

LNPV

Laboratoire
National de la
Protection des
Végétaux

Végétal : châtaignier (*Castanea* spp.),

détection de

Cryphonectria parasitica

sur branches et / ou troncs par observation

microscopique, mise en chambre

humide et/ou isolement

Réf.: Méthode MF./97/04 version b

Laboratoire de référence :

Laboratoire National de la Protection des Végétaux

Unité de Mycologie Agricole et Forestière

Domaine de Pixérécourt

BP 90059

54220 MALZEVILLE

Janvier 2005

VEGETAL : CHATAIGNIER (*CASTANEA* SPP.)
DETECTION DE *Cryphonectria parasitica*
SUR BRANCHES ET/OU TRONCS PAR OBSERVATION MICROSCOPIQUE,
MISE EN CHAMBRE HUMIDE ET/OU ISOLEMENT

Avertissements et précautions de sécurité	3
Introduction	3
1. Objet	3
2. Domaine d'application.....	3
3. Définitions	3
4. Principe.....	4
5. Colorants, milieux de culture et autres produits	4
6. Appareillage.....	5
7. Échantillonnage et échantillons	5
7.1. Échantillonnage.....	5
7.2. Préparation et conservation de l'échantillon.....	5
8. Mode opératoire.....	6
8.1. Prise d'analyse	6
8.2. Observation de l'échantillon à la loupe binoculaire	6
8.2.1. Observation des stromas	6
8.2.2. Observation des palmettes	6
8.2.3. Observation des nécroses	6
8.3. Observations microscopiques	6
8.3.1. Observation des spores.....	6
8.3.2. Observation des stromas.....	7
8.4. Mise en chambre humide	7
8.5. Isolements.....	7
8.5.1. Désinfection de l'échantillon	7
8.5.2. Isolement	7
8.5.3. Incubation et lecture	8
8.6. Détection et identification	8
8.7. Schéma général	9
9. Expression des résultats.....	10
10. Références bibliographiques	10
11. Annexes.....	11

Avertissements et précautions de sécurité

- Décontamination de tout le matériel jetable utilisé ainsi que des restes de l'échantillon après analyse, en chaleur humide par passage à l'autoclave à pression de vapeur au moins 20 minutes à 121 °C ou par tout autre traitement permettant d'obtenir un résultat équivalent.
- Désinfection du matériel recyclable (notamment verrerie) soit par stérilisation dans les conditions précédentes (si le matériel le supporte) soit par trempage pendant au moins 10 h dans de l'eau additionnée d'eau de Javel diluée ou de solution d'hypochlorite de Sodium (NaOCl) à 1 °Cl minimum préparée extemporanément.

Introduction

Le champignon *Cryphonectria parasitica* (Murrill) M.E. Barr est un ascomycète Diaporthale de la famille des Valsaceae. Sa forme imparfaite (stade conidien) est *Endothiella parasitica* Roane. La gamme d'hôtes couvre essentiellement les *Castanea* spp. mais également *Quercus* spp., *Acer* spp., *Carya ovata*, *Chrysolepsis chrysophylla* et *Rhus typhina*.

Cryphonectria parasitica est un agent de chancre provoquant des dépérissements graves pouvant entraîner la mort du châtaignier.

Conformément à l'arrêté du 22 novembre 2002 (retranscription en droit national de la directive communautaire 2000/29/CE) relatif aux exigences sanitaires des végétaux, produits végétaux et autres objets, *Cryphonectria parasitica* est considéré comme organisme de quarantaine (Annexe II, partie A-II-c-3).

1. Objet

Cette méthode qualitative s'applique à la détection de ***C. parasitica*** [synonyme ***Endothia parasitica*** (Murr.)], agent de l'endothiose ou chancre de l'écorce du châtaignier.

Elle est à utiliser pour les analyses officielles notamment dans le cadre des contrôles phytosanitaires réglementaires pour les parasites de quarantaine en surveillance du territoire, à l'importation et à l'exportation des végétaux.

Seuls les laboratoires remplissant les conditions pour l'introduction ou la circulation de certains organismes nuisibles pour des travaux à des fins d'essais (directive 95/44/CE) peuvent maintenir et manipuler des champignons vivants et cela dans des strictes conditions de quarantaine.

2. Domaine d'application

La méthode permet de détecter ***C. parasitica*** sur les troncs et les branches de châtaignier (*Castanea* spp.). Elle concerne les arbres sur pied et les bois coupés non écorcés notamment les piquets. Cette méthode peut aussi être appliquée au chêne (*Quercus* spp.), dans les mêmes conditions.

3. Définitions

Pycnide: fructification asexuée, de forme plus ou moins globuleuse, ostiolée à l'intérieur de laquelle se développent des conidies.

Périthèce: type de fructification sexuée chez les ascomycètes, en forme de fiole munie d'un col plus ou moins long, à l'intérieur de laquelle sont produites les asques et les ascospores.

Conidie: spore asexuée.

Ascospore: spore sexuée chez les ascomycètes.

Asque: enveloppe contenant les ascospores.

Palmette: mycélium aggloméré en une « feuille » de faible épaisseur.

Stroma: matrice constituée d'hyphes végétatives à l'intérieur de laquelle sont produites les fructifications.

4. Principe

Détection et identification de ***C. parasitica*** par observation à la loupe binoculaire, puis au microscope photonique après passage éventuel en chambre humide pour sporulation et si nécessaire isolement sur milieu gélosé pour le développement de colonies.

5. Colorants, milieux de culture et autres produits

5.1. Eau distillée ou osmosée, eau du robinet.

5.2. Éthanol 70° [**Produit inflammable, à tenir éloigné des sources de chaleur et des flammes nues**].

5.3. Eau de Javel ou solution d'hypochlorite de sodium (NaOCl), 2°Cl minimum [**Produits corrosifs à manipuler avec précautions**].

5.4. Coton, papier absorbant, papier filtre.

5.5. Acide lactique pur ou solution de bleu de méthyle à 0,5 % dans de l'acide lactique.

5.6. Vernis à ongle ou baume du Canada (conservation des lames).

5.7. Huile à immersion.

5.8. Parafilm.

Pour l'isolement :

5.9. Alcool à brûler [**Produit inflammable, à tenir éloigné des sources de chaleur et des flammes nues**].

5.10. Milieux gélosés (composition pour 1 l d'eau distillée) :

Malt : 12 g de Cristomalt ou d'extrait de Malt bactériologique
 15 g Agar-agar
 eau osmosée ou distillée qsp 1000 ml

Malt-CH: 12 g de Cristomalt ou d'extrait de Malt bactériologique
 15 g Agar-agar + eau osmosée ou distillée qsp 1000 ml
 2ml de chloramphénicol en solution (10g chlo. /100ml éthanol 95°)

Conservation des milieux de culture préparés au laboratoire : 3 mois au maximum en enceinte réfrigérée à 5°C ± 3°C, ou 1 mois au maximum entre 18°C et 23°C dans des conditions évitant toute modification de leur composition (à l'abri de la lumière directe et de la dessiccation).

6. Appareillage

- 6.1. Réfrigérateur ($T = 5^{\circ} \pm 3^{\circ} \text{C}$).
- 6.2. Loupe binoculaire (minimum x 10).
- 6.3. Microscope photonique (grossissement de 40 à 1000) avec micromètre ou tout autre système permettant la mesure des éléments observés.
- 6.4. Lames et lamelles.
- 6.5. Aiguilles, lames de rasoir, scalpels.
- 6.6. Brûleur à alcool ou tout autre matériel permettant la stérilisation d'aiguilles à la flamme.
- 6.7. Boîtes de Petri en verre ou boîtes en plastique selon l'épaisseur des échantillons.
- 6.8. Pulvérisateur manuel d'eau distillée.
- 6.9. Banc lumineux avec éclairage type lumière du jour (facultatif).
- 6.10. Balance analytique de portée de 0 à 200g avec une erreur maximale tolérée de 0,01g et de précisions adaptées.
- 6.11. Autoclave à pression de vapeur permettant d'atteindre une température de 121°C pendant au moins 20 minutes ou tout autre traitement permettant d'obtenir un résultat équivalent.

Nécessaires uniquement pour l'isolement :

- 6.12. Hotte pour travailler en conditions stériles (hotte à flux laminaire, sorbonne, ...).
- 6.13. Boîtes de Petri stériles.
- 6.14. Enceinte thermostatée permettant d'atteindre une température de $22^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, et une photopériode de 12h (facultatif).
- 6.15. Micropipette Monocanal permettant de distribuer un volume compris entre $500\mu\text{l}$ et $5000\mu\text{l}$ avec une erreur maximale de justesse de $100\mu\text{l}$ et une erreur maximale de fidélité de $25\mu\text{l}$.

7. Échantillonnage et échantillons

7.1. Échantillonnage

Repérer les arbres présentant des symptômes (voir fiche phytosanitaire SRPV, annexe 1).

L'échantillon sera constitué de morceaux de branches ou de troncs prélevés sur l'arbre suspect. Ces échantillons porteront autant que possible des symptômes (chancres avec des stromas orangés, renfermant la forme asexuée et/ou la forme asexuée, et/ou palmettes mycéliennes et/ou nécroses ...).

7.2. Préparation et conservation de l'échantillon

Dans la mesure du possible, exploiter l'échantillon dès son arrivée au laboratoire. L'analyse peut être reportée de quelques jours (5 maximum). L'échantillon est alors conservé à température ambiante ou mieux au réfrigérateur à $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

Si l'échantillon est sale (terre, mousse ...) le nettoyer par brossage éventuellement dans de l'eau, en prenant soin de ne pas endommager les parties intéressantes (l'eau sera récupérée et stérilisée en même temps que la verrerie ou évacuée dans un réseau de traitement des effluents liquides). Laisser ensuite sécher à l'air libre sur du papier absorbant.

8. Mode opératoire

Avertissements et précautions

Cryphonectria parasitica est un champignon sporulant abondamment, les risques de contamination sont élevés. Il faut prendre les précautions suivantes pour la manipulation des échantillons pendant l'analyse :

- **bien séparer les échantillons,**
- **séparer les chambres humides les unes des autres (notamment celles qui s'avèrent positives ou douteuses),**
- **parafilmer les boîtes de cultures et les chambres humides,**
- **désinfecter mains et matériels à l'éthanol à 70° après chaque manipulation.**

Un schéma général de la procédure d'analyse est présenté au point 8.7.

8.1. Prise d'analyse

Un examen visuel rapide permet de découper l'échantillon et de conserver les parties présentant les symptômes les plus typiques. Détruire les zones sans intérêt.

8.2. Observation de l'échantillon à la loupe binoculaire

8.2.1. Observation des stromas

Rechercher sur l'écorce des stromas orangés qui renferment la forme asexuée, la forme sexuée ou les deux (voir fiche phytosanitaire SRPV, annexe 1). Prélever ces stromas en vue d'une observation microscopique (chapitre 8.3).

8.2.2. Observation des palmettes

Rechercher les palmettes (en éventail) en soulevant délicatement des petits copeaux d'écorce à l'aide d'un scalpel. Noter simplement leur présence sans observer au microscope (annexe 1 et annexe 2).

8.2.3. Observation des nécroses

Procéder de la même façon que pour la recherche des palmettes (voir ci-dessus).

8.3. Observations microscopiques

8.3.1. Observation des spores

Prélever les spores à l'aide d'une aiguille montée nettoyée à l'éthanol à 70°. Prélever soit dans les cirrhes jaunes (forme asexuée) qui sortent des stromas soit directement en grattant dans les stromas (forme asexuée et/ou forme sexuée).

Faire le montage entre lame et lamelle dans l'acide lactique (additionné ou non de bleu de méthyle) ou, dans le cas des ascospores, dans de l'eau.

Observer la forme des spores, leur couleur, etc. (voir fiche d'identification en annexe 2) à des grossissements allant de 400 à 1000 X. A l'aide du micromètre oculaire évaluer la taille par la mesure d'une dizaine de spores ou définir la taille moyenne d'une dizaine de spores à l'aide du matériel de mesure approprié (analyseur d'image,).

8.3.2. Observation des stromas (facultatif)

Elle nécessite la réalisation de coupes. Réaliser celles-ci à l'aide d'une lame de rasoir (nettoyée préalablement à l'éthanol à 70°). Il est nécessaire d'enfoncer la lame assez profondément dans l'écorce (environ 5 mm) afin de prélever d'éventuels périthèces.

Monter les coupes (les plus fines possibles) entre lame et lamelle dans de l'acide lactique additionné éventuellement de bleu de méthyle.

Faire l'observation à des grossissements variant de 40 à 1000 X suivant les détails à observer.

Noter la taille, le nombre, la disposition, la forme des pycnides et des périthèces (voir fiche d'identification en annexe 2).

8.4. Mise en chambre humide

Tout échantillon ne présentant pas de fructifications arrivées à maturité qui permettraient l'identification immédiate, est mis en chambre humide pour sporulation.

Pour cela, sélectionner des morceaux d'écorce portant des stromas caractéristiques, ou des fructifications d'un autre type, ou à défaut aucune fructification. Réaliser la chambre humide en disposant les échantillons sur du papier filtre dans une boîte de Petri en verre. Si l'épaisseur de l'échantillon ne permet pas ce conditionnement, le placer dans une boîte en plastique plus grande, sur du papier absorbant. Après humectation avec de l'eau distillée ou osmosée, disposer cette chambre humide à une température de 22°C±3°C, facultativement sous un banc lumineux (néon du type lumière du jour, photopériode de 12 h) ou à défaut à la lumière ambiante du laboratoire.

Après environ 2 jours d'incubation, observer à nouveau les échantillons en chambre humide à la loupe binoculaire ; prélever les éventuelles fructifications et observer au microscope (voir paragraphes 8.2 et 8.3). Si aucune fructification n'est encore mûre replacer le tout dans les conditions de chambre humide et observer de nouveau régulièrement. Si après 3 semaines aucune évolution n'est constatée, cesser les recherches. Détruire le matériel végétal dans les conditions précitées.

8.5. Isolements

Toutes les opérations (sauf incubation et lecture) qui vont suivre ont lieu sous hotte permettant la réalisation des manipulations en conditions stériles (hotte à flux laminaire, sorbonne,).

8.5.1. Désinfection de l'échantillon

Avant d'isoler il est nécessaire de désinfecter l'échantillon en passant sur toute sa surface un papier absorbant (ou un coton hydrophile) imbibé d'éthanol à 70°. L'excès d'alcool peut être éliminé par un passage rapide à la flamme. Éviter de trop imbiber l'échantillon d'alcool, notamment lorsque l'écorce est fine.

8.5.2. Isolement

*** A partir de palmettes ou de limites de nécroses**

Avec un scalpel stérilisé (trempé dans l'alcool à brûler puis passé à la flamme et refroidi) enlever délicatement l'écorce et prélever dans les zones jusque là non découvertes (absence de pollutions et protégées de l'alcool) de petits fragments de quelques millimètres

de palmettes ou de bois présentant des zones nécrosées et saines. Stériliser le scalpel après chaque prélèvement.

Déposer les implants dans une boîte de Petri stérile, puis les disposer sur le milieu de culture (Malt + CH) à raison de 5 à 8 implants par boîte. Il serait souhaitable d'avoir au moins 3 boîtes par échantillon.

* **A partir de cirrhes** (forme asexuée)

Ne pas désinfecter l'échantillon à l'alcool.

Prélever les cirrhes une par une sous la loupe binoculaire à l'aide d'une aiguille montée régulièrement stérilisée (trempée dans l'alcool à brûler puis passée à la flamme et refroidie). Déposer ensuite chaque cirrhe sur le milieu de culture (Malt + CH), à raison de 5 à 8 cirrhes par boîte. Un minimum de 3 boîtes par échantillon serait souhaitable.

Le transfert se fait près d'une flamme si on ne désire pas installer de loupe sous la hotte à flux laminaire.

8.5.3. Incubation et lecture

Conditions d'incubation : dans une enceinte à température contrôlée ($T = 22^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$), et avec un éclairage de type lumière du jour à photopériode de 12 heures (facultatif) ou à défaut dans une pièce tempérée ($T = 19^{\circ}\text{-}25^{\circ}\text{C}$) à la lumière du laboratoire.

Faire une première observation environ 48 heures après l'isolement.

Si plusieurs espèces différentes apparaissent dans la même boîte, ne pas attendre, faire des repiquages des champignons de couleur orangée sur le milieu Malt. Procéder de même en cas de pollutions. Renouveler l'opération à environ 5 jours puis à environ 10 jours. Si après une douzaine de jours aucun champignon n'est apparu, abandonner les recherches.

8.6 Détection et identification

Les spores de *C. parasitica* (conidies ou ascospores) sont peu caractéristiques et leur observation ne permet pas à elle seule l'identification. D'autres espèces d'*Endothia* sont très semblables.

Pour conclure à la présence de *C. parasitica*, il est nécessaire :

- soit d'observer les fructifications et les spores caractéristiques
+ des palmettes mycéliennes (seul *C. parasitica* produit des palmettes)
- soit d'avoir obtenu une culture caractéristique de l'espèce par isolement.

Les caractéristiques des palmettes, fructification, spores et cultures sont données en annexe 2.

L'observation de ces éléments nécessite la mise en œuvre d'une ou plusieurs des techniques décrites précédemment (observation microscopique, chambre humide et isolement). Le schéma général (chapitre 8.7) donne à titre indicatif la marche à suivre pour optimiser l'utilisation de ces 3 techniques. L'expérience du responsable d'analyse est cependant primordiale pour choisir la ou les techniques à mettre en œuvre pour chaque échantillon.

8.7 Schéma général

		Réponse	
❶ OBSERVATION A LA LOUPE			
1.1. Présence de stromas	→		3
1.2. Absence de stromas	→		2 + 4 ^①
❷ CHAMBRE HUMIDE			
2.1. Apparition de stromas (si pas de spores au bout de 3 semaines, passer au 2.2.)	→		3
2.2. Pas de stromas au bout de 3 semaines	→	<i>Cryphonectria</i> non détecté (si isolement réalisé poursuivre 4)	4 ^②
❸ OBSERVATIONS MICROSCOPIQUES (VOIR FICHE D'IDENTIFICATION EN ANNEXE)			
3.1. Stromas + spores caractéristiques			
3.1.1. Observation de palmettes à la loupe	→	Présence de <i>C. parasitica</i>	
3.1.2. Pas de palmettes observées	→	<i>Cryphonectria</i> sp.	4 ^③
3.2. Stromas caractéristiques et pas de spores	→		2 + 4 ^④
3.3. Stromas et/ou spores non caractéristiques	→	Noter les espèces présentes (facultatif)	2 ^⑤ + 4 ^④
❹ ISOLEMENT			
4.1. Cultures caractéristiques	→	Présence de <i>C. parasitica</i>	
4.2. Cultures non caractéristiques ou absence de cultures	→	<i>C. parasitica</i> non détecté	

① Isolement, avant, pendant la chambre humide, en fonction de la présence ou non de nécroses favorables à l'isolement.

❷ 2.2 Si au bout de 3 semaines, il n'y a pas de stromas ou de spores on détruit la chambre humide. La réponse est alors : *Cryphonectria* non détecté, sauf si l'on a réalisé un isolement et récupéré *C. parasitica*.

② Voir les résultats des isollements.

③ Faire un isolement pour vérifier qu'il s'agit bien de l'espèce ***parasitica***.

④ Isolement pendant la chambre humide.

⑤ Mettre en chambre humide pour vérifier que *C. parasitica* n'est pas présent bien que non extériorisé. Arrêter si aucun stroma caractéristique n'est apparu au bout de 3 semaines.

9. Expression des résultats

Exprimer le résultat dans un tableau ou par une phrase du type :

⇒ lorsque le résultat de l'analyse est négatif :

Absence de ***Cryphonectria parasitica*** sur l'échantillon analysé par observation microscopique, mise en chambre humide et/ou isolement".

⇒ lorsque le résultat de l'analyse est positif :

"***Cryphonectria parasitica*** détecté sur l'échantillon analysé par observation microscopique, mise en chambre humide et/ou isolement ".

10. Références bibliographiques

Anonyme, 1995 : **Directive n° 95/44/CE** du conseil du 26 juillet 1995 fixant les conditions dans lesquelles certains organismes nuisibles, végétaux, produits végétaux et autres objets énumérés aux annexes I à V de la directive 77/93/CEE du conseil peuvent être introduits ou circuler dans la communauté ou dans certaines zones protégées de la communauté pour des travaux à des fins d'essais ou à des fins scientifiques ou pour des travaux sur les sélections variétales. *Journal officiel des communautés européennes* du 03/08/95, J.O. N°L184, p34.

Anonyme, 2000 : Directive n°2000-29/CE du conseil du 8 mai 2000 concernant les mesures de protection contre l'introduction dans la communauté d'organismes nuisibles aux végétaux ou aux produits végétaux et contre leur propagation à l'intérieur de la communauté. *Journal officiel des communautés européennes* du 10/07/2000, J.O.N°L169, p1.

DARPOUX H., RIDE M., BONDOUX P., 1957. Le chancre du châtaignier causé par *Endothia parasitica*. BTI, **124** : 17 pages.

HEINIGER U., 1994. Notice pour le praticien 22. Le chancre de l'écorce du châtaignier. Institut fédéral de la recherche sur la forêt, la neige et le paysage. Birmensdorf Suisse.

11. Annexes

Annexe 1 : Fiche phytosanitaire " Principaux ravageurs et maladies sur châtaignier et chêne". Ministère de l'Agriculture et de la forêt, Service de la Protection des Végétaux. Des exemplaires couleur peuvent être demandés auprès du laboratoire de Référence ou de la Sous Direction de la Qualité et de la Protection des Végétaux.

Annexe 2 : Fiche d'identification

PRINCIPAUX RAVAGEURS ET MALADIES SUR CHATAIGNIER - CHENE



Chancre à *Cryphonectria parasitica* sur rameau de châtaignier. S.R.P.V. Midi-Pyrénées



Adulte du bupreste (*Coroebus florentinus*) sur rameau de chêne vert. P. Aversenq



Fructifications de *Cryphonectria parasitica* sur châtaignier. P. Aversenq



Attaque importante de processionnaire du chêne. (*Thaumetopoea processionea*). S.P.V. Niort



Chancre à *Cryphonectria parasitica* sur châtaignier. I.N.R.A. - Patho Antibes



Symptômes d'Anthracnose (*Gnomonia quercina*) sur chêne vert. S.R.P.V. Centre



Jeunes chenilles de processionnaire du chêne (*Thaumetopoea processionea*). S.P.V. Niort



Palmettes mycéliennes de *Cryphonectria parasitica* sous écorce de châtaignier. G.R.I.S.P. Antibes



Symptômes de Septoriose sur chêne sessile. B. Boudier

FICHE D'IDENTIFICATION

I) OBSERVATIONS A LA LOUPE

Les stromas



- **Pustules ponctiformes** jaunâtres à orangées, souvent confluentes.
- **Taille moyenne** : \square : 0,75-3 mm
hauteur : 0,5-2 mm.
- **Cirrhés** : jaunes en forme de vermicelles et enroulées en vrilles, souvent plusieurs par stroma.
- **Ostioles des périthèces** faisant saillie à l'extérieur du stroma (lorsque la forme sexuée est présente).

Les palmettes

Lamelles de mycélium en éventail jaunâtre. Dans les diverses couches de l'écorce mais surtout entre l'écorce et le bois.

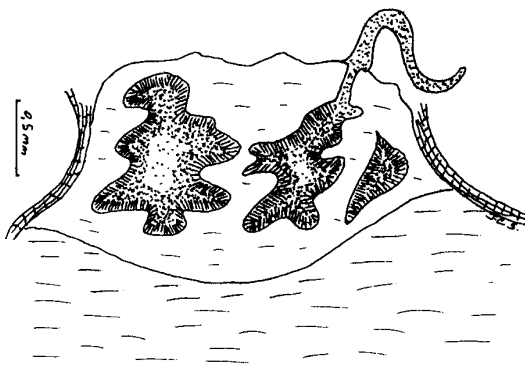


J.TOURNUT - LNPV UMAF- NANCY

II) OBSERVATION DES STROMAS EN COUPE

Les pycnides (forme asexuée)

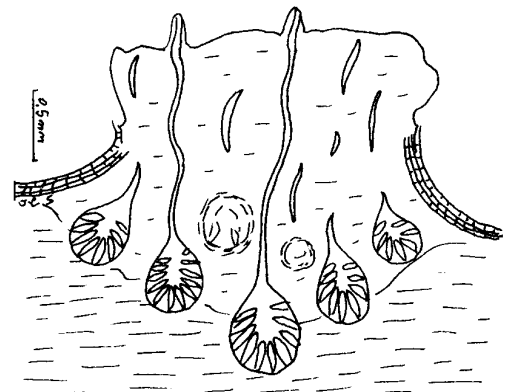
- **Cavités** simples ou complexes, irrégulières, creusées directement dans la masse stromatique orange.
- **Taille moyenne** : \square : 100 à 300 \square m.



Coupe longitudinale d'un stroma de *C.parasitica* contenant des pycnides.

Les périthèces (forme sexuée)

- **Piriformes**, avec de longs cols minces.
- **Couleur noire**.
- **Taille moyenne** : \square : 300 à 400 \square m.
- **5 à 50** par stroma sur 1 à 3 couches.



Coupe longitudinale d'un stroma de *C.parasitica* contenant des périthèces.

III) OBSERVATION MICROSCOPIQUE DES SPORES :

Les conidies :

Les ascospores :

- Très petites, unicellulaires, cylindriques à extrémités arrondies, parfois légèrement arquées.
- Hyalines.
- Taille moyenne : L= 3-5 μ m

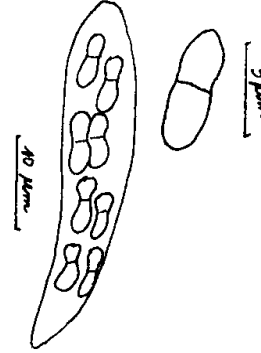


Conidies

- En général, au nombre de 8 par asque

- Bicellulaires, hyalines, à extrémités arrondies, généralement un peu contractées au niveau de la cloison (en forme de 8 si les spores sont matures et montées dans de l'eau).

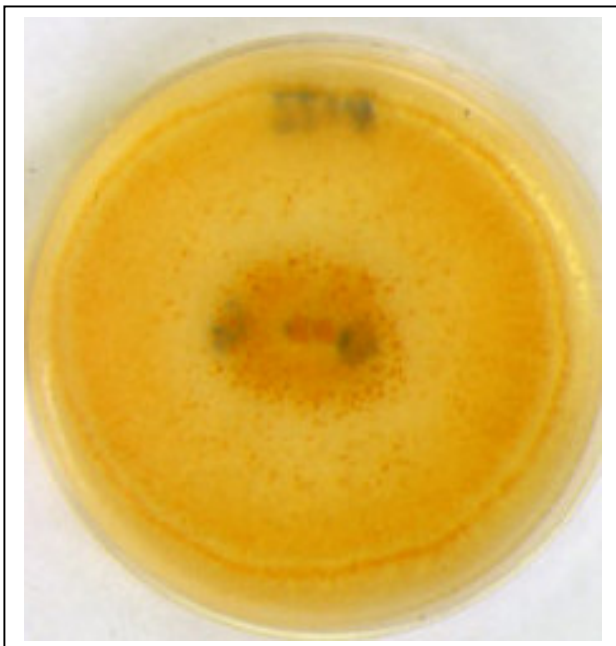
- Taille moyenne : 7-11 X 3-5 μ m.



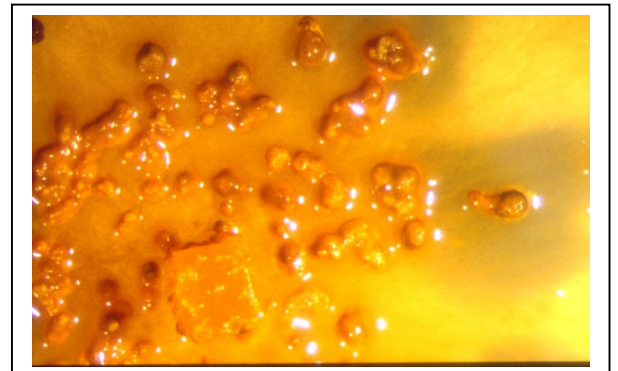
J.C. STREITO- LNPV- UMAF NANCY

IV) OBSERVATION SUR MILIEU GELOSE (Malt)

Mycélium blanc jaunâtre, devenant parfois orangé pâle, ras.



Pycnides, petites et nombreuses, oranges.
Amas de conidies jaunes orangés.



NB: Certaines souches (hypovirulentes) font peu de pycnides et restent blanches.

V) COMPARAISONS AVEC d'AUTRES ESPECES D'ENDOTHIA

Principaux critères	<u>C. parasitica</u>	<i>E. gyrosa</i>	<i>E. singularis</i>	<i>E. fluens</i>
Présence de chancres (sur Châtaignier)	oui	non	non	non
Présence de palmettes	oui	non	non	non
Ascospores (matures et montées dans l'eau)	Bicellulaires. Etranglées à la cloison.	Unicellulaires.	Bicellulaires. Non étranglées à la cloison.	Bicellulaires. Non étranglées à la cloison.
Asques (taille moyenne en μ m)	30-60 X 7-9	25-30 X 6-7	25-35 X 4,5-5,5	30-40 X 6-8