



HAL
open science

Les virus de l'artichaut. I. Mise en évidence de trois virus dans les cultures françaises d'artichaut

Auguste Migliori, Hervé Lot, Pierre Pécaut, Michel Duteil, Joëlle Rouzé-Jouan

► To cite this version:

Auguste Migliori, Hervé Lot, Pierre Pécaut, Michel Duteil, Joëlle Rouzé-Jouan. Les virus de l'artichaut. I. Mise en évidence de trois virus dans les cultures françaises d'artichaut. *Agronomie*, 1984, 4 (3), pp.257-268. hal-00884632

HAL Id: hal-00884632

<https://hal.science/hal-00884632>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Les virus de l'artichaut. I. Mise en évidence de trois virus dans les cultures françaises d'artichaut

Auguste MIGLIORI, Hervé LOT (**), Pierre PÉCAUT (***), Michel DUTEIL (***) & Joëlle ROUZÉ-JOUAN (*)

I.N.R.A., Station de Pathologie végétale

(*) *Station de Zoologie, Centre de Recherches de Rennes, F 35650 Le Rheu*

(**) *I.N.R.A., Station de Pathologie végétale*

(***) *Station d'Amélioration des Plantes maraîchères, Centre de Recherches d'Avignon, F 84140 Montfavet*

RÉSUMÉ

Trois virus ont été isolés de l'artichaut dans les cultures de l'Ouest et du Sud-Est de la France :

— Le virus latent de l'artichaut (ALV) appartenant au groupe des Potyvirus. Ce virus ne provoque pas de symptômes sur des artichauts de semis infectés mécaniquement ou par pucerons ; il peut néanmoins affecter la vigueur et la production des plantes. Les plantes régénérées sont rapidement recontaminées dans les conditions naturelles.

— Le virus de la mosaïque du concombre (CMV), décrit pour la première fois sur artichaut induit sur cette espèce une mosaïque déformante et un rabougrissement. Les souches isolées en Bretagne et en Provence appartiennent au groupe symptomatologique B et sérologique TO-RS.

— Un virus à particules isométriques de 28-30 nm qui pourrait s'apparenter au virus du flétrissement de la fève (BBWV) selon certains critères biologiques et ultrastructuraux, mais qui n'a cependant pu être transmis par plusieurs espèces de pucerons. Les résultats ne permettent pas de relier ce virus aux autres virus isométriques décrits chez l'artichaut.

Mots clés additionnels : *Cynara scolymus L., virus latent de l'artichaut ; virus de la mosaïque du concombre, virus du flétrissement de la fève, transmission, puceron, sérologie, immunoélectromicroscopie, ultrastructure.*

SUMMARY

The viruses of globe artichoke. I. Detection of three viruses in French artichoke crops.

Three viruses were isolated from artichoke plants cultivated in West and South-East France.

Artichoke latent virus (ALV) belongs to the potyvirus group. This virus did not provoke symptoms on artichoke seedlings infected mechanically or by aphids ; nevertheless it did affect vigour and yield. Recontamination of healthy plants in natural conditions appeared to occur rapidly.

Cucumber mosaic virus (CMV) was recorded for the first time from artichoke, inducing mosaic with deformation and stunting. The strains isolated so far in Brittany and Provence belonged to the symptomatological group B and serological group TO-RS.

A virus with isometric particles 28-30 nm was found, with some relationships to broad bean wilt virus (BBWV) according to some biological and ultrastructural criteria but which could not be transmitted by several species of aphids. The results obtained do not allow the identification of this virus with any of the isometric viruses found in artichoke.

Additional key words : *Cynara scolymus L., artichoke latent virus, cucumber mosaic virus, broad bean wilt virus, transmission, aphid, serology, immuno-electromicroscopy, ultrastructure.*

I. INTRODUCTION

La production française d'artichaut (*Cynara scolymus L.*) qui se situe au 3^e rang mondial avec 100 000 t environ régresse depuis une dizaine d'années.

Trois variétés principales sont cultivées : le « Camus de Bretagne » qui représente 70 p. 100 de la production nationale, le « Violet de Provence » et le « Blanc Hyérois » celles-ci sont cultivées dans les zones méridionales.

L'affaiblissement des rendements en Bretagne comme dans d'autres régions de production paraît lié à différentes causes dont l'une serait les maladies dites de « dégénérescence ». Il est important de préciser la responsabilité des virus dans ces difficultés de production.

Comme pour de nombreuses espèces à multiplication végétative, la présence de complexes viraux rend délicate, chez l'artichaut, l'identification des virus provoquant des symptômes définis. Des symptômes tels que chlorose,

taches annulaires, mosaïques, déformations, nanismes sont souvent observés dans les cultures mais la corrélation entre la présence d'un virus et un syndrome donné est rarement établie.

Depuis les travaux de GIGANTE (1951) qui fut le premier à mentionner l'association de virus à une mosaïque de l'artichaut, de nombreuses affections virales sont décrites chez cette espèce (COSTA *et al.*, 1959 ; MORTON, 1961). Dans leur monographie, MARTELLI *et al.* (1979) mentionnent 14 virus capables d'infecter l'artichaut.

La caractérisation des virus flexueux semble particulièrement confuse. En effet, les seules méthodes d'épreuves biologiques se révèlent insuffisantes pour identifier les virus dans le cas de complexes infectieux. RANA *et al.* (1982) ont caractérisé un potyvirus, l'artichoke latent virus (ALV) et montrent la nécessité de préparer un immunosérum spécifique et d'utiliser l'immunoélectromicroscopie pour un diagnostic sans ambiguïté.

En France, MARROU & MEHANI (1964) décrivent un virus flexueux isolé d'artichaut var. « Violet de Provence », cultivé dans le sud de la France et en Tunisie.

La multiplication *in vitro* de l'artichaut à partir de culture de méristèmes, dont la technique a été récemment mise au point, fournit un moyen d'améliorer l'état sanitaire des cultivars. Ceci suppose une meilleure connaissance des virus infectants cette espèce et des méthodes de dépistage. Les premières observations faites à Avignon dans une collection de variétés et dans des plantes issues de cultures *in vitro* montrent l'existence de maladies virales (PECAUT *et al.*, 1982).

Nous présentons ici l'ensemble des résultats concernant la mise en évidence de virus présents dans les zones de production de Bretagne et du Sud-Est.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. Sources de virus

Les échantillons éprouvés proviennent des zones de production du « Camus de Bretagne » du Nord-Finistère, des essais de la Station d'Amélioration des plantes maraîchères d'Avignon et de quelques cultures du Var et des Pyrénées-Orientales ; certaines épreuves sont issues de plantes provenant de méristèmes et propagées « *in vitro* ».

Les différents échantillons éprouvés lors de cette étude sont prélevés sur plantes sans symptômes ou avec symptômes (pl. 1).

B. Transmission par voie mécanique

Les inoculums, préparés par broyage des tissus foliaires (1 g/4 ml) dans du tampon phosphate 0,01 M à pH 7 contenant 0,2 p. 100 de DIECA (Diéthylthiocarbamate de sodium), sont inoculés à des hôtes différentiels en présence de 80 mg de charbon végétal activé et 80 mg de carborundum 400 mesh par ml d'extrait (tabl. 1).

C. Transmission par pucerons

Aulacorthum solani Kltb., *Brachycaudus cardui* L., *Myzus persicae* Sulz, sont utilisés. Ces espèces, élevées sur *Vicia faba* L. variété « Ascott », sont utilisées pour la transmission selon des protocoles d'inoculations correspondant aux 2 modes, non persistant et persistant.

Dans le 1^{er} cas, des groupes de 10 pucerons ayant jeûné

environ 60 mn sont déposés pendant 1 à 15 mn sur la plante-source, puis placés sur différentes espèces pendant 24 h.

Dans le 2^e cas, ils sont maintenus sur la plante-source pendant 48 h pour l'acquisition du virus, puis placés, pendant la même durée, sur plusieurs hôtes potentiels.

D. Purification des virus

Les isolats mentionnés ci-après sont décrits dans le chapitre des résultats. L'isolat CV25 est purifié, selon la méthode décrite par LOT *et al.* (1972) pour le virus de la mosaïque du concombre (CMV), à partir de *Nicotiana tabacum* var. « Xanthi » infecté mécaniquement depuis 12 j.

La purification de l'isolat CV17 est tentée à partir de *Physalis floridana* Rybd. ou de *Vicia faba* L. infecté mécaniquement depuis 15-20 j en appliquant 3 méthodes différentes ;

— la méthode décrite pour le CMV mentionnée ci-dessus,

— une méthode utilisée généralement pour les Népotavirus et utilisée pour l'artichoke italian latent virus (AILV) (SAVINO *et al.*, 1977),

— la méthode de FROWD & TOMLINSON (1972) utilisée pour le broad bean wilt virus (BBWV).

Les gradients de sucre 5-20 p. 100 sont préparés dans le citrate trisodique 0,05 M pH 7 pour l'isolat CV25, dans le tampon phosphate 0,01 M pH 7 pour l'isolat CV17, et centrifugés dans le rotor SW41, 90 mn à 40 000 t/mn.

E. Sérologie

Un antisérum est obtenu avec des préparations purifiées de CV25 à partir de gradients de saccharose. L'antigène, concentré par ultracentrifugation et remis en suspension dans l'eau distillée, est injecté au lapin après addition de formaldéhyde à 0,4 p. 100. 8 injections intramusculaires sont réalisées à une semaine d'intervalle avec 1 mg de nucléoprotéine émulsifiée dans de l'adjuvant de FREUND incomplet V/v.

Le titre du sérum est déterminé en immunodiffusion en agarose (Indubiose A37) 0,8 p. 100 dans le tampon véronal EDTA 0,025 M ajusté à pH 8,6 en utilisant du virus purifié et stabilisé par du formol à 0,4 p. 100.

Les épreuves de caractérisation sont effectuées en immunodiffusion ou immunodiffusion SDS dans l'agarose (Ionagar n° 2) 0,8 p. 100 (PURCIFULL & BATCHELOR, 1977), avec des extraits bruts (1 g/2 ml) dans l'eau distillée ou un tampon phosphate 0,01 M, pH 7.

L'antisérum (a) CMV-LQ, souche appartenant au groupe sérologique D-TL (DEVERGNE & CARDIN, 1973), est préparé à la Station de Pathologie végétale d'Avignon ; l'antisérum (b) CMV-TO (souche appartenant au groupe B) est préparé par DEVERGNE & CARDIN (Station de Pathologie végétale d'Antibes). Les antisérums contre (c) l'artichoke latent virus (ALV), (d) l'artichoke italian latent virus (AILV), (e) l'artichoke mottle crinkle virus (AMCV), (f) l'artichoke vein banding virus (AVBV), (g) l'artichoke yellow ringspot virus (AYRV), (h) le broad bean wilt virus (BBWV) sont préparés par l'Institut de Pathologie végétale, Université de Bari (Italie). Un 2^e antisérum BBWV est préparé au Laboratoire de Virologie de Turin (Italie) et un 3^e préparé par UYEMOTO & PROVVIDENTI (Department of Plant Pathology, New York State Agricultural Experiment Station, Geneva 14456).

Les méthodes d'immunoélectromicroscopie par décoration directe ou après sensibilisation (ISEM) appliquées, sont celles décrites par DELECOLLE & LOT (1981).

F. Microscopie électronique

1. Coloration négative

Les préparations sont obtenues selon le principe du « dipping » et colorées à l'acétate d'uranyle à 2 p. 100.

2. Ultrastructure

Le matériel, fixé par le glutaraldéhyde amené à 4 p. 100 avec une solution cacodylate 0,05 M pH 7, est postfixé par le tétraoxyde d'osmium à 1 p. 100 pendant 10 h à 4 °C. Après rinçage à l'eau bidistillée, les échantillons sont déshydratés par trempages successifs dans l'alcool et inclus dans l'araldite M selon les procédés classiques et les coupes ultrafines colorées à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb.

III. RÉSULTATS

A. Caractérisation des isolats par inoculation mécanique sur hôtes différentiels (pl. 2)

Les premières séries d'inoculation, effectuées à partir d'une centaine d'échantillons, sont réalisées sur 4 hôtes : *Chenopodium amaranticolor* Coste, *Gomphrena globosa* L., *Phaseolus vulgaris* L. var « Pinto » et *Vigna unguiculata* (L.) Walp.

La quasi-totalité des échantillons ont conduit à l'apparition de lésions locales sur *C. amaranticolor* et *G. globosa*. Sur chénopode, les lésions apparaissent en 8 à 10 j : elles sont chlorotiques puis deviennent rougeâtres. Sur *Gomphrena*, les lésions chloro-nécrotiques et bordées de rouge apparaissent en une dizaine de jours. De très nombreux échantillons ont provoqué sur *Phaseolus vulgaris* des taches ou anneaux chlorotiques, ces réactions sont caractéristiques de l'isolat CBV2.

Un certain nombre d'échantillons provoquent des lésions locales nécrotiques sur *V. unguiculata* et *P. vulgaris*. Suivant les réactions on peut séparer les isolats en 2 classes. Certains isolats (CV17) donnent sur *Vigna* des lésions locales de 3-5 mm en 3 à 5 j, puis une mosaïque systémique et sur *P. vulgaris* des lésions brunes ; d'autres (CV25) donnent des lésions nécrotiques en 1 à 2 j sur *Vigna* sans réaction systémique et des micro-lésions blanchâtres sur *P. vulgaris*.

L'isolat CBV2 a été cloné par dilutions successives à partir de lésions locales obtenues sur *G. globosa* sans réaction systémique : le virus est ensuite multiplié sur *Nicotiana benthamiana* Domin. Les réactions de la gamme d'hôtes différentiels obtenues par l'isolat CBV2 sont résumées dans le tableau 1 ; la planche 2 (fig. A, B, C et D) illustre quelques réactions caractéristiques.

Le clonage a été également entrepris avec les 2 autres classes d'isolats CV17 et CV25. A partir des lésions formées en 1-2 j et en 3-5 j, sur *Vigna*, on a obtenu respectivement les isolats CV25 et CV17. Les réactions des hôtes différentiels vis-à-vis de ces 2 isolats sont également présentées dans le tableau 1 et illustrées sur la planche 2 (fig. E, F, G et H).

L'isolat CV25 a une large gamme d'hôtes, il infecte en particulier les cucurbitacées et les solanacées et provoque, en 1 à 2 j, des lésions locales brunes sur *V. unguiculata* et des anneaux bruns sur *Vigna radiata* (L.) Wilczek. Cet isolat est mis en évidence pour l'instant dans une culture de la commune de Cleder (Finistère) et dans quelques plantes des champs d'essai du Centre I.N.R.A. d'Avignon.

Les plantes qui mettent en évidence de façon la plus caractéristique l'isolat CV17 sont :

- *Petunia hybrida* Vilm., mosaïque quelquefois nécrotique en 10-15 j,
- *P. floridana*, mosaïque en 7-10 j,
- *N. tabacum* var. « Xanthi », anneaux chloro-nécrotiques en 4-5 j,
- *V. faba*, mosaïque en 12-15 j,
- *V. radiata*, taches chlorotiques, parfois nécrotiques en 4-5 j et quelquefois une mosaïque nécrotique en 15 j,
- *V. unguiculata*, lésions locales brunes en 3-5 j et mosaïque plus ou moins nécrotique au bout de 2 semaines environ.

Ce virus a été jusqu'à présent isolé dans la collection variétale de l'I.N.R.A. d'Avignon ; sur 68 échantillons provenant de 10 variétés, 28 étaient infectés. En Bretagne, le virus CV17 est mis en évidence dans la région de St-Pol-de-Léon où 19 échantillons sur 80 éprouvés étaient infectés. Dans une parcelle d'environ 1 ha située dans la commune de Sibiril (Finistère), 85 p. 100 des plantes présentaient des taches blanchâtres évoluant en anneaux jaunâtres ; 12 échantillons sur 20 éprouvés et présentant ce symptôme étaient infectés par l'isolat CV17.

B. Transmission par pucerons

Le virus CBV2 est transmis par *A. solani*, *B. cardui* et *M. persicae* à partir d'artichaut, selon le mode non persistant, à l'artichaut et à *N. benthamiana*.

Le virus CV25 est également transmis par ces mêmes espèces de pucerons selon le même mode à partir d'artichaut, *Cucurbita pepo* Duch. var. F₁ « Diamant » et *Beta macrocarpa* L. à différents hôtes.

Pour ces 2 virus, la transmission à l'artichaut s'est révélée délicate.

Toutes les tentatives de transmission du virus CV17 selon les 2 modes et en utilisant comme sources d'inoculum l'artichaut, *G. globosa*, *P. floridana*, *V. faba* et *V. unguiculata* ont échoué avec les 3 espèces de pucerons.

C. Purification des isolats CV25 et CV17

La méthode de purification du CMV pour le virus CV25 à partir de tabac s'est révélée satisfaisante. Les rendements en virus, appréciés par spectrophotométrie sur les préparations issues de gradient de saccharose sont de l'ordre de 650 mg/kg de feuilles après 12 j d'infection.

Cette même méthode s'est également avérée la plus efficace pour purifier le virus CV17 par rapport aux méthodes décrites pour l'AILV ou le BBWV. C'est à partir de *P. floridana* que les meilleurs résultats sont obtenus. Les particules apparaissent fortement pénétrées par le colorant (pl. 3, fig. C). De telles préparations sont très faiblement infectieuses.

D. Sérologie

Les épreuves réalisées pour la détection de l'ALV, à l'aide de l'antisérum (c) en immunodiffusion en présence de SDS, directement à partir d'extraits d'artichaut de semis inoculés par l'isolat CBV2 ou de plantes infectées au champ, ont échoué. Les résultats des expériences réalisées en IEM se sont révélés positifs : la sensibilisation des supports par l'antisérum (c) dilué au 1/250 permet une attache spécifique des particules virales ; toutes les particules de l'isolat CBV2 extraites d'artichaut ou des hôtes sensibles sont décorées par l'antisérum (c) (pl. 3, fig. A).

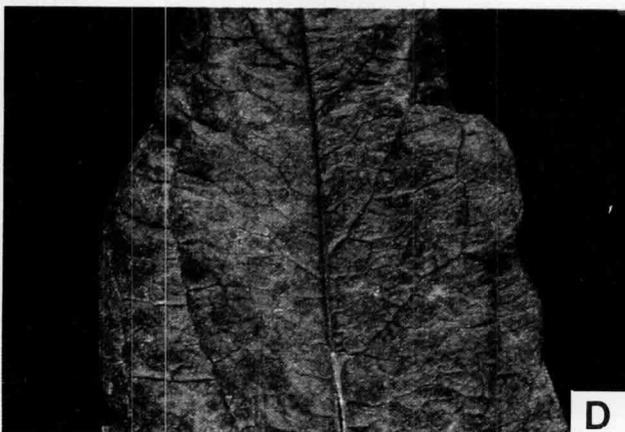


TABLEAU I

Réactions symptomatologiques des hôtes herbacés à trois isolats artichaut.
Symptomatological responses of herbaceous hosts to infection by three artichoke isolates.

| Plantes éprouvées | CBV2 | | Isolats Artichaut CV17 | | CV25 | |
|--|-----------------------|-----------------|---------------------------|-----------------|---------------------|-----------------|
| | Réactions | | Réactions | | Réactions | |
| | Locale | Systé- mique | Locale | Systé- mique | Locale | Systé- mique |
| Aizoacées | | | | | | |
| <i>Tetragonia expansa</i> Thunb. | Tc | — | — | — | An c | An c |
| Amaranthacées | | | | | | |
| <i>Gomphrena globosa</i> L. | ll n | — | — | Mo, d | — | M |
| Chénopodiacées | | | | | | |
| <i>Beta macrocarpa</i> L. | — | — | — | — | T c | Mo |
| <i>Chenopodium amaranticolor</i> Coste et Reyn. | ll c n ⁽¹⁾ | — | ll c ⁽³⁾ | — | ll c | — |
| <i>C. quinoa</i> Willd | ll c n ⁽¹⁾ | — | ll c ⁽³⁾ | — | ll c | — |
| <i>Spinacia oleracea</i> L. | — | — | — | Mo, d | — | Mo |
| Composées | | | | | | |
| <i>Callistephus chinensis</i> (L.) Nees | — | S | — | M | — | Mo |
| <i>Cichorium endivia</i> L. | ll n | Tcn, R | — | — | Tc, M | — |
| <i>Cynara scolymus</i> L. | — | S | — | S | — | M, Mo |
| Cucurbitacées | | | | | | |
| <i>Cucurbita pepo</i> Duch var « F ₁ , Diamant » | — | — | — | — | — | Mo |
| <i>Cucumis sativus</i> L. | — | — | (Tc) | — | T c | Mo |
| Papilionacées | | | | | | |
| <i>Lathyrus odoratus</i> L. | — | M | — | Mo | — | Mo |
| <i>Phaseolus vulgaris</i> L. var « La Victoire » | — | — | — | — | ll n ⁽⁶⁾ | — |
| <i>P. vulgaris</i> var. « Pinto » | Tc ou An c | S ou (Tc) | (lln) ⁽⁵⁾ | — | ll n | — |
| <i>Pisum sativum</i> L. var. « Alaska » | — | Tc, Mo | — | — | ll n | — |
| <i>Vicia faba</i> L. var. « Ascott » | — | — | — | Mo | ll n | Sk |
| <i>Vigna radiata</i> (L.) Wilczew | — | — | — | — | — | — |
| <i>Phaseolus mungo</i> var. aureus | — | — | An c n ⁽²⁾ | Mo, n | An n | — |
| <i>V. unguiculata</i> (L.) Walp (<i>V. sinensis</i>) | — | S | ll n ⁽⁴⁾ | Mo (n) | ll n | — |
| Labiacées | | | | | | |
| <i>Ocimum basilicum</i> L. | — | — | — | Mo | — | Mc |
| Solanacées | | | | | | |
| <i>Datura stramonium</i> L. | — | — | — | — | — | — |
| <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. var. « Supermarmande » | — | — | — | — | — | Mo |
| <i>Nicotiana benthamiana</i> Domin. | — | Mo | — | Mo | — | Mo |
| <i>N. megalosiphum</i> Heurck et Muell. | An, c n | — | An n | Mo, n | — | Mo |
| <i>N. tabacum</i> var. « Xanthi » | — | — | An n | — | Etch | Mo Etch |
| <i>Petunia hybrida</i> Vilm. | — | S | — | Mo, n, d | — | Mo |
| <i>Physalis floridana</i> Rybd. | — | S | — | Mo, d | — | Mo |

An : taches annulaires, *ringspots*
ll : lésions locales, *local lesions*
M : marbrure, *mottle*
Mo : mosaïque, *mosaic*
T : taches, *spots*
Sk : nécrose sur tige, *streak*

R : rétablissement, *recovery*
S : infection sans symptômes, *symptomless infection*
c : chlorotique, *chlorotic*
n : nécrotique, *necrotic*
d : déformation, *deformation*
() : réaction erratique, *erratic reaction*

(¹) Lésions assez grosses formées en 8-10 j. *Lesions after 8-10 days.*

(²) Anneaux chloro-nécrotiques formés en 3-5 j (quelquefois ll n). *Chloro necrotic ringspots after 3-5 days.*

(³) Micro-lésions chlorotiques formées en 4-5 j. *Chlorotic micro-lesions after 4-5 days.*

(⁴) Lésions nécrotiques formées en 3-5 j. *Necrotic lesions after 3-5 days.*

(⁵) Micro-lésions nécrotiques bruns. *Brown micro lesions.*

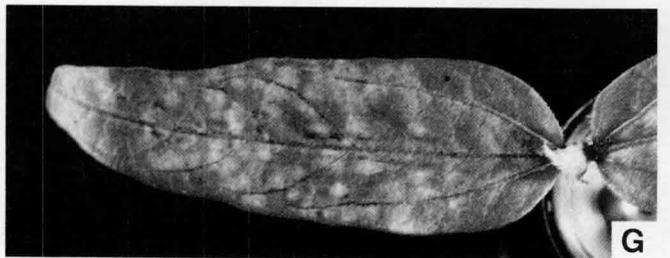
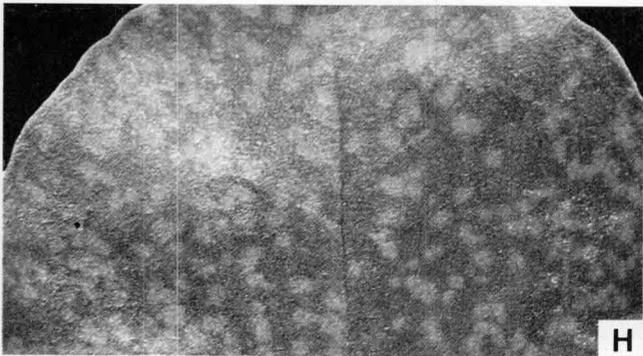
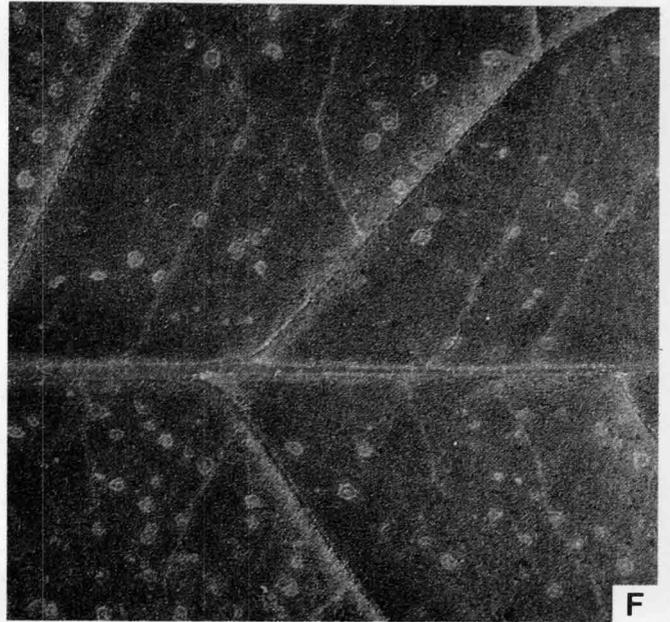
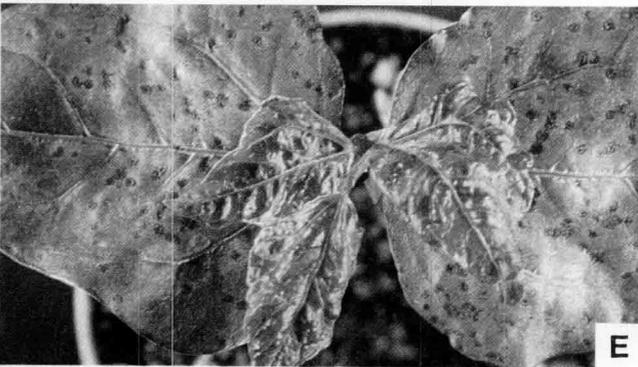
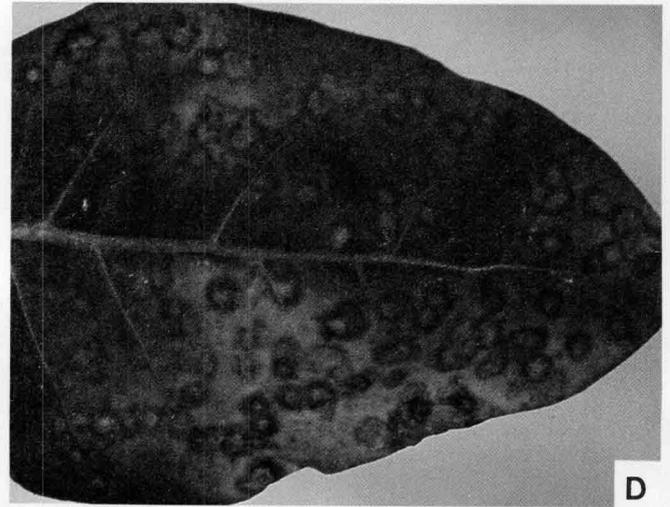
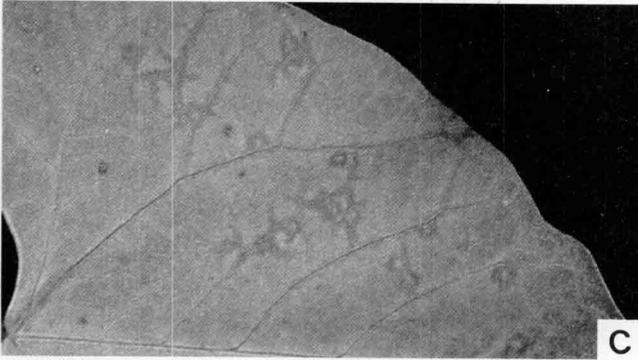
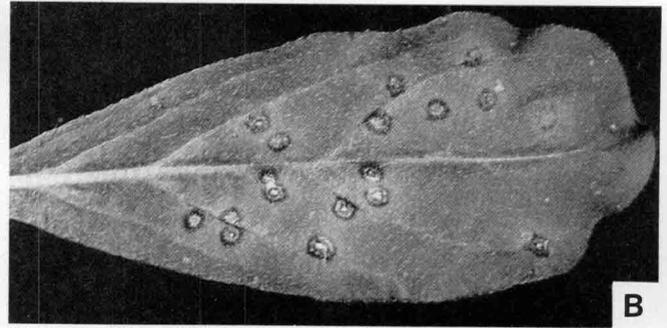
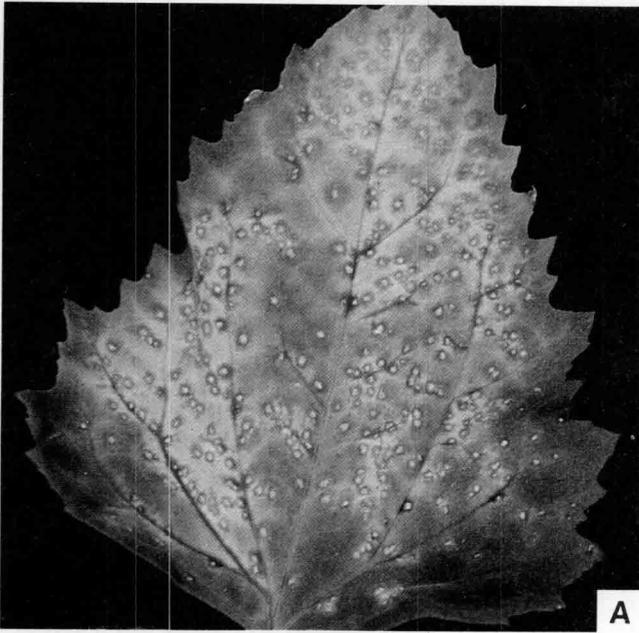
(⁶) Micro-lésions nécrotiques blanches. *White necrotic micro lesions.*

PLANCHE I

Symptomatologie sur artichaut
Symptomatology on globe artichoke

- A : Nanisme et déformation de la plante (*Stunting and deformation of plant*)
B : Mosaïque avec taches jaunâtres (*Yellow mosaic with yellow spots*)
C : Mosaïque avec déformation des feuilles (*Mosaic with deformation of leaves*)
D : Marbrure vert-chlorotique (*Green-chlorotic mottle*)

E et F : Anneaux jaunes (*Yellow ringspots*)



Les réactions sérologiques pour la détection du CMV obtenues en immunodiffusion avec l'isolat CV25 et l'antisérum CMV-CV25 d'une part, une souche de référence du groupe B et l'antisérum de référence (b) CMV-TO d'autre part, montrent que la souche isolée d'artichaut appartient au groupe B. En immunodiffusion-SDS, le CMV peut être détecté aisément à partir d'extraits d'artichaut, infecté, prélevés au champ. Un éperon caractéristique est obtenu entre les arcs de précipitation formés à partir des souches appartenant aux 2 groupes. L'isolat artichaut ne donne qu'une réaction très faible avec l'antisérum (a) CMV-LQ (groupe C). Les figures D et E, de la planche 3 démontrent que cet isolat appartient au groupe B.

Aucune réaction spécifique permettant d'identifier d'autres virus n'a été obtenue en immunodiffusion avec l'isolat CV17 et les antisérums e, f, g et h. Les épreuves réalisées en IEM avec ces mêmes sérums n'ont pas conduit à une décoration des particules. Avec les antisérums BBWV, seul celui de Turin a permis d'obtenir une seule fois une faible réaction de précipitation avec une préparation semi-purifiée. Par contre, aucune décoration n'a été mise en évidence par IEM.

E. Microscopie électronique

1. Observation directe des extraits de plantes infectées

L'examen au microscope électronique et en coloration négative d'extraits infectés révèle que l'isolat CBV2 est un virus flexueux d'environ 750 nm. Les isolats CV25 et CV17 apparaissent comme des virus isométriques de 28 à 30 nm : les particules de CV25 sont pleines et sphériques alors que celles de CV17 sont souvent pénétrées par le colorant et présentent un aspect plus polygonal.

2. Ultrastructure

Les observations de coupe ultra fines effectuées à partir d'artichaut, de *Callistephus chinensis* (L.) Nees, de *N. benthamiana* ou de *Lathyrus odoratus* L. et infectés par l'isolat CBV2 ont montré l'existence de « pinwheels » et de « laminated aggregates » (pl. 4, fig. B).

Les coupes ultra fines réalisées à partir de *G. globosa* L. *odoratus* et de *V. unguiculata* infectés par l'isolat CV17 révèlent la présence de viroplasmes (pl. 4, fig. A, B, C) et de sphérules disposées régulièrement en tubules (pl. 4, fig. C, D) ainsi que l'existence d'importantes zones vésiculaires et la perturbation du système chloroplastique (pl. 4, fig. E). Parmi les vésicules observées, certaines contiennent de fines fibrilles (pl. 4, fig. A, E).

IV. DISCUSSION

1) L'ensemble des résultats des épreuves biologiques, sérologiques et cytologiques concernant l'isolat CBV2 permet l'identification de ce virus. Les réactions et le temps d'apparition des symptômes sur *C. amaranticolor* et sur *G. globosa*, la transmission par pucerons selon le mode non persistant, la réaction positive obtenue en IEM, la taille des particules virales et enfin l'observation dans le cytoplasme de « pinwheels » et de « laminated aggregates » permettent d'identifier l'isolat CBV2 au virus latent de l'artichaut (ALV) appartenant au groupe des potyvirus et décrit par RANA *et al.* (1982). Les nombreuses épreuves biologiques et d'IEM effectuées à partir de plants provenant des 2 grandes régions productrices montrent que l'ALV est quasi généralisé dans les cultures d'artichaut. Seules les plantes issues de semis ou de micropropagation et cultivées au champ durant peu de mois ne sont pas infectées par l'ALV.

2) L'identification de l'isolat CV25 au virus de la mosaïque du concombre (CMV) est évidente compte tenu de l'ensemble des propriétés biologiques et sérologiques. Ce virus a été isolé plusieurs fois en Bretagne dans une culture de la zone de Cleder et sur quelques plantes cultivées au Centre I.N.R.A. d'Avignon. Tous les isolats appartiennent au groupe symptomatologique B (MARROU *et al.*, 1974) et au groupe sérologique To (DEVERGNE & CARDIN, 1973).

PLANCHE 2

Isolat CBV2

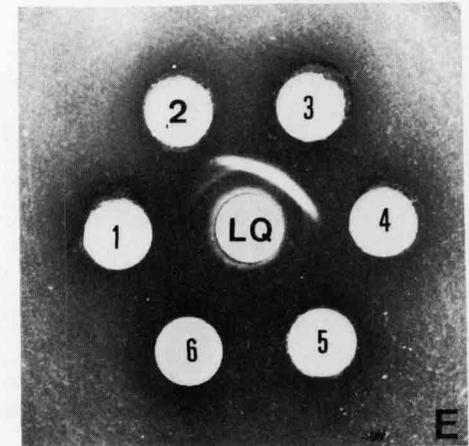
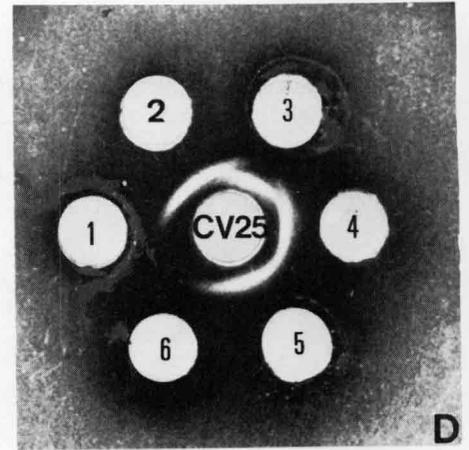
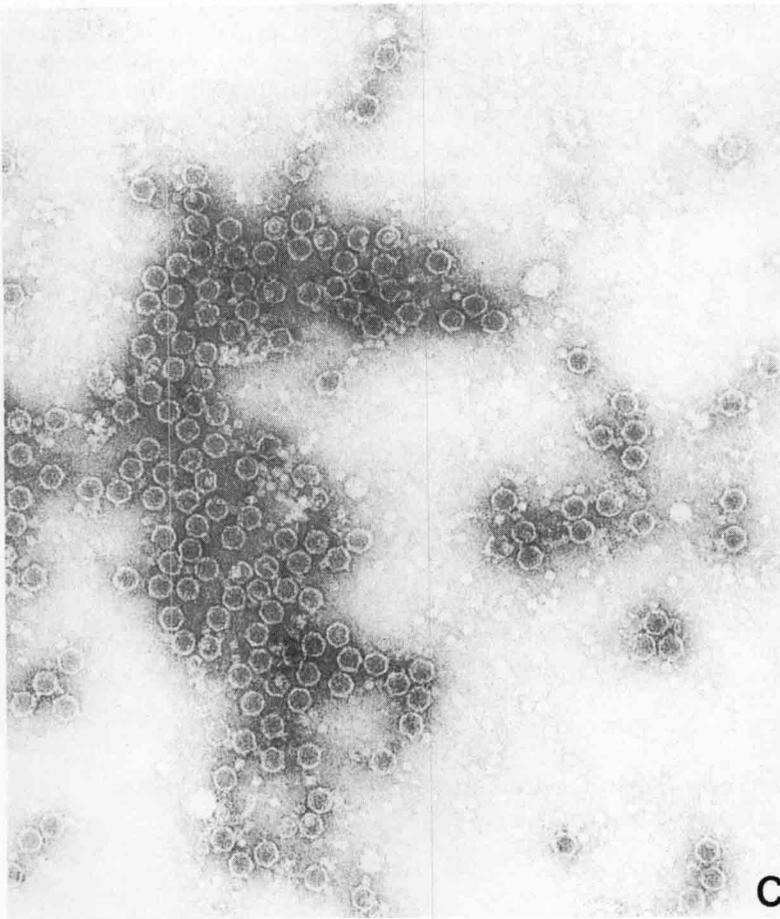
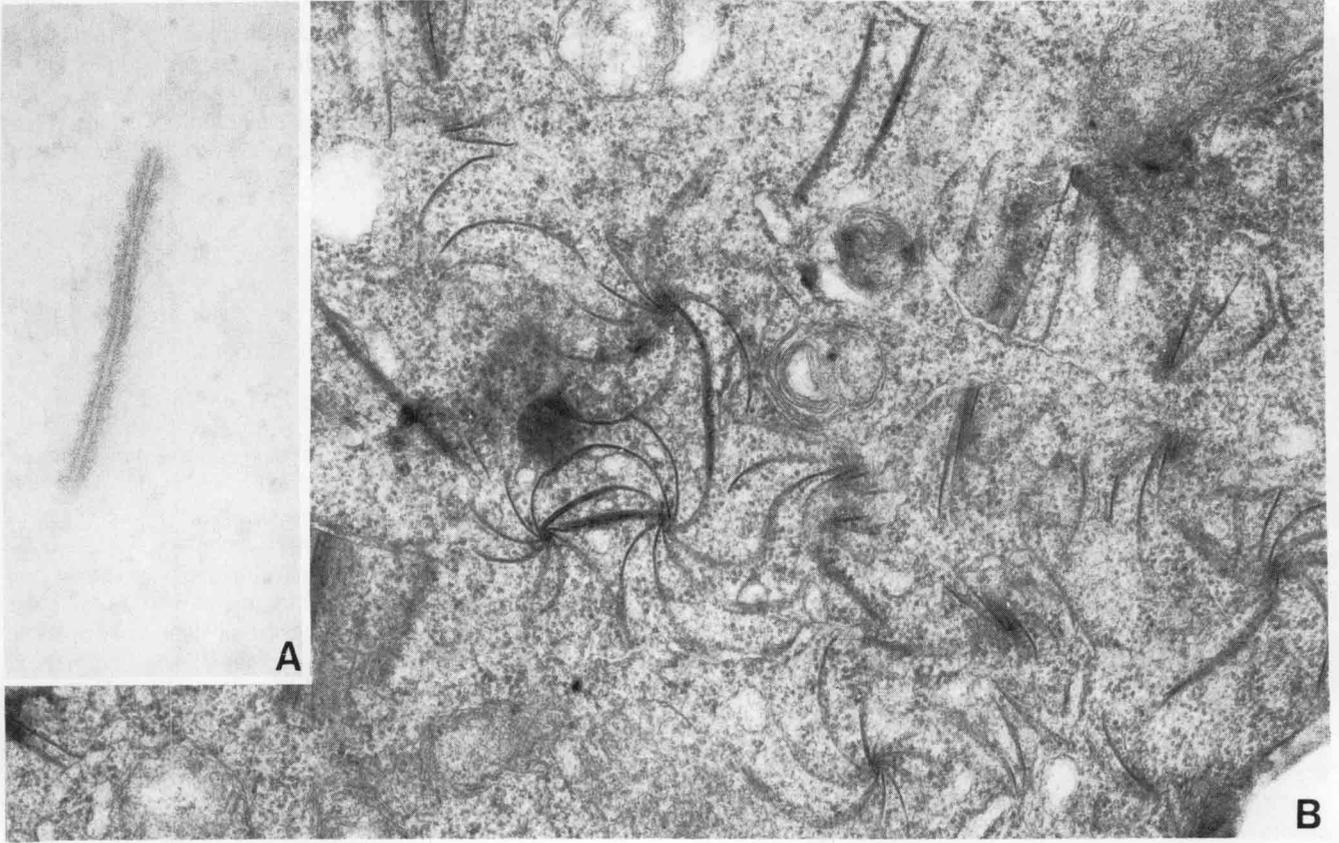
- A : *Chenopodium amaranticolor*. Lésions locales chloro-nécrotiques formées en 8-10 j. (*Chloro-necrotic local lesions, 8-10 days after inoculation.*)
 B : *Gomphrena globosa*. Lésions locales nécrotiques formées en 8-10 j. (*Necrotic local lesions, 8-10 days after inoculation.*)
 C : *Phaseolus vulgaris* var. « Pinto ». Anneaux chloro-nécrotiques, formés en 10 j. (*Chloro-necrotic ringspots 10 days after inoculation.*)
 D : *Nicotiana megalosiphum*. Anneaux chloro-nécrotiques. (*Chloro-necrotic ringspots.*)

Isolat CV17

- E : *Vigna unguiculata*. Lésions locales nécrotiques et mosaïque quelquefois nécrotique. (*Necrotic local lesions and necrotic mosaic.*)
 F : *Nicotiana tabacum* Xanthi n.c. Anneaux nécrotiques. (*Necrotic ringspots.*)
 G : *Vigna radiata*. Anneaux chlorotiques locaux. (*Chlorotic local spots.*)

Isolat CV25

- H : *Beta macrocarpa*. Taches locales chlorotiques. (*Chlorotic local spots.*)



Ce résultat est important puisque le virus est associé à un symptôme bien particulier de déformation et de réduction de croissance. Il a été décrit chez le cardon (*Cynara cardunculus* L.) par LISA (1971) et aurait été isolé une fois en Grèce, sur artichaut, en 1974 (KYRIAKOPOLOU, comm. pers.). Le fait que le CMV soit isolé aussi rarement dans les régions où la pression d'inoculum est particulièrement importante est tout à fait singulier et justifie l'étude de l'efficacité de la transmission par les pucerons des souches de ce virus à l'artichaut.

3) Les résultats obtenus avec l'isolat Cv17 ne permettent pas de conclure à l'identité du virus. Certaines réactions de la gamme d'hôtes se révèlent souvent différentes de celles décrites pour les virus isométriques de l'artichaut AILV (MAJORANA & RANA, 1970; MARTELLI *et al.*, 1977), AMCV (MARTELLI, 1965), AVBV (GALLITELLI *et al.*, 1978), AYRV (RANA *et al.*, 1980); les épreuves sérologiques réalisées avec les antisérums spécifiques de ces virus sont négatives, elles seraient à poursuivre avec d'autres antisérums et en utilisant l'isolat Cv17 purifié.

Les symptômes obtenus sur les hôtes différentiels et la faible réaction sérologique décelée seulement avec un antisérum BBWV suggèrent que l'isolat Cv17 pourrait être proche du BBWV. L'existence dans le cytoplasme de viroplasmes et de zones vésiculées contenant des fibrilles est en accord avec la même hypothèse puisque ces observations sont mentionnées dans le cas des cellules infectées par le BBWV (RUSSO & MARTELLI, 1975; CADILHAC & MARROU, 1976; MARTELLI & RUSSO, 1977; RUSSO & RANA, 1978). L'arrangement des sphérules en tubules, observé fréquemment dans le cytoplasme des plantes infectées par l'isolat Cv17, est également en faveur d'un rapprochement avec le BBWV. L'absence de réaction systémique chez *C. amaranticolor* et les échecs dans les expériences de transmission par pucerons à partir d'artichaut ou d'hôtes secondaires infectés par Cv17 sont par contre défavorables à l'hypothèse du

BBWV. Cependant, ces résultats n'écartent pas totalement l'hypothèse que ce virus pourrait être une souche particulière du BBWV ou proche de celui-ci. L'application systématique d'autres épreuves sérologiques, la recherche du vecteur et la poursuite des études ultrastructurales et de purification du virus permettront l'identification de ce virus.

Au point de vue agronomique, la mise en évidence de ces 3 virus dans les cultures françaises est une première étape dans la connaissance de l'état sanitaire de l'artichaut. Les cultures de l'Ouest et du Sud-Est de la France ne peuvent pas être considérées aujourd'hui comme gravement affectées par une maladie à virus. L'étude de l'incidence respective de ces 3 virus et de leur responsabilité, seuls ou en mélange, dans les syndromes de dégénérescence et les affaiblissements de rendement constitue l'étape suivante de notre étude. Les premières comparaisons de plantes sans virus issues de culture *in vitro* et de plantes virosées ont déjà montré, après 2 ans de culture, une production nettement supérieure chez les plantes régénérées (PECAUT *et al.*, 1982; PECAUT, 1983).

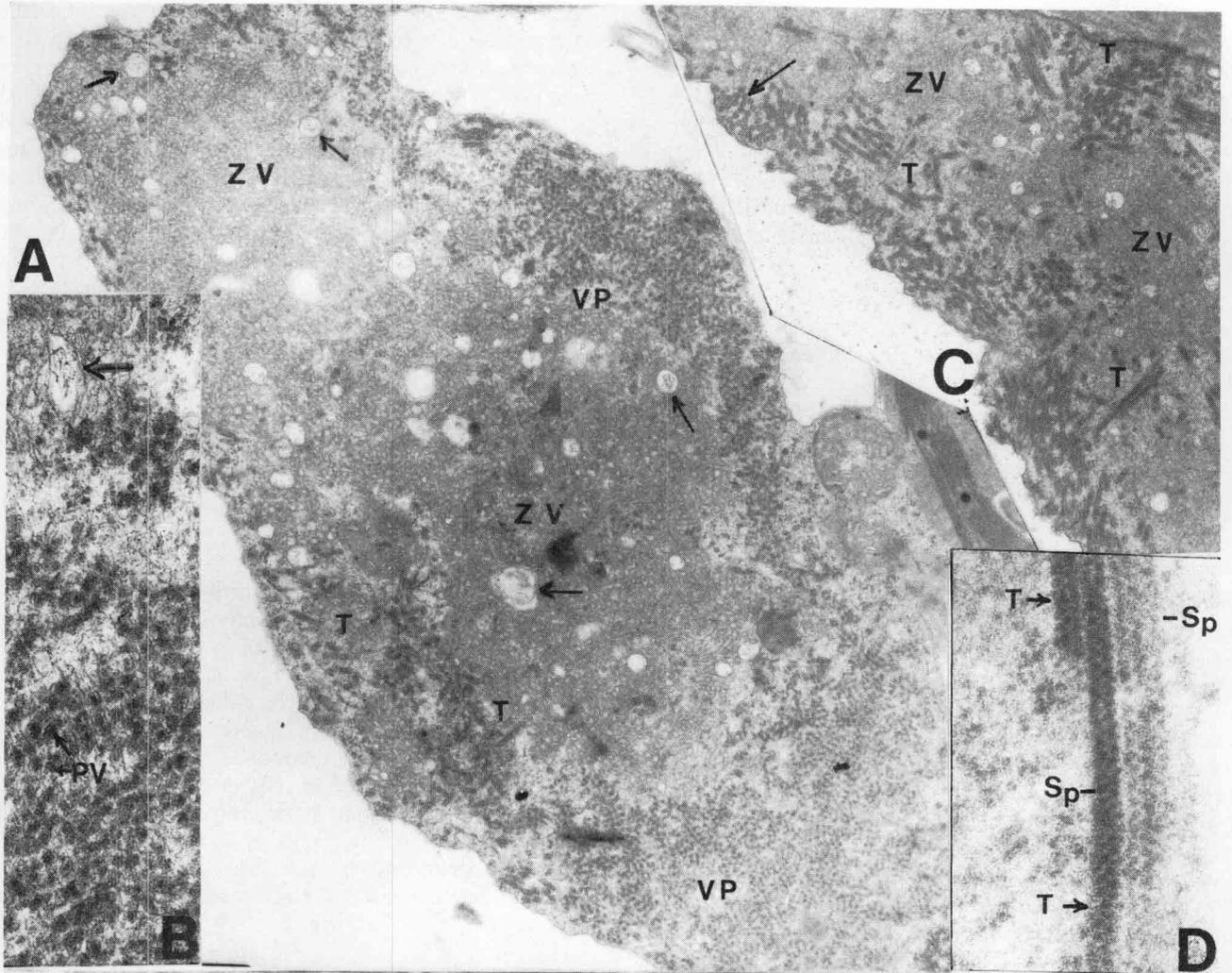
La mise au point de méthodes de détection rapides et fiables pour dépister ces virus directement dans les extraits de plantes issues de multiplication *in vitro* ou cultivées au champ constitue actuellement un objectif prioritaire. L'obtention d'un sérum spécifique du CMV isolé d'artichaut et la préparation de réactifs spécifiques de l'ALV et du virus Cv17 permettront dans un proche avenir d'appliquer la méthode ELISA pour le dépistage de ces virus. L'étude de la répartition géographique et celle de la fréquence des virus de l'artichaut pourront alors être entreprises. Enfin, la culture dans différentes régions de parcelles d'artichauts éprouvés comme indemnes de virus conduira à des informations essentielles quant à l'incidence et l'épidémiologie de ces virus.

Reçu le 16 mai 1983.

Accepté le 25 octobre 1983.

PLANCHE 3

- A : Particules virales de l'isolat Cbv2 détectées par IEM : l'extrait d'artichaut dilué est déposé sur des grilles sensibilisées avec l'antisérum d, puis décoré avec le même antisérum ($G \times 60\ 000$). (*Particles of Cbv2 isolate as detected by IEM : the diluted artichoke extract was layered on sensitized grids and decorated with d antiserum.*)
- B : Présence de « laminated aggregates » et de « pinwheels » dans le cytoplasme de *Lathyrus odoratus* infecté par l'isolat Cbv2 ($G \times 25\ 500$). (*Pinwheels and laminated aggregates in the cytoplasm of Lathyrus odoratus cell infected with Cbv2 isolate.*)
- C : Particules virales de préparation semi-purifiée de l'isolat Cv17. Les particules apparaissent fortement pénétrées par le colorant ($G \times 100\ 000$). (*Virus particles from a partially purified preparation of Cv17 isolate. Most particles are penetrated by stain.*)
- D et E : Réactions sérologiques en immunodiffusion Sbs avec l'isolat Cv25.
 D = Antisérum CMV — Cv25 non dilué.
 E = Antisérum CMV — LQ dilué au 1/4.
 1 = Extrait de tabac sain.
 2 = Extrait de tabac infecté par l'isolat Cv25.
 3 = Extrait de tabac infecté par CMV — LQ.
 4 et 5 = Extraits d'artichaut infecté naturellement par Cv25.
 6 = Extrait d'artichaut sain.
 (*Serological reactions obtained in immunodiffusion Sbs with Cv25 isolate.*)
 1 = Healthy tobacco extract.
 2 = CMV — Cv25 infected tobacco extract.
 3 = CMV — LQ infected tobacco extract.
 4 and 5 = CMV naturally infected artichoke extracts.
 6 = Healthy artichoke extract.



Les études poursuivies avec l'isolat CV17 depuis la rédaction de cet article permettent de présenter l'addendum suivant :

Addendum (novembre 1983)

Les épreuves sérologiques effectuées en immunodiffusion en agar OXOID n° 1, Code L.11, 1 p. 100 avec citrate de sodium 0,1 M, sulfite de sodium 0,02 M pH 7,5, ou en agarose (Indubiose A37) 0,8 p. 100 avec le tampon véronal à pH 8,4 en utilisant l'antisérum BBWVI de UYEMOTO et PROVVIDENTI ont révélé des réactions avec l'isolat artichaut CV17. D'autres observations effectuées au microscope électronique du matériel infecté par l'isolat CV17 ont également révélé des aspects ultrastructuraux confortant l'hypothèse du BBWV tels que les viroplasmés (granules denses), les tubules constitués de particules virales, les zones d'inclusions amorphes et les vésicules abondantes contenant des fibrilles.

Ces résultats sérologiques et cytologiques permettent d'affirmer que l'isolat artichaut CV17 s'assimile au groupe du BBWV.

REMERCIEMENTS

Nous remercions Mlle BOGUAIS et M. GOURRET (Laboratoire de Biologie cellulaire, Univ. Beaulieu-Rennes, pour leur contribution en microscopie électronique, le Professeur MARTELLI et ses collaborateurs (Institut de Pathologie végétale, Université de Bari) pour l'envoi des sérums anti-AILV, ALV, AMCV, AVBV, AYRV et BBWV, MM. DEVERGNE et CARDIN (Station de Pathologie végétale, I.N.R.A. — Antibes) pour les sérums anti-CMV, les Docteurs UYEMOTO et PROVVIDENTI (Department of Plant Pathology, New York State Agricultural Experiment Station, Geneva 14456) pour le sérum anti-BBWV groupes I et II, le Laboratoire de Virologie de Turin (Italie) pour un sérum anti-BBWV, M. MARTIN (Station d'Amélioration des Plantes, I.N.R.A. — Avignon) pour son aide technique.

PLANCHE 4

- A, B, C et D : Coupes ultra-fines obtenues de feuilles de *Lathyrus odoratus* infecté par l'isolat Cv17. (*Ultrathin sections from leaf tissues of Lathyrus odoratus infected by isolate Cv17.*)
- A : Cytoplasme très perturbé. On remarque des viroplasmés (VP) constitués par de nombreuses particules ; des tubules (T) et une zone vésiculée importante (Zv) ; certaines vésicules contiennent des fibrilles (flèches), (G × 12 500). (*Altered cytoplasm showing viroplasmés (VP) with numerous particles ; tubules (T) and vesiculate zones (Zv) ; some vesicles contain fibrils (arrows).*)
- B : Viroplasmé (Vp) et vésicule avec fibrille (flèche), (G × 31 000). (*Viroplasmé and vesicle with fibril (arrow).*)
- C : Présence de nombreux tubules (T) ; on observe des coupes longitudinales et transversales (flèche) de ces tubules, une zone vésiculée (Zv) avec fibrilles (G × 12 500). (*Showing numerous tubules (T), longitudinal and transversal sections (arrow) of tubules and vesicles zones (Zv) with fibrils.*)
- D : Coupe longitudinale des tubules (T) ; ceux-ci sont constitués par des sphérules (Sp), (G × 71 700). (*Tubules (T) sectioned longitudinally reveal that the spherules (Sp) are linearly arranged.*)
- E : On observe la perturbation et les anomalies sinucuses (flèches) dans les chloroplastes (Ch) chez *Vigna unguiculata* infecté par l'isolat Cv17 ainsi que la présence d'une importante zone vésiculée (Zv) avec des fibrilles dans certaines vésicules (G × 20 700). (*Showing chloroplasts (Ch) with anomalies (arrow) in Vigna unguiculata cell infected by Cv17 isolate and a vesiculated zone (Zv) with fibril.*)

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Cadilhac Brigitte, Marrou J.**, 1976. Etude ultrastructurale du virus du flétrissement de la fève sur laitue, broad bean wilt virus (BBWV). *Ann. Phytopathol.*, **8**, 471-476.
- Costa A. S., Duffus J. E., Morton D., Yarwood C. E., Bardin R.**, 1959. A latent virus of California artichoke. *Phytopathology*, **49**, 49-53.
- Delécolle Brigitte, Lot H.**, 1981. Viroscs de l'ail: I. Mise en évidence et essais de caractérisation par immunoelectromicroscopie d'un complexe de trois virus chez différentes populations d'ail atteintes de mosaïque. *Agronomie*, **1**, 763-770.
- Devergne J. C., Cardin L.**, 1973. Contribution à l'étude du virus de la mosaïque du concombre (CMV). IV. Essai de classification de plusieurs isolats sur la base de leur structure antigénique. *Ann. Phytopathol.*, **5**, 409-430.
- Frowd J. A., Tomlinson J. A.**, 1972. Relationship between a parsley virus, nasturtium ringspot virus and broad bean wilt virus. *Ann. Appl. Biol.* **72**, 189-195.
- Gallitelli D., Rana G. L., Di Franco A.**, 1978. Il virus della scolorazione perinervale del carciofo. *Phytopathol. Mediterr.*, **17**, 1-7.
- Gigante R.**, 1951. Il mosaico del carciofo. *Boll. Staz. Patol. Veg. Roma.*, **7**, 177-181.
- Lisa V.**, 1971. Two viruses naturally infecting cultivated cardon, *Cynara cardunculus* L. *Phytopathol. Mediterr.*, 231-237.
- Lot H., Marrou J., Quiot J. B., Esvan C.**, 1972. Contribution à l'étude du virus de la mosaïque du concombre (CMV). II. Méthode de purification rapide du virus. *Ann. Phytopathol.*, **4**, 25-38.
- Majorana G., Rana G. L.**, 1970. Un nuovo virus latente isolato da carciofo in Puglia. *Phytopathol. Mediterr.*, **9**, 193-196.
- Marrou J., Mehani S.**, 1964. Etude d'un virus parasite de l'artichaut. *C.R. Acad. Agric. Fr.*, **50**, 1053-1064.
- Marrou J., Quiot J. B., Marchoux G., Duteil M.**, 1974. Caractérisation par la symptomatologie de quatorze souches du virus de la mosaïque du concombre et de deux autres *Cucumovirus*: tentative de classification. *Proc. Eur. Discus. Group. CMV Gent.*, 107-122.
- Martelli G. P.**, 1965. L'arricciamento maculato del carciofo (*Cynara scolymus* L.). *Phytopathol. Mediterr.*, **4**, 58-60.
- Martelli G. P., Rana G. L., Savino V.**, 1977. Artichoke Italian latent virus. In *CMI/AAB Descr. Plant Viruses*, n° 176.
- Martelli G. P., Russo M.**, 1977. Plant virus inclusion bodies. *Adv. Virus Res.*, **21**, 175-266.
- Martelli G. P., Russo M., Rana G. L.**, 1979. A survey of the virological problems of *Cynara* spp. Studi sul carciofo, 3^e Congr. *Int. Carciofo*, Bari, 27-30 novembre, 895-927.
- Morton D. J.**, 1961. Host range and properties of the globe artichoke curly dwarf. *Phytopathology*, **51**, 731-734.
- Pécaut P., Dumas de Vaulx R., Lot H.**, 1982. Virus-free clones of globe artichoke (*Cynara scolymus*) obtained after *in vitro* propagation. 21^e Congr. *Int. Hort. Hambourg*.
- Pécaut P.**, 1983. Amélioration des variétés d'artichaut: variétés à multiplication végétative, variétés à multiplication par semences, clones sans virus issus de multiplication *in vitro*. *C.R. Acad. Agric. Fr.*, **68**, 69-78.
- Purcifull D. E., Batchelor D. L.**, 1977. Immunodiffusion tests which sodium dodecyl sulphate (SDS)-treated plant viruses and plant viral inclusions. *Univ. Fla. Agric. Exp. Stn Bull.* 788, 39 p.
- Rana G. L., Gallitelli D., Kyriakopoulou P. E., Russo M., Martelli G. P.**, 1980. Host range and properties of artichoke yellow ringspot virus. *Ann. Appl. Biol.*, **96**, 177-185.
- Rana G. L., Russo M., Gallitelli D., Martelli G. P.**, 1982. Artichoke latent virus: characterisation, ultrastructure and geographical distribution. *Ann. Appl. Biol.*, **101**, 279-289.
- Russo M., Martelli G. P.**, 1975. Light and electron microscopy of broad bean wilt virus intracellular inclusions. *J. Submicrosc. Cytol.*, **7**, 335-347.
- Russo M., Rana G. L.**, 1978. Occurrence of two legume viruses in artichoke. *Phytopathol. Mediterr.*, **17**, 212-216.
- Savino V., Gallitelli D., Margarita Jankulova, Rana G. L.**, 1977. A comparison of four isolates of artichoke Italian latent virus (AILV). *Phytopathol. Mediterr.*, **16** (2-3), 41-50.