077$; $p = 0.94$).

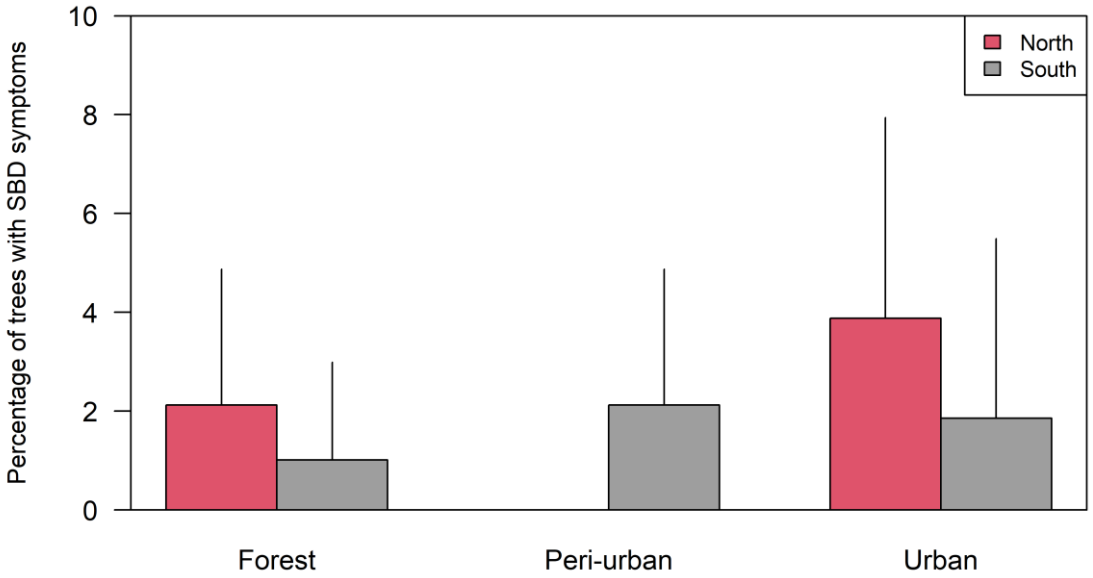


Figure 15: Percentage of trees with symptoms of SBD validated by qPCR for each plot type (Urban, Peri-urban and Forest).

3.2. Latent *C. corticale* prevalence in asymptomatic trees

A total of 540 sycamore maple trees was sampled across the 6 selected regions. Among them, 535 sampled trees were used for the analyses after removing the samples that did not amplify the universal 18S internal control, i.e. negative for both the universal 18S and the *C. corticale* species-specific tests. The average prevalence of *C. corticale* was 13.6 % (73/535). SBD prevalence differed among regions (Table 2) with the higher prevalence in Valence (25.8 %) and the lowest in Grenoble (4.4 %), and among plots within regions (Figure S1 and Table S1).

Table 2 : Prevalence in asymptomatic sycamore maple trees in the different regions sampled in this study and the cumulative prevalence in France. N: number of trees sampled in urban, peri-urban and forest plots altogether.

Areas		**N**	**Prevalence**
Nancy	*North*	90	20.0 %
Strasbourg	*North*	90	16.7 %
Paris	*North*	87	6.9 %
Valence	*South*	89	25.8 %
Lyon	*South*	89	7.9 %
Grenoble	*South*	90	4.4 %
France		535	13.6 %

There was no effect of human influence index or the historical presence of the pathogen (respectively, $z_{(1, 52)} = 0.548$; $p = 0.58$, $z_{(1, 52)} = 0.001$; $p = 0.99$) on SBD prevalence (Figure 16). Moreover, we did not find a significant relationship between *C. corticale* prevalence and the proportion of SBD records around the sampled plot in the DSF database ($z_{(1, 52)} = -0.869$; $p = 0.38$) (Figure 17).

In contrast, we observed a correlation between the presence of black branches within a plot and the presence of *C. corticale* on maples without SBD symptoms ($z_{(1, 52)} = 2.073$; $p = 0.038$) (Figure 18). The prevalence of the pathogen in sampled trees was not related to the presence of SBD symptoms on the plots ($z_{(1, 52)} = 0.879$; $p = 0.379$). Furthermore, *C. corticale* was detected in sampled trees from regions with little to no SBD records in the DSF database, in particular in the Valence and Grenoble regions where the disease was only reported once (Figure S1 and Table S1). Similar to disease prevalence, pathogen detection in sampled trees was not correlated to the presence of epicormic shoots or the percentage of crown dieback (respectively, $z_{(1, 52)} = 0.989$; $p = 0.322$, $z_{(1, 52)} = 1.157$; $p = 0.247$).

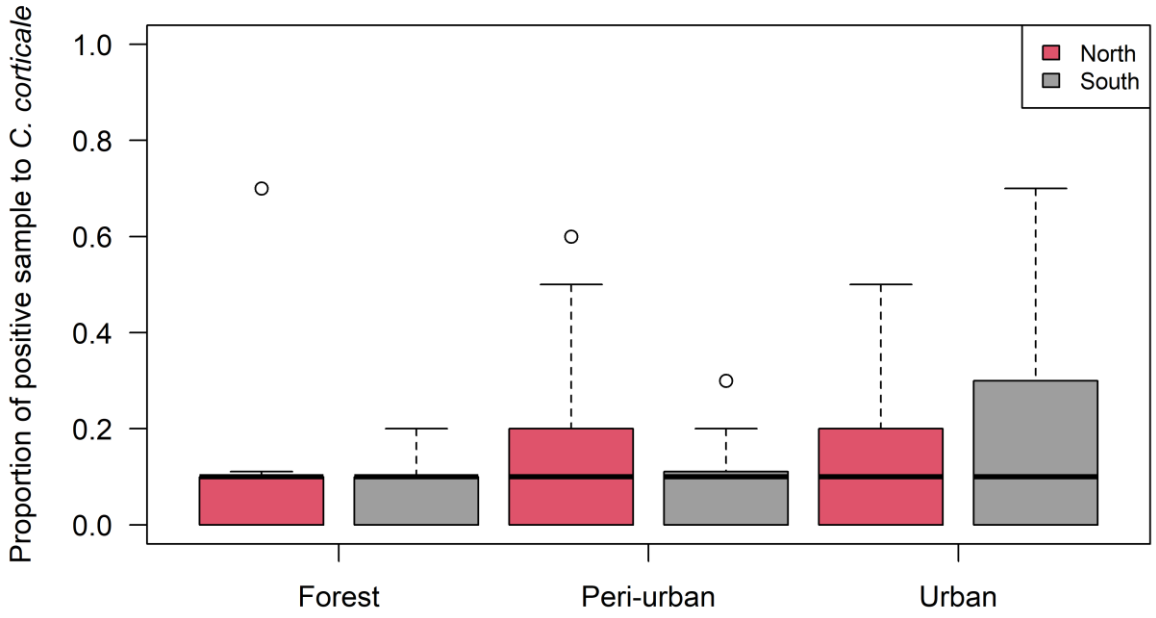


Figure 16 : Proportion of sampled trees with presence of C. corticale per plot type (urban, peri-urban and forest in asymptomatic sycamore maple trees). No significant difference was detected (p > 0.05).

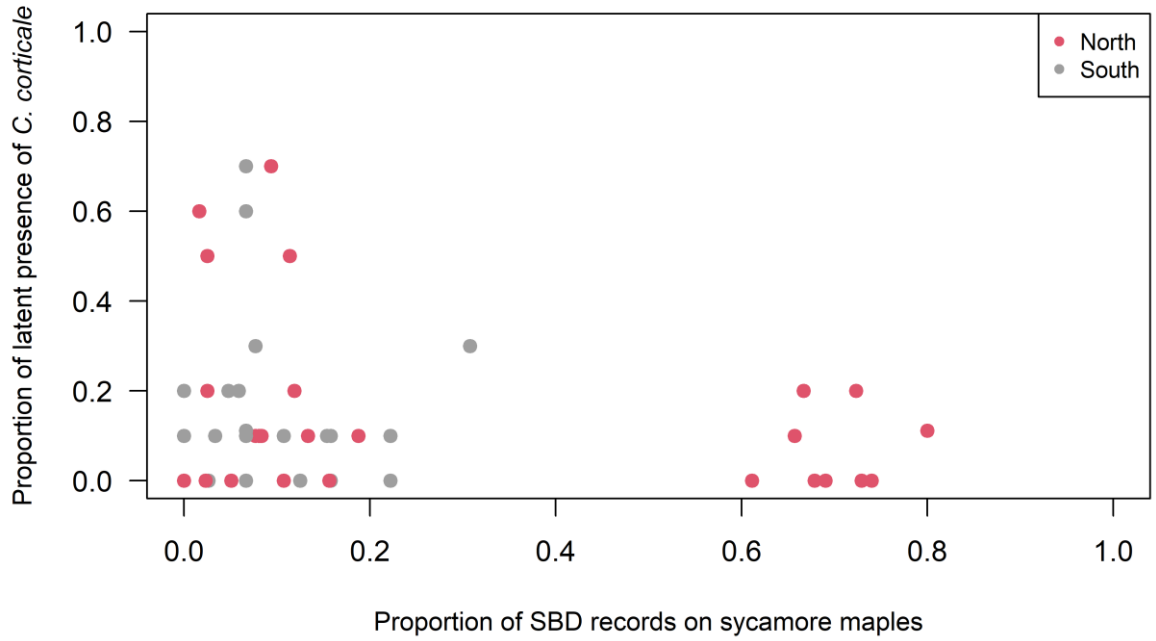


Figure 17 : Relationship between latent presence of C. corticale in sampled trees and local frequency of SBD in the DSF database between 1989 and 2023 within a 50-km buffer around each plot. No relationship was detected (p > 0.05).

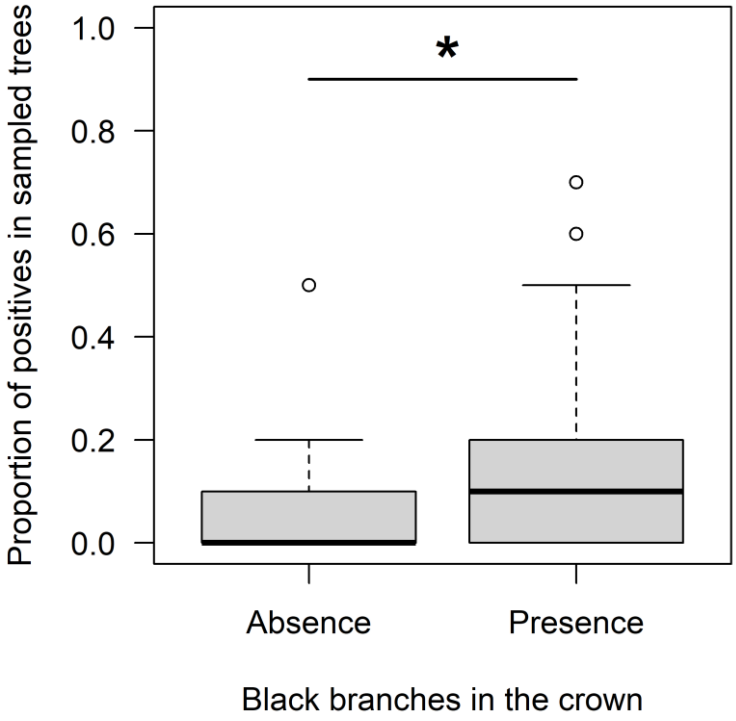


Figure 18 : Proportion of C. corticale positive trees as a function of black branches in the crown. The asterix indicates a significant difference ($p < 0.05$).

3.3. Environmental variables

We constructed a random forest model with 500 decision trees and an optimised *mtry* of 14 variables tested for each decision tree. The variables that best predicted the detection of *C. corticale* in sampled trees were the density of maple hosts (*A. pseudoplatanus*, *A. platanoides* and *A. campestre*) within a 50-km distance of the centre of the plots (BA_{susc}); and climatic variables related to either the cumulative water balance ($P\text{-}ETP_{veg}$, $P\text{-}ETP_{sum}$, $P\text{-}ETP_{spr}$,) or the occurrence of summer high temperatures (TX_{veg}, TX_{sum}, TX_{spr}, N25) (Figure 19). We evaluated the performance of the random forest regression model to predict the proportion of maple trees without SBD positives for *C. corticale*. The percentage of variance explained by these predictors was 16.3%.

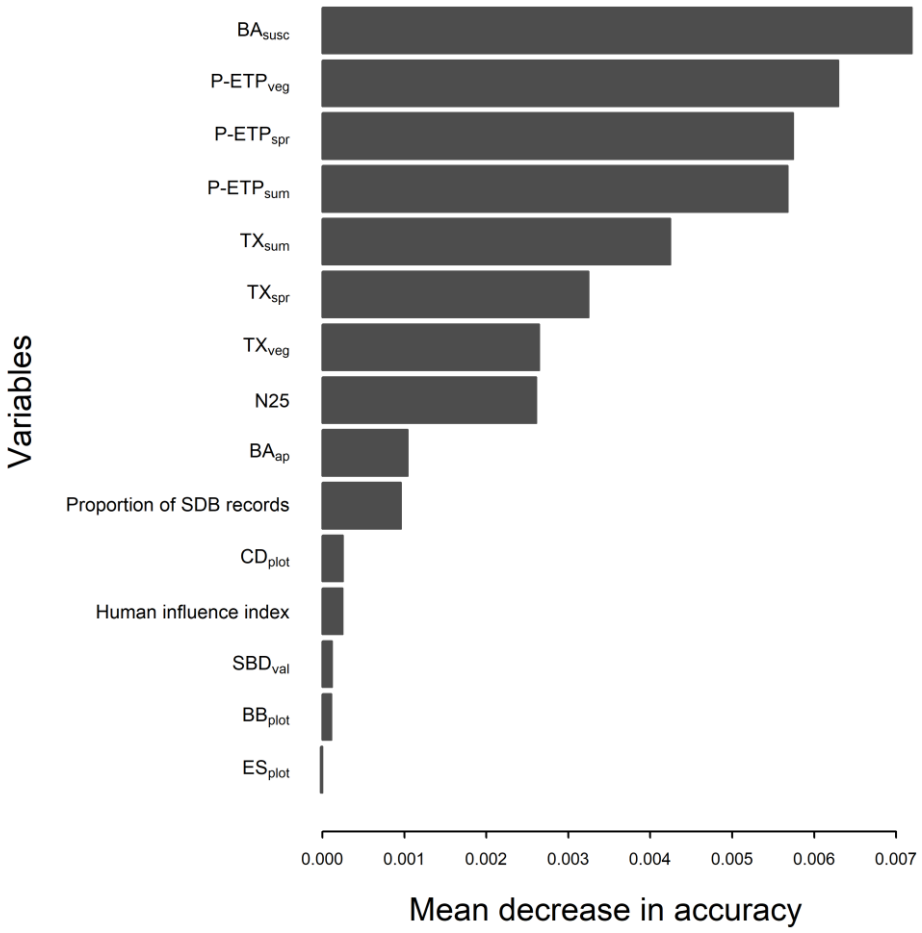


Figure 19 : Importance of variables classified with random forest, with 500 trees and optimal number of randomised variables. Variables improve model fit when mean decrease in accuracy is positive. BA_{susc} = Basal area of susceptible hosts (A. pseudoplatanus, A. platanoides and A. campestre); $P\text{-}ETP_{veg}$ = Water deficit during vegetative season; $P\text{-}ETP_{spr}$ = Water deficit during spring; $P\text{-}ETP_{sum}$ = Water deficit during summer; TX_{veg} = Average daily maximal temperature during vegetative season; TX_{spr} = Average daily maximal temperature during spring; TX_{sum} = Average daily maximal temperature during summer; N25 = Number of days with temperature above 25°C; BA_{ap} = Basal area of A. pseudoplatanus; CD_{plot} = Mean percentage of crown dieback in the plot; BB_{plot} = Presence of black branches in the plot; ES_{plot} = Presence of epicormic shoots in the plot; SBD_{val} = Presence of SBD in the plot confirmed by qPCR or isolation.

We performed a backward selection in a generalised additive mixed model including the variables selected by the random forest. The predictors that were retained in the optimal model to explain prevalence of *C. corticale* in asymptomatic hosts were the cumulative water deficit during the growing season ($P\text{-}ETP_{veg}$) of the 3 years prior to sampling (between April and August, $z_{(1, 52)} = -3.200$; $p = 0.001$) and the basal area of susceptible hosts (*A. pseudoplatanus*, *A. platanoides,* and *A. campestre)* within a 50-km radius of the plot ($z_{(1, 52)} = 2.276$; $p = 0.02$). Furthermore, we observed a correlation between the presence of black branches in tree crowns and the prevalence of *C. corticale* ($z_{(1, 52)} = 2.313$; $p = 0.021$). Including the basal area of all maple species within a 50-km buffer around the plot improved

the model's ability to predict the prevalence of *C. corticale* compared to a model considering the basal area of *A. pseudoplatanus* alone (BA_{susc} versus BA_{ap}, Figure 19.).

We estimated the effect of cumulative water balance in the growing season for the 3 previous years and the effect of basal area of susceptible hosts on the endophytic presence of *C. corticale*, with and without presence of black branches in the crown at the plot level. On the one hand, we observed a positive effect of severe water deficit (i.e. negative cumulated water deficit) on the latent presence of *C. corticale* (Figure 20a). The basal area of susceptible hosts is positively linked to the latent presence of *C. corticale* (Figure 20b).

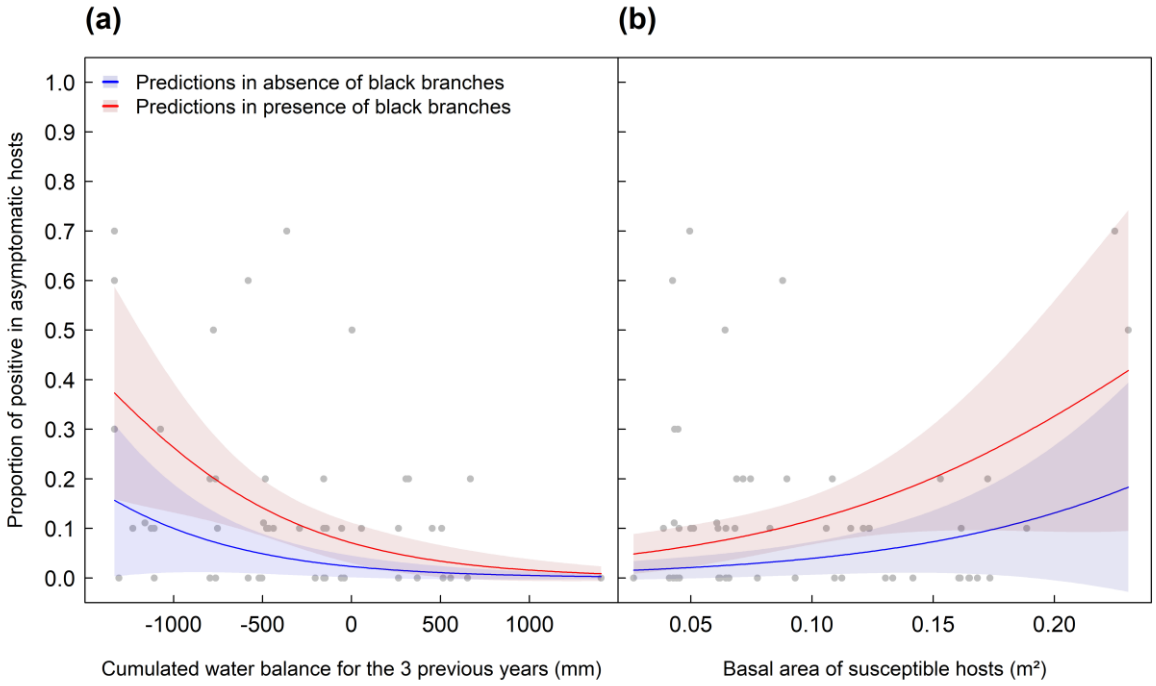


Figure 20 : Model prediction of the endophytic presence of C. corticale in sampled trees without SBD symptoms for (a) cumulated water balance in the vegetative season for the 3 previous years (from April to August); and (b) basal area of susceptible hosts (A. campestre, A. platanoides and A. pseudoplatanus) within 50 km of the plots. In both figures, red line is the prediction with the presence of black branches in the tree crown of at least one tree in the plot, and blue line is the prediction without the presence of black branches in the plot. Shaded areas represent the 95% confidence intervals.

4. DISCUSSION

C. corticale, in its latent form, is more widely distributed in France than previously indicated by the DSF disease records. The difference between the disease and the pathogen prevalence is especially marked in forested areas and in the southern part of the country. The latent presence was studied in urban

area in Prague (Kelnarová et al., 2017) and in four forests stands in Germany (Schlößer et al., 2023). We hypothesised that the prevalence of the pathogen would be high in the Paris area, given that SBD has been documented there since 1947, with numerous reports between 1991 and 2024 (DSF database). However, our data revealed only a 7 % frequency of latent presence in sampled trees. Conversely, despite few records of SBD in the Valence and Grenoble areas in the DSF database, *C. corticale* was detected in both areas, with the highest prevalence of the study observed in Valence (25.8%). It has to be pointed out that Kelnarová et al. (2017) also found a very high prevalence of *C. corticale* in asymptomatic sycamore trees in Prague (25%), not long after the first report of the disease in the area. There are several possible explanations for these results. A longer period of time of disease presence in the Paris area may have led to a higher awareness of the disease and the implementation of disease management practices such as prompt removal of symptomatic trees (Bevercombe and Rayner, 1984; Kelnarová et al., 2017), particularly in urban settings, reducing inoculum loads in the area. On the contrary, the recent occurrence of the SBD in the South of France and potential lack of awareness may have delayed its early detection, identification, as well as timely removal of infected trees, likely favouring its spread around Valence. Further, the lack of comprehensive data on both the pathogen and the SBD in urban areas limits our ability to determine when the disease established in southern cities. This raises the possibility that an accumulation of inoculum might have occurred, contributing to the high latent presence of the pathogen. Alternatively, the recent arrival of the SBD in the South could explain the limited expression of symptoms. It is also possible that sycamore maple trees in southern France are better adapted to water deficits and high temperatures, and thus drought stress they experience does not trigger the disease.

Our hypotheses of dispersal from urban areas to forest ecosystems could not be validated. We did not find significant differences in pathogen prevalence along the human influence gradient. First reports of the pathogen are typically located in urban areas and residential settings, as seen in early European cases such as London (Gregory & Waller, 1951) and Paris (Moreau & Moreau, 1951), as well as in recent European (Bencheva, 2014; Brenken et al., 2024; Koukol et al., 2015; Schlößer et al., 2024) and North

American reports (Brooks et al., 2023; Garbelotto et al., 2024; Tanney et al., 2024). The fungus has also been reported in natural areas as the northern Apennines, in Italy (Oliveira Longa et al., 2016). However, those reports are less frequent. Therefore, because of longer presence in cities, we expected that we would observe a higher latent prevalence of *C. corticale* in urban areas. Differences in management practices between urban areas and forest ecosystems may partly explain the absence of significant differences across plots type. Trees with SBD in cities are quickly removed, in particular because of concern over a possible risk for human health of exposure to high spore levels (Braun et al., 2021). This is likely not the case in forested areas, where low human affluence does not lead to preventive measures regarding human health. The sampled trees in urban and peri-urban plots were planted, whereas sampled forest trees likely originated from seeds. Planted trees from nurseries, have been shown to be source of inoculum of pathogenic fungi(Goss et al., 2009; Paap et al., 2017). However, presence of *C. corticale* on nursery plants has not been studied so far. It is possible that differences in latent prevalence of the fungus existed along the urban-to-forest gradient during the colonisation process, but that these dispersion patterns have since levelled out, potentially due to the widespread establishment and dispersal of *C. corticale* before our sampling.

Using random forest algorithms, we were able to classify the variables according to their predictive potential to elucidate which are the drivers of the latent presence of *C. corticale* in its host. Host density, water balance and presence of black branches at the plot levels were the predictors that best explained the latent presence of *C. corticale* in sycamore maple trees in our dataset. The low percentage of explained variance in the random forest model (16.25%) indicates that some primary factor(s) driving the endophytic occurrence of *C. corticale* have not been identified yet. A large part of the variability may be linked to the stochasticity in pathogen dispersal. Increasing the sampling frequency and improving the sampling procedure could further enhance the robustness of the results. Even though the external-wood sampling at 1.30 m height is commonly used, the accuracy of this method has not been quantified.

Host density and water deficit were found to influence latent presence of the pathogen in our study, and have also been identified as key drivers of SBD emergence (Muller et al., 2023). Host density is a widely recognised variable in epidemiology research (Hantsch et al., 2014, 2013; Keesing et al., 2010). For example, Martin et al. (2025), previously investigated host density in relation to ash dieback and also demonstrated that lower host density is associated with a reduced presence of the disease. Our most informative host density variable included not only *A. pseudoplatanus,* the main reported susceptible host in France, but also *A. platanoides* and *A. campestre* which are seldom documented as hosts in the DSF database. This finding suggests that these less commonly reported maple species may also serve as important inoculum sources. Indeed, the source of inoculum is poorly characterised for this pathosystem. While trees exhibiting advanced SBD symptoms are clearly significant contributors to inoculum loads, milder symptoms –such as dead branches in the crown– have also been reported (Abbey, 1978; Gregory and Waller, 1951) and may play a role in inoculum production. Although *A. campestre* and *A. platanoides* are typically less affected by the disease according to the DSF database, they could present milder crown symptoms with infected branches and thus be substantial inoculum sources. Moreover, *A. campestre* and *A. platanoides* are more frequent in the South of France (IFN database). Previously, Kelnarová et al. (2017) also pointed out that prevalence of the fungus could be higher considering the presence of early infections within the branches.

The fact that presence of black branches in the tree crowns at the plot level can be a good indicator of the disease presence is also in agreement with this possible role as inoculum source. It was reported that wounds in the tree crown could be a good penetration pathway for the conidia to create infection (Abbey, 1978; Dickenson, 1980; Gregory and Waller, 1951). However, in our study, we could not confirm that these black branches are early symptoms of SBD. It was not possible to definitively attribute these symptoms to *C. corticale* as we had no access to the branches. Similar symptoms can also be caused by various saprophytic fungi such as *Eutypa maura*, *Neocucurbitaria acerina* or *Nectria cinnabarina* (Brglez et al., 2020; Gregory and Waller, 1951).

The mechanism linking the latent presence of *C. corticale* in asymptomatic trees to drought remains unclear. Two possible explanations can be proposed. First, in 1981, Dickenson and Wheeler, showed that *C. corticale* grows faster on young sycamore maples subjected to water stress at 25°C (Dickenson and Wheeler, 1981). Also, drought has been associated with the expression of SBD symptoms themselves (Muller et al. 2023). The formation of black stroma in the trunk represents the final stage of the disease, during which large quantities of conidia are released and may infect surrounding trees by entering through bark cracks and wounds. Elevated drought levels over the preceding three years may have triggered SBD lesions, increasing the inoculum load across a wide area surrounding the sampled plots. Our sampling protocol, which involved collecting tissue to a depth of only 1 cm into the sapwood, aligns with the hypothesis of recent infections resulting from increased inoculum pressure. Alternatively, the pathogen may have already been present in its latent phase within the sapwood, and drought stress may have accelerated the asymptomatic colonisation of the host tissue, thereby increasing the likelihood of detection through molecular methods. Our sampling at DBH may have underestimated the latent prevalence of *C. corticale*, as the spatial distribution of the fungus within host tissues remains poorly understood.

Our study sheds light on the widespread latent presence of *Cryptostroma corticale* in sycamore maple stands in France. Our results suggest that the pathogen is widespread even in the south throughout urban and forest ecosystems. Although, host density and water stress arise as influential factors, they do not fully explain the prevalence of *C. corticale*, which leaves a part of the epidemiology unresolved. Future research focusing on the latent distribution of the fungus within the host tissues at the individual tree level would be essential to validate our findings and refine sampling strategies. This might also provide insights into the entry points and infection sites within the tree as well as potential inoculum sources.

5. ACKNOWLEGMENT

We acknowledge the directions of Urban trees and green spaces of the cities of Nancy, Strasbourg, Paris, Lyon, Valence and Grenoble for providing us with tree inventory data. This work was supported by the ANSES-INRAE PhD grant (2022-2025), the CRYPTIC project funded by the French Ministry of Agriculture and Forestry, the Transatlantic Research Partnership (Thomas Jefferson Fund) and the ANSES Project *flash* 2022. The mycology research unit of the ANSES Plant Health Laboratory (LSV), USC INRAE 1480, is supported by a grant managed by the French National Research Agency (ANR) as part of the French government's "Investing for the Future" (PIA) programme (ANR-11-LABX-0002-01, Laboratory of Excellence-ARBRE).

6. REFERENCES

Abbey, S.D., 1978. The morphology and physiology of *Cryptostroma corticale* (PhD Thesis). Loughborough University of Technology, Loughborough.

Bencheva, S., 2014. First report of *Cryptostroma corticale* (Ellis & Everh.) P.H. Greg. & S. Waller on *Acer platanoides* L. in Bulgaria. Silva Balc. 15, 5.

Bevercombe, G.P., Rayner, A.D.M., 1984. Population structure of *Cryptostroma corticale*, the causal fungus of sooty bark disease of sycamore. Plant Pathol. 33, 211–217. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1984.tb02642.x

Braun, M., Klingelhöfer, D., Groneberg, D.A., 2021. Sooty bark disease of maples: the risk for hypersensitivity pneumonitis by fungal spores not only for woodman. J. Occup. Med. Toxicol. 16, 2. https://doi.org/10.1186/s12995-021-00292-5

Breiman, L., 2001. Random Forests. Machine Learning 5–32. https://doi.org/10.1023/A:1010933404324

Brenken, A.-C., Kehr, R., Riebesehl, J., Esch, J., Enderle, R., 2024. First report of *Cryptostroma corticale* on *Aesculus hippocastanum* causing sooty bark disease in Germany. J. Plant Dis. Prot. https://doi.org/10.1007/s41348-024-00891-4

Brglez, A., Piškur, B., Ogris, N., 2020. *Eutypella parasitica* and Other Frequently Isolated Fungi in Wood of Dead Branches of Young Sycamore Maple (*Acer pseudoplatanus*) in Slovenia. Forests 11, 467. https://doi.org/10.3390/f11040467

Brooks, R.K., Omdal, D., Brown, S., Marshall, C.J., Hulbert, J.M., Elliott, M., Chastagner, G., 2023. *Cryptostroma corticale*, the causal agent of sooty bark disease of maple, appears widespread in western Washington State, USA. For. Pathol. e12835. https://doi.org/10.1111/efp.12835

Dickenson, S., 1980. Biology of *Cryptostroma corticale* and the sooty bark disease of Sycamore (PhD Thesis). University of London, Berkshire.

Dickenson, S., Wheeler, B.E.J., 1981. Effects of temperature, and water stress in sycamore, on growth of *Cryptostroma corticale*. Trans. Br. Mycol. Soc. 76, 181–185. https://doi.org/10.1016/S0007-1536(81)80136-2

Eastburn, D.M., McElrone, A.J., Bilgin, D.D., 2011. Influence of atmospheric and climatic change on plant–pathogen interactions. Plant Pathol. 60, 54–69. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02402.x

Garbelotto, M., Popenuck, T., Schmidt, D., Rooney-Latham, S., Ewing, C., Smith, T., 2024. First Report of *Cryptostroma corticale* Causing Sooty Bark Disease in California and First Worldwide Report of Silver Maple as a Host. Plant Dis. PDIS-12-23-2734-PDN. https://doi.org/10.1094/PDIS-12-23-2734-PDN

Ghanbary, E., Tabari Kouchaksaraei, M., Mirabolfathy, M., Modarres Sanavi, S.A.M., Rahaie, M., 2017. Growth and physiological responses of *Quercus brantii* seedlings inoculated with *Biscogniauxia mediterranea* and *Obolarina persica* under drought stress. For. Pathol. 47, e12353. https://doi.org/10.1111/efp.12353

Ghelardini, L., Pepori, A.L., Luchi, N., Capretti, P., Santini, A., 2016. Drivers of emerging fungal diseases of forest trees. For. Ecol. Manag. 381, 235–246. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.09.032

Gibbs, J.N., 1997. Firfty years of Sooty bark disease of Sycamore. Quaterly J. For. 2015–221.

Gninenko, Yu.I., Chilakhsaeva, E.A., Seraya, L.G., Larina, G.E., Yufereva, V.V., Bondareva, E.V., Yarylchenko, T.N., 2024. First Report of *Cryptostroma corticale*, a Causative Agent of the Sooty Bark Disease of Maples, in Russia. Russ. J. Biol. Invasions 15, 26–31. https://doi.org/10.1134/S2075111724010041

Goss, E.M., Larsen, M., Chastagner, G.A., Givens, D.R., Grünwald, N.J., 2009. Population Genetic Analysis Infers Migration Pathways of *Phytophthora ramorum* in US Nurseries. PLoS Pathog. 5, e1000583. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000583

Gregory, P.H., Waller, S., 1951. *Cryptostroma corticale* and sooty bark disease of sycamore (*Acer pseudoplatanus*). Trans. Br. Mycol. Soc. 34, 579-IN10. https://doi.org/10.1016/S0007-1536(51)80043-3

Grünwald, N.J., Garbelotto, M., Goss, E.M., Heungens, K., Prospero, S., 2012. Emergence of the sudden oak death pathogen *Phytophthora ramorum*. Trends Microbiol. 20, 131–138. https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.12.006

492 Hantsch, L., Bien, S., Radatz, S., Braun, U., Auge, H., Bruelheide, H., 2014. Tree diversity and the role of
493 non-host neighbour tree species in reducing fungal pathogen infestation. J. Ecol. 102, 1673–
494 1687. https://doi.org/10.1111/1365-2745.12317
495 Hantsch, L., Braun, U., Scherer-Lorenzen, M., Bruelheide, H., 2013. Species richness and species
496 identity effects on occurrence of foliar fungal pathogens in a tree diversity experiment.
497 Ecosphere 4, 1–12. https://doi.org/10.1890/ES13-00103.1
498 Ioos, R., Fourrier, C., Iancu, G., Gordon, T.R., 2009. Sensitive Detection of *Fusarium circinatum* in Pine
499 Seed by Combining an Enrichment Procedure with a Real-Time Polymerase Chain Reaction
500 Using Dual-Labeled Probe Chemistry. Phytopathology® 99, 582–590.
501 https://doi.org/10.1094/PHYTO-99-5-0582
502 Keesing, F., Belden, L.K., Daszak, P., Dobson, A., Harvell, C.D., Holt, R.D., Hudson, P., Jolles, A., Jones,
503 K.E., Mitchell, C.E., Myers, S.S., Bogich, T., Ostfeld, R.S., 2010. Impacts of biodiversity on the
504 emergence and transmission of infectious diseases. Nature 468, 647–652.
505 https://doi.org/10.1038/nature09575
506 Kelnarová, I., Černý, K., Zahradník, D., Koukol, O., 2017. Widespread latent infection of *Cryptostroma*
507 *corticale* in asymptomatic *Acer pseudoplatanus* as a risk for urban plantations. For. Pathol. 47,
508 e12344. https://doi.org/10.1111/efp.12344
509 Koukol, O., Kelnarová, I., Černý, K., 2015. Recent observations of sooty bark disease of sycamore maple
510 in Prague (Czech Republic) and the phylogenetic placement of *Cryptostroma corticale*. For.
511 Pathol. 45, 21–27. https://doi.org/10.1111/efp.12129
512 Martin, M., Ningre, F., Dowkiw, A., Le Goff, N., Marçais, B., 2025. High Host Density Promotes Ash
513 Dieback. Plant Pathol. ppa.14099. https://doi.org/10.1111/ppa.14099
514 Moreau, C., Moreau, M., 1951. La suie des Sycomores à Paris. Bull. Société Mycol. Fr. 67, 404–418.
515 Muller, E., Dvořák, M., Marçais, B., Caeiro, E., Clot, B., Desprez-Loustau, M.-L., Gedda, B., Lundén, K.,
516 Migliorini, D., Oliver, G., Ramos, A.P., Rigling, D., Rybníček, O., Santini, A., Schneider, S., Stenlid,
517 J., Tedeschini, E., Aguayo, J., Gomez-Gallego, M., 2023. Conditions of emergence of the Sooty
518 Bark Disease and aerobiology of *Cryptostroma corticale* in Europe. NeoBiota 84, 319–347.
519 https://doi.org/10.3897/neobiota.84.90549
520 Ogris, N., Brglez, A., Piškur, B., 2021. Drought Stress Can Induce the Pathogenicity of *Cryptostroma*
521 *corticale*, the Causal Agent of Sooty Bark Disease of Sycamore Maple. Forests 12, 377.
522 https://doi.org/10.3390/f12030377
523 Oliveira Longa, C.M., Vai, N., Maresi, G., 2016. *Cryptostroma corticale* in the northern Apennines (Italy).
524 Phytopathol. Mediterr. 55. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-17164

525 Paap, T., Burgess, T.I., Wingfield, M.J., 2017. Urban trees: bridge-heads for forest pest invasions and
526 sentinels for early detection. Biol. Invasions 19, 3515–3526. https://doi.org/10.1007/s10530-
527 017-1595-x
528 Peace, T.R., 1962. Diseases of maple and sycamore, in: Pathology of Tree and Shrubs, with Special
529 Reference to Great Britain. pp. 411–413.
530 Santini, A., Ghelardini, L., De Pace, C., Desprez-Loustau, M.L., Capretti, P., Chandelier, A., Cech, T.,
531 Chira, D., Diamandis, S., Gaitniekis, T., Hantula, J., Holdenrieder, O., Jankovsky, L., Jung, T., Jurc,
532 D., Kirisits, T., Kunca, A., Lygis, V., Malecka, M., Marcais, B., Schmitz, S., Schumacher, J.,
533 Solheim, H., Solla, A., Szabò, I., Tsopelas, P., Vannini, A., Vettraino, A.M., Webber, J.,
534 Woodward, S., Stenlid, J., 2013. Biogeographical patterns and determinants of invasion by
535 forest pathogens in Europe. New Phytol. 197, 238–250. https://doi.org/10.1111/j.1469-
536 8137.2012.04364.x
537 Scherm, H., Coakley, S.M., 2003. Plant pathogens in a changing world. Australas. Plant Pathol. 32, 157.
538 https://doi.org/10.1071/AP03015
539 Schlößer, R., Bien, S., Langer, G.J., Langer, E.J., 2023. Fungi associated with woody tissues of *Acer*
540 *pseudoplatanus* in forest stands with different health status concerning sooty bark disease
541 (*Cryptostroma corticale*). https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1831718/v1
542 Schlößer, R., Santini, A., Pepori, A.L., Baschieri, T., Campani, C., Ferrari, D., Rizzo, D., Stazione, L.,
543 Biscioni, G., Ghelardini, L., 2024. *Cryptostroma corticale* in Italy: new reports of sooty bark of
544 *Acer pseudoplatanus* and first outbreak on *Acer campestre*. Phytopathol. Mediterr. 63, 309–
545 406. https://doi.org/doi: 10.36253/phyto-15744
546 Schulz, B., Boyle, C., 2005. The endophytic continuum. Mycol. Res. 109, 661–686.
547 https://doi.org/10.1017/S095375620500273X
548 Sieber, T.N., 2007. Endophytic fungi in forest trees: are they mutualists? Fungal Biol. Rev. 21, 75–89.
549 https://doi.org/10.1016/j.fbr.2007.05.004
550 Stanosz, G.R., Blodgett, J.T., Smith, D.R., Kruger, E.L., 2001. Water stress and *Sphaeropsis sapinea* as a
551 latent pathogen of red pine seedlings. New Phytol. 149, 531–538.
552 https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2001.00052.x
553 Stanosz, G.R., Smith, D.R., Guthmiller, M.A., Stanosz, J.C., 1997. Persistence of *Sphaeropsis sapinea* on
554 or in asymptomatic shoots of red and jack pines. Mycologia 89, 525–530.
555 https://doi.org/10.1080/00275514.1997.12026813
556 Tanney, J.B., Feau, N., Shamoun, S.F., Kope, H.H., Dicaire, A., Drugmand, B., Walker, J., Burlakoti, P.,
557 Joshi, V., 2024. Cryptostroma corticale (Ellis & Everh.) P. H. Greg. & S. Waller causing sooty
558 bark disease in British Columbia, Canada. Can. J. Plant Pathol. 1–15.
559 https://doi.org/10.1080/07060661.2024.2369324

560 Tucker, C.J., Yager, K., Anyamba, A., Linthicum, K.J., 2011. Climate change, extreme weather events,
561 and fungal disease emergence and spread, in: Fungal Diseases: An Emerging Threat to Human,
562 Animal, and Plant Health. Workshop Summary of the Forum on Microbial Threats Board on
563 Global Health. The National Academies Press.

7. SUPPLEMENTARY DATA

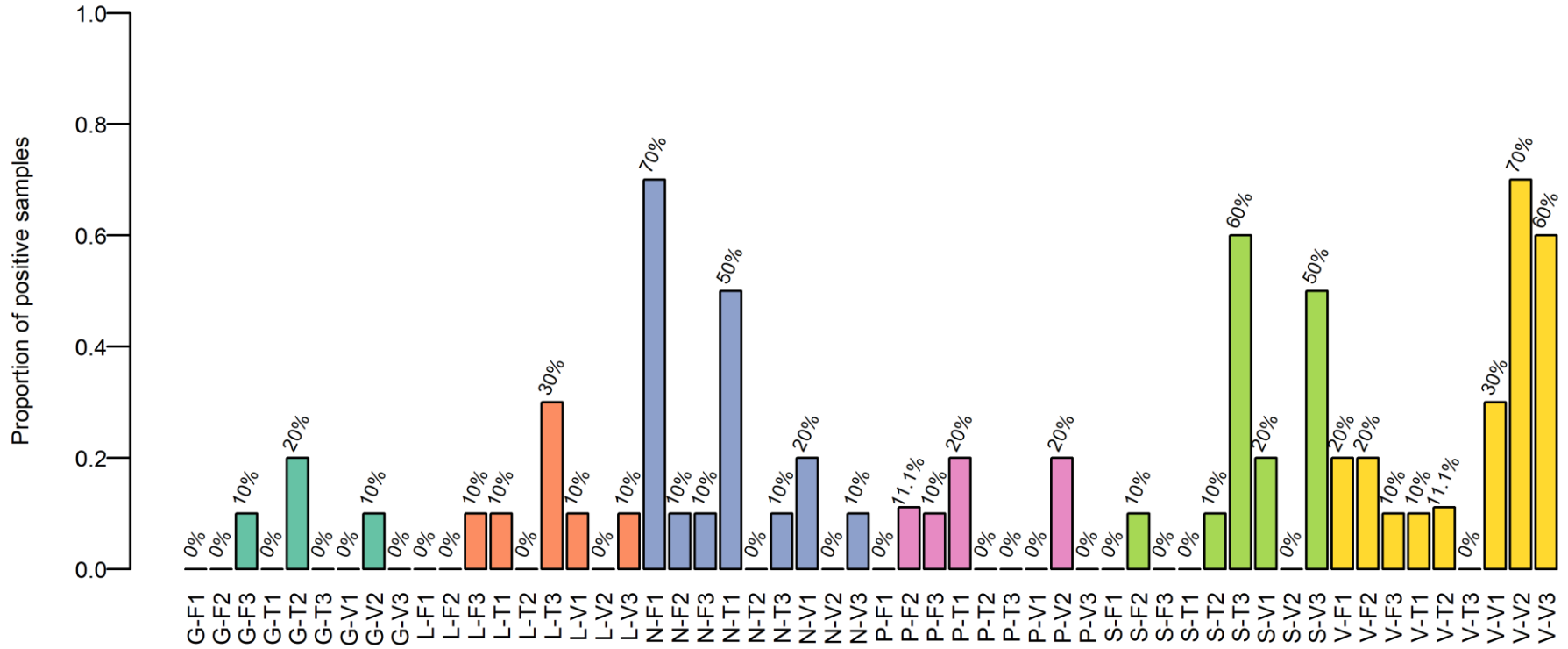


Figure S1: Proportion of positive samples per sampled plot. The x axis includes all sampled plots, the first letter corresponds to the area of sampling: G = Grenoble area, L = Lyon area, N = Nancy area, P = Paris area, S = Strasbourg area, V= Valence area; the second letter corresponds to plot types: F = forest, T = peri-urban and V = urban; the final number corresponds to the three biological replicates.

570 *Table S1: Plot selection. Coordinates WGS84.*

Region	Plot type	Plot name	Human influence index	Longitude	Latitude	Prevalence	N trees sampled	Presence since (y)	Mentions of SBD
Grenoble	Forest	G-F1	15	5.9704524	45.0007383	0%	10	0	0
Grenoble	Forest	G-F2	35	5.491741	45.183617	0%	10	2	1
Grenoble	Forest	G-F3	25	5.579675	44.925554	10%	10	2	1
Grenoble	Peri-urban	G-T1	70	5.7692401	45.0710001	0%	10	0	0
Grenoble	Peri-urban	G-T2	50	5.6694435	45.0629857	20%	10	0	0
Grenoble	Peri-urban	G-T3	50	5.689733	45.161305	0%	10	0	0
Grenoble	Urban	G-V1	90	5.7341330	45.1896038	0%	10	0	0
Grenoble	Urban	G-V2	90	5.7357635	45.1724752	10%	10	0	0
Grenoble	Urban	G-V3	90	5.7242075	45.1442239	0%	10	0	0
Lyon	Forest	L-F1	25	4.5763733	45.3455125	0%	10	21	2
Lyon	Forest	L-F2	25	5.5201967	46.1361658	0%	9	0	0
Lyon	Forest	L-F3	50	4.4517408	45.9419027	10%	10	1	2
Lyon	Peri-urban	L-T1	50	4.8819849	45.9342678	10%	10	21	3
Lyon	Peri-urban	L-T2	50	5.1687133	45.6033990	0%	10	21	3
Lyon	Peri-urban	L-T3	70	4.9436260	45.6820200	30%	10	21	4
Lyon	Urban	L-V1	90	4.856632	45.684075	10%	10	21	4
Lyon	Urban	L-V2	90	4.8360721	45.7501702	0%	10	21	4
Lyon	Urban	L-V3	90	4.8739751	45.7937884	10%	10	21	3
Nancy	Forest	N-F1	50	6.0385695	48.6645543	70%	10	3	6

Nancy	Forest	N-F2	35	6.4432652	48.8166989	10%	10	3	6
Nancy	Forest	N-F3	25	6.8072741	48.5999071	10%	10	3	4
Nancy	Peri-urban	N-T1	50	5.9823567	48.5758358	50%	10	3	9
Nancy	Peri-urban	N-T2	50	6.3962377	48.7604795	0%	10	3	5
Nancy	Peri-urban	N-T3	50	6.3952258	48.6422505	10%	10	3	6
Nancy	Urban	N-V1	90	6.2093065	48.6661777	20%	10	3	7
Nancy	Urban	N-V2	90	6.2045037	48.6901242	0%	10	3	6
Nancy	Urban	N-V3	70	6.1511337	48.6670866	10%	10	3	8
Paris	Forest	P-F1	50	1.7287058	48.8046149	0%	10	32	29
Paris	Forest	P-F2	50	1.7687603	48.5169044	11,1%	9	19	24
Paris	Forest	P-F3	35	2.355602	48.441933	10%	10	32	23
Paris	Peri-urban	P-T1	50	1.6318305	48.7933271	20%	10	32	26
Paris	Peri-urban	P-T2	70	2.354183	48.44086	0%	10	32	23
Paris	Peri-urban	P-T3	50	1.9947149	48.3241309	0%	9	18	10
Paris	Urban	P-V1	90	2.260534	48.848688	0%	9	32	35
Paris	Urban	P-V2	90	2.268854	48.831194	20%	10	32	34
Paris	Urban	P-V3	90	2.3146126	48.8353067	0%	10	32	37
Strasbourg	Forest	S-F1	50	7.2905049	48.7775073	0%	10	2	3
Strasbourg	Forest	S-F2	15	7.2296232	48.5085417	10%	10	4	6
Strasbourg	Forest	S-F3	50	7.682976	48.968562	0%	10	0	0
Strasbourg	Peri-urban	S-T1	70	7.8934893	48.7976499	0%	10	0	0
Strasbourg	Peri-urban	S-T2	50	7.6978182	48.4028757	10%	10	4	5

Strasbourg	Peri-urban	S-T3	35	7 .5184625	48.6685629	60%	10	1	1
Strasbourg	Urban	S-V1	90	7.7426375	48.5732058	20%	10	1	1
Strasbourg	Urban	S-V2	90	7.7227955	48.5911099	0%	10	1	1
Strasbourg	Urban	S-V3	90	7 .7734367	48.5915736	60%	10	1	1
Valence	Forest	V-F1	15	5.2651304	44.9008802	20%	10	2	1
Valence	Forest	V-F2	25	5.4095633	44.8585830	20%	10	2	1
Valence	Forest	V-F3	15	4.5468328	45.0324023	10%	10	2	2
Valence	Peri-urban	V-T1	70	5.0229893	44.9576574	10%	10	2	1
Valence	Peri-urban	V-T2	70	5.0163025	44.8907869	11,1%	9	2	1
Valence	Peri-urban	V-T3	70	4.9588016	44.944274	0%	10	2	1
Valence	Urban	V-V1	90	4.9223725	44.9346183	30%	10	2	1
Valence	Urban	V-V2	90	4.9093394	44.9400551	70%	10	2	1
Valence	Urban	V-V3	90	4.8814122	44.9098772	60%	10	2	1

571

572
573

CHAPITRE 2 : Distribution dans les tissus de l'hôte asymptomatique

La première étude nous a permis de mettre en évidence la forte prévalence de *Cryptostroma corticale* dans les hôtes sans symptômes apparents, même dans des zones où la maladie n'est pas encore fortement signalée. Le lien entre le climat et la présence de la maladie avait déjà été démontré et semble également driver la présence latente dans les érables sycomores, notamment le déficit hydrique. De plus, aucun lien entre les symptômes précoces et la présence du pathogène dans l'hôte n'ont pu être mis en évidence durant notre étude. Toutefois, la présence de branches noires dans les houppiers était significative de la présence de *C. corticale* dans les hôtes asymptomatiques. Bien que ces branches noires n'aient pu être vérifiées comme étant provoquées par cet agent pathogène, elles semblent être un bon indice de sa présence dans les peuplements. De plus, d'après la littérature, l'entrée du pathogène dans les hôtes se fait par les branches cassées. Ceci suggère qu'un échantillonnage dans le tronc comme nous l'avons réalisé n'est peut-être pas bien adapté pour détecter *C. corticale*.

Cette seconde étude a pour objectif d'observer, à l'échelle de l'hôte, la distribution du pathogène dans ses tissus à différentes hauteurs et différentes profondeurs, afin d'obtenir une cartographie de la présence de *C. corticale* dans des hôtes sans symptômes apparents. De cette manière nous aurons une meilleure idée de la pertinence de notre premier échantillonnage et ainsi définir une nouvelle approche ou conserver notre méthodologie. L'idée est de voir si un échantillonnage dans les branches ne serait pas un meilleur indicateur. De plus, avoir une cartographie de la distribution de *C. corticale* dans les tissus de son hôte pourrait donner des pistes sur les voies d'entrée du champignon dans son hôte. Pour cela, 16 arbres sans symptômes apparents de suie ont été abattus et échantillonnés régulièrement le long du tronc et dans les branches pour étudier la distribution des colorations éventuelles dans le bois et la présence du parasite.

Les résultats de cette étude ont été retranscrits dans l'article suivant intitulé « Latent distribution of *Cryptostroma corticale* in asymptomatic woody tissues of sycamore maple trees » qui sera prochainement soumis pour publication dans la revue Forest Pathology.

Latent distribution of *Cryptostroma corticale* in asymptomatic woody tissues of sycamore maple trees

Muller Elodie[1,2], Gomez-Gallego Mireia[2], Courouble Anatole[2], Benjamin Cano[3], Marçais Benoit[2], Aguayo Jaime[1]

[1] ANSES, Plant Health Laboratory, Mycology unit, USC INRAE 1480, 54220 Malzéville, France

[2] INRAE Grand-Est, UMR 1136 Trees and Microorganisms Interactions, 54280 Champenoux, France

[3] CNPF – Regional Center of the Forest Property Hauts-de-France, 80000 Amiens, France

Corresponding author: Jaime Aguayo (jaime.aguyayo@anses.fr)

Keywords: Sooty Bark Disease, silent spread, detection, wood stains, sampling strategy

ABSTRACT

Global change and associated abiotic stresses, such as drought and heat waves, are increasingly predisposing forest trees to fungal pathogens. These pathogens can spread in forest stands during a latent state, hindering early detection (or detection in early stages of infection) thus limiting accurate assessment of their current distribution. The fungus *Cryptostroma corticale*, the causal agent of the Sooty Bark Disease (SBD) on maple trees, is an organism that has a latent stage in trees that can switch to a pathogenic phase under abiotic stress. The fungus can persist asymptomatically within the host tissues and colonize weakened trees leading to dieback and mortality. Despite its emergence across Europe and North American West Coast, there is lack of knowledge about its latent distribution within the host trees and the reliability of diagnostic approaches. In this study, we investigated the presence of *C. corticale* within healthy-looking sycamore maples, sampling at different height and depths. During sampling, we observed numerous stains within the tissues which were associated with the presence of *C. corticale*, particularly in the lower trunk, even though the branches showed stains more frequently. Greenish stains were strongly correlated with fungal detection. The pathogen was predominantly detected at the collar and at height of 1.30 m, suggesting that sampling at breast height is a reliable proxy for rapid assessment without felling the tree. Our findings indicate that latent infections are widespread, since almost all sampled trees were positive to the presence of the pathogen. This work showed that latent presence of *C. corticale* within infected maple stands is high and could potentially trigger severe outbreaks under abiotic stresses. An efficient survey method, such as our simplified trunk sampling at a height of 1.30 m will be useful to improve monitoring and management of this emerging pathogen.

1. INTRODUCTION

Current global change favours the development of new forest diseases which can lead to forest dieback and mortality (Ghelardini et al., 2016; Teshome et al., 2020). Abiotic stress, such as water deficit, have a negative effect on trees (Desprez-Loustau et al., 2006). Forest pathogens can take advantage of their hosts' weakness and develop, provided favourable conditions concur (Teshome et al., 2020). Better understanding of these pathogens can play a key role in forest management under abiotic stress. Spread of invasive pathogens is also an important cause of disease emergence (Paap et al., 2022). Some fungi have very limited impact on their hosts in their natural range, but may become highly pathogenic when they spread to new areas on naive hosts, such as *Hymenoscyphus fraxineus*, which is a weak pathogen on *Fraxinus mandshurica* in Asia but act as an aggressive invasive pathogen on *F. excelsior* in Europe causing widespread tree mortality (Cleary et al., 2016).

Among the diverse ecological strategies of fungi, certain species may establish symptomless associations within plant tissues, referred to as endophytic lifestyles. These endophytic fungi can persist within their host without causing visible symptoms but may also shift to pathogenic behavior under favorable conditions or when host defenses are compromised (Schulz and Boyle, 2005; Sieber, 2007). Those fungal pathogens with a recognised latent phase can colonize host tissues and cause damage, provided the host is weakened by an abiotic stress such as hail, drought or heat waves. *Diplodia*, *Botryosphaeria* species and *Cryptostroma corticale* are common example of latent pathogens (Blumenstein et al., 2022, 2021; Desprez-Loustau et al., 2006; Muller et al., 2023). Development of the disease is also linked to frequency and abundance of those fungi within the hosts (Jankowiak, 2005). Better understanding of the latent presence of the fungus within the host would help to devise better sampling and make management easier.

Cryptostroma corticale exhibits this latent behavior, and it has been shown to cause the Sooty Bark Disease (SBD) following drought and hot conditions (Muller et al., 2023; Ogris et al., 2021). Putatively native from the Great Lakes region of North America, *C. corticale* has not been reported to cause important damages within this region (Young, 1978). It was first recorded in Europe in 1945 in Wanstead Park, London (Gregory and Waller, 1951), and subsequently in Paris in 1947 (Moreau and Moreau, 1951) as an invasive pathogen. Since the 2000s, it has rapidly spread across Europe and has been recently reported as far as Moscow (Gninenko et al., 2024), Ireland (Byrne et al., 2025) and on the North American West coast (Brooks et al., 2023; Garbelotto et al., 2024; Tanney et al., 2024). Nowadays, *C. corticale* is considered as an emerging pathogen in Europe and West Coast of North America.

The fungus is likely to enter through wounds or broken branches (Gregory and Waller, 1951) and may persist latently for several years in the wood (Koukol et al., 2015; Schlößer et al., 2023). This latent phase is asymptomatic. The pathogen can spread silently, without causing symptoms, within the host population, until the hosts become weakened by abiotic stress such as drought or heat waves (Gibbs, 1997). Then *C. corticale* expansively colonizes the vessels and the cambium of the host causing the Sooty Bark Disease (SBD), which leads to dieback and, eventually, tree death (Dickenson and Wheeler, 1981; Muller et al., 2023; Ogris et al., 2021). Early symptoms of the disease have been described as partial crown wilting and isolated death of branches. Greenish to brown stains in the wood were also reported in the heartwood of both the trunk and the branches (Gregory and Waller, 1951). Then more visible symptoms, commonly used for diagnostic, appears: the bark is shed, which expose *C. corticale* black stroma. This stroma produces a high amount of spores that can be spread by the wind (Muller et al., 2023). Sporulating lesions are usually found where the wood stain meets the bark of the tree (Gregory and Waller, 1951).

Gregory and Waller (1951) raised the hypothesis that the pathogen's entry points are the broken branches in the crown, based both on the observation that wilting branches are early symptoms of the disease and on the successful inoculation of freshly cut branches with spores. This suggests that the pathogen is present in the tree crowns. Indeed, presence of dead black branches in the crown of trees without symptoms of SBD on the trunk is commonly observed and can successfully predict its latent presence in a given stand (Muller et al. 2025). However, there is no comprehensive study documenting the internal latent presence of *C. corticale* within a tree, and in which part of a tree the pathogen can be most frequently found. This knowledge would help design efficient survey procedures for diagnostics. In addition, it would also shed some light on the epidemiology of the disease.

We studied the distribution of *C. corticale* within asymptomatic sycamore maple trees both in the trunk and in the crown and different heights and depths within the vascular system. Additionally, we assessed how the simplified sampling strategy that has been so far used for diagnostics of the pathogen (Kelnarová et al., 2017, Muller et al., 2025), by sampling of inner bark and wood at 1.30 m and using species-specific molecular analysis for *C. corticale,* may indicate its latent presence. Finally, we evaluated if the presence of stains in the wood can be a symptom related to the presence of *C. corticale* in the tree.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Field sampling

Tree sampling was carried out in the Hauts-de-France, Normandie and Grand-Est regions located in North of France during spring 2024. In these regions, we selected a total of six plots affected by the SBD, i.e. with presence of diseased trees presenting the typical symptoms of black stroma under the stripped bark (Figure 21). We selected one to four asymptomatic sycamore maple trees, which we defined as not presenting black stroma in the main trunk (Table 3). The trees were mainly located either within the SBD-affected area but also occasionally away from the diseased area (Table 3). In total, we sampled 17 asymptomatic sycamore maple trees with a minimum diameter at breast height (DBH) of 20 cm. The trees were felled down and sliced up to obtain from 2 to 7 trunk cross-sections and up to 12 branch cross-sections from up to 5 branches per tree. Trunk cross-sections consisted of a basal disk located at the collar, a disk at a height of 1.30 m and additional disks every 2 m up to the first branch. From the last trunk cross-section, the 2-m distance was measured along the trunk and completed in the branches (Figure 22a). We then sampled branch's disks every to 2 m provided the diameter was at least 4 cm. Altogether, 6 to 17 cross-sections were sampled per tree. The presence of stains in the wood cross-sections was recorded for each tree (Table 3). After the trees were felled, we carefully examined the branches in the crown, and sampled those dead with a black appearance, if any. The wood cross-sections were brought back to the laboratory and processed within three days.

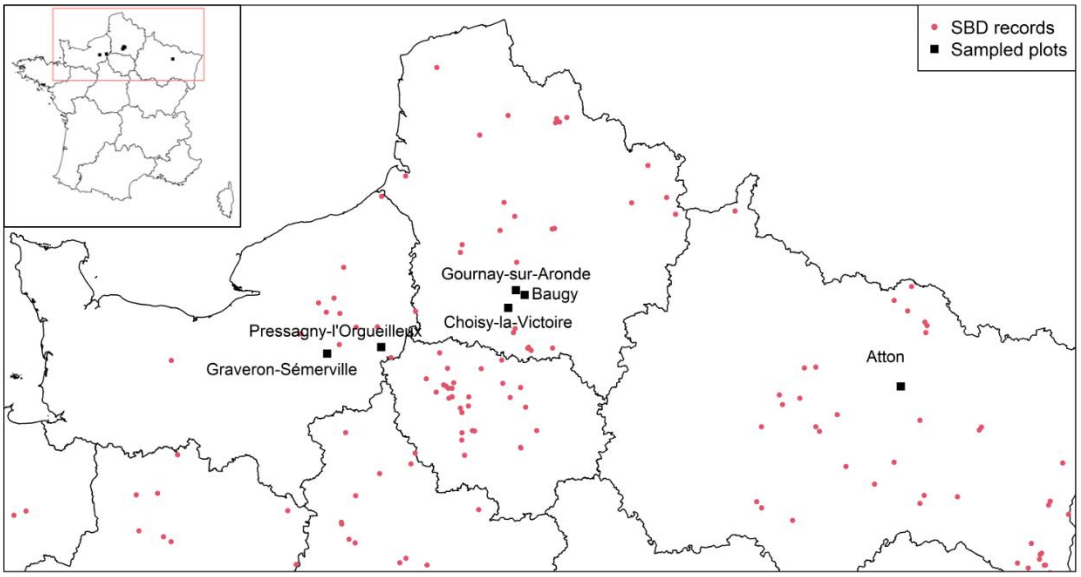


Figure 21 : Map with the sampled plots (black squares) in the North of France. Red dots are SBD records from the French Forest Health Department database between 1989 and 2024.

Table 3 : Sampled trees with coordinates and distance to the closest disease outbreak. The projection system of the coordinates is WGS84.

Plot	Tree id	X	Y	Number of disks	Number of branches	Wood Stain
Atton	ATT	6.1239	48.8789	10	2	Present
Pressagny-l'Orgueilleux	PRE1	1.451834	49.142271	8	3	Present
Pressagny-l'Orgueilleux	PRE2	1.451807	49.142338	7	3	Present
Pressagny-l'Orgueilleux	PRE3	1.451612	49.142356	6	2	Present
Gournay-sur-Aronde	GOR1	2.666027	49.489083	17	4	Present
Gournay-sur-Aronde	GOR2	2.666032	49.488918	10	2	Present
Gournay-sur-Aronde	GOR3	2.665166	49.489545	12	2	Present
Gournay-sur-Aronde	GOR4	2.66504	49.489764	6	0	Present
Baugy	BAU1	2.744891	49.460717	10	2	Present
Baugy	BAU2	2.746577	49.460401	10	3	Present
Baugy	BAU3	2.742711	49.460267	6	0	Absent
Baugy	BAU4	2.736487	49.462523	6	2	Present
Choisy-la-Victoire	CHO1	2.595841	49.382801	14	5	Present
Choisy-la-Victoire	CHO2	2.593419	49.385524	10	5	Present
Choisy-la-Victoire	CHO3	2.595825	49.382873	14	5	Present
Graveron-Sémerville	GRA1	0.967144	49.096437	13	3	Present
Graveron-Sémerville	GRA2	0.966983	49.096637	9	2	Present

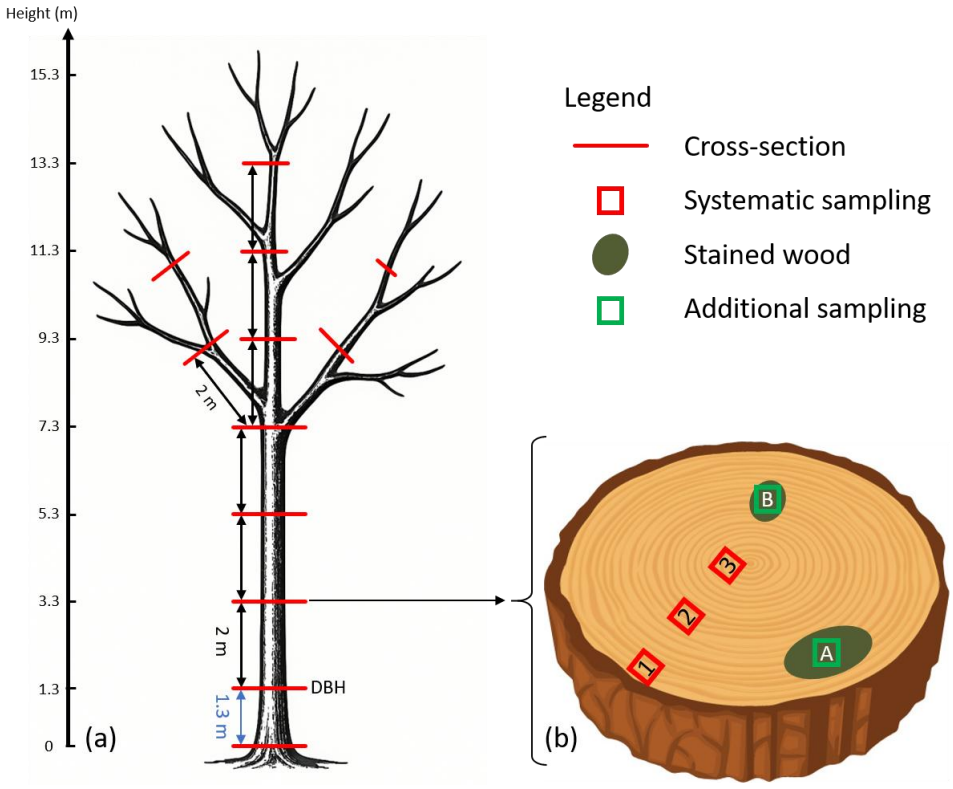


Figure 22 : (a) Sampling plan at different heights on asymptomatic Acer pseudoplatanus trees, red lines represent all cross-sections (tree image generated by Chat GPT) (b) Sampling in a cross-section of at least 8 cm of diameter, in red, the systematic procedure of sampling at different depths and in green additional sampling of stained wood if present within the cross-section.

2.2. Sample treatment and *Cryptostroma corticale* detection

We sampled pieces of wood of ca. 1x1 cm from each cross-section with a diameter of at least 8 cm at three depths: right under the cambium, in the centre and in the mid-point between the centre and the cambium (Figure 22b). For smaller cross-sections in the branches, only one or two pieces were taken, i.e. only under the cambium, or under the cambium and in the centre. These wood pieces were cut with a chisel. We also took additional pieces of stained wood that were not sampled by this systematic procedure, if any, to analyse the presence of the pathogen associated with stain of different colours. We recorded the depth (distance from the cambium) and scored the colour of the stain (absent, green, brown or black). We obtained a total of 338 samples, including the systematic and the stain-targeted sampling, to map the presence of *C. corticale* within the trees at different heights and depths. In sterile conditions, each wood piece was surface disinfected with 95% ethanol (30 s), then hypochlorite sodium solution 1% (1 min twice), and sterile distilled water (1 min twice) to avoid any cross-contamination which could have occurred during the sampling procedure. After disinfection, we removed the external part of the wood sample with a sterile scalpel and/or sterile scissors. The wood pieces were then stored in 2-ml Eppendorf tubes, one tube per sample and kept at -20 °C until further treatments.

Before DNA extraction, the wood samples were lyophilized. They were kept at -30 °C during 48 h then gradually brought back to room temperature in 12 h with an increase in temperature of 5 °C every hour.

We grounded 20 mg of lyophilized tissues into a 1.5 ml Lysing Matrix A tube (MP Biomedicals) with a FastPrep® 24 homogenizer (MP Biomedicals). The content of the tubes was ground twice for 1 min at 6.5 m/s with an incubation on ice for 5 min between the two grinding rounds. We used DNeasy 96 Plant Kit (Qiagen) to extract genomic DNA, following the manufacturer instructions with a few modifications as follows. The first steps were conducted in individual tubes. The chemical lysis was performed by adding 400 µl of buffer AP1 with 1 µl of RNAse A and 1 µl of reagent DX to the sample, followed by incubation at 65°C for 20 minutes with sample mixing after 10 minutes. Protein precipitation was performed with 130 µl of buffer P3, followed by a 10-minute incubation at -20°C and we centrifuged individual tubes at 14 000 rpm for 5 minutes. The next steps were performed in 96-well plates, following the manufacturer's guidelines. At the end, DNA was eluted in a total of 100 µl of elution buffer.

The detection of the pathogen with species-specific primers was performed by real-time PCR (Muller et al., 2023) using 10-fold diluted DNA extracts. Amplifications were performed with a QuantStudio™ 6 (Thermo Fisher Scientific) in a 15 µl total volume containing 7.5 µl of 1X Brilliant II Probe Master Mix with ROX (Agilent), 0.3 µM of each primer (ccITS2F – forward: AGGTTGTGCTGTCCGGTG and SBD3R – reverse: AGCTCCTACCAACTACAGGGT), 0.1 µM of probe (SBD5P: FAM-

ACCCTGTAGGAGGAGCTACCCTGTA-BHQ1), 2 µl of DNA template and PCR-grade water up to 15µl. Thermal cycling conditions consisted of UDG activation at 37°C for 10 minutes, polymerase activation at 95°C for 10 minutes, followed by 40 cycles of 10 s at 95°C and 45 s at 62°C. Standard curves for each qPCR were obtained using serial dilution of DNA from *Cryptostroma corticale* mycelium. This DNA was quantified using a Nanodrop spectrometer (Thermo Fisher Scientific). All samples were amplified with a 18S Universal primer pair (Ioos et al., 2009) to test the DNA quality, due to the potential presence of PCR inhibitory components. Negative samples for this test were considered to have poor DNA quality and were removed for analysis. A sample is considered positive if at least two replicates were amplified by species-specific qPCR.

Additional samples were taken to test a simplified procedure of detection of *C. corticale* on a tree following the sampling and extraction protocol used by Muller et al. (2025). Wood pieces of about 1 cm long were sampled with a 6-mm cork-borer from the bark side of the collar and breast height wood cross-sections at three equidistant points in their perimeter. The samples were placed in 2-ml Eppendorf tubes and processed as described in Muller et al. (2025).

2.3. *Cryptostroma corticale* isolation

Wood pieces from all the basal cross-sections were used for isolation of *C. corticale*, to further assess the presence of the pathogen in the plot. Each piece was surface disinfected with 95% ethanol (30 s), then hypochlorite sodium solution 1% (1 m twice), and sterile distilled water (1 min twice). Pieces of stained wood and non-stained wood from all sampled trees were put to grow on malt chloramphenicol medium (12 g of malt extract, 15 g of agar, 2 ml of chloramphenicol solution at 220 ppm). We incubated samples for 7 to 30 days at 25 °C. All growing mycelium was subcultured on a new Petri dish in malt chloramphenicol medium or potato dextrose agar medium (PDA; Difco, Maryland, USA). DNA was extracted from these pure cultures using DNeasy Mini Plant kit (Qiagen) following the manufacturer's instructions. DNA extracts were tested with the species-specific qPCR assay (Muller et al., 2023). For negative samples to *C. corticale*, some isolates were sequenced with the Sanger technology, using ITS 5-4 primers.

2.4. Statistical analyses

To map the latent distribution within the host tissues, we computed the presence of *C. corticale* in the samples at different heights and depths of the samples. The height is the distance of the cross-section from which the sample was extracted to the ground. The depth is the radial distance of the sample to the cambium.

All statistical analyses were performed using R version 4.4.1 (R Development Core Team, 2024). We studied the distribution of stains within the tree's xylem. We used a generalised additive mixed model

with presence of stains as response variable, the height and depth as fixed factors and the tree nested within the plot as random factors (*gamm4* function, package *mgcv*).

As the presence of stains is described as an SBD symptom, we also tested the link between stains in the wood and presence of the fungus in another generalised additive mixed model. With the same random structure, we included the presence of *C. corticale* as a response variable and the presence of stains of any colour as a predictor. The detection of *C. corticale* as a function of the colour of the stain was also tested. We used a generalized mixed model (*glmer* function in R), where presence of *C. corticale* was the response variable, the colour of the stain (categorical variable) was the predictor, including the nested random structure, tree within the plot. To determine whether a given stain colour would be linked to higher detection of *C. corticale* than any other, we compared the predicted means with the *emmeans* function in R and corrected the *p* values to deal with multiple comparisons with the *p.adjust* function in R with the BH method.

Finally, we used the presence of *C. corticale*, i.e. detection of *C. corticale* by qPCR in the wood sample, as a response variable in a generalised additive mixed model including the height, depth and the stains colour as fixed factors and the tree nested within the plot as random factors. The model was fit using the *gamm4* function (package *mgcv*).

We evaluated the efficacity of the previously-published sampling method (Muller et al., 2025) to diagnose whether a tree is carrier of *C. corticale* in its latent phase. We compared our systematic sampling in all collected wood sections along the trees with a simplified sampling using a cork-borer on the collar and a height of 1.30 m wood sections performed on the same trees. The ability to detect *C. corticale* at the tree level with the systematic sampling was compared to the simplified sampling at each height (0 and 1.3 m) separately using Fisher's exact test.

3. RESULTS

3.1. Stained wood in sampled trees

Stains in the wood cross-sections were commonly observed. Indeed, 94% (16 out of 17) of the sampled trees showed stained wood within the branches and the main trunk (Figure 23). Most stains were observed in the internal part of the xylem without any contact to the cambium, in both the trunk and branches. In addition, some of the stains were connected to dead branches covered with fungal black stroma.

We observed a correlation between the presence of stains and the detection of *C. corticale* ($z_{(1, 293)}$ = 4.808, p = 1.53e-06). *C. corticale* was detected in 50 of the 142 samples of stained wood (35.2%).

Moreover, *C. corticale* was more frequently detected in green- and brown-stained than in unstained samples (respectively $z_{(1, 293)}$ = -4.686, p = 0.0003, $z_{(1, 293)}$ = -3.981, p = 0.003, Table 4). We detected *C. corticale* in 48.3% of the green-stained samples and in 32.6 % of the brown-stained samples. The pathogen was also detected in unstained samples, but at a lower rate, with only 10.7 % of the unstained samples being positive to *C. corticale* (21/196).

Presence of stains within the wood was correlated with depth and height (respectively: $z_{(1, 336)}$ = 6.321, p = 2.60e-10, $z_{(1, 336)}$ = 2.288, p = 0.022, Figure 24). Stain presence increased with depth, with a higher number of stains observed in the centre of the cross-section compared to area under the cambium. Additionally, more stains were observed in the upper part of the trees (Figure 24). The interaction between height and depth was not significant. Green and brown-green stains were found closer to the cambium than black stains. Indeed, green stains were found at an average depth of 3.4 cm ± 1.0 cm under the cambium while brown- and black- stained samples were found at an average depth of 4.5 cm ± 0.7 cm and 6.3 cm ± 2.0 cm respectively (Table 4).

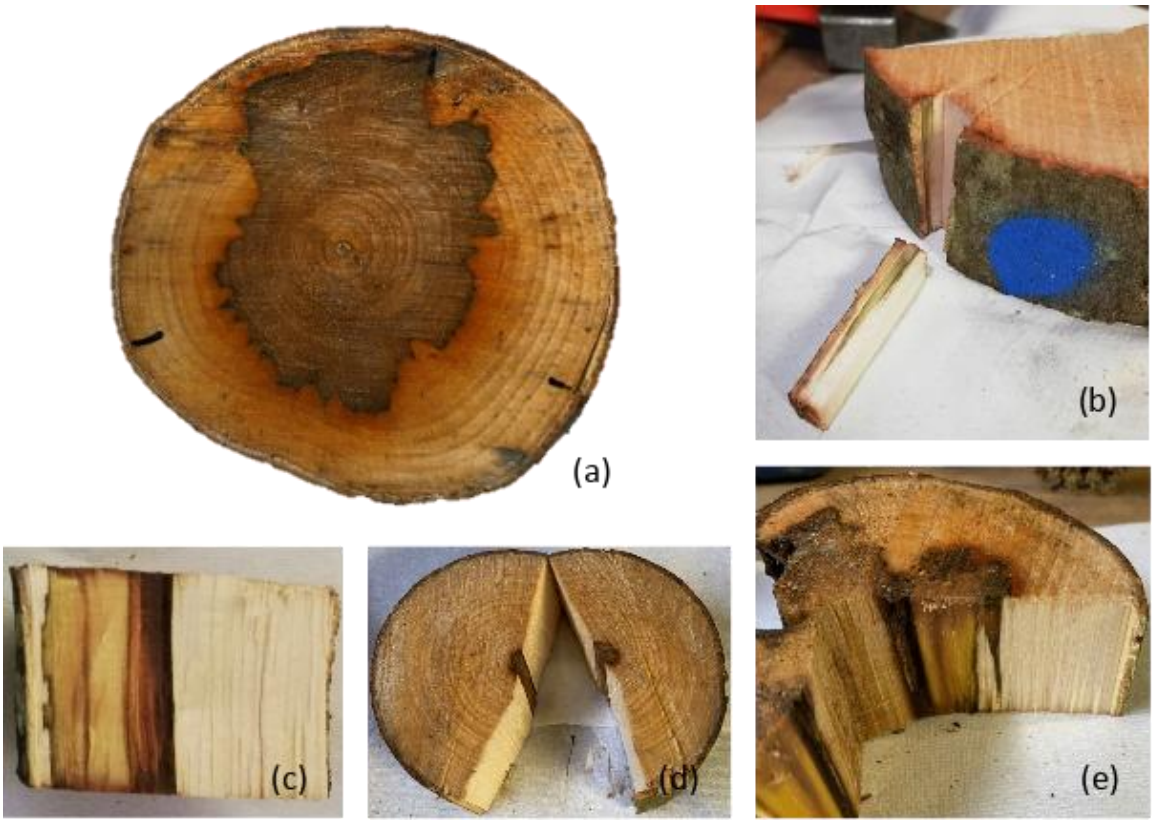


Figure 23 : Stained wood observed during sampling. (a) Cross-section with brown stain. (b) Green stains under the cambium. (c) View of a longitudinal cut of a cross-section. (d) Cross-section with black stain in the centre. (e) Lateral view of a cross-section with brown to black stains.

*Table 4 : Number and colour of stains found on samples, with the number of positive samples to C. corticale specific qPCR assay. Depth represent the mean distance from the cambium ± the standard error. '***' p-value < 0.0001; '**' p-value < 0.001. The differences stated here refer to the absence of stains.*

Stain colour	N	*C. corticale* positive		depth (cm)
Absent	196	21	10.7 %	2.2 ± 0.3
Brown	95	31	32.6 % **	4.5 ± 0.7
Brown-green	10	3	30.0 %	3.2 ± 1.6
Green	31	15	48.3% ***	3.4 ± 1.0
Black	6	1	16.6 %	6.3 ± 2.0
All colorations	142	50	35.2 %	4.3 ± 0.5

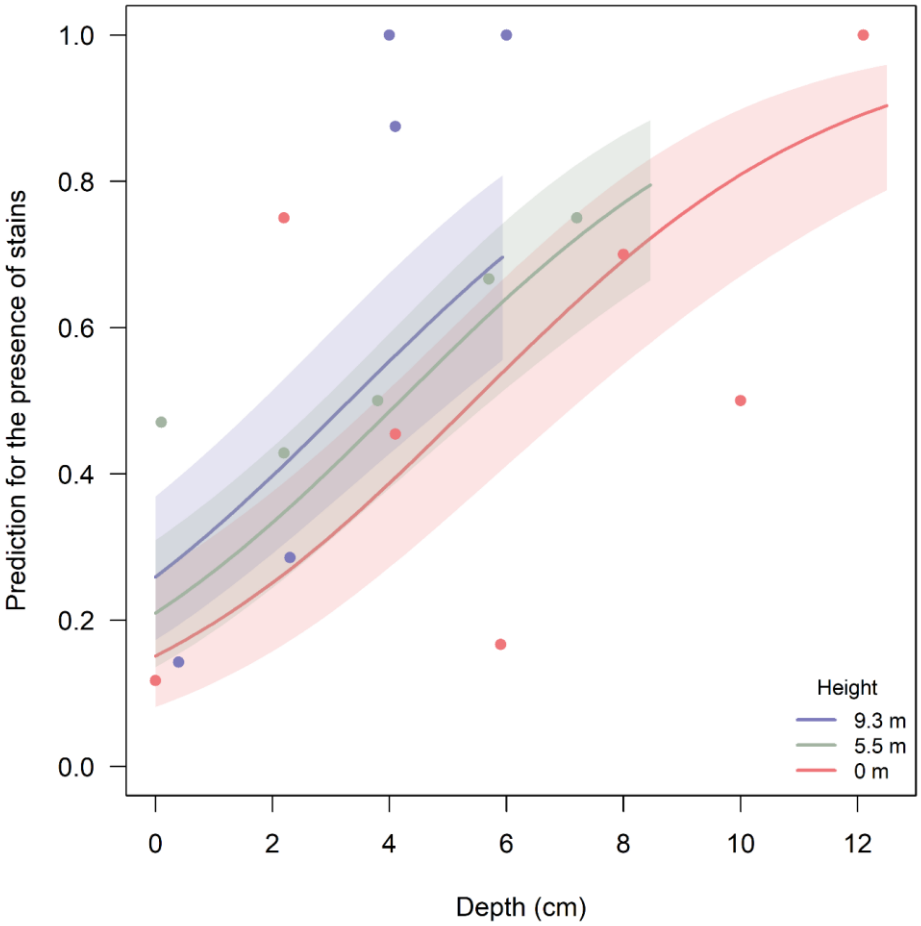


Figure 24 : Model predictions of the presences of stains as a function of sample depth (distance to the cambium). Lines are the predictions at three different tree heights. Shaded areas represent the 95% confidence intervals. Points are proportion of samples with stains at the three different tree heights.

3.2. Impact of height and depth on latent presence of *Cryptostroma corticale*

Among the 338 samples, 71 samples were positive for presence of *C. corticale*. We did not find a significant correlation between depth and the presence of the fungus ($z_{(1,\ 335)}$ = -1.461, p = 0.14).

However, we found that the height was negatively correlated with the presence of *C. corticale* ($z_{(1, 335)}$ = -2.755, p = 0.005). In addition, the presence of green and brown stains was positively correlated with the presence of *C. corticale* (respectively $z_{(1, 293)}$ = 4.771, p = 1.83e-06 and $z_{(1, 293)}$ = 4.165, p = 3.12e-05, Figure 25).

The highest probability of detection in our systematic sampling, without considering stain presence, is predicted to be 0.24 at the collar level, and it decreases with tree height to 0.06 at the highest measured point (17.3 m of height).

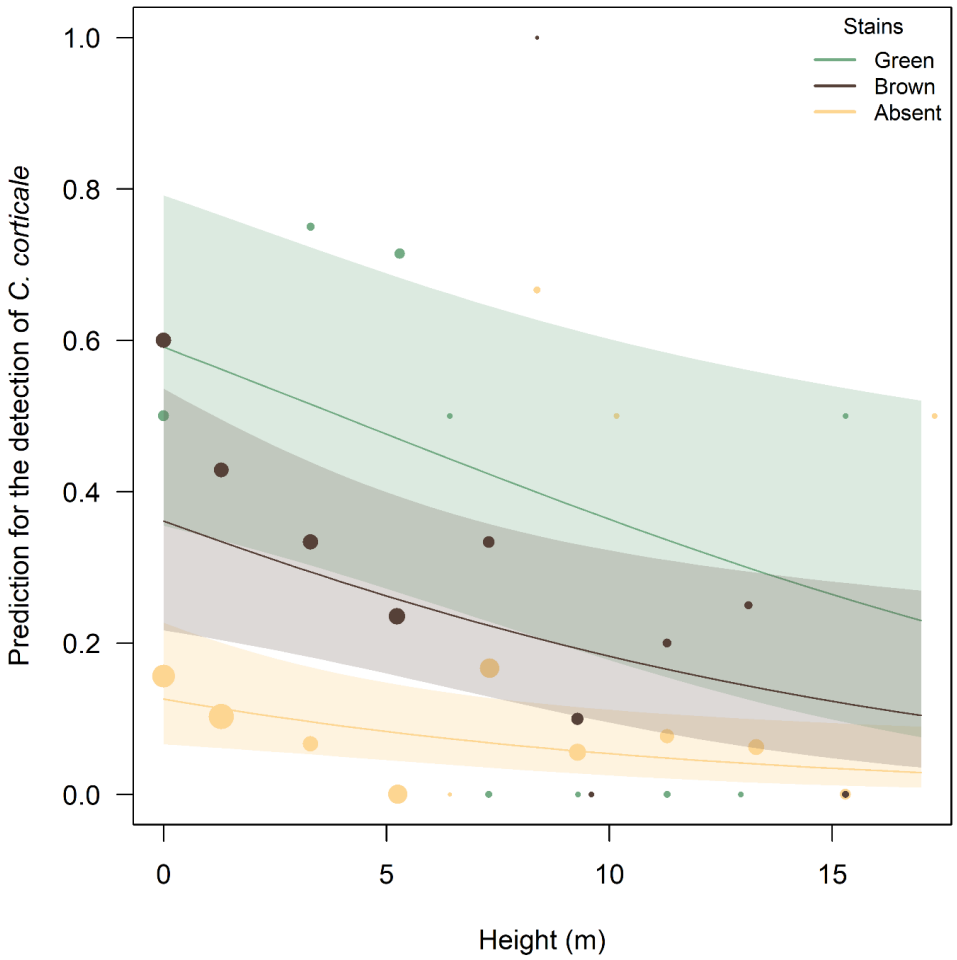


Figure 25 : Model predictions of the C. corticale detection in unstained (yellow curve), in green-stained (green curve) and brown-stained (brown curve) wood as a function of tree height. Line is the prediction and the shaded area represents the 95% confidence interval. Points are the proportion of positive samples at the different tree heights. Point size represents the number of observations from 1 to 17.

3.3. Comparison of sampling methods

A simplified sampling using a cork-borer was conducted on 16 trees (all trees except for the one in the Grand-Est region) both at the collar and at a height of 1.30 m to compare detection rates with results obtained with the systematic sampling along the entire tree. The two methods yielded the same results

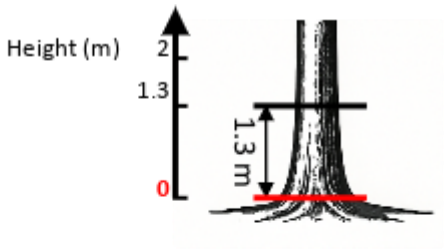
in 75% of the cases (12 out of the 16 trees for both samples at the collar and at a height of 1.30 m, Table 5).

At the collar, the simplified cork-borer sampling detected *C. corticale* on two trees not positive with the systematic method (12.6% discrepancy), and conversely, the systematic method detected two positives trees not identified with the cork-borer method (12.6% discrepancy) (Table 5a). At 1.30 m, cork-borer sampling method detected one additional positive tree compared to the systematic method (6.3% discrepancy), whereas the systematic method detected *C. corticale* on three trees not identified with the cork-borer (18.8% discrepancy) (Table 5b). However, none of these differences were statistically significant at the tree collar nor at a height of 1.30 m (Fisher's exact test, respectively p = 1.00 and p = 0.45).

Table 5 : Contingency tables with number of samples where C. corticale was detected with the systematic sampling along the entire tree compared to the simplified sampling with a cork-borer (a) at the collar (0 m), and (b) at a height of 1.30 m.

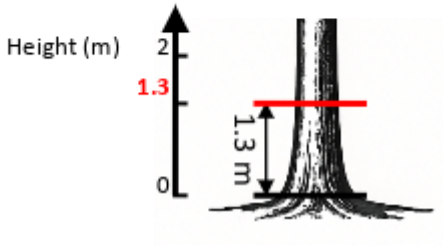
(a)

Cork borer \ Systematic sampling	Negative	Positive
Negative	0	2
Positive	2	12



(b)

Cork borer \ Systematic sampling	Negative	Positive
Negative	1	3
Positive	1	11



3.4. *Cryptostroma corticale* isolation

We isolated *C. corticale* from the basal cross-section of at least one tree per plot which validated the presence of the fungus in each plot. Each isolate was confirmed by species-specific qPCR. Isolations were performed from stained wood in five plots and from non-stained wood in one plot. All isolates that did not exhibit morphological characteristics consistent with *C. corticale* were subjected to Sanger sequencing (Table 6). BLAST analysis against the NCBI database revealed the presence of several fungal species, including *Hypholoma fasciculare*, *Clonostachys solani/rosea*, *Eutypa maura*, *Diaporthe cotoneastri/eres* which are known to be potential antagonists of *C. corticale*. Also, *Lopadostoma gastrinum*, and *Nemania serpens*, which are Xylariales species which causes black patches as well as *Eutypa maura*.

Furthermore, black branches were observed on only five trees from four plots and *C. corticale* could be detected by qPCR on only one out of the seven samples taken from them (14.3%).

Table 6 : Other species found within the woody tissues of sampled Acer pseudoplatanus by isolation, confirmed by Sanger sequencing (ITS5-4).

Sample	Plot	Tree	Height (m)	Blast NCBI database result
CHO 2.2.3/a	CHO	2	1.30	/
PRE 2.c.1.1/a	PRE	2	5.30	100% *Diplodia seriata*
GRA 2.3.a/a	GRA	2	3.30	100% *Didymella macrospora*
GOR 4.1/a	GOR	4	0	100% *Lopadostoma gastrinum*
BAU 1.1/a	BAU	1	0	100% *Paraconiothyrium fuckelii*
PRE 3.1.a/a	PRE	3	0	100% *Clonostachys solani/rosea*
CHO 1.4.a/a	CHO	1	0	100% *Plectosphaerella niemeijerarum*
PRE 3.b.1.1/a	PRE	3	5.30	99.63% *Eutypa maura*
PRE 3.1.1/a	PRE	3	0	100% *Clonostachys solani/rosea*
GOR 1.1/a	GOR	1	0	100% *Hypholoma fasciculare*
GOR 1.1/b	GOR	1	0	100% *Paraconiothyrium fuckelii*
PRE 2.1/a	PRE	2	0	100% *Varicosporellopsis aquatilis*
CHO 1.1/b	CHO	1	0	100% *Parascedosporium putredinis*
PRE 3.1.1/b	PRE	3	0	100% *Diaporthe cotoneastri/eres*
CHO 1.1/a	CHO	1	0	99.81% *Nemania serpens*
PRE 2.c.1.1/b	PRE	2	5.30	100% *Eutypa maura*

4. DISCUSSION

Our study revealed that internal wood stains are widespread in stands with the presence of maple trees affected by the SBD. These stains can be typically found anywhere from the trunk base to the crown and are consistently associated with *C. corticale*. Interestingly, we detected the fungus more frequently in the lower part of the tree, i.e., at the collar and at a height of 1.30 m. This pattern may be explained by the stronger correlation observed between stain occurrence and *C. corticale* detection in the lower trunk.

The presence of brown-greenish stains within the wood has long been recognized as an early symptom of SBD (Dickenson, 1980; Gregory and Waller, 1951). In our study, although we sampled only healthy-looking trees with no external signs of *C. corticale*, almost all exhibited internal stains, particularly in branches, but also at the trunk base. The frequent occurrence of these stains in asymptomatic trees supports the idea that the pathogen can spread silently within the xylem (Gibbs, 1997; Ogris et al., 2021). Ogris et al. (2021) further reported that wood stains were larger in drought-stressed than well-watered maple saplings inoculated with *C. corticale*. Stains can occur even in the absence of water

stress but appear to be favoured by it, enhancing colonisation by *C. corticale*. Indeed, monitoring SBD foci during several years, Gregory and Waller (1951) showed that the cumulative prevalence of SBD could locally reach very high values such as 50 to 80 % of the trees. This raises questions regarding the extent of the disease outbreaks and the observed presence of frequent and significant *C. corticale* latent infections in maples. The very high incidence of stains in our sampled trees may reflect the fact that they were located within SBD foci. The pathogen is known to produce abundant air-borne spores: Gregory and Waller (1951) measured a production of 34-174 10^6 spores.cm^{-2} on fungal stroma. *C. corticale* is able to disperse at large distances and can be detected in air samplers far away from maple stands (Muller et al., 2023). This suggests that the latent presence of *C. corticale* in sycamore could be widespread. Dead branches and tree remnants act as inoculum sources, and airborne dispersal throughout the year further promotes latent pathogen spread. Abiotic stresses such as heatwaves and drought may then trigger sudden outbreaks, by enhancing inner colonisation by the fungus and leading to larger disease outbreaks. In the actual context of climate change, such events could significantly impact the long-term *Acer* population, highlighting the need to better monitor the current presence of the pathogen across the landscape.

Our observations indicate that stains are strongly associated with the presence of *C. corticale*, with green stains being the most indicative of fungal colonisation. Detection of the pathogen was most successful in lower parts of the trunk. Stains have previously been reported near branch insertion (Gregory and Waller, 1951). Branches, whose smaller diameter may lead to greater susceptibility to cambial colonisation, frequently exhibited staining. This might explain why symptoms are often more visible in branches than in the trunk. Reported entry points for the pathogen include broken branches and wounds (Dickenson, 1980; Gregory and Waller, 1951). Yet, our findings suggest additional pathways may exist: staining discontinuities along the trunk hints at possible basal entry points, while the potential role of roots remains unexplored as the pathogen as already been isolated from roots (Townrow 1954). This could just reflect older infection points through branches damaged earlier in the tree's lifespan and that subsequently disappeared. The tree base, containing a higher proportion of older tissues, may therefore present a higher probability of prior exposure to fungal propagules. The pathogen might also be able to spread in healthy wood to reach the lower trunk as it is regularly detected in unstained wood. Besides, the lower trunk could present an environment more favourable to *C. corticale* colonisation. For example, interactions with other organisms at the tree base, where the microbiome might differ from that of the branches, could facilitate fungal establishment, contributing to the higher pathogen prevalence in the lower trunk (Lorenc, 2024). On the other hand, in the lower part of the trunk, we were able to identified different species that were also detected by Schlößer et al. in 2023 in a study about the fungal diversity in *Acer pseudoplatanus*. Among them,

Hypholoma fasciculare, Eutypa maura, *Clonostachys solani/rosea*, *Diaporthe cotoneastri/eres*, were also reported to be potential *C. corticale* antagonists (Schlößer et al., 2025). Moreover, *Didymella macrospora* is not reported as an antagonist but other *Didymella* species are potential antagonists. Presence of these antagonists at the tree base may limit the pathogenic development of *C. corticale*, which could potentially increase the duration of the latent phase in woody tissues.

While basal stains were consistently associated with *C. corticale*, its probability of detection decreased with tree height only in stained samples but not in unstained ones. Not all branch stains are thus attributable to *C. corticale*. Other pathogens that we identified in the hosts tissues, such as *Nemania serpens, Lopadostoma gastrinum* and *Eutypa maura*, can induce similar black symptoms, which may explain the presence of stains in branches without a direct link to *C. corticale*.

Our sampling provides a representative picture of latent pathogen presence. Previous epidemiological studies (Muller et al., 2025) may have slightly underestimated infection levels, although sampling at a height of 1.3 m appears to be a reliable proxy for rapid assessment without felling trees. As detection is higher in stained wood which is more frequent at a distance from the cambium, the depth of sampling is also an issue. However, distance from the cambium did not significantly influence the pathogen detection in our analysis, likely because green stains that are more tightly associated *C. corticale* occurred closer to the cambium. Our results suggest that the simplified procedure with a cork borer, with sampling of only the 1-2 cm of wood beneath the cambium is an acceptable procedure to assess the frequency of *C. corticale* latent infection in sycamore stands. Future surveys should include samplings at different distances of known SBD foci to evaluate landscape-level prevalence and epidemics dynamics. Notably, nearly all trees in our study were carriers of the pathogen, suggesting that current prevalence may be higher than previously estimated.

Finally, the potential trajectory of these trees under future climate change warrants further attention. The silent spread of the pathogen, combined with episodic environmental triggers, could lead to sudden disease outbreaks, raising serious questions regarding the resilience of maple populations and the rate at which disease foci may expand in the coming decades.

5. ACKOWLEDGEMENTS

We wish to thank the owners of the sampled forest stands that allowed us to access to the material for the study and help us for tree logging. This work was supported by a ANSES-INRAE PhD grant (2022-

2025) and by the Département de la Santé des Forêts (CRYPTIC project, French Ministry of Agriculture and Forestry).

6. REFERENCES

Blumenstein, K., Bußkamp, J., Langer, G.J., Langer, E.J., Terhonen, E., 2021. The *Diplodia* Tip Blight Pathogen *Sphaeropsis sapinea* Is the Most Common Fungus in Scots Pines' Mycobiome, Irrespective of Health Status—A Case Study from Germany. J. Fungi 7, 607. https://doi.org/10.3390/jof7080607

Blumenstein, K., Bußkamp, J., Langer, G.J., Terhonen, E., 2022. Diplodia tip blight pathogen's virulence empowered through host switch. Front. Fungal Biol. 3, 939007. https://doi.org/10.3389/ffunb.2022.939007

Brooks, R.K., Omdal, D., Brown, S., Marshall, C.J., Hulbert, J.M., Elliott, M., Chastagner, G., 2023. *Cryptostroma corticale*, the causal agent of sooty bark disease of maple, appears widespread in western Washington State, USA. For. Pathol. e12835. https://doi.org/10.1111/efp.12835

Byrne, T., Gregan, D., Flanagan, D., Riebesehl, J., Rathore, D.S., 2025. First report of *Cryptostroma corticale* causing sooty bark disease of sycamore in Ireland. New Dis. Rep. 51, e70038. https://doi.org/10.1002/ndr2.70038

Cleary, M., Nguyen, D., Marčiulynienė, D., Berlin, A., Vasaitis, R., Stenlid, J., 2016. Friend or foe? Biological and ecological traits of the European ash dieback pathogen Hymenoscyphus fraxineus in its native environment. Sci. Rep. 6, 21895. https://doi.org/10.1038/srep21895

Desprez-Loustau, M.-L., Marçais, B., Nageleisen, L.-M., Piou, D., Vannini, A., 2006. Interactive effects of drought and pathogens in forest trees. Ann. For. Sci. 63, 597–612. https://doi.org/10.1051/forest:2006040

Dickenson, S., 1980. Biology of *Cryptostroma corticale* and the sooty bark disease of Sycamore (PhD Thesis). University of London, Berkshire.

Dickenson, S., Wheeler, B.E.J., 1981. Effects of temperature, and water stress in sycamore, on growth of *Cryptostroma corticale*. Trans. Br. Mycol. Soc. 76, 181–185. https://doi.org/10.1016/S0007-1536(81)80136-2

Garbelotto, M., Popenuck, T., Schmidt, D., Rooney-Latham, S., Ewing, C., Smith, T., 2024. First Report of *Cryptostroma corticale* Causing Sooty Bark Disease in California and First Worldwide Report of Silver Maple as a Host. Plant Dis. PDIS-12-23-2734-PDN. https://doi.org/10.1094/PDIS-12-23-2734-PDN

Ghelardini, L., Pepori, A.L., Luchi, N., Capretti, P., Santini, A., 2016. Drivers of emerging fungal diseases of forest trees. For. Ecol. Manag. 381, 235–246. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.09.032

Gibbs, J.N., 1997. Firfty years of Sooty bark disease of Sycamore. Quaterly J. For. 215–221.

Gninenko, Yu.I., Chilakhsaeva, E.A., Seraya, L.G., Larina, G.E., Yufereva, V.V., Bondareva, E.V., Yarylchenko, T.N., 2024. First Report of *Cryptostroma corticale*, a Causative Agent of the Sooty Bark Disease of Maples, in Russia. Russ. J. Biol. Invasions 15, 26–31. https://doi.org/10.1134/S2075111724010041

Gregory, P.H., Waller, S., 1951. *Cryptostroma corticale* and sooty bark disease of sycamore (*Acer pseudoplatanus*). Trans. Br. Mycol. Soc. 34, 579-IN10. https://doi.org/10.1016/S0007-1536(51)80043-3

Ioos, R., Fourrier, C., Iancu, G., Gordon, T.R., 2009. Sensitive Detection of *Fusarium circinatum* in Pine Seed by Combining an Enrichment Procedure with a Real-Time Polymerase Chain Reaction Using Dual-Labeled Probe Chemistry. Phytopathology® 99, 582–590. https://doi.org/10.1094/PHYTO-99-5-0582

Kelnarová, I., Černý, K., Zahradník, D., Koukol, O., 2017. Widespread latent infection of *Cryptostroma corticale* in asymptomatic *Acer pseudoplatanus* as a risk for urban plantations. Forest Pathology 47, e12344. https://doi.org/10.1111/efp.12344

Koukol, O., Kelnarová, I., Černý, K., 2015. Recent observations of sooty bark disease of sycamore maple in Prague (Czech Republic) and the phylogenetic placement of *Cryptostroma corticale*. For. Pathol. 45, 21–27. https://doi.org/10.1111/efp.12129

Lorenc, F., 2024. *Cryptostroma corticale* and its relationship to other pathogens and pests on *Acer pseudoplatanus*. J. For. Sci. 70, 610–618. https://doi.org/10.17221/41/2024-JFS

Moreau, C., Moreau, M., 1951. La suie des Sycomores à Paris. Bull. Société Mycol. Fr. 67, 404–418.

Muller, E., Dvořák, M., Marçais, B., Caeiro, E., Clot, B., Desprez-Loustau, M.-L., Gedda, B., Lundén, K., Migliorini, D., Oliver, G., Ramos, A.P., Rigling, D., Rybníček, O., Santini, A., Schneider, S., Stenlid, J., Tedeschini, E., Aguayo, J., Gomez-Gallego, M., 2023. Conditions of emergence of the Sooty Bark Disease and aerobiology of *Cryptostroma corticale* in Europe. NeoBiota 84, 319–347. https://doi.org/10.3897/neobiota.84.90549

Muller, E., Marçais, B., LeBoldus, J., Husson, C., Aguayo, J., Gomez-Gallego M., 2025. Prevalence of *Cryptostroma corticale* in asymptomatic sycamore maples is larger than expected in France. Plant Pathology (in press).

Ogris, N., Brglez, A., Piškur, B., 2021. Drought Stress Can Induce the Pathogenicity of *Cryptostroma corticale*, the Causal Agent of Sooty Bark Disease of Sycamore Maple. Forests 12, 377. https://doi.org/10.3390/f12030377

Paap, T., Wingfield, M.J., Burgess, T.I., Wilson, J.R.U., Richardson, D.M., Santini, A., 2022. Invasion Frameworks: a Forest Pathogen Perspective. Current Forestry Reports **8, 7**4–89. https://doi.org/10.1007/s40725-021-00157-4

Schlößer, R., Bien, S., Langer, G.J., Langer, E.J., 2023. Fungi associated with woody tissues of *Acer pseudoplatanus* in forest stands with different health status concerning sooty bark disease (*Cryptostroma corticale*). Mycol. Prog. 22. https://doi.org/10.1007/s11557-022-01861-6

Schulz, B., Boyle, C., 2005. The endophytic continuum. Mycol. Res. 109, 661–686. https://doi.org/10.1017/S095375620500273X

Sieber, T.N., 2007. Endophytic fungi in forest trees: are they mutualists? Fungal Biol. Rev. 21, 75–89. https://doi.org/10.1016/j.fbr.2007.05.004

Tanney, J.B., Feau, N., Shamoun, S.F., Kope, H.H., Dicaire, A., Drugmand, B., Walker, J., Burlakoti, P., Joshi, V., 2024. *Cryptostroma corticale* (Ellis & Everh.) P. H. Greg. & S. Waller causing sooty bark disease in British Columbia, Canada. Can. J. Plant Pathol. 1–15. https://doi.org/10.1080/07060661.2024.2369324

Teshome, D.T., Zharare, G.E., Naidoo, S., 2020. The Threat of the Combined Effect of Biotic and Abiotic Stress Factors in Forestry Under a Changing Climate. Front. Plant Sci. 11. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.601009

Young, C.W.T., 1978. Sooty Bark Disease of Sycamore. Arboric. Leafl., HMSO, London 1–8.

CHAPITRE 3 : Aérobiologie du pathogène

Le chapitre précédent a permis de mettre en avant une forte présence de colorations dans des hôtes sans symptômes apparents avant abattage. Ces colorations sont liées à la présence de *C. corticale* dans le bas de l'arbre et moins lié à la présence du champignon dans le haut de l'arbre, même si nous avons détecté plus de colorations dans les parties hautes de l'arbre. Une question reste en suspens quant au rôle des branches présentant des colorations noires qui sont un signe de présence de *C. corticale*. Une hypothèse serait qu'elles participent à la production d'inoculum.

Dans la littérature, *C. corticale* est décrit comme dispersé à longue distance par le vent. De plus, la production de spores sur un arbre atteint de suie est très importante. Étudier la présence de spores de *C. corticale* au long de l'année nous permettrait de mieux comprendre l'épidémiologie de la maladie et la phénologie du champignon, d'apporter des pistes sur les sources d'inoculum et ainsi d'identifier les foyers de la maladie. Sa présence dans l'air a été étudiée à trois reprises dans les dernières années avec différents types de pièges à spores et révèle des patrons de présence sur l'année différents. L'objectif de ce dernier chapitre est d'observer dans la métropole du grand Nancy, à l'aide de deux types de pièges à spores, la présence de l'inoculum aérien de cet agent pathogène tout au long de l'année et également de lier cette présence à d'éventuelles variables climatiques. De plus, l'utilisation de deux types de pièges à spores nous permettra de comparer deux méthodologies couramment utilisées en aérobiologie. Les pièges sont placés sur différents types de placette, liées à notre gradient d'anthropisation du chapitre 1 afin de mettre en avant un éventuel décalage entre les placettes très stressées et les placettes forestières.

Les résultats de cette étude ont été retranscrits dans l'article suivant intitulé « *Cryptostroma corticale* spore production pattern across seasons in different landscapes » prochainement soumis pour publication dans la revue Plant Pathology.

Cryptostroma corticale spore production pattern across seasons in different landscapes

MULLER Elodie[1,2], MARCAIS Benoit[2], TEMPESTINI Thomas[2], AGUAYO Jaime[1], GOMEZ-GALLEGO Mireia[2]

[1] ANSES, Plant Health Laboratory, Mycology unit, USC INRAE 1480, 54220 Malzéville, France

[2] INRAE Grand-Est, UMR 1136 Trees and Microorganisms Interactions, 54280 Champenoux, France

ABSTRACT

Forest pathogen invasions have intensified across Europe over recent decades, facilitated by globalization and climate change. *Cryptostroma corticale*, the causal agent of Sooty Bark Disease (SBD) in Acer spp., is an emerging pathogen of increasing concern due to its ability to produce and disperse airborne spores. Understanding the temporal dynamics of spore release is critical for assessing infection risk and improving monitoring strategies. In this study, we investigated the airborne presence of C. corticale over one year using both active and passive spore traps, deployed urban, peri-urban and forested areas (location types) in north-eastern France. Spores were detected throughout the year, with two major peaks in June and September. Spore abundance was significantly influenced by climatic factors, particularly wind speed during trap exposure in interaction with the type of spore trap, and maximum daily temperature and relative humidity in the month preceding the sampling. The location type did not significantly affect spore detection, which was mainly related to the distance to the closest diseased tree, indicating the importance of local inoculum sources. Passive traps proved to be more reliable for continuous monitoring, while active traps better reflected short-term dynamics of spore presence. Our results provide new insights into the epidemiology of SBD, showing that C. corticale dispersal is strongly shaped by climatic conditions and proximity to infected trees. These findings contribute to a better understanding of inoculum dynamics and offer guidance for developing efficient monitoring tools to support forest health management under changing environmental conditions.

1. INTRODUCTION

Forest pathogen invasions across Europe have increased exponentially over the last decades (Gomdola et al., 2022; Santini et al., 2013). Globalization is recognized as a powerful driver of fungal pathogens invasions and emergence of new diseases in forest trees by facilitating the movement of infected plants or woods products and their associated pests (Ghelardini et al., 2016; Golan and Pringle, 2017; Santini et al., 2013). In addition, changes in the climatic conditions, like extreme temperatures and drought, can have an impact on the ecological behavior of plant pathogens, influencing disease emergence.

The introduction of pathogens into new environments where native tree species have not co-evolved with those pests, may result in devastating disease outbreaks such as ash dieback and dutch elm diseases (Santini et al., 2013; Stenlid and Oliva, 2016). After introduction and establishment stages of invasions, some fungal pathogens are highly effective at spreading by airborne spores. Fungal pathogens dispersed by wind can rapidly colonize vast areas, thus amplifying the risk of local and large scale epidemics (Brown and Hovmøller, 2002; Naranjo-Orrico et al., 2025; Peay et al., 2016). Detecting the pathogen efficiently in air samples is thus an important aim to document where and when the pathogen inoculum increases and hence the infection risk might be high. Unbiased detection of airborne pathogen spores requires efficient spore traps as well as a better understanding of the periods of the year where detection is likely. Monitoring the airborne presence of fungal pathogens throughout the year enables informed prioritization of the periods of the year for pathogen surveillance. Several spore traps can be used to capture fungal propagules (Check et al., 2024; Jackson and Bayliss, 2011). Passive traps are less efficient but easy and cheap to use with the possibility to set up a high number of traps, while active traps are both more expensive but more efficient in spore detection (Jackson and Bayliss, 2011).

Cryptostroma corticale (Ellis & Everh.) P.H. Greg. & S. Waller is an example of an introduced pathogen in Europe that spread efficiently by wind (Burgdorf et al., 2025, 2022; Dvořák et al., 2025; Muller et al., 2023). First described as a saprophytic fungus in London, Ontario, Canada (Ellis and Everhart, 1889), it is now considered as the pathogen inducing the Sooty Bark Disease (SBD) of maple. The first European detection was in an urban park in London, Essex in 1945 (Gregory and Waller, 1951; Peace, 1962). Afterwards, the disease was reported in Paris in 1947 (Moreau and Moreau, 1951). SBD reports were then scarce until the years 2000s, when the disease was reported across many European countries from Ireland to Russia (Byrne et al., 2025; Gninenko et al., 2024). This fungus is widespread as a latent pathogen in *Acer* species (Gibbs, 1997; Schlößer et al., 2023; Muller et al., 2025). It can survive within the host tissues without causing symptoms (Kelnarová et al., 2017; Schlößer et al., 2023) until the host

undergoes abiotic stress such as drought and high temperatures (Dickenson and Wheeler, 1981; Muller et al., 2023; Ogris et al., 2021). It then causes SBD. It is possible that the pathogen spread silently as a latent parasite since its introduction until the years 2000s and that the warmer and drier climate experienced in Europe in the 21th century favoured the emergence of SBD (Muller et al., 2023). In addition to the SBD, *C. corticale* conidia can be pathogenic in humans. A hypersensitivity pneumonitis can be developed by people who are regularly exposed to high spore concentrations, particularly woodworkers (Braun et al., 2021; Kespohl et al., 2022). The increasing cases of SBD, particularly in cities, raises the concern of inoculum exposure and underlines the need to control the current spread of the disease.

C. corticale conidia are efficiently dispersed by wind, as they have been detected up to 310 km from the source (Muller et al., 2023) and at heights of up to 120 m (Burgdorf et al., 2022). However, inoculum sources of the SBD are still poorly understood, which compromises both monitoring of inoculum loads and disease management. The main recognized source of inoculum so far is the black stroma of the fungus that gets exposed when the hosts's bark peels off in the late stages of the disease. A single infected tree of 4.5 m in height and with a diameter of 29 cm can release 5×10^{13} spores, which corresponds to the number of uredospores produced by 0.8 km² of wheat infected with *Puccinia graminis* (Gregory and Waller, 1951). Thus, trees affected by the SBD, i.e., with black stroma on the trunk, are likely major inoculum producers. However, it is not known whether significant production of inoculum may also occur on dead branches in the crown or in stumps of affected maples that have been felled. Indeed, sporulating lesions have been reported on stumps of trees that had been cut down during the preceding year and the fungus have been reported to have saprophytic activity (Gregory and Waller, 1951). In addition, black stroma may develop on logged trees even if they are asymptomatic during felling (Burgdorf et al., 2025). Another source of uncertainty is the host range of the fungus. While the main susceptible host in Europe is *Acer pseudoplatanus* (Gibbs, 1997; Kelnarová et al., 2017; Koukol et al., 2015), *C. corticale* has also been reported on other *Acer* species such as *Acer platanoides*, and *Acer campestre* (Bencheva, 2014; Schlößer et al., 2024), on *Fraxinus excelsior* (Langer et al., 2023) and on *Aesculus hippocastanum* (Brenken et al., 2024). The importance of those less affected hosts, in particular of the genus *Acer*, as inoculum sources is not well documented.

Different studies have observed dispersion over the growing season using different type of spore traps (Burgdorf et al., 2022; Dvořák et al., 2025; Muller et al., 2023). Although these studies show that the aerial inoculum of the pathogen is likely present throughout the year and that spore release is influenced by environmental factors, they do not agree in terms of seasonal peaks of the spore detection (Burgdorf et al., 2022; Dvořák et al., 2025). The main aim of our study is to document the airborne presence of *C. corticale* over a 12-month-period, to better identify emission peaks and

climatic drivers of disease spread. We also aimed at comparing the effectiveness of different spore traps by testing both active and passive devices. Each method presents specific advantages and drawbacks in terms of cost, ease of use, and sample processing time. Our objective was to evaluate which approach offers the best results, in order to identify a reliable method for spore capture that could be efficiently implemented for local plot-scale monitoring.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Field sampling

Sampling was carried from April 11, 2023 to April 25, 2024 in the city of Nancy (NE of France) and its surrounding peri-urban and forested areas. To investigate the airborne presence of *C. corticale* throughout the year, we selected six sampling plots located near SBD outbreaks (Table 7). The sampling plots were chosen to cover three location types —urban, peri-urban and forested areas— with two sampling plots per location type. The urban sampling plots consisted of two urban parks in Nancy with presence of diseased maple trees (Figure 26). In the MDF plot, sycamore maple was abundant, representing more than 50% of the trees; SBD had been severe on the site for the last 5-10 years and newly affected maples were observed during the sampling. Sycamore were less frequent in the RMC plot, although a recently affected individual was in the immediate vicinity of the trap location. The peri-urban sampling plots were located along the water canal between Fléville-devant-Nancy and Nancy (Figure 26). CNL1 was located at away from any maple tree with the closest sycamore trees at about 600 m from the trap in a hedge containing few trees affected by the SBD. CNL2 was not in immediate vicinity of maple trees; however, a hedge containing only sycamore maple and strongly affected by SBD was just on the other side of the canal. The forested sampling plots were located in a *Fagus sylvatica-Acer pseudoplatanus* planted mixed stand (27 years-old) in the Haye forest near Nancy (Figure 26). SBD was abundant in the stand while no recent symptoms could be observed during the sampling. On each plot, we installed two passive spore traps (Figure 27a) and one active spore trap (Figure 27b). In total, six active spore traps and 12 passive spore traps were used.

Passive traps, designed and tested by Anne Chandelier (personal communication), consist on a 35 cm^2 double-faced tape (7 x 5 cm) fixed on a foam polystyrene block with two needles (Figure 27a). This block is placed on a pole at ca. 1-m height above the ground. The paper protecting the adhesive tape was removed in the field once fixed at the block. A negative control was added to each passive trap, consisting on a double-faced tape within a bag attached to the block with a needle. Traps were exposed during 14-day periods from April 11, 2023 to April 25, 2024. Every 14 days, non-exposed (control) and exposed adhesive tape pieces were collected, stored in a 90 mm Petri dish, and transported to the

laboratory within the following 4 hours. New adhesive tape pieces and polystyrene blocks were placed at the time of sampling. Disinfection with 70% ethanol was done between the manipulation of collected and deployed traps to avoid contamination. The negative control was used to assess potential contamination during trap manipulation in the field.

Rotorod type air samplers were used as active spore traps (Di-Giovanni, 1998). They are rotating-arm impactor samplers, GRIPS-99M (Aerobiology Research Laboratories, Canada), based on principles Rotating-arm samplers were used because of their ease of installation on the field (Figure 27b). Traps are placed on a pole at ca. 1-m height above the ground. Those traps are used with home-made 3.2 cm x 1.1 mm aluminium rods covered with a silicone component supplied with the traps. The rotation speed is 2400 rpm powered by moto-cycle batteries. Rods were exposed for 48h hours of sampling every 2 weeks. Negative controls consisted of non-exposed rods that were handled during the sampling when setting up the traps. After exposition, the two rods of each sampler were placed in a 1.5 ml Lysing Matrix A tube (MP Biomedicals). All passive and active samples are kept at -20 °C until further treatments.

Table 7: Coordinates of the studied plots (wgs84) and distance from samplers to closest tree with SBD

Plot type	Plot name	X	Y	Distance to closest diseased tree (m)
Forest	FDH1	6.145014	48.637807	< 2
Forest	FDH2	6.145373	48.638287	< 2
Peri-urban	CNL1	6.216304	48.629742	590
Peri-urban	CNL2	6.199942	48.615238	90
Urban	MDF	6.208554	48.665956	75
Urban	RMC	6.152229	48.666310	20



Figure 26: Location of the sampled plots



Figure 27: (a) Passive spore traps with captors (adhesive surface) in white and negative control in a bag; (b) Active spore traps

2.2. Sample treatment and *Cryptostroma corticale* detection

Passive trap samples, including negative controls, require a pre-treatment of the adhesive tape before DNA extraction. To recover spores from the adhesive tape, 8 ml of preheated at 65 °C TE4X buffer (sterilized solution of Tris 40 mM, pH 8.0 and EDTA 4 mM) was added to each Petri dish containing the tape. The surface of the adhesive tape was carefully scraped with the flat side of a sterile metal spatula to detach spores, and the resulting suspension was transferred into a 50-ml Falcon tube. This process was repeated until a total volume of 16 ml was obtained per Falcon tube and per sample. Samples were centrifuged at 4000 × g for 1 h at room temperature, after which the supernatant was discarded, leaving approximately 3 ml in each tube. The pellet was resuspended and divided into two aliquots of 1.5 ml in 2-ml microtubes. These were centrifuged at 15500 × g for 5 min at room temperature. The supernatant from each tube was removed leaving approximately 100 µl, and the pellets were resuspended in these 100 µl of buffer before being pooled into a single 1.5 ml tube to have a final volume of approximately 200 µl per sample. After this step and before DNA extraction, samples were stored at -20 °C. Only 100 µl were used for the next step.

Genomic DNA extraction was performed using DNeasy Mini Plant kit (Qiagen) for both passive and active samples, following the manufacturer's instructions with the following modifications. Chemical lysis was performed by adding 400 µl of TEX buffer (sterilized solution of Tris 100 mM pH8.0, EDTA 20 mM, NaCl 1.4 mM with 2% CTAB, 2% PVP-K30 stored between 2-8 °C) instead of the provided lysing

buffer, 60 µl of proteinase-K and 4 µl of RNase-A to the sample, then each sample was mixed for 10 s. Incubation was conducted at 55 °C for 1 hour and 30 minutes. The samples were mixed twice each 30 minutes. From that point, procedure provided with the kit was followed. At the end, the DNA was eluted twice in 25 µl of elution buffer, resulting in 50 µl of DNA per sample.

Detection of *Cryptostroma corticale* with species-specific primers was performed by real-time PCR (Muller et al., 2023) using 10-fold diluted DNA extracts. Each sample was tested 3 times. Amplifications were performed with a QuantStudio™ 6 (Thermo Fisher Scientific) in a 15 µl total volume containing 7.5 µl of 1X Brilliant II Probe Master Mix with ROX (Agilent), 0.3 µM of each primer (ccITS2F – forward: AGGTTGTGCTGTCCGGTG and SBD3R – reverse: AGCTCCTACCAACTACAGGGT), 0.1 µM of probe (SBD5P: FAM-ACCCTGTAGGAGGAGCTACCCTGTA-BHQ1), 2 µl of DNA template and PCR-grade water up to 15 µl. Thermal cycling conditions consisted of UDG activation at 37 °C for 10 minutes, polymerase activation at 95 °C for 10 minutes, followed by 40 cycles of 10 s at 95 °C and 45 s at 62 °C. A sample was considered positive if at least two replicates were amplified by species-specific qPCR. If only one sample was amplified, a second real-time PCR was performed to attest if the sample was positive. These samples were considered positive if at least 2 replicates over the total of 6 replicates were positive.

In order to quantify spores in each sample, standard curves for each qPCR were obtained using serial dilution of DNA from *C. corticale* conidial suspension. Initial spore suspension was quantified using a haemocytometer. This DNA concentrations were quantified using a Nanodrop spectrometer (Thermo Fisher Scientific).

2.3. Climatic data

Climatic variables were obtained from daily data of the SAFRAN database of Météo-France. The two closest grid points to our plots were selected. Data were retrieved for each spore trap sampling period. For passive traps, values were either averaged or cumulated over the 14-day exposure period, whereas for active traps, the same procedure was applied over the 2-day exposure period. The following variables were considered: mean wind speed at 10 m (m/s), air relative humidity (%), daily maximum air temperature (°C), and cumulative liquid precipitation (mm). In addition to these data during trap exposure, climatic variables were also either averaged or cumulated over the 15 and 30 days preceding each sampling period, in order to investigate potential delayed effects of weather conditions on airborne spore presence. Variables during the periods preceding trap exposure would represent conducive conditions for sporulation, and variables during the exposure time would represent conditions for spore trapping.

2.4. Statistical analyses

We performed all statistical analyses using R version 4.4.1 (R Development Core Team, 2024). In order to compare the efficacy of active and passive spores trap for the detection of airborne inoculum of *C. corticale*, we used Fisher's exact test. To determine whether a location type would be linked to higher spore detection of *C. corticale* than any other, we compared the predicted means with the *emmeans* function in R and corrected the *p* values to deal with multiple comparisons with the *p.adjust* function in R with the BH method.

We fitted generalized linear mixed models (*glmmTMB* function) with negative binomial distribution and quadratic parameterization (Brooks et al., 2017) to study the variables that best explain the *C. corticale* spore deposition on traps. We tested the link between the number of spores detected on traps and climatic data. Our initial model includes the number of spores as response variable. As fixed factors, we used the location type (urban, peri-urban or forest), the closest distance to diseased trees (m), the interaction of type of spore trap (active or passive) with wind speed (m/s), the cumulative precipitation during trap exposure (mm), the daily maximum air temperature (°C) and the air relative humidity (%) for the 30 days preceding exposure. Sampling point nested within plot were used as random structure. We included a zero-inflation term to model the probability of *C. corticale* detection. The zero-inflation component was alternatively specified as an intercept-only term (`zi = ~1`) or including covariates such as spores trap type and distance to closest tree with SBD. Those specifications were compared to assess whether excess zeros were constant or influenced by explanatory variables. To select the zero-inflation component, we compared the AIC values of all candidate complete models and retained the specification with the lowest AIC. Model simplification (selection of predictors explaining the number of spores) was performed using backward selection, sequentially removing non-significative predictors.

3. RESULTS

3.1. Phenology of *C. corticale*

A total of 463 samples have been taken along the year, 310 from passive traps and 153 from active traps. Combining detection results of both type of traps, we were able to detect spores all along the year with a few non-consecutive weeks without detection in early May, end of October, beginning of December, mid-February and mid-April (Figure 28a). We quantified the number of spores released along the year, based on the standard curves. The maximum of total detected spores (all traps and all

plots) was registered in June with 253 spores detected between June 6 and 19, and 191 spores detected between June 20 and July 4. We noticed another peak of presence between September 26 and October 9 with 113 detected spores (Figure 28b). Concerning the negative field controls, 25% were tested on qPCR. None of these samples gave positive results for *C. corticale*, suggesting that positive results on field samples are true positives resulting from a spore deposition of the fungus on the traps.

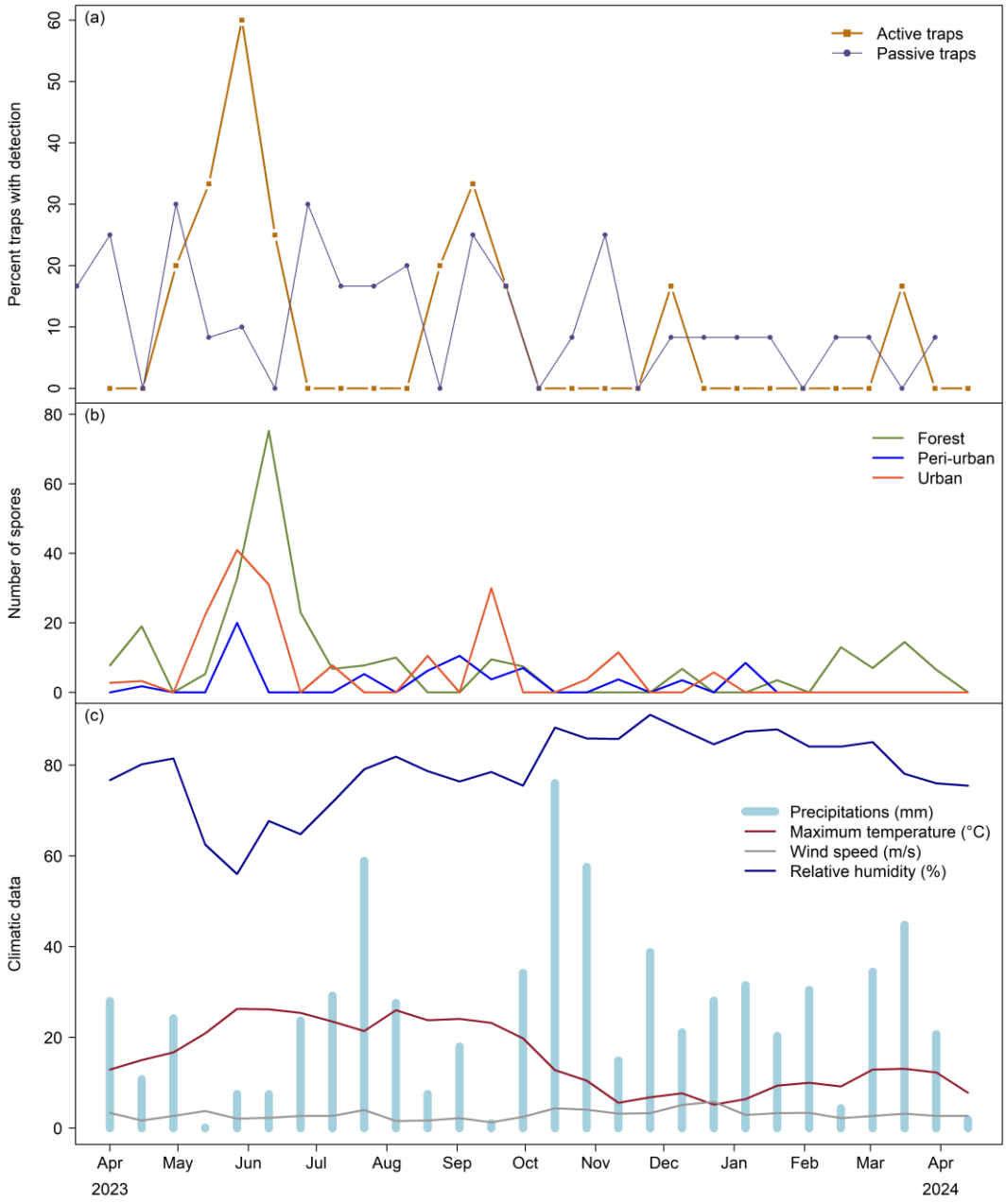


Figure 28 : (a) Comparison between passive traps (violet line) and active traps (orange line) showing the detection rate of C. corticale spores along the year. (b) Comparison of the number of spores detected between three location types in forest (green line), peri-urban (blue line) and urban (orange line), for both types of spore traps. (c) Biweekly climatic data over the year of spore traps' exposure: cumulative precipitation in mm (light blue histogram), mean of daily maximum temperature in °C (burgundy line), mean wind speed in m/s (grey line) and mean relative humidity in % (dark blue line).

3.2. Sampling methods

The comparison of the two types of spore traps is shown in Figure 28a and in Table 8. Fisher's exact test indicated a significant association between trap type and spore detection ($p = 0.008$). The odds of detecting *C. corticale* spores were 2.6 times higher in passive traps compared to active traps (95% confidence interval: 1.24–5.63). Furthermore, passive traps presented a higher percentage of traps with detection throughout the year, while active traps showed higher amounts of spores detected at the peaks of pathogen presence (Figure 28a). However, in our study, either trap type had a different exposure time (2 versus 14 days, for active and passive traps, respectively) and trapping surface, hindering direct comparison of the absolute number of spores.

Table 8: Comparison for the detection of C. corticale on the two types of spore traps.

	No detection	Detection	Total
Active trap	140	13	153
Passive trap	125	30	155

Traps were deployed in three different location types, in urban parks, in peri-urban areas along the canal sides and in the forest (Figure 28b). While we observed recent symptoms in sycamore maple trees located in the two sampled urban parks, in peri-urban plots infected trees were farther than 90 m of the deployed traps (Table 7). Forest plots consisted of old infection outbreaks with no active symptoms observed during the sampling year. Nevertheless, the number of spores detected in forest plots was high in June and from February to April. Our initial model predicted lower spore counts in peri-urban plots compared to forest plots ($p = 0.029$). However, BH correction revealed no significant differences among location types ($p > 0.22$).

3.3. Climatic variables and distance to infected trees affect airborne spore presence

We tested four climatic variables at two different time scales: during trap exposure or 30 days before exposure period. Wind speed and precipitations were tested for the time during trap exposure, as they could have a direct influence on the capture of *C. corticale* spores on traps (Figure 28c). Relative humidity and daily maximum temperature could influence the production of inoculum, and hence were tested for the 30 days before sample exposure. Proceeding a backward selection on the initial model, our final model includes the interaction between type of spore traps and wind speed during the exposure period, the relative humidity and daily maximal temperature in the 30 days before exposure period. We observed a strong correlation between wind speed during the exposure period

and the number of *C. corticale* detected spores (z = -3.558; p = 0.0003). The number of spores varied with the wind speed only for active traps, with a significant interaction between type of spore trap and mean wind speed during the exposure period (z = 2.506; p = 0.012). Lower wind speed values increased the number of detected spores in active traps (Figure 29).

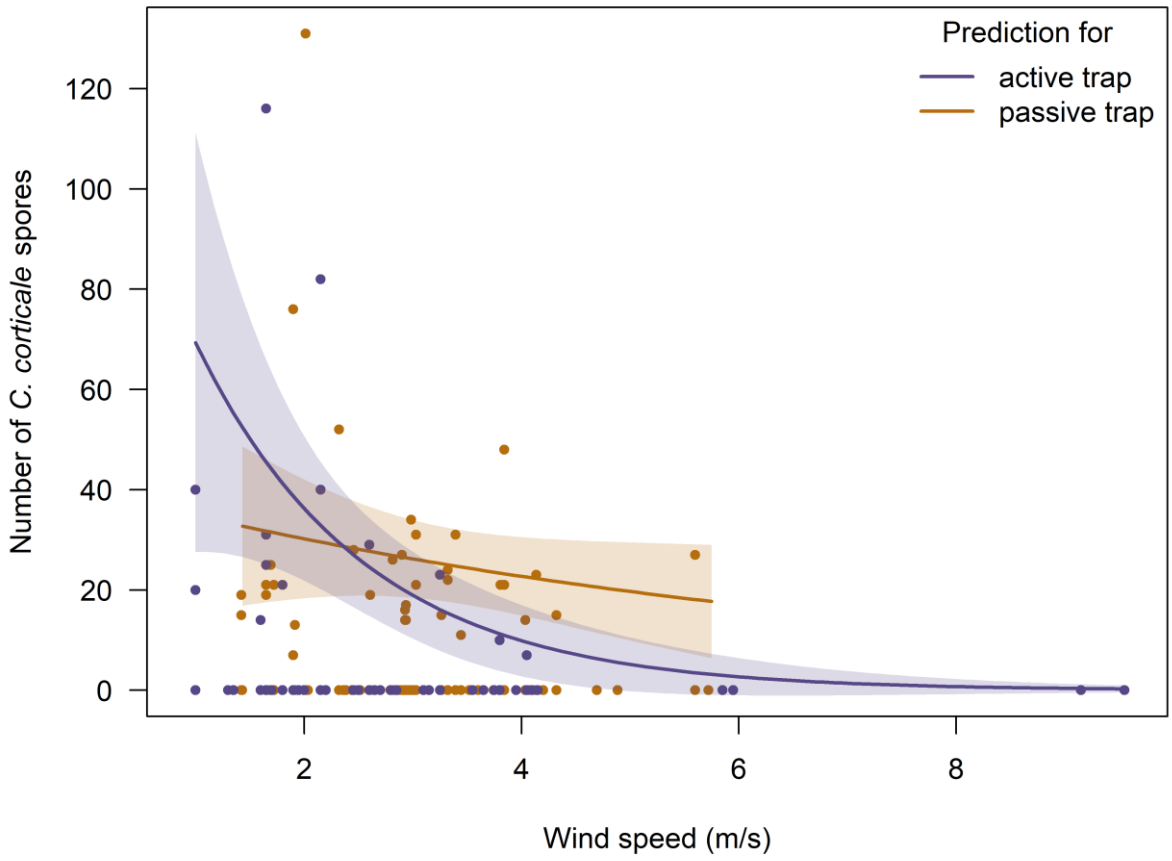


Figure 29 : Model prediction of the detection of C. corticale spores as a function of the mean wind speed (m/s) for active (purple) and passive (orange) spore traps. Lines are the predictions for passive or active spore traps. Shaded areas represent the 95% confidence intervals. Points are the observed number of detected spores for the different values of wind speed.

Daily maximum temperature and relative humidity over the 30 days before exposure period were negatively correlated with the number of detected spores (respectively, z = -2.679, p = 0.007; and z = -2.366, p = 0.019; Figure 30).

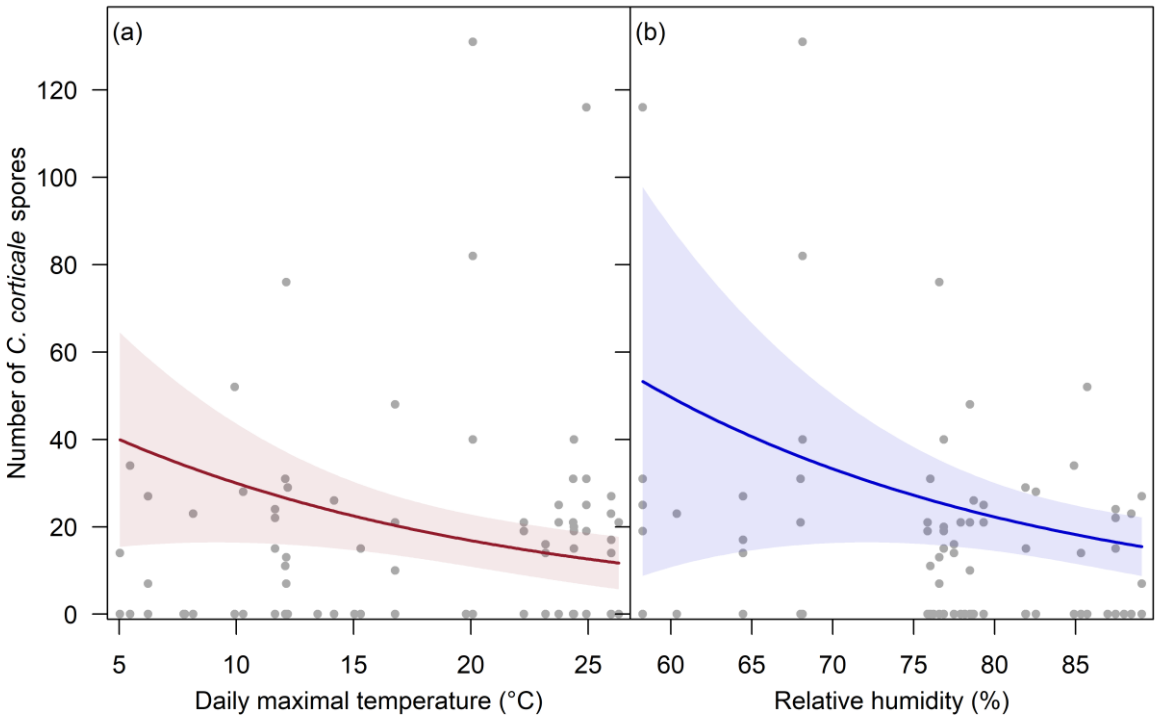


Figure 30: Predicted numbers of C. corticale spores as a function of (a) the daily maximum temperature (°C); and (b) the relative humidity (%) for the 30 days before exposure period, in both plot, wind speed was fixed to 2.88 m/s (median of our dataset). Lines are the predictions. Shaded areas represent the 95% confidence intervals. Points are the observed number of detected spores.

Among the tested zero-inflation structures, the model including the distance to the closest diseased tree as a predictor provided the best fit (AIC = 703.0) compared to models with trap type or both predictors (respectively AIC = 712.7 and AIC = 704.2) or an intercept-only term (no convergence). The structure including the distance to the closest diseased tree in the binomial component of the zero-inflated model was retained for analyses. That means the distance to the closest diseased tree determines the probability of *C. corticale* detection. The probability of spore detection was between 1.3% and 13.5% and this part is explained by the distance to the closest disease outbreak. Predicted probability of *C. corticale* detection decreased with an increasing distance to the closest diseased tree (Figure 31). The model predictions were consistent with the observed proportions of positive traps, supporting the role of local inoculum sources in driving spore detection patterns.

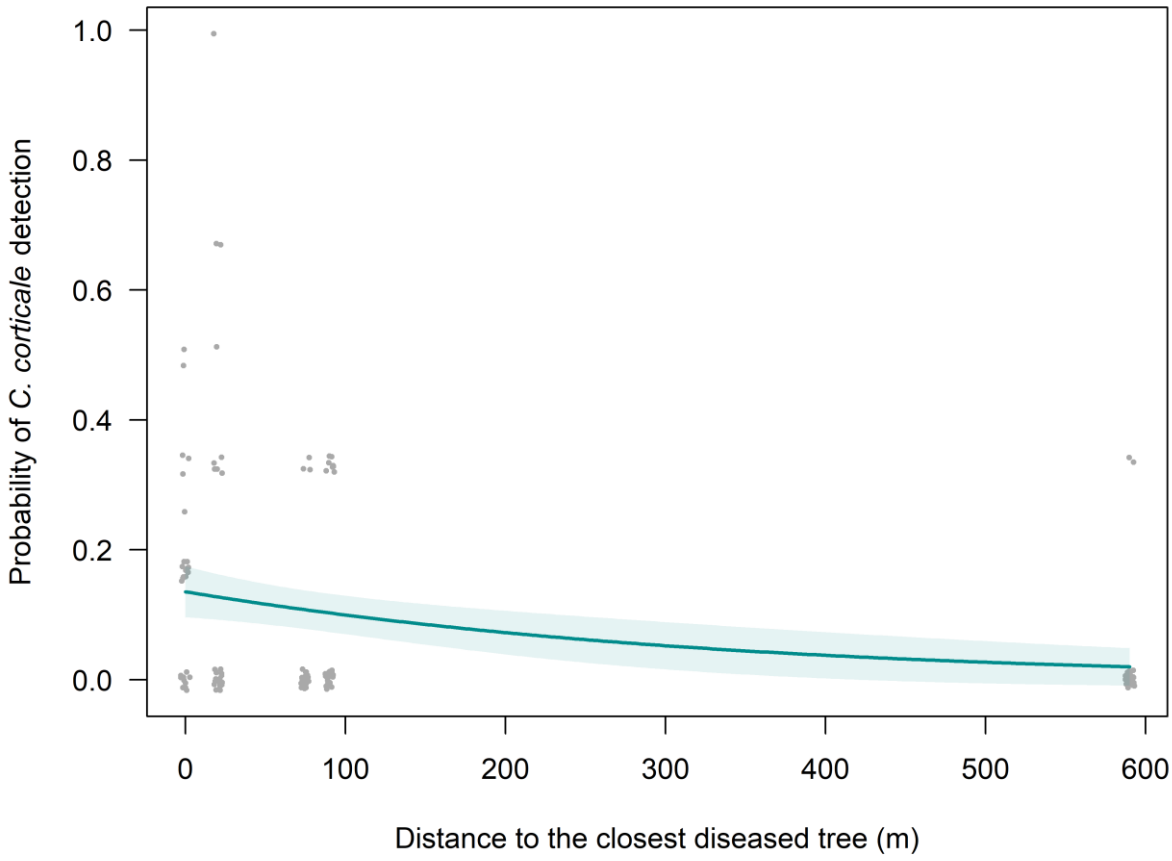


Figure 31: Predicted probability of C. corticale *detection as a function of the distance to the closest diseased tree. Grey points represent the observed proportion of positive traps at each distance class. Model predictions are shown with cyan line, and shaded area represent the 95% confidence intervals.*

4. DISCUSSION

Our monitoring of the fungal pathogen responsible for the SBD, *C. corticale*, proved that its propagules can be detected all along the year, with two peaks in June and September. *C. corticale* inoculum presence was not significantly altered by the type of landscape, but appeared to be driven by the distance to the closest diseased tree, reflecting the availability of local sources of inoculum. This is in line with the studies of Gregory and Waller (1951), who have shown that the main sources of the inoculum are diseased trees presenting symptoms of black stroma exposed to environmental conditions. In addition, climatic variables explained part of the variability of inoculum loads: wind speed during trap exposure, daily maximum temperature and relative humidity over the 30 days before trap exposure. Another contribution of our work is the comparison between spore traps. Passive spore traps and active spore traps (rotorod type) showed contrasted efficiency to monitor *C. corticale* inoculum load.

This work studied the airborne presence of the fungus over a 12-months period, highlighting that *C. corticale* spores are dispersed throughout the year, in agreement with Burgdorf et al. (2022). The pattern of airborne presence of *C. corticale* spores have already been reported in two previous studies that were not consistent with each other (Burgdorf et al., 2022; Dvořák et al., 2025). Here, we identified two main peaks of detection in June and in September. The previous study of Dvořák et al. published in 2025 showed the same type of detection pattern, with two peaks occurring from March until June for the first one and October for the second. At the opposite, Burgdorf et al. (2022) showed only one peak of presence in July-August. The sampling in Germany took place in 2019 during an epidemic episode, whereas sampling in Czech Republic occurred in 2022 and in France in 2023–2024, when no major disease outbreak was ongoing which could partly explain this seasonal difference. The constant basal presence of inoculum has also been observed in other pathogens that affect perennial parts of trees such as *Heterobasidion annosum* or *Fusarium circinatum* (Chandelier et al., 2021; Dvořák et al., 2017). The saprophytic phase on the life cycle of some pathogens can contribute to the inoculum released to the air, if infected dead plant material is present in a stand. *C. corticale* has a saprophytic phase where spores can be still produced and released. Our results support this hypothesis. The importance of the contribution of this source of inoculum to the epidemiology of the disease warrants further research.

Differences in the annual pattern of *C. corticale* presence between the different studies may also be explained by different weather pattern in the study sites. Burgdorf et al. (2022) explained their high summer sporulation by the hot and dry conditions they experienced in that period with mean monthly temperatures of 20.4 and 20.9 °C in July and August, respectively. We experienced these conditions in June in Nancy in 2023 with June temperature about 20.9°C. The summer that year in Nancy was slightly cooler and especially rainy which may explain the lower detection of *C. corticale* we observed. While there were no drought conditions the year of our study, the number of days above 30 ºC was 2.5 times higher than the long-term average in Burgdorf's study. The observed interannual variability in spore capture thus highlights the role of drought-driven epidemics in increasing inoculum loads. It can thus be concluded that the inoculum load depends primarily on the presence of an ongoing epidemic and that, in endemic conditions (absence of drought-driven SDB epidemics), the current year climatic conditions of humidity and temperature would determine inoculum variation. Many fungal pathogens, particularly foliar pathogens, need warm and moist conditions to sporulate (*Lecanosticta acicola* in *Pinus radiata* Mesanza et al., (2021). Drought-driven pathogens such as *Biscognauxia* and *Hypoxylon* spp., which belong to the order Xylariales like *C. corticale*, have a more complex life cycle. Their development in host tissues is linked to drought stress and high temperatures, and hence the production of spores is somehow related to these disease drivers. However, *Biscognauxia* and

Hypoxylon show increased rates of spore discharge from stromata following periods of high precipitation and relative air humidity (Manion and Griffin, 1986; Vannini et al., 1996). *C. corticale*, though, presents an essential difference with these pathogens, which is the internal stroma formed under the bark. While *Biscognauxia* and *Hypoxylon* spp produce spores on the stromata exposed on the bark surface, the conidiophores of *C. corticale* are formed between the floor and root stroma located under the bark (Gregory and Waller, 1951). Thus, the production of spores may be dissociated from the final process of bark-shedding and discharge of spores. Interestingly, the exposed layer after bark-shedding is not easily wetted by rain and remains powdery (Gregory and Waller, 1951). Our results showed a direct relationship between low relative humidity and high spore detection, which is in line with this lack of need of either rain or high humidity for spore emission described for *C. corticale*. The specific drivers of stroma formation and subsequent bark-shedding have not been identified to date, hence it remains uncertain whether *C. corticale* sporulation is only linked to drought or also to other climatic drivers. Moreover, our model predicted lower abundance of spores detected when relative humidity increased, which is in accordance with previous studies on *C. corticale*.

Other climatic factors can also influence spore trapping. In particular, we examined the effect of wind speed, which can impact spore deposition on traps. However, we showed an interaction between type of spore traps and wind speed: passive traps less affected by increasing wind speeds, whereas active traps showed a marked decrease in spore capture as wind speed increased. In contrast, Dvořák et al. (2025) reported a positive correlation between wind speed and spore trapping, with higher wind speeds associated with a greater probability of spore occurrence. The rotorod-type spore traps were advertised as being less affected by wind speed and direction. However, our findings did not support this. The discrepancy with Dvořák et al. (2025) may be explained by the type of active trapping device, as the authors used a volumetric Hirst trap, which likely responds differently to wind conditions.

We tested two types of spore traps, yielding the same spread pattern as reported by Dvořák et al. (2025) who used volumetric Hirst traps. Volumetric traps are considered more effective but more expensive which constrain their deployment in the field. Active traps such as our rotorod-type traps appear to be a good alternative to passive traps and expensive Hirst traps. The difference between passive and active traps has already been demonstrated for trapping of *Fusarium circinatum* spores (Dvořák et al., 2017; Garbelotto et al., 2008). The rotating arm spore traps proved more efficient and reliable for detecting airborne spores as they actively sample the air, increasing the amount of air sampled per unit time, while the passive traps can be affected by environmental factors such as rain or wind, which impact spore deposition on surfaces (Aguayo et al., 2019, 2018). Thus, the rotating arm

spore trap method is considered better for accurate detection and quantification of airborne *F. circinatum* (Dvořák et al., 2017).

Our results do not show such marked differences between the two types of spore traps we used. Both have advantages: passive traps are inexpensive and easy to deploy. However, sample pre-processing is time-consuming and may introduce bias (Aguayo et al., 2019; Grosdidier et al., 2018). Active traps are more expensive and are difficult to deploy on a large scale, due to the need of electricity supply via an external battery. However, the processing of samples issues from active traps is easy and fast. In our study, passive traps provided continuous and reliable detection throughout the year. As passive traps can be set-up at extended geographical scales - unlike active traps, which are generally used in smaller geographical areas as forest plots, they are better suited for study of the spatial pattern in inoculum load. Rotorod-like traps better reflect the temporal dynamics of spore presence, particularly by high detection during peaks in airborne spore concentrations. The sampling duration is comparable to what has been reported in the literature for active traps (Chandelier et al., 2014; Dvořák et al., 2017, 2015). Nevertheless, short sampling periods with active traps, such as 24-h collections might be a problem if sampling conditions are inadequate. Extending the period with 10-minute intervals every hour would provide a better image of spore dynamics over a few days.

We did not find significative differences between the amount of spores captured in urban, peri-urban and forest plots. The detection of airborne inoculum tended to be larger in forested areas. However, we cannot disentangle the effect of the proximity of the spore traps to SBD-infected and dead trees, from the effect of location type. Indeed, the forest plot under study was historically affected by SBD, meaning that the inoculum sources could be much closer than in the peri-urban plots, where the traps were positioned 90 and 590 m away from the nearest diseased tree. On the other hand, in forest plots we did not observe any active symptoms on the plot during the sampling year. Since the tree crowns could not be closely monitored, recent SBD symptoms in branches could not be ruled out. Another hypothesis would be the production of spores on dead trees and old dead branches. Production of spores have been demonstrated on SBD-affected stems more than a year after a tree was felled (Burgdorf et al., 2025; Gregory and Waller, 1951). However, it is not known how long an infected stem with peeled bark can produce and discharge *C. corticale* spores.

Numerous climatic factors in combination with the distance to SBD-infected trees seem to influence the airborne presence of *C. corticale*. Our study provides new insights into the temporal dynamics of *C. corticale* spore dispersal, emphasizing two main peaks of airborne presence in June and September, strongly influenced by climatic conditions and local inoculum sources. While the type of plot did not significantly affect inoculum detection, the results underline the importance of local inoculum sources

in spore availability. Furthermore, our comparison of passive and active trapping methods suggests that both approaches have complementary strengths, with passive traps ensuring cost-effective long-term monitoring and active traps offering higher temporal resolution. Together, these findings contribute to a better understanding of the epidemiology of SBD and will be valuable for improving monitoring strategies and anticipating future outbreaks under changing climatic conditions.

5. ACKNOWLEDGEMENTS

We acknowledge C. Dard and O. Febvre from the green spaces department of the municipality of Nancy (France) and A. Piernot from the French Waterways Authority (France) for the help in the identification and access to study sites. We thank A. Chandelier and S. Schmitz for their useful advice on passive spore trapping; and P.-A. Carrière for assistance in field sampling and in laboratory work. This work was supported by the ANSES-INRAE PhD grant (2022-2025), the CRYPTIC project funded by the French Ministry of Agriculture and Forestry, and the ANSES Project *flash* 2022. The mycology research unit of the ANSES Plant Health Laboratory (LSV), USC INRAE 1480, is supported by a grant managed by the French National Research Agency (ANR) as part of the French government's "Investing for the Future" (PIA) programme (ANR-11-LABX-0002-01, Laboratory of Excellence-ARBRE).

6. REFERENCES

Aguayo, J., Fourrier-Jeandel, C., Capdevielle, X., Vétillard, F., Piou, D., Iturritxa, E., Robin, C., 2019. Assessment of molecular detection of *Fusarium circinatum* in insects and passive spore traps in *Pinus radiata* plantations. For. Pathol. 50, e12574. https://doi.org/10.1111/efp.12574

Aguayo, J., Fourrier-Jeandel, C., Husson, C., Ioos, R., 2018. Assessment of Passive Traps Combined with High-Throughput Sequencing To Study Airborne Fungal Communities. Appl. Environ. Microbiol. 84, e02637-17. https://doi.org/10.1128/AEM.02637-17

Bencheva, S., 2014. First report of *Cryptostroma corticale* (Ellis & Everh.) P.H. Greg. & S. Waller on Acer platanoides L. in Bulgaria. Silva Balc. 15, 5.

Brenken, A.-C., Kehr, R., Riebesehl, J., Esch, J., Enderle, R., 2024. First report of *Cryptostroma corticale* on Aesculus hippocastanum causing sooty bark disease in Germany. J. Plant Dis. Prot. https://doi.org/10.1007/s41348-024-00891-4

444 Brooks, M., E., Kristensen, K., Benthem, K., J. ,van, Magnusson, A., Berg, C., W., Nielsen, A., Skaug, H.,
445 J., Mächler, M., Bolker, B., M., 2017. glmmTMB Balances Speed and Flexibility Among Packages
446 for Zero-inflated Generalized Linear Mixed Modeling. R J. 9, 378. https://doi.org/10.32614/RJ-
447 2017-066
448 Brown, J.K.M., Hovmøller, M.S., 2002. Aerial Dispersal of Pathogens on the Global and Continental
449 Scales and Its Impact on Plant Disease. Science 297, 537–541.
450 https://doi.org/10.1126/science.1072678
451 Burgdorf, N., Härtl, L., Hahn, W.A., 2022. Sooty Bark Disease in Sycamore: Seasonal and Vertical Var-
452 iation in Spore Release of *Cryptostroma corticale*. Forests 13, 1956.
453 https://doi.org/10.3390/f13111956
454 Burgdorf, N., Straßer, L., Mager, E., Hahn, A., 2025. Sooty bark disease in sycamore: Spore formation
455 of *Cryptostroma corticale* and its relevance for management options. J. Cultiv. Plants 77, 81–
456 88. https://doi.org/10.5073/JFK.2025.02.07
457 Byrne, T., Gregan, D., Flanagan, D., Riebesehl, J., Rathore, D.S., 2025. First report of *Cryptostroma*
458 *corticale* causing sooty bark disease of sycamore in Ireland. New Dis. Rep. 51, e70038.
459 https://doi.org/10.1002/ndr2.70038
460 Chandelier A, Hulin J, San Martin G, Debode F, Massart S, 2021. Comparison of qPCR and Metabar-
461 coding Methods as Tools for the Detection of Airborne Inoculum of Forest Fungal Pathogens.
462 Phytopathology, PHYTO-02-20-003
463 Check, J.C., Harkness, R.J., Heger, L., Sakalidis, M.L., Chilvers, M.I., Mahaffee, W.F., Miles, T.D., 2024.
464 It's a Trap! Part I: Exploring the Applications of Rotating-Arm Impaction Samplers in Plant
465 Pathology. Plant Dis. 108, 1910–1922. https://doi.org/10.1094/PDIS-10-23-2096-FE
466 Dickenson, S., 1980. Biology of *Cryptostroma corticale* and the sooty bark disease of Sycamore (PhD
467 Thesis). University of London, Berkshire.
468 Dickenson, S., Wheeler, B.E.J., 1981. Effects of temperature, and water stress in sycamore, on growth
469 of *Cryptostroma corticale*. Trans. Br. Mycol. Soc. 76, 181–185. https://doi.org/10.1016/S0007-
470 1536(81)80136-2
471 Dvořák, M., Janoš, P., Botella, L., Rotková, G., Zas, R., 2017. Spore Dispersal Patterns of *Fusarium*
472 *circinatum* on an Infested Monterey Pine Forest in North-Western Spain. Forests 8, 432.
473 https://doi.org/10.3390/f8110432
474 Dvořák, M., Janovská, K., Rost, M., 2025. Seasonal dynamics of *Cryptostroma corticale* conidial spread.
475 IForest - Biogeosciences For. 18, 79–86. https://doi.org/10.3832/ifor4676-018
476 Dvořák, M., Rotkova, G., Botella, L., 2015. Detection of Airborne Inoculum of *Hymenoscyphus frax-*
477 *ineus* and *H. albidus* during Seasonal Fluctuations Associated with Absence of Apothecia.
478 Forests 7, 1. https://doi.org/10.3390/f7010001

Ellis, J.B., Everhart, B.M., 1889. New Species of Hyphomycetous Fungi. J. Mycol. 5, 68. https://doi.org/10.2307/3752309

Garbelotto, M., Smith, T., Schweigkofler, W., 2008. Variation in Rates of Spore Deposition of *Fusarium circinatum*, the Causal Agent of Pine Pitch Canker, Over a 12-Month-Period at Two Locations in Northern California. Phytopathology® 98, 137–143. https://doi.org/10.1094/PHYTO-98-1-0137

Ghelardini, L., Pepori, A.L., Luchi, N., Capretti, P., Santini, A., 2016. Drivers of emerging fungal diseases of forest trees. For. Ecol. Manag. 381, 235–246. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.09.032

Gibbs, J.N., 1997. Firfty years of Sooty bark disease of Sycamore. Quaterly J. For. 2015–221.

Gninenko, Yu.I., Chilakhsaeva, E.A., Seraya, L.G., Larina, G.E., Yufereva, V.V., Bondareva, E.V., Yarylchenko, T.N., 2024. First Report of *Cryptostroma corticale*, a Causative Agent of the Sooty Bark Disease of Maples, in Russia. Russ. J. Biol. Invasions 15, 26–31. https://doi.org/10.1134/S2075111724010041

Golan, J.J., Pringle, A., 2017. Long-Distance Dispersal of Fungi. Microbiol. Spectr. 5, 5.4.03. https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0047-2016

Gomdola, D., Bhunjun, C., Hyde, K., Jeewon, R., Pem, D., Jayawardena, R., 2022. Ten important forest fungal pathogens: a review on their emergence and biology. Mycosphere 13, 612–671. https://doi.org/10.5943/mycosphere/13/1/6

Gregory, P.H., Waller, S., 1951. *Cryptostroma corticale* and sooty bark disease of sycamore (*Acer pseudoplatanus*). Trans. Br. Mycol. Soc. 34, 579-IN10. https://doi.org/10.1016/S0007-1536(51)80043-3

Grosdidier, M., Ioos, R., Husson, C., Cael, O., Scordia, T., Marçais, B., 2018. Tracking the invasion: dispersal of *Hymenoscyphus fraxineus* airborne inoculum at different scales. FEMS Microbiol. Ecol. 94, fiy049. https://doi.org/10.1093/femsec/fiy049

Jackson, S.L., Bayliss, K.L., 2011. Spore traps need improvement to fulfil plant biosecurity require-ments. Plant Pathol. 60, 801–810. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02445.x

Kelnarová, I., Černý, K., Zahradník, D., Koukol, O., 2017. Widespread latent infection of *Cryptostroma corticale* in asymptomatic *Acer pseudoplatanus* as a risk for urban plantations. For. Pathol. 47, e12344. https://doi.org/10.1111/efp.12344

Koukol, O., Kelnarová, I., Černý, K., 2015. Recent observations of sooty bark disease of sycamore maple in Prague (Czech Republic) and the phylogenetic placement of *Cryptostroma corticale*. For. Pathol. 45, 21–27. https://doi.org/10.1111/efp.12129

Langer, G.J., Peters, S., Bußkamp, J., Bien, S., 2023. *Cryptostroma corticale* and fungal endophytes associated with *Fraxinus excelsior* affected by ash dieback. J. Plant Dis. Prot. https://doi.org/10.1007/s41348-023-00750-8

514 Manion, P.D., Griffin, D.H., 1986. Sixty-five Years of Research on Hypoxylon Canker of Aspen. Plant Dis.
515 70, 803–808.
516 Mesanza, N., García-García, D., Raposo, E.R., Raposo, R., Iturbide, M., Pascual, M.T., Barrena, I., Urkola,
517 A., Berano, N., Sáez De Zerain, A., Iturritxa, E., 2021. Weather Variables Associated with Spore
518 Dispersal of *Lecanosticta acicola* Causing Pine Needle Blight in Northern Spain. Plants 10, 2788.
519 https://doi.org/10.3390/plants10122788
520 Moreau, C., Moreau, M., 1951. La suie des Sycomores à Paris. Bull. Société Mycol. Fr. 67, 404–418.
521 Muller, E., Dvořák, M., Marçais, B., Caeiro, E., Clot, B., Desprez-Loustau, M.-L., Gedda, B., Lundén, K.,
522 Migliorini, D., Oliver, G., Ramos, A.P., Rigling, D., Rybníček, O., Santini, A., Schneider, S., Stenlid,
523 J., Tedeschini, E., Aguayo, J., Gomez-Gallego, M., 2023. Conditions of emergence of the Sooty
524 Bark Disease and aerobiology of *Cryptostroma corticale* in Europe. NeoBiota 84, 319–347.
525 https://doi.org/10.3897/neobiota.84.90549
526 Naranjo-Orrico, D., Ovaskainen, O., Furneaux, B., Purhonen, J., Arancibia, P.A., Burg, S., Moser, N., Niku,
527 J., Tikhonov, G., Zakharov, E., Monkhouse, N., Abrego, N., 2025. Wind Is a Primary Driver of
528 Fungal Dispersal Across a Mainland-Island System. Mol. Ecol. 34, e17675.
529 https://doi.org/10.1111/mec.17675
530 Ogris, N., Brglez, A., Piškur, B., 2021. Drought Stress Can Induce the Pathogenicity of *Cryptostroma*
531 *corticale*, the Causal Agent of Sooty Bark Disease of Sycamore Maple. Forests 12, 377.
532 https://doi.org/10.3390/f12030377
533 Peace, T.R., 1962. Diseases of maple and sycamore, in: Pathology of Tree and Shrubs, with Special
534 Reference to Great Britain. pp. 411–413.
535 Peay, K.G., Kennedy, P.G., Talbot, J.M., 2016. Dimensions of biodiversity in the Earth mycobiome. Nat.
536 Rev. Microbiol. 14, 434–447. https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.59
537 Santini, A., Ghelardini, L., De Pace, C., Desprez-Loustau, M.L., Capretti, P., Chandelier, A., Cech, T.,
538 Chira, D., Diamandis, S., Gaitniekis, T., Hantula, J., Holdenrieder, O., Jankovsky, L., Jung, T., Jurc,
539 D., Kirisits, T., Kunca, A., Lygis, V., Malecka, M., Marcais, B., Schmitz, S., Schumacher, J.,
540 Solheim, H., Solla, A., Szabò, I., Tsopelas, P., Vannini, A., Vettraino, A.M., Webber, J.,
541 Woodward, S., Stenlid, J., 2013. Biogeographical patterns and determinants of invasion by
542 forest pathogens in Europe. New Phytol. 197, 238–250. https://doi.org/10.1111/j.1469-
543 8137.2012.04364.x
544 Schlößer, R., Bien, S., Langer, G.J., Langer, E.J., 2023. Fungi associated with woody tissues of Acer
545 pseudoplatanus in forest stands with different health status concerning sooty bark disease
546 (*Cryptostroma corticale*). Mycol. Prog. 22. https://doi.org/10.1007/s11557-022-01861-6
547 Schlößer, R., Santini, A., Pepori, A.L., Baschieri, T., Campani, C., Ferrari, D., Rizzo, D., Stazione, L.,
548 Biscioni, G., Ghelardini, L., 2024. *Cryptostroma corticale* in Italy: new reports of sooty bark of

549 *Acer pseudoplatanus* and first outbreak on Acer campestre. Phytopathol. Mediterr. 63, 399–
550 406.
551 Stenlid, J., Oliva, J., 2016. Phenotypic interactions between tree hosts and invasive forest pathogens in
552 the light of globalization and climate change. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 371, 20150455.
553 https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0455
554 Townrow, J., 1954. The biology of *Cryptostroma corticale* and the sooty bark disease. For. Comm. Lond.
555 UK, Report on forest research for the year ending March, 1953. 118–120.
556
557 Vannini, A., Paganini, R., Anselmi, N., 1996. Factors affecting discharge and germination of ascospores
558 of Hypoxylon mediterraneum (De Not.) Mill. Eur. J. For. Pathol. 26, 12–24.
559 https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1996.tb00706.x

Discussion générale

Les travaux réalisés au cours de cette thèse permettent d'en apprendre davantage sur l'épidémiologie et l'écologie de *Cryptostroma corticale*, notamment sur la présence latente du pathogène à deux échelles : géographique, en France ; et à l'échelle de l'arbre (distribution du champignon dans les tissus vasculaires). Depuis les dernières décennies son émergence est rapportée dans une grande partie de l'Europe avec une aire de répartition en expansion. Ces épidémies de maladie de la suie sont liées au changement climatique et notamment à des épisodes de fortes chaleurs et de sécheresses (Dickenson 1981, Koukol et al. 2015, Kelnarova et al. 2017, Muller et al. 2023). Si les mentions de la maladie en forêt sont fréquentes dans la partie Nord de la France dans la base de données du Département de la Santé des Forêts (DSF), la présence latente du pathogène reste mal connue. Une meilleure connaissance de la phase latente de cet agent pathogène constitue donc un enjeu majeur pour ce pathosystème. Une meilleure capacité de détection sur des hôtes apparemment sains et une meilleure compréhension des liens avec le contexte climatique améliorerait la prédiction du risque épidémique. Dans le contexte du changement climatique, les conditions propices à l'expansion et au développement de *C. corticale* se feront de plus en plus fréquentes. C'est pourquoi, mieux comprendre les différents composants de l'écologie et l'épidémiologie de la maladie de la suie est essentiel afin de développer de nouvelles pistes pour gérer cette maladie.

1. Avancées sur l'étiologie de la maladie de la suie

Gregory et Waller (1951) suggèrent que l'entrée de *Cryptostroma corticale* dans un nouvel hôte, s'effectue principalement par les branches cassées, ou les blessures naturelles au niveau du houppier. Ces ouvertures constituent une voie d'entrée privilégiée pour le germe des spores lorsque ces plaies sont récentes et humides (Townrow, 1954), favorisant l'infection du bois. *C. corticale* peut ensuite persister dans le bois à l'état latent, parfois pendant plusieurs années avant l'apparition des premiers symptômes (Young, 1978). La présente thèse a mis en évidence la présence très fréquente d'infections à l'intérieur du bois avec des colorations brun-vert associées à la présence de *C. corticale*. Nous considérons ces colorations internes, colonnes d'altération, comme des symptômes précoces de la maladie que l'on peut observer dans le bois des hôtes encore apparemment sains, ou présentant différents degrés de dépérissement. Il s'avère nécessaire de clarifier la terminologie utilisée. La phase latente du champignon ferait référence à son état endophytique, avec une infection des tissus

vasculaires n'induisant pas de symptômes visibles, probablement parce que le champignon reste dans un état quiescent (Sieber, 2007). L'isolement du champignon à partir de bois sain, comme montré dans la deuxième étude et par d'autres auteurs (Bußkamp et al., 2024; Kelnarová et al., 2017; Langer et al., 2023; Schlößer et al., 2023), confirment l'existence de cette phase latente. En revanche, la signification écologique de cette phase latente, dans le sens exposé ici, n'est pas claire. Le taux de détection de *C. corticale* dans le bois sain (isolement ou détection moléculaire) est, en effet, relativement bas (ca. 11%). Le fait que *C. corticale* soit détecté plus fréquemment dans des colorations que dans du bois sain, suggère un développement de mycélium en quantité dans les tissus, associé à l'induction de symptômes, peut-être en réponse au stress hydrique de l'hôte. Nous proposons l'appellation d'état cryptique de la maladie pour décrire les lésions internes (colorations brun-vert) afin de mettre en évidence qu'il ne s'agit pas d'un état latent de *C. corticale*, mais du début de la phase pathogène du champignon associée à des symptômes. Plusieurs études ont montré que, lorsque les conditions deviennent favorables, en période de stress hydrique et de fortes chaleurs, le champignon va coloniser plus largement les tissus (Dickenson and Wheeler, 1981; Garbelotto, 2024; Gregory and Waller, 1951; Ogris et al., 2021) et atteindre le cambium, ce qui entraînera l'apparition du stroma noir caractéristique. Ogris et al. 2021 montrent que des jeunes plants d'érable sycomore développent tous des colonnes d'altération après inoculation par le parasite et qu'un défaut d'alimentation en eau permet un accroissement plus important de ces colorations. Néanmoins, l'activité pathogène du champignon hors des périodes de sécheresse est mal caractérisé. Les expériences d'inoculation précédentes comportent la suppression de l'écorce pour l'inoculation du champignon, induisant une blessure et donc pouvant promouvoir le développement de *C. corticale* même pour les arbres non soumis à un stress hydrique. Le développement de colonnes de bois colorées semblerait donc un processus long favorisé par les climats secs et chauds. L'apparition de stroma quand ces colorations du bois atteignent le cambium représenterait la dernière étape de ce long processus rendant l'infection visible. La question se pose alors de savoir si l'apparition de ces colonnes de bois coloré constitue une étape nécessaire et systématique précédant les premiers symptômes externes de la maladie (stromas noirs sur le tronc), ou si elle reflète une variabilité liée à l'interaction entre l'hôte, le pathogène et les conditions environnementales locales. Dans notre seconde étude, la présence cryptique a été largement prépondérante avec 16 des 17 arbres examinés contre juste un avec une présence latente (sans bois coloré). Mais, la présence de colorations dans le bois des arbres avec présence latente de *C. corticale* n'est pas reportée systématiquement. Ogris et al (2021), par exemple, montrent l'apparition de stroma sur des tiges coupées sans colorations internes.

Les résultats de l'étude de distribution de *C. corticale* dans l'érable indiquent que les colorations internes observées dans le houppier ne sont pas fortement associées à *C. corticale*, ce qui n'est pas

cohérent avec l'hypothèse selon laquelle les branches mortes ou cassées seraient les points d'entrée du parasite dans les arbres. D'autres champignons saprophytes sont également susceptibles de produire des colorations similaires dans le bois (Butin and Kowalski, 1986; Townrow, 1954), rendant l'attribution de ces symptômes à *C. corticale* délicate. Ceci pourrait être renforcé par une forte concurrence microbienne dans les branches, avec un diagnostic difficile quand il est en compétition avec des champignons ayant une meilleure capacité saprophytique. La détection du parasite, surtout dans les colorations internes brun-vert, est plus fréquemment observée à la base des troncs, suggérant que cette zone constitue un environnement plus favorable à la colonisation ou à la persistance de *C. corticale*. Si les branches cassées et les plaies d'élagage demeurent les voies d'entrée les plus souvent décrites dans la littérature, d'autres points d'infection potentiels peuvent être envisagés. Des blessures plus discrètes le long du tronc pourraient permettre une installation silencieuse du pathogène, suivie du développement ultérieur de colorations si les conditions sont favorables. Il est aussi possible que l'entrée du parasite soit très ancienne via des branches basses disparues au moment de l'étude. Enfin, le compartiment racinaire pourrait jouer un rôle dans cette dynamique : *C. corticale* y a déjà été isolé (Townrow, 1954), bien que la distinction entre son état endophyte et cryptique n'ai pas été clarifié à l'époque. Ces éléments soulignent la complexité des voies d'infection possibles et la nécessité d'études ciblées sur les racines, car c'est le seul organe qui n'a pas été étudié de façon détaillée.

La composition du microbiote associé aux hôtes infectés pourrait influencer de manière significative le développement de *C. corticale*. Certaines communautés microbiennes peuvent favoriser la croissance du pathogène, tandis que d'autres, au contraire, pourraient prolonger sa phase de latence en limitant sa progression dans les tissus ligneux. Ceci a pu être démontré pour *D. sapinea*, un autre parasite avec une phase latente (Oliva et al., 2021). Plusieurs champignons potentiellement antagonistes de *C. corticale*, tels que *Hypholoma fasciculare, Eutypa maura*, *Clonostachys solani/rosea*, *Diaporthe cotoneastri/eres*, ont été identifiés par Schlößer et al. (2025) et ont également été détectés dans nos échantillons, notamment à la base des troncs. Bien que quelques travaux aient déjà exploré la diversité fongique associée aux érables (Butin and Kowalski, 1986; Langer et al., 2023; Lorenc, 2024), les interactions écologiques au sein de ce microbiote restent complexes et probablement modulées par de multiples facteurs environnementaux. Une analyse comparative du microbiote fongique et bactérien entre arbres situés dans des foyers de suie, et avec ou sans colonnes d'altération a été initié dans notre équipe de recherche et devrait apporter des éléments supplémentaires pour comprendre ces dynamiques.

La présence du pathogène sur des érables sycomores apparemment sains est nettement plus importante que ne laisse penser la fréquence de signalements de symptômes de suie par le DSF. Notre

méthode d'échantillonnage ne permet toutefois pas de savoir s'il s'agissait d'infections latentes ou cryptiques. Notre échantillonnage couvre la moitié Est de la France alors que les mentions de suie sont surtout fréquentes dans la moitié Nord de la France. Nous ne nous attendions pas à une présence de *C. corticale* sur hôtes apparemment sains aussi importante dans le Sud-Est de la France. Cette présence latente ou cryptique est favorisée par les mêmes paramètres climatiques, été chauds et secs, que le développement de symptômes de suie (Dickenson and Wheeler, 1981; Kelnarová et al., 2017; Muller et al., 2023; Paviour-Smith, 1976; Young, 1978). Il est possible qu'une augmentation de la fréquence d'arbres atteints par la maladie de la suie entraîne une forte augmentation de la pression d'inoculum et donc à terme, une présence latente accrue du parasite. Toutefois, ceci ne correspond pas bien avec la faiblesse de mentions de suie dans le Sud-Est. Les discussions avec le DSF laissent penser que la suie pourrait être peu mentionnée dans le Sud-Est car l'érable sycomore n'est pas une espèce importante dans la région et est, en conséquence, soumis à une pression d'observation faible. Ceci serait cohérent avec le fait que, durant notre étude, nous avons observé autant de symptômes de la maladie de la suie dans le Sud et dans le Nord de la France. Quelle peut être la fréquence des colorations internes dans des placettes où la maladie de la suie est peu, voire pas, mentionnée mais où la prévalence du pathogène sur hôte apparemment sains est forte comme à Valence ? Un échantillonnage plus détaillé des érables dans ces régions permettrait d'apporter des éléments de réponses supplémentaires et de mieux caractériser ces dynamiques. Il serait en particulier pertinent de documenter l'occurrence de colorations sur des arbres abattus à l'occasion de coupes liées à la gestion forestière de routine. Ceci permettrait d'obtenir des données épidémiologiques pertinentes en grande quantité à un coût relativement peu élevé.

La présence quasi-généralisée de colorations internes dans le bois d'arbres apparemment sains prélevés lors de la seconde étude pose d'autre part la question de leur état physiologique et surtout de leur devenir. Les colonnes d'altération du bois observées dans les infections cryptiques rappellent, avec leur disposition longitudinale et leur extension interne, les zones de dégradation causées par les champignons de pourriture tels que *Heterobasidion annosum*. Dans ce cas, l'infection est chronique et se traduit par une perte progressive de fonctionnalité du xylème. En parallèle, l'arbre doit investir dans ces réactions de défenses (production de composés phénoliques, formation de barrières réactionnelles), ce qui mobilise une partie importante de ses réserves carbonées. Ce coût de défense va impacter l'arbre et le rendre plus vulnérable à d'autres stress, notamment la sécheresse (Gomez-Gallego et al., 2022). Dans notre cas, on sait que les symptômes visibles correspondent à une phase avancée de la maladie et peuvent conduire la mort de l'hôte. Toutefois, les impacts sur la physiologie de l'arbre lors d'une infection cryptique restent inconnus. Il est plausible que cette colonisation interne impacte la structure et le fonctionnement du xylème compromettant le transport de l'eau et

l'allocation des réserves carbonées. Même en l'absence de symptômes visibles, la mise en place des réactions de défense de l'hôte pourrait déjà peser sur le métabolisme de l'arbre, notamment en réduisant sa croissance et sa vigueur physiologique. Les effets de la phase d'infection cryptique méritent d'être exploré afin d'étudier les effets précoces sur la physiologie de l'hôte.

Nous nous interrogeons sur l'évolution des arbres avec une infection cryptique. Doivent-ils être considérés comme des arbres qui développeront majoritairement des symptômes de suie lors des sécheresses futures ? Les arbres étudiés lors de la deuxième étude étaient localisés dans des peuplements fortement atteints par la suie et il reste possible que les colorations internes du bois aient une prévalence beaucoup plus faible dans des zones moins touchées par la maladie de la suie. Est-ce que la modification des conditions micro-climatiques du peuplement, via la réalisation d'éclaircies, pourrait avoir un impact sur le développement des infections cryptiques ? Une étude est prévue avec le CNPF (organisme technique représentant la forêt privée) en Hauts-de-France pour avancer sur cette question critique pour les gestionnaires forestiers. Un dispositif sera installé dans plusieurs peuplements avec évaluation par carottage de la présence de colorations internes et suivi sur le long terme des érables sycomores avec différents traitements d'éclaircies. Ceci permettra dans un premier temps de déterminer s'ils sont capables de répondre à l'éclaircie.

Dans les zones où le parasite est moins fréquent telle que la zone de Grenoble (environ 4-5% d'arbres avec présence latente/cryptique du parasite), il est possible que *C. corticale* soit principalement localisé dans les branches, correspondant à un stade précoce de colonisation, ce qui expliquerait pourquoi nous l'avons peu détecté lors de notre échantillonnage dans les troncs. Toutefois, notre étude sur la répartition à l'échelle d'un arbre ne supporte pas cette hypothèse car (1) la méthode utilisée lors de la première étude a permis de détecter *C. corticale* à l'échelle de l'arbre de façon aussi efficace que l'échantillonnage systématique dans toutes les rondelles prélevées et (2) la présence du parasite est plus fréquente au niveau du tronc que dans le houppier.

2. De nouvelles pistes sur la dispersion de *C. corticale*

L'hypothèse initiale de notre échantillonnage pour étudier la présence latente à l'échelle de la France était que la présence en ville était plus importante sur des arbres plantés et stressés par une pression anthropique plus importante qu'en forêt. Notamment, les villes présentent des conditions plus stressantes pour les arbres (Warner et al., 2024) et elles apparaissent comme des sites privilégiés d'introduction d'agents pathogènes de ligneux (Ghelardini et al., 2016; Paap et al., 2017). D'une part,

les pépinières jouent un rôle important pour disséminer des parasites de ligneux (Jung et al., 2016). D'autre part, l'introduction de maladies invasives via le commerce international de ligneux en particulier les ornementaux, joue un rôle important en pathologie forestière (Santini et al., 2013; Tanney et al., 2025). C'est le cas notamment pour *Fusarium circinatum* qui a été reporté à plusieurs reprises dans des pépinières au Portugal, en Espagne, et en Afrique du Sud (Bragança et al., 2009; Landeras et al., 2005; Santana et al., 2016). *Phytophthora ramorum* est un autre exemple de pathogène introduit dans de nouvelles aires depuis les pépinières notamment en Californie (Goss et al., 2009). L'infection de jeunes plants par *C. corticale* n'a été étudié qu'à une seule reprise. Bußkamp et al. (2023) ont réalisé des essais d'isolement sur de jeunes érables sycomores issus de régénérations naturelles (semis originaires de graines produites sur place par les semenciers) provenant de la forêt et n'ont pas réussi à isoler le pathogène. Ils ne précisent toutefois pas si le parasite était présent dans le peuplement. Nous attendions donc une plus grande prévalence en ville, cependant, notre étude n'a pas permis de mettre en avant un tel gradient de dispersion depuis les zones urbaines plantées vers la forêt. Une hypothèse serait que cette dispersion de la ville vers la forêt aurait déjà eu lieu dans les zones d'étude et que notre échantillonnage arrive trop tard. Malgré cela, étudier la présence de *C. corticale* dans les pépinières sur de jeunes érables destinés à être plantés reste une piste à explorer. Toutefois, l'introduction de nouveaux pathogènes peut aussi provenir de l'importation de grumes infectées comme suggéré par Gregory et Waller (1951). Ce type d'introduction est déjà reporté pour d'autres pathogènes. C'est le cas de la graphiose de l'orme qui est arrivée dans les ports anglais via des grumes infectées (Brasier and Gibbs, 1973; Pinon and Feugey, 1994). Ce mécanisme est vraisemblable pour *C. corticale* car la littérature décrit une sporulation particulièrement abondante sur les grumes ainsi que sur les rémanents laissés en forêt (Burgdorf et al., 2025; Nash-Wortham, 1967). Ces observations soulignent que les sources potentielles d'inoculum ne se limitent pas aux arbres atteints récemment par la suie, mais incluent également les débris ligneux infectés susceptibles de maintenir la présence du pathogène dans l'environnement.

En effet, la détection de spores de *C. corticale* sur certaines placettes ne s'accompagnait pas nécessairement de la présence de symptômes actifs (pas de présence de stromas récents libérant une quantité importante de spores). Notamment, en forêt de Haye, aucun symptôme de la maladie de la suie récent n'a été observé, suggérant que l'inoculum peut être produit de façon chronique dans des parcelles infectées. Cette observation met en évidence une limite sur notre dernière étude : bien que des arbres atteints aient été recensés à proximité des zones d'échantillonnage, il demeure difficile de déterminer si ces arbres atteints produisaient encore des spores au moment de l'étude, ou si la présence élevée de spores dans l'air sur ces sites provenait d'autres sources non identifiées (arbres atteints plus éloignés, branches mortes dans les houppiers, rémanents...). Les travaux de Burgdorf et

al. (2022) apportent un élément d'interprétation intéressant, les rémanents d'arbres infectés peuvent produire des spores jusqu'à un an après la mort du tronc, prolongeant ainsi la durée de production de l'inoculum. Ces résultats soulignent la nécessité d'approfondir les recherches sur la persistance de la production d'inoculum, notamment en testant si des branches anciennement mortes ou partiellement dégradées peuvent être des sources d'inoculum. Un tel matériel était abondant sur le site de piégeage en forêt de Haye. Dans cette optique, la mise en place de transects de piégeage à différentes distances d'un foyer connu permettrait de documenter le patron spatial de dispersion de l'inoculum et peut être d'identifier d'éventuelles zones de contamination secondaire. Cette approche a été utilisée par Grosdidier et al. (2018) pour la chalarose du frêne, permettant de caractériser le gradient de dispersion à partir des sources d'inoculum. L'utilisation de pièges passifs, peu chers et déployables en grande quantité est particulièrement adaptée à cet usage. Enfin, une étude ciblée des rémanents permettrait de mieux comprendre leur rôle comme réservoirs de spores et leur contribution à la dynamique de dissémination à court et long terme du champignon. Ces perspectives sur la persistance et la dispersion des spores s'inscrivent en cohérence avec nos observations aérobiologiques, qui confirment la présence régulière du pathogène dans l'atmosphère.

La présence quasi continue de spores dans l'air tout au long de l'année, mise en évidence au cours de notre dernière étude est déjà décrite par Burgdorf et al. (2022) et illustre la permanence de l'inoculum environnemental. Nos résultats montrent la présence de deux pics saisonniers marqués, en juin et en septembre, influencé par les conditions climatiques et la proximité d'arbres atteints de la maladie de la suie. En comparant à la littérature existante (Burgdorf et al., 2022; Dvořák et al., 2025), aucune phénologie claire de la production de spores ne se dégage, suggérant que celle-ci est fortement dépendante du stade d'évolution des symptômes et du degré d'exposition des stromas noirs porteurs de spores. En effet, la phénologie des champignons pathogènes est directement influencée par les conditions environnementales et par leur hôte (Delmas et al., 2024). Les corrélations observées entre climat et quantité de spores confirment l'importance de variables telles que la température et l'humidité relative, mais ces relations demeurent complexes, rendant leur intégration dans des modèles prédictifs compliquée. Lorsque les conditions environnementales ne réunissent pas simultanément les paramètres favorables, la sporulation semble limitée et la concentration de spores dans l'air se réduit à un niveau basal. Une limite de notre approche réside dans le fait que les données météorologiques utilisées proviennent de stations régionales et ne reflètent pas les variations locales, telles que les effets d'îlot de chaleur urbain ou les conditions plus fraîches et humides de l'ambiance forestière (Villegas et al., 2010). Ces micro-conditions, non intégrées dans nos modèles, pourraient pourtant apporter des éléments supplémentaires dans nos connaissances sur la dynamique de sporulation et la présence des spores dans l'environnement. Par exemple, *Hymenoscyphus fraxineus*,

l'agent de la chalarose du frêne est plus sévère sous couvert forestier, en partie parce que la production d'apothécies y est favorisée (Grosdidier et al., 2020; Laubray et al., 2023).

Un autre facteur impactant la phénologie et dispersion des agents pathogènes, en plus du climat, est leur hôte (Delmas et al 2024). La gamme d'hôtes de *C. corticale* est encore mal définie. Si le champignon est principalement associé aux érables, d'autres espèces feuillues pourraient jouer un rôle de réservoirs secondaires, contribuant à maintenir l'inoculum dans l'environnement. Ceci expliquerait que durant notre première étude, la surface terrière locale d'érables sycomore, plane ou champêtre soit un bien meilleur prédicteur de la détection de *C. corticale* sur des arbres sains que juste la surface terrière de sycomores. Les données issues de la littérature restent fragmentaires et souvent basées sur des signalements isolés, sans confirmation moléculaire. Seul le marronnier d'Inde (*Aesculus hippocastanum*) a été récemment validé comme un hôte de *C. corticale* permettant le développement des stromas et la production des spores (Brenken et al., 2024). Il n'est pas à exclure que d'autres hôtes producteurs d'inoculum existent et favorisent la dispersion de cet agent pathogène. L'établissement d'une liste exhaustive et validée des hôtes potentiels représenterait un enjeu majeur pour la compréhension de l'écologie du pathogène et pour la mise en place de mesures de prévention adaptées. La diversité d'hôte influe non seulement la dynamique de la maladie mais également sa capacité à persister et se disperser dans l'environnement. Il est important de mentionner qu'en général, l'expression de symptômes visibles, n'est pas un critère pour la production d'inoculum. Par exemple, dans le cas de *Phytophthora ramorum*, certains hôtes comme le rhododendron agissent comme des réservoirs sans développer de lésions importantes. Il peut être une source de sporulation abondante et amplifier la présence du pathogène dans l'environnement (Purse et al., 2013). Cette capacité à héberger le pathogène sans symptômes majeurs complique la détection et le contrôle de la maladie, tout en favorisant la dissémination du pathogène. Il n'est pas exclu que ce type de réservoirs sans symptômes visibles existent pour *C. corticale* et participent à la dissémination du pathogène.

L'occurrence régulière de branches noires dans les houppiers pourrait contribuer de manière significative à la production d'inoculum. Dans notre première étude menée dans différentes régions de France, la présence de ces branches noires s'est révélée être un indicateur pertinent de la présence latente ou cryptique de *C. corticale*. Cependant, ces symptômes ne lui sont pas exclusivement imputables. Kelnarová et al. (2017) avaient déjà signalé la présence de symptômes similaires sur des branches, sans pouvoir en déterminer l'origine précise en raison de leur inaccessibilité. Au cours de nos différentes prospections de terrain, 14 échantillons de branches noires ont été collectés, dont cinq se sont révélés positifs à la présence de *C. corticale* par qPCR (37.5%), mais seulement deux isolements ont été obtenus. Ces résultats suggèrent que les symptômes de noircissement des branches pourraient également résulter d'infections par d'autres champignons, susceptibles de provoquer des lésions

visuellement comparables, illustrant une nouvelle fois la complexité diagnostique de ces manifestations dans le houppier.

L'historique de l'invasion par *C. corticale* en France demeure difficile à reconstituer en raison du caractère cryptique du pathogène et de la discrétion de ses phases de colonisation. Une telle situation est courante chez les champignons endophytes (Tanney et al., 2025). La première étape de son introduction est encore imparfaitement connue : Gregory et Waller (1951) suggèrent que la source de l'inoculum ayant contaminé le parc de Wanstead était un port voisin sur la Tamise où du bois contaminé a pu être importé. Il s'agirait donc d'une dispersion à longue distance depuis le continent américain. En France, l'hypothèse la plus probable serait une introduction du pathogène dans des parcs urbains de la région parisienne, même si on ne sait pas de quelle manière il y est arrivé, puis a diffusé à partir de ce foyer historique. Ceci serait cohérent avec l'occurrence plus fréquente de symptômes de suie dans la moitié nord du pays (Base de données du DSF). Toutefois, une présence ancienne dans le Sud-Est ne peut être exclue : un échantillon collecté dans la région de Grenoble autour de 1950, identifié comme *C. corticale* atteste de sa possible présence dans cette zone (Moreau and Moreau, 1954). Les informations disponibles sur cette présence ancienne dans le Sud-Est sont extrêmement limitées.

3. Implications pour la gestion de la maladie de la suie

La surveillance de pathogènes cryptiques reste un défi et nécessite des outils moléculaires et une approche proactive car des inspections visuelles sont insuffisantes (Tanney et al., 2025). En effet, les standards phytosanitaires internationaux, basés sur une inspection visuelle, ne prennent pas en compte les risques liés aux endophytes. De nombreux agents pathogènes ont été introduits via des plantes visiblement saines, causant des épidémies après un changement d'hôte ou sous stress comme *H. fraxineus*, des espèces de *Botryosphaeriaceae*, ou encore de *Phytophthora* (Tanney et al., 2025). Le développement de méthodes moléculaires, comme le métabarcoding, la LAMP ou la qPCR, sont donc important pour surveiller la diversité microbienne présente sur les végétaux même en l'absence de symptômes. Les méthodes d'échantillonnage et de détection moléculaire utilisées et développées au cours de ce travail amélioreraient notre capacité de surveillance de la maladie de la suie de l'érable. Nous avons montré que leur application à des hôtes sans symptômes apparents permet de révéler la présence cryptique de *C. corticale* avant l'expression visible de la maladie. En utilisant la détection directe dans le bois et la surveillance de la présence aérienne des spores, il est possible d'avoir une vision plus complète de la dynamique épidémiologique. Ces méthodes présentent l'avantage d'être

faciles à mettre en œuvre, peu invasives et donc adaptées à un suivi à long terme. Pour un plan de gestion préventive, ces outils (détection directe et piégeage des spores) pourraient être déployés à large échelle pour évaluer le risque épidémique lié à la présence cryptique du parasite, et ainsi aider dans la prise de décision de gestion. Leur mise en œuvre dans le cadre d'un réseau d'épidémio-surveillance permettrait de mieux anticiper les conditions propices à de futurs foyers. La présence de spores à dissémination aérienne peut, en particulier, permettre une surveillance par pièges à spores non basée sur la présence de symptômes (Aguayo et al., 2020). Les recommandations de gestion pour *C. corticale*, reposent sur l'abattage ciblé, l'écorçage (encore en cours d'étude), la diversification des peuplements et l'adaptation au risque climatique, tout en évitant les mesures préventives trop radicales qui nuiraient à la résilience des forêts (Enderle, 2020).

La gestion des peuplements forestiers touchés par *C. corticale* pose un dilemme entre faisabilité technique, coût économique et pertinence sanitaire. La gestion peut être basée sur la diminution du risque épidémique en réduisant le potentiel d'inoculum présent ou en modifiant les conditions micro-climatiques pour qu'elles ne soient pas favorables au développement des infections cryptiques. Dans le premier cas, la réduction d'inoculum implique, l'abattage et la destruction des arbres symptomatiques et l'évacuation des rémanents. Néanmoins, ces activités représentent des opérations lourdes, coûteuses et peu efficaces. En effet, nous montrons que le champignon pathogène est souvent largement présent de façon cryptique et qu'il persistera sur le site, permettant au minimum la production d'inoculum durant les sécheresses ultérieures. D'autre part, dans un site comme celui de la forêt de Haye, de l'inoculum aérien est détectable tout au long de l'année même en l'absence de symptômes actifs. La source de l'inoculum détecté reste mal connue. La littérature met en évidence une sporulation importante sur des arbres récemment abattus (Burgdorf et al., 2025), mais peu d'éléments confirment la production de spores sur des bois morts depuis longtemps. Une piste de recherche à approfondir consisterait à suivre l'évolution de ces infections anciennes sur des rémanents de l'exploitation forestière pour documenter le patron temporel de production de spores sur les anciens stromas. Ces informations seraient essentielles pour définir des protocoles de gestion adaptés au risque réel, en distinguant les situations nécessitant une intervention immédiate de celles où une simple surveillance est suffisante. Un autre point critique est la fréquence et l'évolution des arbres avec des infections latentes et comment la modification des conditions micro-climatiques au travers d'actions sylvicoles peuvent moduler son développement. Des questions se sont posées quant à la pertinence d'éliminer le foyer de maladie de la suie que représente la parcelle de la forêt de Haye utilisée durant la troisième étude. Nous avons toutefois montré que la prévalence sur des arbres visiblement sains était de 70% dans la placette échantillonnée en forêt de Haye au cours de la première étude. Le champignon peut donc être largement présent dans des peuplements voisins. Plus

généralement sur une parcelle infectée, différente question se posent. Peut-on minimiser le risque des arbres avec infection latente/cryptique de développer de la suie ? Quel est leur réaction à une éclaircie ? Celle-ci favorise-t-elle le développement de la suie par le stress de mise en lumière ou bien la baisse de compétition pour l'eau réduit-elle le risque de stress hydrique ?

En milieu urbain, la connaissance de la distribution du pathogène demeure très ponctuelle car les efforts de suivis divergent grandement en fonction des municipalités. Les quelques données existantes reposent sur les mentions d'arbres symptomatiques abattus, ce qui limite la perception réelle de la maladie. Les interventions se limitent le plus souvent à la coupe des arbres malades, sans considération pour la présence cryptique du champignon dans les arbres qui ne présentent pas de stromas apparents. Dans les Hauts-de-France, les modèles de dépérissement de l'érable sycomore montrent que la présence de la maladie de la suie constitue un facteur prédictif majeur, sans toutefois prendre en compte de l'infection cryptique (Lemaire et al., n.d.). Nos méthodes de détection, simples et non destructrices, pourraient contribuer à combler ces lacunes en permettant un suivi régulier de la contamination cryptique dans les populations urbaines ou forestières.

À plus long terme, la gestion de *C. corticale* doit s'inscrire dans une réflexion globale sur la composition des peuplements et le choix des essences. Le remplacement massif des frênes dépérissant par l'érable sycomore après l'épidémie de chalarose a pu contribuer involontairement à accroître la proportion d'hôtes sensibles et donc à favoriser la maladie de la suie. Ceci est particulièrement critique dans les Hauts-de-France où le frêne était très présent et est souvent remplacé par de l'érable sycomore. Une diversification des essences, apparaît comme une stratégie importante pour tenter de réduire la vulnérabilité des peuplements, en particulier en limitant leur exposition à la maladie de la suie.

Actuellement, aucune étude n'a exploré la sensibilité des différentes espèces d'érables à *C. corticale*. Les observations de terrain suggèrent une variabilité interspécifique importante dans la sensibilité au pathogène avec des mentions concernant surtout l'érable sycomore. Mais ces tendances restent à confirmer expérimentalement. Des essais contrôlés d'inoculation permettraient d'évaluer les mécanismes de tolérance ou de résistance potentiels, qu'ils soient physiologiques, anatomiques ou biochimiques, et d'envisager à terme une sélection d'individus ou de provenances plus résistants.

Références

Abbey, S.D., 1978. The morphology and physiology of *Cryptostroma corticale* (PhD Thesis). Loughborough University of Technology, Loughborough.

Abbott, R.J., Bevercombe, G.P., Rayner, A.D.M., 1977. Sooty bark disease of sycamore and the grey squirrel. Trans. Br. Mycol. Soc. 69, 507–508. https://doi.org/10.1016/s0007-1536(77)80095-8

Agan, A., Tedersoo, L., Drenkhan, R., Hanso, M., 2023. Traces of *Hymenoscyphus fraxineus* in North-Eastern Europe Extend Further Back to History than Expected. Plant Dis. PDIS-04-22-0807-RE. https://doi.org/10.1094/PDIS-04-22-0807-RE

Aguayo, J., Fourrier-Jeandel, C., Capdevielle, X., Vétillard, F., Piou, D., Iturritxa, E., Robin, C., 2019. Assessment of molecular detection of *Fusarium circinatum* in insects and passive spore traps in *Pinus radiata* plantations. For. Pathol. 50, e12574. https://doi.org/10.1111/efp.12574

Aguayo, J., Fourrier-Jeandel, C., Husson, C., Ioos, R., 2018. Assessment of Passive Traps Combined with High-Throughput Sequencing To Study Airborne Fungal Communities. Appl. Environ. Microbiol. 84, e02637-17. https://doi.org/10.1128/AEM.02637-17

Aguayo, J., Husson, C., Chancerel, E., Fabreguettes, O., Chandelier, A., Fourrier-Jeandel, C., Dupuy, N., Dutech, C., Ioos, R., Robin, C., Thibaudon, M., Marçais, B., Desprez-Loustau, M., 2020. Combining permanent aerobiological networks and molecular analyses for large-scale surveillance of forest fungal pathogens: a proof-of-concept. Plant Pathol. 181–194. https://doi.org/10.1111/ppa.13265

Alcock, S., Wheeler, B.E.J., 1983. Variability of *Cryptostroma corticale*, the causal fungus of sooty bark disease of sycamore. Plant Pathol. 32, 173–176. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1983.tb01316.x

Batista, E., Lopes, A., Alves, A., 2021. What Do We Know about Botryosphaeriaceae? An Overview of a Worldwide Cured Dataset. Forests 12, 313. https://doi.org/10.3390/f12030313

Bencheva, S., 2014. First report of *Cryptostroma corticale* (Ellis & Everh.) P.H. Greg. & S. Waller on *Acer platanoides* L. in Bulgaria. Silva Balc. 15, 101–104.

Bevercombe, G.P., Rayner, A.D.M., 1984. Population structure of *Cryptostroma corticale*, the causal fungus of sooty bark disease of sycamore. Plant Pathol. 33, 211–217. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1984.tb02642.x

Bhunjun, C.S., Phukhamsakda, C., Hyde, K.D., McKenzie, E.H.C., Saxena, R.K., Li, Q., 2023. Do all fungi have ancestors with endophytic lifestyles? Fungal Divers. 125, 73–98. https://doi.org/10.1007/s13225-023-00516-5

Blackburn, T.M., Pyšek, P., Bacher, S., Carlton, J.T., Duncan, R.P., Jarošík, V., Wilson, J.R.U., Richardson, D.M., 2011. A proposed unified framework for biological invasions. Trends Ecol. Evol. 26, 333–339. https://doi.org/10.1016/j.tree.2011.03.023

Blodgett, J.T., Kruger, E.L., Stanosz, G.R., 1997. *Sphaeropsis sapinea* and Water Stress in a Red Pine Plantation in Central Wisconsin. Phytopathology 87, 429–434. https://doi.org/10.1094/PHYTO.1997.87.4.429

Blumenstein, K., Bußkamp, J., Langer, G.J., Schlößer, R., Parra Rojas, N.M., Terhonen, E., 2021. *Sphaeropsis sapinea* and Associated Endophytes in Scots Pine: Interactions and Effect on the Host Under Variable Water Content. Front. For. Glob. Change 4, 655769. https://doi.org/10.3389/ffgc.2021.655769

Blumenstein, K., Bußkamp, J., Langer, G.J., Terhonen, E., 2022. Diplodia tip blight pathogen's virulence empowered through host switch. Front. Fungal Biol. 3, 939007. https://doi.org/10.3389/ffunb.2022.939007

Bragança, H., Diogo, E., Moniz, F., Amaro, P., 2009. First Report of Pitch Canker on Pines Caused by Fusarium circinatum in Portugal. Plant Dis. 93, 1079–1079. https://doi.org/10.1094/PDIS-93-10-1079A

Brasier, C.M., 2008. The biosecurity threat to the UK and global environment from international trade in plants. Plant Pathol. 57, 792–808. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2008.01886.x

Brasier, C.M., 1991. Ophiostoma novo-ulmi sp. nov., causative agent of current Dutch elm disease pandemics. Mycopathologia 115, 151–161. https://doi.org/10.1007/BF00462219

Brasier, C.M., Gibbs, J.N., 1973. Origin of the Dutch Elm Disease Epidemic in Britain. Nature 242, 607–608.

Braun, M., Klingelhöfer, D., Groneberg, D.A., 2021. Sooty bark disease of maples: the risk for hypersensitivity pneumonitis by fungal spores not only for woodman. J. Occup. Med. Toxicol. 16, 2. https://doi.org/10.1186/s12995-021-00292-5

Breiman, L., 2001. Random Forests. Machine Learning 5–32. https://doi.org/10.1023/A:1010933404324

Brenken, A.-C., Kehr, R., Riebesehl, J., Esch, J., Enderle, R., 2024. First report of *Cryptostroma corticale* on *Aesculus hippocastanum* causing sooty bark disease in Germany. J. Plant Dis. Prot. https://doi.org/10.1007/s41348-024-00891-4

Brglez, A., Piškur, B., Ogris, N., 2020. Eutypella parasitica and Other Frequently Isolated Fungi in Wood of Dead Branches of Young Sycamore Maple (*Acer pseudoplatanus*) in Slovenia. Forests 11, 467. https://doi.org/10.3390/f11040467

Brodde, L., Stein Åslund, M., Elfstrand, M., Oliva, J., Wågström, K., Stenlid, J., 2023. Diplodia sapinea as a contributing factor in the crown dieback of Scots pine (Pinus sylvestris) after a severe drought. For. Ecol. Manag. 549, 121436. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2023.121436

Brooks, M., E., Kristensen, K., Benthem, K., J. ,van, Magnusson, A., Berg, C., W., Nielsen, A., Skaug, H., J., Mächler, M., Bolker, B., M., 2017. glmmTMB Balances Speed and Flexibility Among Packages for Zero-inflated Generalized Linear Mixed Modeling. R J. 9, 378. https://doi.org/10.32614/RJ-2017-066

Brooks, R.K., Omdal, D., Brown, S., Marshall, C.J., Hulbert, J.M., Elliott, M., Chastagner, G., 2023. *Cryptostroma corticale*, the causal agent of sooty bark disease of maple, appears widespread in western Washington State, USA. For. Pathol. e12835. https://doi.org/10.1111/efp.12835

Brown, J.K.M., Hovmøller, M.S., 2002. Aerial Dispersal of Pathogens on the Global and Continental Scales and Its Impact on Plant Disease. Science 297, 537–541. https://doi.org/10.1126/science.1072678

Burgdorf, N., Härtl, L., Hahn, W.A., 2022. Sooty Bark Disease in Sycamore: Seasonal and Vertical Variation in Spore Release of *Cryptostroma corticale*. Forests 13, 1956. https://doi.org/10.3390/f13111956

Burgdorf, N., Straßer, L., Mager, E., Hahn, A., 2025. Sooty bark disease in sycamore: Spore formation of *Cryptostroma corticale* and its relevance for management options. J. Cultiv. Plants 77, 81–88. https://doi.org/10.5073/JFK.2025.02.07

Bußkamp, J., Bien, S., Neumann, L., Blumenstein, K., Terhonen, E., Langer, G.J., 2024. Endophytic community in juvenile *Acer pseudoplatanus* and pathogenicity of *Cryptostroma corticale* and other associated fungi under controlled conditions. J. Plant Pathol. https://doi.org/10.1007/s42161-023-01575-y

Butin, H., Kowalski, T., 1986. Die natürliche Astreinigung und ihre biologischen Voraussetzungen: III. Die Pilzflora von Ahorn, Erle, Birke, Hainbuche und Esche. Eur. J. For. Pathol. 16, 129–138. https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1986.tb01053.x

Byrne, T., Gregan, D., Flanagan, D., Riebesehl, J., Rathore, D.S., 2025. First report of *Cryptostroma corticale* causing sooty bark disease of sycamore in Ireland. New Dis. Rep. 51, e70038. https://doi.org/10.1002/ndr2.70038

Cano, B., Cousseau, G., Dowkiw, A., Husson, C., Marçais, B., Saintonge, F.-X., 2021. Le frêne face à la chalaraose, CNPF-IDF.

Cech, T., 2004. Bemerkenswerte Krankheiten in 2004 34.

Chandelier, A., Helson, M., Dvorak, M., Gischer, F., 2014. Detection and quantification of airborne inoculum of *H ymenoscyphus pseudoalbidus* using real-time PCR assays. Plant Pathol. 63, 1296–1305. https://doi.org/10.1111/ppa.12218

Check, J.C., Harkness, R.J., Heger, L., Sakalidis, M.L., Chilvers, M.I., Mahaffee, W.F., Miles, T.D., 2024. It's a Trap! Part I: Exploring the Applications of Rotating-Arm Impaction Samplers in Plant Pathology. Plant Dis. 108, 1910–1922. https://doi.org/10.1094/PDIS-10-23-2096-FE

Cleary, M., Nguyen, D., Marčiulynienė, D., Berlin, A., Vasaitis, R., Stenlid, J., 2016. Friend or foe? Biological and ecological traits of the European ash dieback pathogen *Hymenoscyphus fraxineus* in its native environment. Sci. Rep. 6, 21895. https://doi.org/10.1038/srep21895

Cochard, B., Crovadore, J., Bovigny, P.Y., Chablais, R., Lefort, F., 2015. First reports of *Cryptostroma corticale* causing sooty bark disease in *Acer* sp. in Canton Geneva, Switzerland. New Dis. Rep. 31, 8–8. https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2015.031.008

Costa, D., Ramos, V., Tavares, R.M., Baptista, P., Lino-Neto, T., 2022. Phylogenetic analysis and genetic diversity of the xylariaceous ascomycete Biscogniauxia mediterranea from cork oak forests in different bioclimates. Sci. Rep. 12, 2646. https://doi.org/10.1038/s41598-022-06303-7

Daly, E.Z., Chabrerie, O., Massol, F., Facon, B., Hess, M.C.M., Tasiemski, A., Grandjean, F., Chauvat, M., Viard, F., Forey, E., Folcher, L., Buisson, E., Boivin, T., Baltora-Rosset, S., Ulmer, R., Gibert, P., Thiébaut, G., Pantel, J.H., Heger, T., Richardson, D.M., Renault, D., 2023. A synthesis of biological invasion hypotheses associated with the introduction–naturalisation–invasion continuum. Oikos e09645. https://doi.org/10.1111/oik.09645

Delmas, C.E.L., Bancal, M., Leyronas, C., Robin, M., Vidal, T., Launay, M., 2024. Monitoring the phenology of plant pathogenic fungi: why and how? Biol. Rev. 99, 1075–1084. https://doi.org/10.1111/brv.13058

Desprez-Loustau, M.-L., Aguayo, J., Dutech, C., Hayden, K.J., Husson, C., Jakushkin, B., Marçais, B., Piou, D., Robin, C., Vacher, C., 2016. An evolutionary ecology perspective to address forest pathology challenges of today and tomorrow. Ann. For. Sci. 73, 45–67. https://doi.org/10.1007/s13595-015-0487-4

Desprez-Loustau, M.-L., Hamelin, F.M., Marçais, B., 2019. The ecological and evolutionary trajectory of oak powdery mildew in Europe, in: Wilson, K., Fenton, A., Tompkins, D. (Eds.), Wildlife Disease Ecology. Cambridge University Press, pp. 429–457. https://doi.org/10.1017/9781316479964.015

Desprez-Loustau, M.-L., Marçais, B., Nageleisen, L.-M., Piou, D., Vannini, A., 2006. Interactive effects of drought and pathogens in forest trees. Ann. For. Sci. 63, 597–612. https://doi.org/10.1051/forest:2006040

Desprez-Loustau, M.-L., Robin, C., Buee, M., Courtecuisse, R., Garbaye, J., Suffert, F., Sache, I., Rizzo, D.M., 2007. The fungal dimension of biological invasions. Trends Ecol. Evol. 22, 472–480. https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.04.005

Destoumieux-Garzón, D., Mavingui, P., Boetsch, G., Boissier, J., Darriet, F., Duboz, P., Fritsch, C., Giraudoux, P., Le Roux, F., Morand, S., Paillard, C., Pontier, D., Sueur, C., Voituron, Y., 2018. The One Health Concept: 10 Years Old and a Long Road Ahead. Front. Vet. Sci. 5, 14. https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00014

Dicaire, A., Laughton, I., Drugmand, B., Walker, J., Woods, C., McNee, T., Aguayo, J., Gomez-Gallego, M., Shamoun, S., Tanney, J.B., Feau, N., 2025. Development of a Simplified PCR-Nucleic Acid Lateral Flow Immunoassay (PCR-NALFIA) for *Cryptostroma corticale*, the Causal Agent of Sooty Bark Disease. Plant Pathol. 1–10. https://doi.org/10.1111/ppa.70044

Dickenson, S., 1980. Biology of *Cryptostroma corticale* and the sooty bark disease of Sycamore (PhD Thesis). University of London, Berkshire.

Dickenson, S., Wheeler, B.E.J., 1981. Effects of temperature, and water stress in sycamore, on growth of *Cryptostroma corticale*. Trans. Br. Mycol. Soc. 76, 181–185. https://doi.org/10.1016/S0007-1536(81)80136-2

Di-Giovanni, F., 1998. A review of the sampling efficiency of rotating-arm impactors used in aerobiological studies. Grana 37, 164–171. https://doi.org/10.1080/00173139809362661

Dvořák, M., Janoš, P., Botella, L., Rotková, G., Zas, R., 2017. Spore Dispersal Patterns of Fusarium circinatum on an Infested Monterey Pine Forest in North-Western Spain. Forests 8, 432. https://doi.org/10.3390/f8110432

Dvořák, M., Janovská, K., Rost, M., 2025. Seasonal dynamics of *Cryptostroma corticale* conidial spread. IForest - Biogeosciences For. 18, 79–86. https://doi.org/10.3832/ifor4676-018

Dvořák, M., Rotkova, G., Botella, L., 2015. Detection of Airborne Inoculum of Hymenoscyphus fraxineus and H. albidus during Seasonal Fluctuations Associated with Absence of Apothecia. Forests 7, 1. https://doi.org/10.3390/f7010001

Eastburn, D.M., McElrone, A.J., Bilgin, D.D., 2011. Influence of atmospheric and climatic change on plant–pathogen interactions. Plant Pathol. 60, 54–69. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02402.x

Ellis, J.B., Everhart, B.M., 1889. New Species of Hyphomycetous Fungi. J. Mycol. 5, 68. https://doi.org/10.2307/3752309

Enderle, R., 2020. 2020-Waltz&Holz-Enderle&al. Wald Holz.

EPPO Global Database, n.d.

Eschen, R., Kadzamira, M., Stutz, S., Ogunmodede, A., Djeddour, D., Shaw, R., Pratt, C., Varia, S., Constantine, K., Williams, F., 2023. An updated assessment of the direct costs of invasive non-native species to the United Kingdom. Biol. Invasions 25, 3265–3276. https://doi.org/10.1007/s10530-023-03107-2

Fabre, B., Piou, D., Desprez-Loustau, M.L., Marçais, B., 2011. Can the emergence of pine *Diplodia* shoot blight in France be explained by changes in pathogen pressure linked to climate change? Glob. Change Biol. 17, 3218–3227. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2011.02428.x

Flowers, J., Nuckles, E., Hartman, J., Vaillancourt, L., 2001. Latent Infection of Austrian and Scots Pine Tissues by *Sphaeropsis sapinea*. Plant Dis. 85, 1107–1112. https://doi.org/10.1094/PDIS.2001.85.10.1107

Flowers, J.L., Hartman, J.R., Vaillancourt, L.J., 2006. Histology of *Diplodia pinea* in diseased and latently infected *Pinus nigra* shoots. For. Pathol. 36, 447–459. https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.2006.00473.x

Garbelotto, M., 2024. Drought heightens severity of diseases caused by *Botryosphaeria dothidea* and *Cryptostroma corticale* and needs to be factored in to properly assess pathogenicity or fulfill Koch's postulates. J. Plant Pathol. https://doi.org/10.1007/s42161-024-01702-3

Garbelotto, M., Popenuck, T., Schmidt, D., Rooney-Latham, S., Ewing, C., Smith, T., 2024. First Report of *Cryptostroma corticale* Causing Sooty Bark Disease in California and First Worldwide Report of Silver Maple as a Host. Plant Dis. PDIS-12-23-2734-PDN. https://doi.org/10.1094/PDIS-12-23-2734-PDN

Garbelotto, M., Scali, E., Swain, S., Macon, D., Lacan, I., Schmidt, D., Popenuck, T., Martino, I., Guarnaccia, V., 2025. In California's Changing Climate, Latent Pathogens Drive Novel Woody Plant Diebacks on a Large Geographic Scale. Plant Pathol. ppa.70041. https://doi.org/10.1111/ppa.70041

Garbelotto, M., Smith, T., Schweigkofler, W., 2008. Variation in Rates of Spore Deposition of *Fusarium circinatum* , the Causal Agent of Pine Pitch Canker, Over a 12-Month-Period at Two Locations in Northern California. Phytopathology® 98, 137–143. https://doi.org/10.1094/PHYTO-98-1-0137

Ghanbary, E., Tabari Kouchaksaraei, M., Mirabolfathy, M., Modarres Sanavi, S.A.M., Rahaie, M., 2017. Growth and physiological responses of *Quercus brantii* seedlings inoculated with *Biscogniauxia mediterranea* and *Obolarina persica* under drought stress. For. Pathol. 47, e12353. https://doi.org/10.1111/efp.12353

Ghelardini, L., Luchi, N., Pecori, F., Pepori, A.L., Danti, R., Della Rocca, G., Capretti, P., Tsopelas, P., Santini, A., 2017. Ecology of invasive forest pathogens. Biol. Invasions. https://doi.org/10.1007/s10530-017-1487-0

Ghelardini, L., Pepori, A.L., Luchi, N., Capretti, P., Santini, A., 2016. Drivers of emerging fungal diseases of forest trees. For. Ecol. Manag. 381, 235–246. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.09.032

Gibbs, J.N., 1997. Firfty years of Sooty bark disease of Sycamore. Quaterly J. For. 2015–221.

Gibbs, J.N., 1978. Intercontinental Epidemiology of Dutch Elm Disease. Annu. Rev. Phytopathol. 16, 287–307. https://doi.org/10.1146/annurev.py.16.090178.001443

Gninenko, Yu.I., Chilakhsaeva, E.A., Seraya, L.G., Larina, G.E., Yufereva, V.V., Bondareva, E.V., Yarylchenko, T.N., 2024. First Report of *Cryptostroma corticale*, a Causative Agent of the Sooty

Bark Disease of Maples, in Russia. Russ. J. Biol. Invasions 15, 26–31. https://doi.org/10.1134/S2075111724010041
Golan, J.J., Pringle, A., 2017. Long-Distance Dispersal of Fungi. Microbiol. Spectr. 5, 5.4.03. https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0047-2016
Gomdola, D., Bhunjun, C., Hyde, K., Jeewon, R., Pem, D., Jayawardena, R., 2022. Ten important forest fungal pathogens: a review on their emergence and biology. Mycosphere 13, 612–671. https://doi.org/10.5943/mycosphere/13/1/6
Gomez-Gallego, M., Galiano, L., Martínez-Vilalta, J., Stenlid, J., Capador-Barreto, H.D., Elfstrand, M., Camarero, J.J., Oliva, J., 2022. Interaction of drought- and pathogen-induced mortality in Norway spruce and Scots pine. Plant Cell Environ. 45, 2292–2305. https://doi.org/10.1111/pce.14360
Goss, E.M., Larsen, M., Chastagner, G.A., Givens, D.R., Grünwald, N.J., 2009. Population Genetic Analysis Infers Migration Pathways of *Phytophthora ramorum* in US Nurseries. PLoS Pathog. 5, e1000583. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000583
Gregory, P.H., Peace, T.R., Waller, S., 1949. Death of Sycamore Trees Associated with an Unidentified Fungus. Nature 275.
Gregory, P.H., Waller, S., 1951. *Cryptostroma corticale* and sooty bark disease of sycamore (*Acer pseudoplatanus*). Trans. Br. Mycol. Soc. 34, 579-IN10. https://doi.org/10.1016/S0007-1536(51)80043-3
Grosdidier, M., Ioos, R., Husson, C., Cael, O., Scordia, T., Marçais, B., 2018. Tracking the invasion: dispersal of *Hymenoscyphus fraxineus* airborne inoculum at different scales. FEMS Microbiol. Ecol. 94, fiy049. https://doi.org/10.1093/femsec/fiy049
Grosdidier, M., Scordia, T., Ioos, R., Marçais, B., 2020. Landscape epidemiology of ash dieback. J. Ecol. 108, 1789–1799. https://doi.org/10.1111/1365-2745.13383
Grünwald, N.J., Garbelotto, M., Goss, E.M., Heungens, K., Prospero, S., 2012. Emergence of the sudden oak death pathogen *Phytophthora ramorum*. Trends Microbiol. 20, 131–138. https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.12.006
Guégan, J.-F., De Thoisy, B., Gomez-Gallego, M., Jactel, H., 2023. World forests, global change, and emerging pests and pathogens. Curr. Opin. Environ. Sustain. 61, 101266. https://doi.org/10.1016/j.cosust.2023.101266
Haenzi, M., Cochard, B., Chablais, R., Crovadore, J., Lefort, F., 2021. Neofusicoccum parvum, A New Agent of Sequoia Canker and Dieback Identified in Geneva, Switzerland. Forests 12, 434. https://doi.org/10.3390/f12040434
Hantsch, L., Bien, S., Radatz, S., Braun, U., Auge, H., Bruelheide, H., 2014. Tree diversity and the role of non-host neighbour tree species in reducing fungal pathogen infestation. J. Ecol. 102, 1673–1687. https://doi.org/10.1111/1365-2745.12317
Hantsch, L., Braun, U., Scherer-Lorenzen, M., Bruelheide, H., 2013. Species richness and species identity effects on occurrence of foliar fungal pathogens in a tree diversity experiment. Ecosphere 4, 1–12. https://doi.org/10.1890/ES13-00103.1
Holdenrieder, O., Marco, P., Weisberg, PJ., Lonsdale, D., 2004. Tree diseases and landscape processes: the challenge of landscape pathology. Trends Ecol. Evol. 19, 446–452. https://doi.org/10.1016/j.tree.2004.06.003
Inventaire Forestier National, 2024. Mémento Edition 2024 72.
Ioos, R., Fourrier, C., Iancu, G., Gordon, T.R., 2009. Sensitive Detection of *Fusarium circinatum* in Pine Seed by Combining an Enrichment Procedure with a Real-Time Polymerase Chain Reaction Using Dual-Labeled Probe Chemistry. Phytopathology® 99, 582–590. https://doi.org/10.1094/PHYTO-99-5-0582
IPCC, 2023a. Climate Change 2022 – Impacts, Adaptation and Vulnerability: Working Group II Contribution to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, 1st ed. Cambridge University Press. https://doi.org/10.1017/9781009325844

IPCC, 2023b. Climate Change 2021 – The Physical Science Basis: Working Group I Contribution to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, 1st ed. Cambridge University Press. https://doi.org/10.1017/9781009157896

Jackson, S.L., Bayliss, K.L., 2011. Spore traps need improvement to fulfil plant biosecurity requirements. Plant Pathol. 60, 801–810. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02445.x

Jactel, H., Petit, J., Desprez-Loustau, M.-L., Delzon, S., Piou, D., Battisti, A., Koricheva, J., 2012. Drought effects on damage by forest insects and pathogens: a meta-analysis. Glob. Change Biol. 18, 267–276. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2011.02512.x

Jaklitsch, W.M., Fournier, J., Rogers, J.D., Voglmayr, H., 2014. Phylogenetic and taxonomic revision of *Lopadostoma*. Persoonia - Mol. Phylogeny Evol. Fungi 32, 52–82. https://doi.org/10.3767/003158514X679272

Jankowiak, R., 2005. Fungi associated with *Ips typographus* on *Picea abies* in southern Poland and their succession into the phloem and sapwood of beetle-infested trees and logs. For. Pathol. 35, 37–55. https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.2004.00395.x

Jung, T., Orlikowski, L., Henricot, B., Abad-Campos, P., Aday, A.G., Aguín Casal, O., Bakonyi, J., Cacciola, S.O., Cech, T., Chavarriaga, D., Corcobado, T., Cravador, A., Decourcelle, T., Denton, G., Diamandis, S., Doğmuş-Lehtijärvi, H.T., Franceschini, A., Ginetti, B., Green, S., Glavendekić, M., Hantula, J., Hartmann, G., Herrero, M., Ivic, D., Horta Jung, M., Lilja, A., Keca, N., Kramarets, V., Lyubenova, A., Machado, H., Magnano di San Lio, G., Mansilla Vázquez, P.J., Marçais, B., Matsiakh, I., Milenkovic, I., Moricca, S., Nagy, Z.Á., Nechwatal, J., Olsson, C., Oszako, T., Pane, A., Paplomatas, E.J., Pintos Varela, C., Prospero, S., Rial Martínez, C., Rigling, D., Robin, C., Rytkönen, A., Sánchez, M.E., Sanz Ros, A.V., Scanu, B., Schlenzig, A., Schumacher, J., Slavov, S., Solla, A., Sousa, E., Stenlid, J., Talgø, V., Tomic, Z., Tsopelas, P., Vannini, A., Vettraino, A.M., Wenneker, M., Woodward, S., Peréz-Sierra, A., 2016. Widespread *Phytophthora* infestations in European nurseries put forest, semi-natural and horticultural ecosystems at high risk of Phytophthora diseases. For. Pathol. 46, 134–163. https://doi.org/10.1111/efp.12239

Keesing, F., Belden, L.K., Daszak, P., Dobson, A., Harvell, C.D., Holt, R.D., Hudson, P., Jolles, A., Jones, K.E., Mitchell, C.E., Myers, S.S., Bogich, T., Ostfeld, R.S., 2010. Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. Nature 468, 647–652. https://doi.org/10.1038/nature09575

Kelnarová, I., Černý, K., Zahradník, D., Koukol, O., 2017. Widespread latent infection of *Cryptostroma corticale* in asymptomatic *Acer pseudoplatanus* as a risk for urban plantations. For. Pathol. 47, e12344. https://doi.org/10.1111/efp.12344

Kespohl, S., Riebesehl, J., Grüner, J., Raulf, M., 2022. Impact of climate change on wood and woodworkers—*Cryptostroma corticale* (sooty bark disease): A risk factor for trees and exposed employees. Front. Public Health 10, 973686. https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.973686

Koukol, O., Kelnarová, I., Černý, K., 2015. Recent observations of sooty bark disease of sycamore maple in Prague (Czech Republic) and the phylogenetic placement of *Cryptostroma corticale*. For. Pathol. 45, 21–27. https://doi.org/10.1111/efp.12129

La lettre d'info OWSF (No. 11), 2023.

Landeras, E., García, P., Fernández, Y., Braña, M., Fernández-Alonso, O., Méndez-Lodos, S., Pérez-Sierra, A., León, M., Abad-Campos, P., Berbegal, M., Beltrán, R., García-Jiménez, J., Armengol, J., 2005. Outbreak of Pitch Canker Caused by Fusarium circinatum on Pinus spp. in Northern Spain. Plant Dis. 89, 1015–1015. https://doi.org/10.1094/PD-89-1015A

Langer, G.J., Peters, S., Bußkamp, J., Bien, S., 2023. *Cryptostroma corticale* and fungal endophytes associated with *Fraxinus excelsior* affected by ash dieback. J. Plant Dis. Prot. https://doi.org/10.1007/s41348-023-00750-8

Laubray, S., Buée, M., Marçais, B., 2023. Evidence of a component Allee effect for an invasive pathogen: *Hymenoscyphus fraxineus*, the ash dieback agent. Biol. Invasions 25, 2567–2582. https://doi.org/10.1007/s10530-023-03057-9

Lemaire, J., Prévosto, B., Vennetier, M., Cano, B., Hérault, R., Gomez-Gallego, M., Marçais, B., Cailleret, M., n.d. Dépérissement de l'érable sycomore (*Acer pseudoplatanus* L.) : contribution d'un

modèle multifactoriel conditionnel intégrant l'agent pathogène (*Cryptostroma corticale* Ellis & Everh.).

L'environnement en France – édition 2019 | Rapport de synthèse, 2019.

Li, Q., Gong, X., Zhang, X., Pi, Y., Long, S., Wu, Y., Shen, X., Kang, Y., Kang, J., 2021. Phylogeny of Graphostromataceae with two new species (*Biscogniauxia glaucae* sp. nov. and *Graphostroma guizhouensis* sp. nov.) and new record of Camillea broomeana isolated in China. Arch. Microbiol. 203, 6119–6129. https://doi.org/10.1007/s00203-021-02574-2

Loo, J.A., 2009. Ecological impacts of non-indigenous invasive fungi as forest pathogens. Biol. Invasions 11, 81–96. https://doi.org/10.1007/s10530-008-9321-3

Lorenc, F., 2024. *Cryptostroma corticale* and its relationship to other pathogens and pests on *Acer pseudoplatanus*. J. For. Sci. 70, 610–618. https://doi.org/10.17221/41/2024-JFS

Manion, P.D., Griffin, D.H., 1986. Sixty-five Years of Research on Hypoxylon Canker of Aspen. Plant Dis. 70, 803–808.

Marçais, B., Kosawang, C., Laubray, S., Kjær, E., Kirisits, T., 2022. Ash dieback, in: Asiegbu, F.O., Kovalchuk, A. (Eds.), Forest Microbiology, Forest Microbiology. Academic Press, pp. 215–237. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85042-1.00022-7

Martin, M., Ningre, F., Dowkiw, A., Le Goff, N., Marçais, B., 2025. High Host Density Promotes Ash Dieback. Plant Pathol. ppa.14099. https://doi.org/10.1111/ppa.14099

Meier, F., Engesser, R., Forster, B., Odermatt, O., 2003. Protection des forêts – Vue d'ensemble 2003.

Mesanza, N., García-García, D., Raposo, E.R., Raposo, R., Iturbide, M., Pascual, M.T., Barrena, I., Urkola, A., Berano, N., Sáez De Zerain, A., Iturritxa, E., 2021. Weather Variables Associated with Spore Dispersal of Lecanosticta acicola Causing Pine Needle Blight in Northern Spain. Plants 10, 2788. https://doi.org/10.3390/plants10122788

Metzler, B., 2006. *Cryptostroma corticale* an Bergahorn nach dem Trockenjahr 2003 [Cryptostroma corticale on Acer pseudoplatanus in Germany after the drought period of 2003]. Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstwirtsch. 161–162.

Moreau, C., Moreau, M., 1954. Nouvelles observations sur le dépérissement des érables. Bull. Société Linn. Normandie 7, 66–67.

Moreau, C., Moreau, M., 1951. La suie des Sycomores à Paris. Bull. Société Mycol. Fr. 67, 404–418.

Muller, E., Dvořák, M., Marçais, B., Caeiro, E., Clot, B., Desprez-Loustau, M.-L., Gedda, B., Lundén, K., Migliorini, D., Oliver, G., Ramos, A.P., Rigling, D., Rybníček, O., Santini, A., Schneider, S., Stenlid, J., Tedeschini, E., Aguayo, J., Gomez-Gallego, M., 2023. Conditions of emergence of the Sooty Bark Disease and aerobiology of *Cryptostroma corticale* in Europe. NeoBiota 84, 319–347. https://doi.org/10.3897/neobiota.84.90549

Naranjo-Orrico, D., Ovaskainen, O., Furneaux, B., Purhonen, J., Arancibia, P.A., Burg, S., Moser, N., Niku, J., Tikhonov, G., Zakharov, E., Monkhouse, N., Abrego, N., 2025. Wind Is a Primary Driver of Fungal Dispersal Across a Mainland-Island System. Mol. Ecol. 34, e17675. https://doi.org/10.1111/mec.17675

Nash-Wortham, J., 1967. Occurrence of Cryptostroma corticale on Sawn Timber of Sycamore (Acer pseudoplatanus L.). Trans. Br. Mycol. Soc. 50, IN6-327. https://doi.org/10.1016/S0007-1536(67)80046-9

Nwe, L.L., Casonato, S., Jones, E.E., 2024. Endophytic fungal isolates from apple tissue: Latent pathogens lurking within? Fungal Biol. 128, 1836–1846. https://doi.org/10.1016/j.funbio.2024.05.003

Ogris, N., Brglez, A., Piškur, B., 2021. Drought Stress Can Induce the Pathogenicity of *Cryptostroma corticale*, the Causal Agent of Sooty Bark Disease of Sycamore Maple. Forests 12, 377. https://doi.org/10.3390/f12030377

Oliva, J., Ridley, M., Redondo, M.A., Caballol, M., 2021. Competitive exclusion amongst endophytes determines shoot blight severity on pine. Funct. Ecol. 35, 239–254. https://doi.org/10.1111/1365-2435.13692

Oliva, J., Stenlid, J., Martínez-Vilalta, J., 2014. The effect of fungal pathogens on the water and carbon economy of trees: implications for drought-induced mortality. New Phytol. 203, 1028–1035. https://doi.org/10.1111/nph.12857

Oliveira Longa, C.M., Vai, N., Maresi, G., 2016. *Cryptostroma corticale* in the northern Apennines (Italy). Phytopathol. Mediterr. 55. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-17164

Osorio, J.A., Crous, C.J., De Beer, Z.W., Wingfield, M.J., Roux, J., 2017. Endophytic Botryosphaeriaceae, including five new species, associated with mangrove trees in South Africa. Fungal Biol. 121, 361–393. https://doi.org/10.1016/j.funbio.2016.09.004

Paap, T., Burgess, T.I., Wingfield, M.J., 2017. Urban trees: bridge-heads for forest pest invasions and sentinels for early detection. Biol. Invasions 19, 3515–3526. https://doi.org/10.1007/s10530-017-1595-x

Paap, T., Wingfield, M.J., Burgess, T.I., Wilson, J.R.U., Richardson, D.M., Santini, A., 2022. Invasion Frameworks: a Forest Pathogen Perspective. Curr. For. Rep. 8, 74–89. https://doi.org/10.1007/s40725-021-00157-4

Pasta, S., de Rigo, D., Caudullo, G., 2016. Acer pseudoplatanus in Europe: distribution, habitat, usage and threats, in: European Atlas of Forest Tree Species. Luxembourg.

Paviour-Smith, K., 1976. How far has *Cryptostroma corticale* spread in Britain? Bull. Br. Mycol. Soc. 10, 16–19. https://doi.org/10.1016/S0007-1528(76)80008-9

Peace, T.R., 1962. Diseases of maple and sycamore, in: Pathology of Tree and Shrubs, with Special Reference to Great Britain. pp. 411–413.

Peay, K.G., Kennedy, P.G., Talbot, J.M., 2016. Dimensions of biodiversity in the Earth mycobiome. Nat. Rev. Microbiol. 14, 434–447. https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.59

Pérez, C.A., Wingfield, M.J., Slippers, B., Altier, N.A., Blanchette, R.A., 2010. Endophytic and canker-associated Botryosphaeriaceae occurring on non-native Eucalyptus and native Myrtaceae trees in Uruguay. Fungal Divers. 41, 53–69. https://doi.org/10.1007/s13225-009-0014-8

Perkins, T.E., Matlack, G.R., 2002. Human-generated pattern in commercial forests of southern Mississippi and consequences for the spread of pests and pathogens. For. Ecol. Manag. 157, 143–154. https://doi.org/10.1016/S0378-1127(00)00645-9

Pinon, J., Feugey, L., 1994. La graphiose de l'orme: une maladie dévastatrice à causes bien identifiées. Rev. For. Fr. 422. https://doi.org/10.4267/2042/26566

Piou, D., Chandelier, P., Morelet, M., 1991. Sphaeropsis sapinea, un nouveau problème sanitaire des Pins en France ? Rev. For. Fr. 203. https://doi.org/10.4267/2042/26199

Plantegenest, M., Le May, C., Fabre, F., 2007. Landscape epidemiology of plant diseases. J. R. Soc. Interface 4, 963–972. https://doi.org/10.1098/rsif.2007.1114

Plate, H.-P., Schneider, R., 1965. Ein Fall von asthmaartiger Allergie, verursacht durch den Pilz *Cryptostroma corticale*. Nachrichtenblatt Dtsch Pflanzenschutzdienstes 100–101.

Pourmoghaddam, M.J., Lambert, C., Voglmayr, H., Khodaparast, S.A., Krisai-Greilhuber, I., Stadler, M., 2022. Note on the genus Nemania (Xylariaceae) – first records and a new species of the genus from Iran. MycoKeys 93, 81–105. https://doi.org/10.3897/mycokeys.93.94148

Puertolas, A., Bonants, P.J.M., Boa, E., Woodward, S., 2021. Application of Real-Time PCR for the Detection and Quantification of Oomycetes in Ornamental Nursery Stock. J. Fungi 7, 87. https://doi.org/10.3390/jof7020087

Purse, B.V., Graeser, P., Searle, K., Edwards, C., Harris, C., 2013. Challenges in predicting invasive reservoir hosts of emerging pathogens: mapping Rhododendron ponticum as a foliar host for Phytophthora ramorum and Phytophthora kernoviae in the UK. Biol. Invasions 15, 529–545. https://doi.org/10.1007/s10530-012-0305-y

Robin, C., Desprez-Loustau, M.-L., 2018. Émergences de maladies chez les arbres forestiers : Définitions, concepts et recommandations. Rev. For. Fr. 569. https://doi.org/10.4267/2042/70305

Roy, H.E., Pauchard, A., Stoett, P., Renard Truong, T., 2024. IPBES Invasive Alien Species Assessment: Full report. Zenodo. https://doi.org/10.5281/ZENODO.7430682

Santana, Q.C., Coetzee, M.P.A., Wingfield, B.D., Wingfield, M.J., Steenkamp, E.T., 2016. Nursery-linked plantation outbreaks and evidence for multiple introductions of the pitch canker pathogen *Fusarium circinatum* into South Africa. Plant Pathol. 65, 357–368. https://doi.org/10.1111/ppa.12437

Santini, A., Ghelardini, L., De Pace, C., Desprez-Loustau, M.L., Capretti, P., Chandelier, A., Cech, T., Chira, D., Diamandis, S., Gaitniekis, T., Hantula, J., Holdenrieder, O., Jankovsky, L., Jung, T., Jurc, D., Kirisits, T., Kunca, A., Lygis, V., Malecka, M., Marcais, B., Schmitz, S., Schumacher, J., Solheim, H., Solla, A., Szabò, I., Tsopelas, P., Vannini, A., Vettraino, A.M., Webber, J., Woodward, S., Stenlid, J., 2013. Biogeographical patterns and determinants of invasion by forest pathogens in Europe. New Phytol. 197, 238–250. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04364.x

Scherm, H., Coakley, S.M., 2003. Plant pathogens in a changing world. Australas. Plant Pathol. 32, 157. https://doi.org/10.1071/AP03015

Schlößer, R., 2025. Fungi associated with living woody tissue of sycamore maple (*Acer pseudoplatanus* L.) with special focus on sooty bark disease. Kassel.

Schlößer, R., Bien, S., Bußkamp, J., Langer, G.J., Langer, E.J., 2025. On the lookout for a potential antagonist against *Cryptostroma corticale*—an insight through in vitro dual culture studies. Front. For. Glob. Change 7, 1518972. https://doi.org/10.3389/ffgc.2024.1518972

Schlößer, R., Bien, S., Langer, G.J., Langer, E.J., 2023. Fungi associated with woody tissues of *Acer pseudoplatanus* in forest stands with different health status concerning sooty bark disease (*Cryptostroma corticale*). Mycol. Prog. 22. https://doi.org/10.1007/s11557-022-01861-6

Schlößer, R., Santini, A., Pepori, A.L., Baschieri, T., Campani, C., Ferrari, D., Rizzo, D., Stazione, L., Biscioni, G., Ghelardini, L., 2024. *Cryptostroma corticale* in Italy: new reports of sooty bark of *Acer pseudoplatanus* and first outbreak on *Acer campestre*. Phytopathol. Mediterr. 63, 309–406. https://doi.org/doi:%252010.36253/phyto-15744

Schulz, B., Boyle, C., 2005. The endophytic continuum. Mycol. Res. 109, 661–686. https://doi.org/10.1017/S095375620500273X

Sieber, T.N., 2007. Endophytic fungi in forest trees: are they mutualists? Fungal Biol. Rev. 21, 75–89. https://doi.org/10.1016/j.fbr.2007.05.004

Sikes, B.A., Bufford, J.L., Hulme, P.E., Cooper, J.A., Johnston, P.R., Duncan, R.P., 2018. Import volumes and biosecurity interventions shape the arrival rate of fungal pathogens. PLoS Biol. 16, e2006025. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2006025

Slippers, B., Wingfield, M.J., 2007. *Botryosphaeriaceae* as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. Fungal Biol. Rev. 21, 90–106. https://doi.org/10.1016/j.fbr.2007.06.002

Stanosz, G.R., Blodgett, J.T., Smith, D.R., Kruger, E.L., 2001. Water stress and *Sphaeropsis sapinea* as a latent pathogen of red pine seedlings. New Phytol. 149, 531–538. https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2001.00052.x

Stanosz, G.R., Smith, D.R., Albers, J.S., 2005. Surveys for asymptomatic persistence of *Sphaeropsis sapinea* on or in stems of red pine seedlings from seven Great Lakes region nurseries. For. Pathol. 35, 233–244. https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.2005.00407.x

Stanosz, G.R., Smith, D.R., Guthmiller, M.A., Stanosz, J.C., 1997. Persistence of *Sphaeropsis sapinea* on or in asymptomatic shoots of red and jack pines. Mycologia 89, 525–530. https://doi.org/10.1080/00275514.1997.12026813

Stenlid, J., Oliva, J., 2016. Phenotypic interactions between tree hosts and invasive forest pathogens in the light of globalization and climate change. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 371, 20150455. https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0455

Stergiopoulos, I., Gordon, T.R., 2014. Cryptic fungal infections: the hidden agenda of plant pathogens. Front. Plant Sci. 5. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00506

Sturrock, R.N., Frankel, S.J., Brown, A.V., Hennon, P.E., Kliejunas, J.T., Lewis, K.J., Worrall, J.J., Woods, A.J., 2011. Climate change and forest diseases: Climate change and forest diseases. Plant Pathol. 60, 133–149. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02406.x

Swart, W.J., Wingfield, M.J., 1991. Biology and Control of *Sphaeropsis sapinea* on *Pinus* Species in South Africa. Plant Dis. 75, 761. https://doi.org/10.1094/PD-75-0761

Tanentzap, A.J., Kolmakova, O., 2023. Global change ecology: Science to heal a damaged planet. PLOS Biol. 21, e3002455. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3002455

Tanney, J.B., Feau, N., Shamoun, S.F., Kope, H.H., Dicaire, A., Drugmand, B., Walker, J., Burlakoti, P., Joshi, V., 2024. *Cryptostroma corticale* (Ellis & Everh.) P. H. Greg. & S. Waller causing sooty bark disease in British Columbia, Canada. Can. J. Plant Pathol. 1–15. https://doi.org/10.1080/07060661.2024.2369324

Tanney, J.B., Kemler, M., Vivas, M., Wingfield, M.J., Slippers, B., 2025. Silent invaders: the hidden threat of asymptomatic phytobiomes to forest biosecurity. New Phytol. 247, 533–545. https://doi.org/10.1111/nph.70209

Teshome, D.T., Zharare, G.E., Naidoo, S., 2020. The Threat of the Combined Effect of Biotic and Abiotic Stress Factors in Forestry Under a Changing Climate. Front. Plant Sci. 11. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.601009

Toma, B., 2003. QU'EST CE QU'UNE MALADIE EMERGENTE ? Epidémiologie Santé Anim. 1–11.

Towey, J., Sweany, H., Huron, W., 1932. Severe bronchial asthma apparently due to fungus spores found in maple bark. J Amer Med Assoc 453–459.

Townrow, J., 1954. The biology of *Cryptostroma corticale* and the sooty bark disease. For. Comm. Lond. UK, Report on forest research for the year ending March, 1953. 118–120.

Tucker, C.J., Yager, K., Anyamba, A., Linthicum, K.J., 2011. Climate change, extreme weather events, and fungal disease emergence and spread, in: Fungal Diseases: An Emerging Threat to Human, Animal, and Plant Health.Workshop Summary of the Forum on Microbial Threats Board on Global Health. The National Academies Press.

Turbelin, A.J., Cuthbert, R.N., Essl, F., Haubrock, P.J., Ricciardi, A., Courchamp, F., 2023. Biological invasions are as costly as natural hazards. Perspect. Ecol. Conserv. 21, 143–150. https://doi.org/10.1016/j.pecon.2023.03.002

Vannini, A., Franceschini, S., Vettraino, A.M., 2012. Manufactured wood trade to Europe: a potential uninspected carrier of alien fungi. Biol. Invasions 14, 1991–1997. https://doi.org/10.1007/s10530-012-0222-0

Vannini, A., Paganini, R., Anselmi, N., 1996. Factors affecting discharge and germination of ascospores of Hypoxylon mediterraneum (De Not.) Mill. Eur. J. For. Pathol. 26, 12–24. https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1996.tb00706.x

Villegas, J.C., Breshears, D.D., Zou, C.B., Royer, P.D., 2010. Seasonally Pulsed Heterogeneity in Microclimate: Phenology and Cover Effects along Deciduous Grassland-Forest Continuum. Vadose Zone J. 9, 537–547. https://doi.org/10.2136/vzj2009.0032

Wakelin, S.A., Gomez-Gallego, M., Jones, E., Smaill, S., Lear, G., Lambie, S., 2018. Climate change induced drought impacts on plant diseases in New Zealand. Australas. Plant Pathol. 47, 101–114. https://doi.org/10.1007/s13313-018-0541-4

Warner, K., Sonti, N.F., Cook, E.M., Hallett, R.A., Hutyra, L.R., Reinmann, A.B., 2024. Urbanization exacerbates climate sensitivity of eastern United States broadleaf trees. Ecol. Appl. 34, e2970. https://doi.org/10.1002/eap.2970

Wenzel, F.J., Emanuel, D.A., 1967. The Epidemiology of Maple Bark Disease. Arch. Environ. Health Int. J. 14, 385–389. https://doi.org/10.1080/00039896.1967.10664759

Williamson, M., 2006. Explaining and predicting the success of invading species at different stages of invasion. Biol. Invasions 8, 1561–1568. https://doi.org/10.1007/s10530-005-5849-7

Wingfield, M.J., Slippers, B., Wingfield, B.D., Barnes, I., 2017. The unified framework for biological invasions: a forest fungal pathogen perspective. Biol. Invasions 19, 3201–3214. https://doi.org/10.1007/s10530-017-1450-0

Young, C.W.T., 1978. Sooty Bark Disease of Sycamore. Arboric. Leafl., HMSO, London 1–8.

Résumé

Les changements globaux affectent profondément les écosystèmes forestiers en modifiant les équilibres entre hôtes, pathogènes et environnement. La maladie de la suie de l'érable, causée par l'ascomycète *Cryptostroma corticale*, est un exemple d'émergence causée par l'introduction d'un agent pathogène exotique et les épisodes de sécheresse et de fortes chaleurs. Cette thèse vise à mieux comprendre l'épidémiologie et l'écologie de ce pathogène envahissant à travers trois axes : (1) sa présence latente à l'échelle du territoire et (2) à l'échelle de l'arbre, et (3) sa dynamique saisonnière de dispersion des spores.

Le premier objectif de ce travail de recherche vise à étudier la présence latente de *C. corticale* dans les érables sycomores sans symptômes apparents de la maladie de la suie en France. Ce champignon invasif en Europe présente une phase latente asymptomatique qui complique sa détection précoce. La présence latente de *C. corticale* est largement répandue, même dans les zones où la maladie est peu signalée, indiquant que les mentions de la maladie ne reflètent pas sa réalité épidémiologique. La densité des hôtes et le déficit hydrique expliquent le mieux la présence latente du champignon, soulignant le rôle déterminant du stress climatique dans l'expression future de la maladie.

Le second axe de cette thèse a pour objectif d'affiner les connaissances sur la distribution interne de *C. corticale* dans les tissus de l'hôte asymptomatique. Cette étude a examiné la localisation du champignon dans des érables sycomores sans symptômes apparents, en échantillonnant différentes hauteurs et profondeurs du tronc et dans les branches. Des colorations du bois ont été fréquemment observées et corrélées à la présence du pathogène, notamment à la base du tronc. Les points d'échantillonnage à 1,30 m utilisés précédemment s'avèrent un indicateur fiable permettant un diagnostic rapide sans nécessité d'abattre l'arbre. Ces résultats proposent une méthode de suivi simple et efficace pour améliorer la surveillance et la gestion de cette maladie émergente.

Le dernier axe de recherche étudie les dynamiques de dispersion de cet agent pathogène dans l'air au cours de l'année. L'étude de la présence aérienne de *C. corticale* sur un an dans le nord-est de la France, à l'aide de pièges actifs et passifs a révélé une présence continue de spores tout au long de l'année, avec deux pics majeurs en juin et septembre. Les variations saisonnières sont principalement expliquées par la vitesse du vent, la température maximale moyenne et l'humidité relative. La distance aux arbres infectés constitue un facteur clé du risque de contamination. Les pièges passifs se montrent plus adaptés à un suivi régulier, alors que les pièges actifs permettent de mieux saisir les pics de présence des spores. Ces résultats apportent de nouvelles connaissances pour optimiser la surveillance sanitaire des forêts dans un contexte climatique en rapide évolution.

Ce travail de thèse met en évidence la complexité des interactions entre *C. corticale*, son hôte et son environnement, entre présence latente, dispersion environnementale et influence du climat. Elle souligne l'importance d'intégrer la biologie du pathogène et les facteurs abiotiques dans les stratégies de gestion. Les méthodes de détection moléculaire et de piégeage de spores développées dans cette étude constituent des outils simples, non destructifs et adaptés à une surveillance précoce.

Mots-clés : Présence latente, épidémiologie, maladie de la suie de l'érable, dispersion, changement climatique

Abstract

Global changes are profoundly affecting forest ecosystems by disrupting the balance between hosts, pathogens, and the environment. Sooty Bark Disease of maple, caused by the ascomycete *Cryptostroma corticale*, is an example of a disease emergence caused by the introduction of an exotic pathogen and drought and heatwaves events. This PhD thesis aims to better understand the epidemiology and ecology of this invasive pathogen through three main axes: (1) its latent presence at the territorial scale and (2) at the tree scale, and (3) its seasonal dynamics of spore dispersal.

The first objective of this research is to study the latent presence of *C. corticale* in sycamore maples without visible symptoms of Sooty Bark Disease in France. This invasive fungus in Europe exhibits an asymptomatic latent phase, which hinders its early detection. The latent presence of *C. corticale* is widespread, even in areas where the disease has been rarely reported so far, indicating that reported cases do not reflect the true epidemiological situation. Host density and water deficit best explain the latent presence of the fungus, highlighting the key role of water stress in the future expression of the disease.

The second axis of this thesis focuses on improving knowledge about the internal distribution of *C. corticale* within asymptomatic hosts. This study examined the latent presence of the fungus in symptomless sycamore maples by sampling different trunk heights and depths as well as branches. Wood stains were frequently observed and correlated with the presence of the pathogen, particularly at the base of the trunk. Sampling points at 1.30 m, previously used, proved to be a reliable indicator for rapid diagnosis without the need to fell the tree. These results provide a simple and effective monitoring method to enhance the surveillance and management of this emerging disease.

The third research axis investigates the airborne dispersal dynamics of this pathogen throughout the year. The study of the airborne presence of *C. corticale* over one year in north-eastern France, using both active and passive spore traps, revealed a continuous presence of spores throughout the year, with two major peaks in June and September. Seasonal variations were mainly explained by wind speed, mean maximum temperature, and relative humidity. The distance to infected trees was identified as a key factor influencing contamination risk. Passive traps proved more suitable for regular monitoring, while active traps better captured peak of spore presence. These results provide new insights to optimize forest health surveillance in a changing climate.

This thesis shows the complexity of interactions between *C. corticale*, its host, and the environment, across latent presence, environmental dispersal, and climatic influence. It underlines the importance of integrating pathogen biology, and abiotic factors into management strategies. The molecular detection and spore trapping methods developed in this study constitute simple, non-destructive, and effective tools for early surveillance.

Keywords: Latent presence, epidemiology, Sooty Bark Disease of maple, dispersal, climate change.