Une nouvelle espèce pour la fonge d'Alsace : découverte de *Batrachochytrium* dendrobatidis Longcore, Pessier & Nichols, 1999 (Fungi: Rhizophydiales), champignon parasite des Amphibiens.

par Jean-Pierre VACHER¹, Claude MIAUD² et Tony DEJEAN³

RÉSUMÉ

Le champignon *Batrachochytrium dendrobatidis* est décrit pour la première fois en Alsace. Il est présent dans l'ensemble de la région et a été observé sur six espèces d'amphibiens : le triton alpestre, le triton ponctué, l'alyte accoucheur, le sonneur à ventre jaune, la rainette verte, la grenouille des champs et la grenouille rieuse. Actuellement, aucun cas de mortalité imputé à la chytridiomycose n'a été observé en Alsace. Des études complémentaires permettront de caractériser la lignée de *B. dendrobatidis* présente dans la région.

MOTS-CLÉS: Fongus, *Batrachochytrium dendrobatidis*. Amphibiens. Nouvelle espèce. Alsace.

SUMMARY

The fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* is reported here for the first time in Alsace. It is distributed throughout the whole region and has been observed on six amphibian species: the alpine newt, the smooth newt, the midwife toad, the yellow-bellied toad, the common tree frog, the moor frog and the marsh frog. Currently, there is no report of mortality due to chytridiomycosis in Alsace. Further studies will enable to identify the *B. dendrobatidis* lineage that occurs in the region.

KEYWORDS: Fungus. *Batrachochytrium dendrobatidis*. Amphibians. New species. Alsace.

¹ BUFO, Musée d'Histoire naturelle et d'Ethnographie, 11 rue de Turenne, F-68000 COLMAR, France. Courriel : jpvacher@gmail.com

² CEFE-CNRS, Campus du CNRS, 1919 route de Mende, F-34293 MONTPELLIER CEDEX 5, France. Courriel: claude.miaud@cefe.cnrs.fr

³ SPYGEN, 12 allée du Lac de Garde, Bâtiment House Boat n°7, Savoie Technolac, BP 274, F-73375 LE BOURGET DU LAC CEDEX, France. Courriel: tony.dejean@spygen.fr

ZUSAMMENFASSUNG

Der Chytridpilz Batrachochytrium dendrobatidis wird hier das erste Mal im Elsass beschrieben. Er ist in der ganzen Region präsent und wurde auf sechs Amphibienarten beobachtet: dem Bergmolch, dem Teichmolch, der Geburtshelferkröte, der Gelbbauchunke, dem Laubfrosch, dem Moorfrosch und dem Seefrosch. Bis jetzt konnte kein tödlicher Fall aufgrund von Chytridiomycose festgestellt werden. Weitere Studien werden es ermöglichen, die in der Region gefundene Abstammung von B. dendrobatidis zu bestimmen.

STICHWÖRTER: Fungus, Batrachochytrium dendrobatidis, Amphibien, Neue Art, Elsass

Introduction

Les Amphibiens connaissent actuellement un déclin à l'échelle mondiale (STUART et al., 2004, 2008). Parmi les multiples pressions auxauelles ce aroupe de vertébrés est soumis, l'une récemment identifiée est une maladie infectieuse émergente, la chytridiomycose, causée par un champignon du groupe des chytrides, Batrachochytrium dendrobatidis. Ce chytride qui vit en eau douce se développe sur la kératine des cellules de l'épiderme des amphibiens et peut dans certains cas provoquer leur mort en perturbant les échanges transcutanés. La chytridiomycose peut engendrer des cas de mortalité de masse, allant parfois jusqu'à l'extinction des espèces infectées. De telles disparitions ont par exemple été observées pour plusieurs espèces du genre Atelopus, des Bufonidae d'Amérique néotropicale (LA MARCA et al., 2005). En Australie, c'est Taudactylus acutirostris, une grenouille de la famille des Myobatrachidae, qui a disparu à cause de la chytridiomycose (SCHLOEGEL et al., 2006). La chytridiomycose ne se déclare pas dans tous les cas au sein des populations où B. dendrobatidis est identifié. Il existe en effet des populations d'amphibiens comprenant des individus porteurs du chytride mais qui ne présentent pas de pathologie. Les mécanismes qui déclenchent la chytridiomycose relèvent d'un équilibre complexe entre susceptibilité des populations d'amphibiens, virulence de différentes lignées de chytride et synergie avec des facteurs environnementaux.

Actuellement, les connaissances sur B, dendrobatidis sont parcellaires et de nombreuses études sont menées de par le monde afin de mieux comprendre les différents aspects de sa biologie, de sa répartition et de sa prévalence. B. dendrobatidis a été découvert en 1993 (BERGER et al., 1998) et décrit seulement en 1999 (LONGCORE et al., 1999). La répartition de B. dendrobatidis est mondiale (STUART et al., 2008). En Europe, il a été identifié seulement à la fin des années 1990 (BOSCH et al., 2001; Mutschmann et al., 2000). Il est connu en France depuis le milieu des années 2000 (GARNER et al., 2006). Des cas de mortalité dus à la chytridiomycose dans notre pays sont connus dans des lacs des Pyrénées (DEJEAN et al., 2010a). Ils concernent seulement deux espèces, l'alyte accoucheur (Alytes obstetricans) et la salamandre tachetée (Salamandra salamandra). Aucun autre cas de mortalité due à la chytridiomycose n'a pour l'instant été enregistré en France (MIAUD, 2013). Afin de savoir si B. dendrobatidis est présent en Alsace et de connaître l'état des populations d'amphibiens, toutes les espèces de la région ont été testées durant une campagne de récolte d'échantillons menée entre 2009 et 2011. Ce travail s'inscrit dans le cadre du programme européen RACE⁴, qui est destiné à mieux comprendre la prévalence, la biologie, l'impact et l'émergence de B. dendrobatidis dans les pays concernés.

Matériel et méthodes

Nous avons prélevé des échantillons en vue d'une analyse pour tester la présence de *B. dendrobatidis* sur 16 sites alsaciens (fig. 1, tab. 1) entre mars 2009 et janvier 2011. Dans la mesure du possible, nous avons récolté 30 échantillons par espèce sur chaque site. L'échantillonnage complet de 30 individus n'a pas été possible pour la salamandre tachetée (*S. salamandra*), l'alyte accoucheur, (*A. obstetricans*), le pélobate brun, (*Pelobates fuscus*) et la grenouille des champs (*Rana arvalis*) en raison de la difficulté de trouver les individus sur le terrain. Le prélèvement s'effectuait à l'aide d'un écouvillon en coton par frottis cutané sur l'aine, les pattes arrière,

la partie abdominale et les palmures. Nous avons respecté les recommandations sanitaires fournies dans le protocole d'échantillonnage (DEJEAN *et al.* 2010b). Les échantillons, conservés à température constante, ont été transmis pour analyse au Laboratoire d'Écologie Alpine de l'Université de Savoie et à la société SPYGEN.

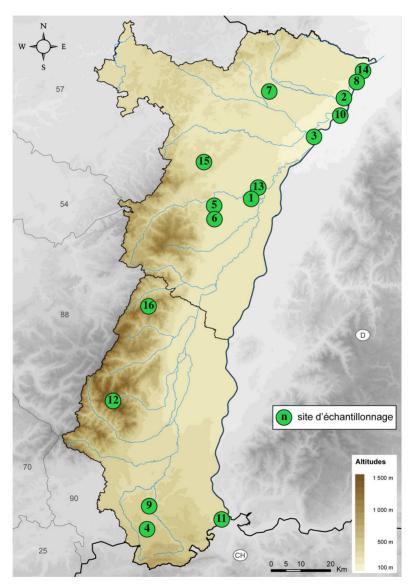


Fig.1: Carte de localisation des sites d'échantillonnage de B. dendrobatidis réalisé par BUFO de 2009 à 2011

Abb.1: Lagekarte der Messstellen von B. dendrobatidis erstellt von BUFO von 2009 bis 2011

N° site	Dpt.	Site	Espèce	
1	67	Carrière de Lingolsheim	Bufo viridis (30)	
2	67	Forêt de Seltz	Rana dalmatina (30)	
3	67	RNN d'Offendorf	Lissotriton vulgaris (30)	
4	68	Bisel, étangs ENS	Ichthyosaura alpestris (30)	
5	67	Sablière de Griesheim-près-Molsheim	Bufo calamita (18)	
6	67	Sablière de Bischoffsheim	Bufo calamita (12)	
7	67	Étangs Grundel, forêt de Haguenau	Bufo bufo (30)	
8a	67	RNN du delta de la Sauer	Pelobates fuscus (2)	
8b	67	RNN du delta de la Sauer	Hyla arborea (30)	
9	68	Carrière d'Altkirch	Bombina variegata (30)	
10	67	Fort-Louis, berges de la Moder	Rana arvalis (2)	
11	68	Carrière de Hégenheim	Alytes obstetricans (4)	
12	68	Lac de la Lauch	Rana temporaria (30)	
13	67	Site du Bohrie, Ostwald	Pelophylax ridibundus (30)	
14	67	Forêt de Mothern	Pelobates fuscus (6)	
15	67	Cosswiller	Lissotriton helveticus (30)	
16	68	Sainte-Marie-aux-Mines	Salamandra salamandra (16)	

Tableau 1 : Sites et espèces échantillonnés par BUFO en Alsace de 2009 à 2011. Les numéros des sites renvoient à ceux notés sur la fig.1. Les nombres entre parenthèses dans la colonne "Espèces" correspondent au nombre d'échantillons récoltés. Dpt. = Département ; RNN = Réserve naturelle nationale ; ENS : Espace naturel sensible

Tabelle 1 : Standorte und Arten zwischen 2009 und 2011 von BUFO erstellt. Die Nummern der Standorte weisen auf die in der Abb.1 hin. Die in Klammern stehenden Zahlen in der Spalte "Arten" entsprechen den gemessenen Beständen. Dpt. = Département ; RNN= Nationales Naturschutzgebiet ; ENS : Empfindliche Naturgebiete

Résultats

B. dendrobatidis a été trouvé sur 11 des 356 échantillons récoltés sur 18 espèces entre 2009 et 2011. Il est détecté sur six espèces (un triton alpestre, deux tritons ponctués, un alyte accoucheur, deux rainettes vertes, quatre grenouilles rieuses et une grenouille des champs) et sur six sites différents (fig. 2, tab. 2). En plus de nos résultats, la ville de Sélestat, en partenariat avec un membre du Réseau National Herpétologie de l'Office national des forêts (Gilles GODINAT), a également mené des analyses sur le sonneur à ventre jaune (Bombina varieaata), dans la forêt de l'Illwald, et des spécimens se sont révélés positifs au chytride. De même, la ville de Strasbourg a mené des analyses sur des grenouilles vertes (Pelophylax sp.) dans la Réserve naturelle nationale du Rohrschollen et sur le triton alpestre (Ichthyosaura alpestris), le triton ponctué (Lissotriton vulgaris) et le triton crêté (Triturus cristatus) dans la forêt de la Robertsau. Ces analyses ont révélé la présence du chytride sur les grenouilles "vertes" au Rohrschollen et sur le triton alpestre dans la forêt de la Roberstau. Enfin, l'Office national de la chasse et de la faune sauvage (ONCFS) a réalisé un échantillonnage de grenouilles "vertes" dans la Réserve de chasse du Rhin sur l'île de Rhinau. Ces analyses ont permis de déceler la présence du chytride sur la grenouille verte (Pelophylax kl. esculentus). En résumé, sept espèces au moins sont donc positives à B. dendrobatidis en Alsace.

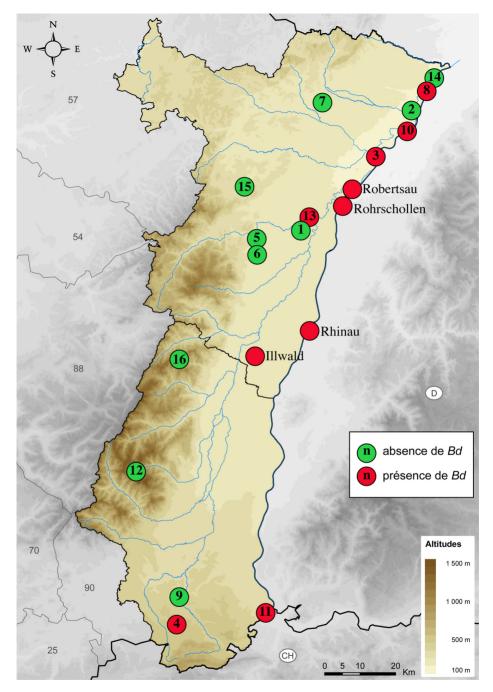


Fig.2 : Carte de localisation de *B. dendrobatidis* en Alsace. Les sites sans numéro sont ceux échantillonnés par les villes de Strasbourg et de Sélestat et par l'ONCFS.

Abb.2: Verbreitungskarte von *B. dendrobatidis* im Elsass. Orte ohne Zahlen sind diejenigen, die von den Städten Straßburg und Sélestat und von ONCFS (Nationale Jagd und Wildtiere) untersucht wurden.

N° site	Dpt.	Site	Espèce	Bd
1	67	Carrière de Lingolsheim	Bufo viridis	non
2	67	Forêt de Seltz	Rana dalmatina	non
3	67	RNN d'Offendorf	Lissotriton vulgaris	oui (2/30)
4	68	Bisel, étangs ENS	Ichthyosaura alpestris	oui (1/30)
5	67	Sablière de Griesheim-près- Molsheim	Bufo calamita	non
6	67	Sablière de Bischoffsheim	Bufo calamita	non
7	67	Étangs Grundel, forêt de Haguenau	Bufo bufo	non
8a	67	RNN du delta de la Sauer	Pelobates fuscus	non
8b	67	RNN du delta de la Sauer	Hyla arborea	oui (2/30)
9	68	Carrière d'Altkirch	Bombina variegata	non
10	67	Fort-Louis, berges de la Moder	Rana arvalis	oui (1/2)
11	68	Carrière de Hégenheim	Alytes obstetricans	oui (1/4)
12	68	Lac de la Lauch	Rana temporaria	non
13	67	Site du Bohrie, Ostwald	Pelophylax ridibundus	oui (4/30)
14	67	Forêt de Mothern	Pelobates fuscus	non
15	67	Cosswiller	Lissotriton helveticus	non
16	68	Sainte-Marie-aux-Mines	Salamandra salamandra	non

Tableau 2: Résultats des analyses des sites et espèces échantillonnées par BUFO entre 2009 et 2011. Les nombres entre parenthèses dans la colonne "Ba" correspondent au nombre d'échantillons positifs sur le nombre d'échantillons récoltés. Ba = B. dendrobatidis ; Dpt. = Département ; RNN = Réserve naturelle nationale ; ENS : Espace naturel sensible

Tabelle 2: Ergebnisse der Analysen von Standorten und Arten die BUFO zwischen 2009 und 2011 erstellt hat. Die in Klammern stehenden Zahlen in der Spalte "BO" entsprechen dem Verhältniss zwischen der Anzahl an positiven Proben und der gesamten Proben. BO = B. C0 den C1 den C2 pt. = Département; RNN= Nationales Naturschutzgebiet; RNS: Empfindliche Naturgebiete.

Discussion

B. dendrobatidis est donc présent en Alsace, chez au moins sept espèces d'amphibiens anoures et urodèles. B. dendrobatidis semble avoir une vaste répartition dans la région, puisqu'il se trouve depuis le Sundgau à Bisel (Haut-Rhin) au sud jusqu'à la Réserve naturelle nationale du delta de la Sauer (Bas-Rhin) au nord, soit une ligne d'environ 160 km nord-sud (165 km à vol d'oiseau entre les deux sites). L'amplitude altitudinale dans la région varie de 120 m (RNN du delta de la Sauer) à 450 m (Bisel).

Une récente étude indique l'existence de plusieurs lignées évolutives du chytride, avec des virulences variables (FARRER et al., 2011). La lignée dite hypervirulente a été trouvée dans tous les pays où ont été découverts les épisodes de mortalité massive d'amphibiens. Cette hypervirulence proviendrait de recombinaisons entre des lignées d'origine différentes et mises en contact par les transports transcontinentaux d'amphibiens au cours du siècle dernier à des fins médicales et de consommation (FARRER et al., 2011). En Europe, trois lignées ont été identifiées (FARRER et al., 2011), dont la lignée hypervirulente pour les lacs pyrénéens et le parc naturel de Peñalara dans le centre de l'Espagne. La lignée originale, observée en Suisse, n'est pas associée à des cas de mortalité. Une autre lignée, originaire d'Afrique

du sud, a été identifiée sur l'île de Majorque, aux Baléares. Sa présence sur cette île résulte du transfert d'individus d'alytes de Majorque, Alytes muletensis, élevés en captivité dans le cadre d'un programme de conservation (FARRER et al. 2011). Ces individus ont été infectés indirectement par le biais de xénopes du Cap, Xenopus laevis, espèce sud-africaine porteuse de B. dendrobatidis et élevée dans le même établissement. La transmission de B. dendrobatidis s'est donc faite dans le centre d'élevage. Cette étude confirme ainsi que l'un des vecteurs de dispersion de B. dendrobatidis est le transport et le maintien d'espèces d'amphibiens en captivité.

En l'état actuel des connaissances, nous ne savons pas quelles lignées sont présentes en France, hormis dans quelques lacs des Pyrénées où la lianée hypervirulente a été identifiée. Aucune mortalité d'amphibien n'a pour l'instant été imputée à B. dendrobatidis en Alsace. L'identification de la lianée présente dans cette région est à l'étude. La présence du chytride au sein de populations d'amphibiens en Alsace nous incite tout de même à rester attentifs à toute observation hors norme (lésions cutanées, postures atypiques, cadavres intacts), Il sera en effet intéressant de consigner et de documenter toute observation d'amphibien mort ou présentant des signes cliniques (rougeurs, gonflements, parasites, etc.). Dans cette optique, un outil Internet a été mis en place (http://www.alerte-amphibien.fr). Notons au'un cas de mortalité causée par la chytridiomycose a été récemment observé sur un A. obstetricans en Wallonie (PASMANS et al., 2010). Cependant ce cas est isolé et ne s'apparente pas aux observations de mortalité massive de l'espèce comme notées dans les Pyrénées. Les résultats présentés ici incitent à la mise en place d'un protocole d'hyaiène lors de la visite des zones humides dans le cadre d'inventaires afin de limiter la propagation de vecteur potentiel de maladies des amphibiens (et de la faune aquatique). Le protocole en question est celui diffusé dans le cadre du programme RACE⁴ (DEJEAN et al., 2010b). La diffusion de l'information auprès d'un plus large spectre d'utilisateurs des zones humides (agents de l'ONEMA, de l'ONF, chasseurs, pêcheurs, autres naturalistes...) est également à mettre en place.

Les investigations futures sur le chytride dans la région devront porter notamment sur l'identification de la ou des lignées présentes afin de savoir si la lignée hypervirulente se rencontre en Alsace et dans quels secteurs. De telles informations permettront d'orienter au mieux les mesures d'hygiène et les précautions à mettre en place sur le terrain pour éviter la propagation du champignon.

⁴ Risk Assessment of Chytridiomycosis to European Amphibian Biodiversity

Bibliographie

- BERGER L., SPEARE R., DASZAK P., GREEN D., CUNNINGHAM A., GOGGIN C., SLOCOMBE R., RAGAN M., HYATT A., MCDONALD K., HINES H., LIPS K., MARANTELLI G., PARKES H., 1998. Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central America. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 95: 9031-9036.
- **BOSCH J., MARTÍNEZ-SOLANO I., GARCÍA-PARÍS, M.**, 2001. Evidence of a chytrid fungus infection involved in the decline of the common midwife toad (*Alytes obstetricans*) in protected areas of Central Spain. *Biological Conservation*, 97: 331-337.
- **DEJEAN T., MIAUD C., OUELLET M.**, 2010a. La chytridiomycose : une maladie émergente des amphibiens. *Bulletin de la Société Herpétologique de France*, 134 : 27-46.
- **DEJEAN T., MIAUD C., SCHMELLER D.**, 2010b. Protocole d'hygiène pour limiter la dissémination de la chytridiomycose lors d'interventions sur le terrain. *Bulletin de la Société Herpétologique de France*, 134 : 47-50.
- FARRER R. A., WEINERT L. A., BIELBY J., GARNER T. W. J., BALLOUX F., CLARE F., BOSCH J., CUNNINGHAM A. A., WELDON C., DU PREEZ L. H., ANDERSON L., POND S. L. K., SHAHAR-GOLAN R., HENK D. A., FISHER M. C., 2011. Multiple emergences of genetically diverse amphibian-infecting chytrids include a globalized hypervirulent recombinant lineage. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(46): 18732-18736.
- GARNER T. W. J., PERKINS M. W., GOVINDARAJULU P., SEGLIE D., WALKER S., CUNNINGHAM A. A., FISHER M. C., 2006. The emerging amphibian pathogen Batrachochytrium dendrobatidis globally infects introduced populations of North American bullfrog, Rana catesbeiana. Biology Letters, 2: 455-459.
- LA MARCA E., LIPS K., LÖTTERS S., PUSCHENDORF R., IBAÑEZ R., RUEDA-ALMONACID J., SCHULTE R., MARTY C., CATRO F., MANZANILLA-PUPPO J., GARCIA-PÉREZ J., BOLAÑOS F., CHAVES G., POUNDS J., TORAL E., YOUNG B., 2005. Catastrophic population declines and extinction in neotropical harlequin frogs (Bufonidae: Atelopus). Biotropica, 37(2): 190-201.
- **LONGCORE J., PESSIER A., NICHOLS D.**, 1999. *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia*, 91(2): 219-227.
- MIAUD C., 2013. Un champignon menace les amphibiens. Qu'avons-nous appris de la Chytridiomycose ? Le Courrier de la Nature 277 : 30-36.
- MUTSCHMANN F., BERGER L., ZWART P., GAEDICKE C., 2000. Chytridiomycosis in amphibians First report in Europe. Berliner und Münchener Tierarztliche Wochenschrift, 113: 380-383.

- PASMANS F., MUIJSERS M., MAES S., VAN ROOIJ P., BRUTYN M., DUCATELLE R., HAESEBROUCK F., MARTEL A., 2010. Chytridiomycosis related mortality in a midwife toad (Alytes obstetricans) in Belgium. Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift, 79: 461-463.
- SCHLOEGEL L., HERO J., BERGER L., SPEARE R., MCDONALD K., DASZAK, P., 2006. The decline of the sharp-snouted day frog (*Taudactylus acutirostris*): The first documented case of extinction by infection in a free-ranging wildlife species? *EcoHearth*, 3(1): 35-40.
- STUART S., HOFFMANN M., CHANSON J., COX N., BERRIDGE R., RAMANI P., YOUNG, B., 2008. Threatened Amphibians of the World. Lynx Edicions; IUCN; Conservation International. 758 p.
- STUART S. N., CHANSON J. S., COX N. A., YOUNG B. E., RODRIGUES A. S. L., FISCHMAN D. L. ET WALLER R. W., 2004. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science*, 306: 1783-186.