Cytopathologie ultrastructurale du virus latent de l'artichaut chez *Nicotiana benthamiana*

Auguste Migliori, Jean-Pierre Gourret

► To cite this version:

Auguste Migliori, Jean-Pierre Gourret. Cytopathologie ultrastructurale du virus latent de l'artichaut chez *Nicotiana benthamiana*. *Agronomie*, 1987, 7 (2), pp.87-94. hal-00884972

HAL Id: hal-00884972

<https://hal.science/hal-00884972>

Submitted on 1 Jan 1987

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.

Cytopathologie ultrastructurale du virus latent de l'artichaut chez *Nicotiana benthamiana*

Auguste MIGLIORI & Jean-Pierre GOURRET (*)

I.N.R.A., Station de Pathologie Végétale, Centre de Recherches de Rennes, F 35650 Le Rheu

(*) Laboratoire de Biologie Cellulaire, UA C.N.R.S., n° 256, Université de Rennes 1, F 35042 Rennes Cedex

RÉSUMÉ

L'étude au microscope électronique des coupes fines de *Nicotiana benthamiana* Domin. infecté par le virus latent de l'artichaut (ALV) confirme et augmente les connaissances relatives à la cytopathologie de ce potyvirus. Au stade étudié, après double fixation glutaraldéhyde-acide osmique, le couple *N. benthamiana* ALV se distingue par la présence de 4 constituants absents des cellules saines. (a) Plusieurs vacuoles secondaires sont apparues autour de la vacuole centrale. (b) Des amas paracrystallins de virions sont accolés sur toute leur longueur au tonoplaste des vacuoles. Dans les brides cytoplasmiques séparant ces vacuoles les particules virales forment le plus souvent une monocouche ou plus rarement une couche double ou triple. (c) Les « inclusions cylindriques » (sensu Edwardson) se présentent sous la forme d'importants feuillets plurilamellaires (laminated aggregates) et de roues-à-aubes (pinwheels) comprenant le plus souvent 9 aubes faiblement incurvées. Cette structure et l'absence de rouleaux (scrolls) permet d'inclure cet ALV dans la subdivision II de la typologie d'Edwardson. (d) Des tubules de section circulaire de 80 nm de diamètre existent dans les cellules infectées et sont généralement associés aux groupes de virions. La cytopathologie du couple ALV-*N. benthamiana* est originale sur plusieurs points (tubules de 80 nm, arrangement paracrystallin des virions, importance des feuillets plurilamellaires). Elle devrait s'avérer utile dans le diagnostic viral.

Mots clés additionnels : ALV, potyvirus, diagnose, tubules, inclusions.

SUMMARY

Ultrastructural cytopathology of artichoke latent virus in Nicotiana benthamiana.

An electron microscopy study of thin sections from *Nicotiana benthamiana* Domin. infected with artichoke latent virus (ALV) corroborates and extends known data on the cytopathology of this potyvirus. At the stage studied, after double fixation with glutaraldehyde and osmium, *N. benthamiana* cells infected with ALV showed four features which do not occur in healthy cells : (a) many secondary vacuoles are present around the central vacuole ; (b) paracrystalline arrays of virus particles lie in parallel arrangement against the cytoplasmic face of the tonoplasts (inside the cytoplasmic bridges which separate vacuoles, virus particles generally form a monolayer and more rarely a double or triple layer) ; (c) cylindrical inclusions (sensu Edwardson) appear as thick and large laminated aggregates and as pinwheel arms that often include nine slightly curved blades (this structure and the absence of scrolls sustains assignment of ALV to Edwardson's subdivision II) ; (d) cylindrical tubules, 80 nm in diameter, occur in infected cells and are most often associated with the paracrystalline arrays of virus particles. The ultrastructural cytopathology of ALV in *N. benthamiana* had several characteristic features (80 nm tubules, paracrystalline arrangement of virus particles, importance of laminated aggregates), which may prove useful for diagnosis.

Additional key words : ALV, potyvirus, diagnosis, tubules, inclusions.

I. INTRODUCTION

Le virus latent de l'artichaut (Artichoke latent virus = ALV) est un virus flexueux appartenant au groupe des potyvirus (RANA *et al.*, 1982 ; MIGLIORI *et al.*, 1984).

Ce virus est fréquent dans les cultures d'artichaut de Bretagne. La détection biologique (réactions des hôtes différentiels) et sérologique (test ELISA =

Enzyme Linked Immunosorbent Assay) a permis de révéler le virus dans 98 à 100 p. 100 des échantillons éprouvés.

La présence quasi générale de l'ALV dans les cultures et l'observation d'inclusions intéressantes dans les cellules infectées nous ont conduit à poursuivre une étude cytopathologique plus approfondie. Les résultats obtenus sont discutés, notamment par rapport aux subdivisions des potyvirus mentionnées par EDWARDSON *et al.*, 1984.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'ALV provenant d'artichaut var « camus de Bretagne » non contaminé par d'autres virus est isolé chez *Chenopodium amaranticolor* Coste et Reyn, la sélection du virus est effectuée par 5 passages successifs à *C. amaranticolor* (1 passage correspond à un prélèvement d'une lésion locale). Après vérification de la pureté de l'ALV la multiplication est assurée chez *Nicotiana benthamiana* Domin.

A. Microscope électronique

Des échantillons de *N. benthamiana* sain ou infecté par l'ALV sont fixés au glutaraldéhyde 2,5 p. 100 dans une solution cacodylate 0,2 M pH 7,4 puis post-fixés à 4 °C au tétraoxyde d'osmium 1 p. 100. Après déshydratation à l'éthanol, suivi d'un passage à l'oxyde de propylène, les échantillons sont imprégnés d'un mélange Epon-Araldite (MOLLENHAUER, 1964) qui est soumis à la polymérisation. Les coupes ultra-fines obtenues à l'ultramicrotome sont colorées à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb et observées au microscope électronique JEOL 100 CX.

La platine goniométrique a été utilisée pour apprécier la structure tridimensionnelle des inclusions et des amas de virions. Des coupes semi-fines de 1 µm d'épaisseur ont été effectuées dans tous les échantillons inclus. Ces coupes sont colorées au bleu de toluidine et observées au microscope photonique.

III. RÉSULTATS

Nous avons jugé utile de préciser la terminologie établie par EDWARDSON pour décrire les inclusions des potyvirus (fig. 1).

La microscopie électronique confirme le caractère systématique de l'infection. A des degrés différents toutes les cellules contiennent des inclusions et des virions (fig. 2 à 13). Les amas d'inclusions les plus importants se rencontrent dans les cellules du parenchyme chlorophyllien. Les organites cellulaires qui ne montrent pas de différences ultrastructurales par rapport au témoin sain sont les parois, membrane cytoplasmique, noyau, plastes, reticulum, dictyosomes et peroxysomes. Si les mitochondries semblent parfois fusionnées et perturbées (fig. 10) c'est surtout le vacuome qui est modifié par la présence de plusieurs vacuoles secondaires séparées de la vacuole principale par des brides cytoplasmiques (fig. 5, 6, 7, 10, 11 et 12). Au contact des tonoplastes, dans le cytoplasme, en particulier au niveau des brides existent des filaments de 12 à 15 nm de diamètre accolés sur toute leur longueur à la membrane vacuolaire. Ces filaments très denses aux électrons sont entourés d'un halo plus clair d'environ 10 nm d'épaisseur. En se situant à égale distance les uns des autres (33-36 nm environ de distance centre-à-centre) et en formant plusieurs couches alignées en quinconce, ces filaments montrent un arrangement très régulier de nature paracristalline. Le nombre de filaments constitutifs des couches décroît au fur et à mesure que l'on s'éloigne du tonoplaste, produisant

Figure 1

Précisions terminologiques relatives aux inclusions des potyvirus.

Pour faciliter la description de ces assemblages complexes on peut les considérer comme des groupements de lamelles. La lamelle est prise comme unité structurale de base. Outre la forme plane de la lamelle déroulée, il est possible d'utiliser trois paramètres morphologiques : la courbure, le groupement en roue à aubes (nombre d'aubes sur une roue complète et régulière), le feuillement (nombre de lamelles empilées par feuillet). En A ci-dessus les inclusions sont supposées être coupées perpendiculairement à leur axe (⊙). La courbure peut être définie comme la rotation d'un vecteur orthogonal à la lamelle et se déplaçant du bord axial jusqu'au bout extérieur. Dans un rouleau (S) la courbure est supérieure à 360° (exemple représenté : $(3 \times 360) + 45 = 1125^\circ$). Dans une roue à aubes complète et régulière (PW) la courbure est inférieure à 360°. Elle est nulle ou presque nulle dans un feuillet plurilamellaire (LA). Une courbure moyenne peut être calculée pour une inclusion donnée ou pour les inclusions d'un certain potyvirus. La subdivision I de la typologie d'Edwardson correspond à une courbure très élevée (↗) et la subdivision II à une très faible courbure (↘).

Terminological details on potyvirus inclusions.

To facilitate the description of these complex structures, let us consider them as arrays of lamella. The lamella is taken as the basic unit. Beyond the planar shape of the unrolled lamella, one may use three morphological parameters : curvature, pinwheel formation (number of blades over a complete and regular wheel), lamination (number of lamella per aggregate). In part A above, inclusions are supposed to be cut perpendicular to their axis (⊙). The curvature is defined through the angular rotation of a vector orthogonal to the lamella and moving over one side from the axial edge of the lamella to the opposite or outer edge. In a scroll (S) the curvature is more than 360 degrees (example in the picture $(3 \times 360) + 45 = 1125$ degrees). In pinwheels (PW) the curvature is less than 360 degrees. It is almost equal to zero in laminated aggregates (LA). A mean curvature can be defined for a particular inclusion or for the overall inclusions of a specific potyvirus. Subdivision I in Edwardson's typology of the inclusions corresponds to the highest curvature (↗) while subdivision II corresponds to the lowest (↘).

ainsi une sorte d'arrangement en gradins (fig. 9). Dans ces agrégats les extrémités des filaments coïncident (fig. 3 et 4). La rareté des coupes parfaitement longitudinales passant par ces agrégats et l'incertitude que l'on a sur l'orientation de coupes approchant

Figure 2

Schéma des tubules et des arrangements paracrystallins des virions de l'ALV dans les cellules infectées de *Nicotiana benthamiana*.

Schematic view of tubules and paracrystalline arrays of ALV particles in infected cells of *Nicotiana benthamiana*.

Abréviations utilisées dans les figures (Figures 1 à 13).

Abbreviations used in the figures (Figures 1 to 13).

aM : mitochondries anormales
abnormal mitochondria

LA : feuillet plurilamellaire
laminated aggregate

PW : inclusion en roue à aubes
pinwheel-like inclusion

PW9 : inclusion en roue à 9 aubes
pinwheel-like inclusion with 9 blades

S : inclusion en rouleau
scroll-like inclusion

SV : vacuole secondaire
secondary vacuole

T : tubule
tubule

V : vacuole
vacuole

Vi : virion
virus particle

cette orientation rend difficile la détermination de la longueur des filaments. Celle-ci serait de l'ordre de 700 nm. Il n'a pas été observé de filaments libres dans le hyaloplasme.

Des tubes cylindriques de 75 à 85 nm de diamètre sont fréquemment associés aux agrégats de filaments et alignés parallèlement à ceux-ci (fig. 11 et 12). Ces

tubules rectilignes existent aussi parfois isolément et sans orientation précise dans le hyaloplasme (fig. 10) ou bien ils forment des faisceaux. Leur longueur n'a pu être déterminée sur les coupes.

Le hyaloplasme des cellules de *N. benthamiana* infecté par l'ALV renferme d'abondantes inclusions caractéristiques des potyvirus, très nettement visibles en microscopie photonique. Elles apparaissent dans les coupes-fines sous forme d'étoiles ou de faisceaux fortement colorés au bleu de toluidine. Au microscope électronique à transmission, ces inclusions se révèlent toutes constituées de lamelles d'épaisseur constante, empilées et associées par leur bord en assemblages caractéristiques (fig. 13). Ces inclusions sont libres dans le hyaloplasme ; elles ne sont pas liées à la membrane cytoplasmique. La platine goniométrique a permis de les photographier sous un angle qui facilite leur compréhension et leur description. Plusieurs aspects de leur morphologie méritent d'être soulignés. En adoptant la terminologie d'EDWARDSON, on note l'importance en surface et en épaisseur des feuillets plurilamellaires (laminated aggregates notés LA dans les clichés et schémas), la présence de roues-à-aubes (pinwheels *sensu stricto* notés PW) et l'absence de rouleaux (scrolls). Les feuillets plurilamellaires LA regroupent souvent près de 10 lamelles et parfois davantage. Ces lamelles de 5 à 6 nm d'épaisseur sont l'unité structurale de base du système. Leur courbure moyenne, définie dans la figure 1, est faible. Il a été possible de déterminer, sur une trentaine de cas, le nombre de feuillets soudés par leur bord à l'axe de la roue à aubes. Le plus fréquemment, le nombre de ces « aubes » est égal à neuf.

IV. DISCUSSION

La formation de vacuoles secondaires a déjà été observée et analysée dans le cas de potyvirus (MARTELLI *et al.*, 1969). Cependant que d'autres auteurs notent le fait en mentionnant la présence de brides cytoplasmiques où s'accumulent les particules virales (RUSSO & MARTELLI, 1969 ; KIM & FULTON, 1969 ; HOEFERT, 1969 ; WEINTRAUB & RAGETLI, 1970 ; BUVAT, 1974 ; GOURRET & TRIHARSO, 1977). Cette observation est donc fréquente chez les potyvirus.

Les filaments de 12-15 nm de diamètre correspondent très probablement aux virions bien que leur longueur, leur composition, leur antigénicité n'aient pu être déterminées.

Si la proximité des particules virales par rapport aux tonoplastes a été relatée dans d'autres études cytopathologiques consacrées à des potyvirus (ZETTLER *et al.*, 1968 ; KIM & FULTON, 1969 ; RUSSO & MARTELLI, 1969 ; MARTELLI *et al.*, 1969 ; WEINTRAUB & RAGETLI, 1970 ; BUVAT, 1974 ; VERHOYEN *et al.*, 1976 ; TEAKLE & PARES, 1977) c'est la première fois à notre connaissance qu'un arrangement paracrystallin de potyvirus est observé. Il est à noter qu'une légère torsion affecte les virions les uns par rapport aux autres. Ce type de torsion se rencontre dans les cristaux liquides ou mésophases cholestériques (BOULIGAND, 1972 et 1984).

Quelle est la composition et la signification des tubules cylindriques de 80 nm ? BEGTRUP (1976) a

Figure 3

Coupe longitudinale ou sublongitudinale d'un amas de virions (flèche). Barre : 1 000 nm. Virions (ALV-N, benthamiana).

Longitudinal or sublongitudinal section of a virus-particle array (arrow). Bar : 1 000 nm. Virus particles (ALV-N benthamiana).

Figure 4

Un agrandissement de la figure 3. Barre : 100 nm.

A higher magnification of figure 3. Bar : 100 nm.

Figure 5

Bride cytoplasmique renfermant une monocouche de virions. Barre : 100 nm. Vacuole (V), vacuole secondaire (SV).

Cytoplasmic bridge containing a monolayer of virus particles. Bar : 100 nm. Vacuoles (V), secondary vacuoles (SV).

Figure 6

Bride cytoplasmique renfermant une double couche de virions. Barre : 200 nm.

Cytoplasmic bridge containing a double layer of virus particles. Bar : 200 nm.

Figure 7

La figure 7 est un agrandissement de la figure 6. Barre : 50 nm.

Higher magnification of figure 6. Bar : 50 nm.

Figure 8

Amas paracrystallin de virions montrant la torsion progressive de leur direction. Sur la partie en coupe oblique à gauche, la bande claire de part et d'autre de chaque virion correspond au halo circulaire qui entoure chaque particule vue en coupe transversale. Au-delà du halo se situe le hyaloplasme moyennement dense aux électrons. Barre : 10 nm.

Paracrystalline array of virus particles showing a progressive twist of their axis. On the left of the figure, the light bands which lie on both sides of the particles correspond to the circular halo which surrounds each particle in transverse section. Beyond the halo is the moderately electron-dense hyaloplasm. Bar : 100 nm.

Figure 9

Amas paracrystallin de virions montrant la disposition « en gradins » des couches successives et l'arrangement en quinconce. Barre : 100 nm.

Paracrystalline array of virus particles showing a triangular lattice (quincunx). On the cytoplasmic side, the number of particles gradually decreases in tiers. Bar : 100 nm.

Tubules et virions (ALV-N. benthamiana).

Tubules and virus particles (ALV-N. benthamiana).

Figure 10

Les tubules cylindriques de 80 nm de diamètre sont vus en coupes transversales, obliques ou longitudinales (T). Noter qu'il n'y a pas de virions à leur contact. aM : Mitochondries anormales, alvéolées. Barre : 500 nm.

Cylindrical tubules 80 nm in diameter are seen in transverse, oblique or longitudinal section. No virions appear to be in contact with them. aM : abnormal, alveolar mitochondria. Bar : 500 nm.

Figure 11

Assemblage mixte de tubules (T) et de virions (Vi). Barre : 100 nm.

Composite array of tubules (T) and virus particles (Vi). Bar : 100 nm.

Figure 12

Assemblage mixte de tubules (T) et virions (Vi) au contact du vacuome de la cellule infectée. Une partie de la vacuole principale est visible à droite (V). Barre : 500 nm.

Composite array of tubules (T) and virus particles (Vi) associated with secondary vacuoles (SV). Part of the central vacuole appears on the right (V). Bar : 500 nm.

13

Figure 13

Vue générale des inclusions et des virions (ALV-N. benthamiana). Noter la morphologie des inclusions et la position juxtavacuolaire des groupes de virions, (Vi). T : tubules en section transversale. Barre : 1 000 nm.

General view of inclusions and virus particles (ALV-N. benthamiana). Note the morphology of the inclusions and the juxtavacuolar location of virus particle arrays, (Vi). T : transverse section of tubules. Bar : 1 000 nm.

noté une association de microtubules de 20 nm avec les feuillettes plurilamellaires (LA) d'un potyvirus. De même une association paracristalline régulière de cylindres creux d'environ 60 nm et de virions appartenant à un potyvirus, a été observée (GOURRET, 1975). Dans ce cas les cylindres étaient de nature membranaire et dérivait du reticulum endoplasmique. Dans le cas présent, les tubules de 80 nm sont ouverts aux extrémités et ne semblent pas être formés par une membrane. Ces tubules qui pourraient résulter d'une réorganisation de protéines cellulaires préexistant à l'infection virale ou de matériaux néosynthétisés sont un élément nouveau et intéressant de la cytopathologie du couple ALV-*N. benthamiana*. En raison de leur diamètre et de leur structure ces tubules ne peuvent être confondus avec les rouleaux ou scrolls que forment de nombreux potyvirus (EDWARDSON, 1966). Ils diffèrent aussi des tubules de 20-22 nm de diamètre signalés dans le cas de la mosaïque de la Betterave (BMV), (RUSSO & MARTELLI, 1969 ; MARTELLI *et al.*, 1969).

Le couple ALV-*N. benthamiana* semble être un bon modèle pour étudier la géométrie et la dynamique de formation des inclusions dites « cylindriques ». Les aubes en feuillettes plurilamellaires ont une épaisseur suffisante pour être vues en microscopie photonique, facilitant ainsi une reconstitution tridimensionnelle complète de plusieurs inclusions au moyen de coupes sériées et de la platine goniométrique. Le nombre d'aubes égal à 9 se retrouve fréquemment dans les études de cytopathologie des potyvirus. On peut se

demander si ce nombre dépend de la plante-hôte ou du génome viral. En ce qui concerne la courbure des lamelles, ce type de question a été tranché en faveur des gènes viraux (EDWARSON, 1974 ; EDWARDSON *et al.*, 1984).

EDWARDSON & CHRISTIE (1978) ont montré l'intérêt des inclusions induites par les virus dans la classification et diagnostic viral. D'autres travaux confortent ce raisonnement dans le cas de potyvirus (Mc DONALD & HIEBERT, 1974 ; CHAMBERLAIN & CATHRALL, 1977 ; MERNAUGH *et al.*, 1980). Les inclusions « cylindriques » par EDWARDSON (1968) sont ici représentées par des roues à aubes (pinwheels PW) et par d'abondants feuillettes plurilamellaires. Cet assortiment d'inclusions permet de rattacher l'ALV étudié à la subdivision II de la typologie établie par EDWARDSON (1974 et complétée en 1984). RANA *et al.*, 1982, aboutissaient à la même conclusion. Les autres aspects des inclusions observées dans le couple ALV-*N. benthamiana* permettent-ils de préciser la diagnose ? Il est raisonnable de penser que les tubules de 80 nm et la structure paracristalline des groupements de virions puissent permettre d'affiner la diagnose si l'on associe des critères cytologiques à l'étude sérologique des inclusions. Les propriétés antigéniques des inclusions ont en effet été utilisées avec succès par YEH & GONSALVES (1984) ; PURCIFULL *et al.* (1984a et b) pour la différenciation des potyvirus.

Reçu le 29 avril 1986.

Accepté le 8 octobre 1986.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Begtrup J., 1976. Tubular structures in the cytoplasm of mesophyll cells in plants infected with carnation vein mottle virus. *Phytopathol. Z.*, **86**, 127-135.
- Bouligand Y., 1972. Twisted fibrous arrangements in biological materials and cholesteric mesophases. *Tissue & cell*, **4**, 189-217.
- Bouligand Y., 1984. Cristaux Liquides. In *Encyclopaedia universalis*, 754-759.
- Buvat R., 1974. Structures cytoplasmiques apparemment induites par un virus dans les faisceaux conducteurs d'entre-nœuds de *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae). *C.R. Acad. Sci.*, Paris, **278**, 3195-3198.
- Chamberlain J. A., Cathrall P. L., Jellings A. J., 1977. Symptoms and electron microscopy of ryegrass mosaic virus in different grass species. *J. gen. Virol.*, **36**, 297-306.
- Edwardson J. R., 1968. Electron microscopy of cytoplasmic inclusions in cells infected with rod-shaped viruses. *Am. J. Bot.*, **53**, 359-364.
- Edwardson J. R., 1966. Cylindrical inclusions in the cytoplasm of leaf cells with tobacco etch virus. *Science*, **153**, 883-884.
- Edwardson J. R., 1974. Some properties of the potato virus Y group. *Fla. Agric. Exp. Stn. Monogr.*, **4**, 398.
- Edwardson J. R., Christie R. G., 1978. Use of virus-induced inclusions in classification and diagnosis. *Ann. Rev. Phytopathol.*, **16**, 31-35.
- Edwardson J. R., Christie R. G., Ko N. J., 1984. Potyvirus cylindrical inclusions. Subdivision IV. *Phytopathology*, **74**, 1111-1114.
- Gourret J. P., 1975. Une étude ultrastructurale comparative des *Mycoplasmes phytopathogènes*, des bactéries des nodules racinaires et des plastides. Thèse d'Etat C 207-59, Rennes 1975. AO CNRS 13196.
- Gourret J. P., Triharso, 1977. Etude ultrastructurale d'une virose et d'une mycoplasmoses d'*Arachis hypogaea* L. *C.R. Acad. Sci.*, Paris, sér. D, **284**, 179-182.
- Hoefert L. L., 1969. Proteinaceous and virus-like inclusions in cells infected with beet mosaic virus. *Virology*, **37**, 498-501.
- Kim K. S., Fulton J. P., 1969. Electron microscopy of pokeweed leaf cells infected with pokeweed mosaic virus. *Virology*, **37**, 297-308.
- Martelli G. P., Russo M., Castellano M. A., 1969. Ultrastructural features of *Malva parviflora* L. with vein clearing and of plants infected with beet mosaic virus. *Phytopathol. mediterr.*, **8**, 175-186.
- Mc Donald J. G., Hiebert E., 1974. Ultrastructure of cylindrical inclusions induced by viruses of the potato Y group as visualized by freeze-etching. *Virology*, **58**, 200-208.
- Mernaugh R. L., Gardner W. S., Yocom K. L., 1980. Three dimensional structure of pinwheel inclusions as determined by analytical geometry. *Virology*, **106**, 273-281.
- Migliori A., Lot H., Pecaut P., Duteil, Rouze-Jouan J., 1984. Les virus de l'artichaut. I. Mise en évidence de trois virus dans les cultures françaises d'artichaut. *Agronomie*, **4**, 257-268.
- Mollenhauer H. H., 1964. Plastic embedding mixtures for use in electron microscopy. *Stain Technology*, **39**, 111-114.
- Purcifull D., Edwardson J., Hiebert E., Gonsalves D., 1984a. Papaya ringspot virus C.M.I./A.A.B. *Description of Plant Viruses*. N° 292.
- Purcifull D., Hiebert E., Edwardson J., 1984b. Watermelon mosaic virus 2 C.M.I./A.A.B. *Description of Plant Viruses*. N° 293.
- Rana G. L., Russo M., Gallitelli D., Martelli G. P., 1982. Artichoke latent virus : characterization, ultrastructure and geographical distribution. *Ann. Appl. Biol.*, **101**, 279-289.

- Russo M., Martelli G. P.**, 1969. Cytopathology of *Gomphrena globosa* L. plants infected by beet mosaic virus. *Phytopathol. mediterr.*, **8**, 65-82.
- Teakle D. S., Pares R. D.**, 1977. Potyvirus (Potato virus Y) group. In *Atlas of Insect and Plant Viruses*. Ed. K. Maramorosch, **8**, 311-321. Academic Press.
- Verhoyen M., Esparza-Duque J., Matthieu J. L., Horvat F.**, 1976. Identification du virus latent du céleri en Belgique. *Parasitica*, **32**, 158-166.
- Weintraub M., Ragetli H. W. J.**, 1970. Distribution of virus like particles in leaf cells of *Dianthus barbatus* infected with carnation vein mottle virus. *Virology*, **40**, 868-881.
- Yeh S. D., Gonsalves D.**, 1984. Purification and Immunological Analyses of Cylindrical Inclusion Protein Induced by Papaya Ringspot Virus and Watermelon Mosaic Virus 1, *Phytopathology*, **74**, 1273-1278.
- Zettler F. M., Edwardson S. R., Purcifull D. E.**, 1968. Ultramicroscopic differences in inclusions of papaya mosaic virus and papaya ringspot virus correlated with differential aphid transmission. *Phytopathology*, **58**, 332-335.