



Présence du Tobacco Rattle Virus (TRV) dans les cultures d'artichaut en France (1)

Auguste Migliori, Hervé Marzin, Véronique Legall, Etienne Homo, Jean Corre

► To cite this version:

Auguste Migliori, Hervé Marzin, Véronique Legall, Etienne Homo, Jean Corre. Présence du Tobacco Rattle Virus (TRV) dans les cultures d'artichaut en France (1). *Agronomie*, 1985, 5 (6), pp.549-552. <hal-00884784>

HAL Id: hal-00884784

<https://hal.science/hal-00884784v1>

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.



HAL Authorization

Présence du Tobacco Rattle Virus (TRV) dans les cultures d'artichaut en France (1)

Auguste MIGLIORI & Hervé MARZIN (*)

avec la collaboration technique de Véronique LEGALL (**), Etienne HOMO (**) & Jean CORRE (***)

I.N.R.A., Station de Pathologie végétale, Centre de Recherches de Rennes, F 35650 Le Rheu (1)

(*) Service de la Protection des Végétaux, G.R.I.S.P. de Rennes, F 35650 Le Rheu

(**) Comité Action Technique et Economique (CATE), Station expérimentale de Vezendoquet, F 29250 St-Pol-de-Léon

(***) I.N.R.A., Station d'Amélioration des Plantes, F 29250 Plougoulm

RÉSUMÉ

Le tobacco rattle virus (TRV) a été mis en évidence dans les cultures d'artichaut, chez *Solanum nigrum* et dans le sol, en Bretagne. Les *S. nigrum* présents dans les cultures sont contaminés (18 sur 40 éprouvés). Les premières détections permettent d'affirmer que le virus est assez répandu dans le sol des cultures d'artichaut. Le nématode vecteur *Trichodorus primitivus* est parallèlement observé dans le sol de ces mêmes cultures.

Les épreuves biologiques, les transmissions par voie mécanique et par *T. primitivus*, les épreuves sérologiques et l'observation des particules typiques des Tobravirus au microscope électronique permettent d'identifier cet isolat au TRV dénommé TRV-Artichaut (TRV-A).

Mots clés additionnels : *Solanum nigrum*, *Trichodorus primitivus*, sérologie, transmission.

SUMMARY

Tobacco rattle virus in globe artichoke in France

Tobacco Rattle virus (TRV) was isolated in Brittany, from artichoke, *Solanum nigrum* and soil (using bait plants). *S. nigrum* present as a weed in the fields was infected at a rate of 18 out of 40 plants tested. First results suggest that this virus is widely distributed in agricultural soils which contain *Trichodorus primitivus*. Biological tests, transmission tests (mechanical and vector), serological tests, observation of the typical particles of tobnaviruses by electron microscopy identified the isolate as the TRV strain known as TRV-Artichoke (TRV-A).

Additional key words : *Solanum nigrum*, *Trichodorus primitivus*, serology, transmission.

I. INTRODUCTION

Le tobacco rattle virus (TRV) est mentionné en Europe, aux USA, en Amérique latine et au Japon. Ce virus a été l'objet d'études approfondies (HARRISON & ROBINSON, 1978). Divers isolats ont été étudiés, notamment du point de vue biologie moléculaire (FRITSCH *et al.*, 1977 ; HARRISON & ROBINSON, 1978 ; KÜRPPA *et al.*, 1981 ; MAYO, 1982 ; ROBINSON, 1983).

Dans le cadre de l'étude des virus de l'artichaut en Bretagne, 4 virus ont été mis en évidence (MIGLIORI *et*

al., 1984a,b), un 5^e isolat regroupant les caractéristiques du TRV a été révélé. Ce virus a été mentionné chez l'artichaut au Brésil par CHAGAS *et al.* (1969), CHAGAS & SILBERSCHMIDT (1972). En Europe, bien qu'observé chez différentes plantes, il n'avait pas été signalé chez l'artichaut.

Les caractéristiques de cet isolat TRV sont précisées dans cette note.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. Transmission du virus

1. Par voie mécanique

Les extraits sont préparés par broyage au mortier des tissus foliaires d'artichaut, de *Nicotiana tabacum*

(1) Cette étude réalisée en Bretagne s'intègre dans le programme pluridisciplinaire de la « Fatigue des sols » en culture d'artichaut soutenu par l'E.P.R. de Bretagne.

L. var « Xanthi n.c. », de *Physalis floridana* Rydb. et de *Solanum nigrum* L. W/V = 1/5 (poids/volume) dans le tampon phosphate 0,01 M pH 7 contenant 0,2 p. 100 de DIECA (diéthylthiocarbamate de sodium). L'inoculation est effectuée en présence de charbon végétal activé et de carborundum 600 mesh (80 mg/ml dans les 2 cas).

2. Au niveau du sol

La terre prélevée dans les cultures d'artichaut près des racines est placée dans des terrines ; de jeunes plants de *N. tabacum* et de *P. floridana* y sont repiqués afin de piéger le virus.

3. Par nématode, *Trichodorus primitivus* (de Man) Micoletzky

Les *T. primitivus* sont prélevés du sol puis déposés au niveau des racines de jeunes *P. floridana* et de *Cynara scolymus* L. semés dans un mélange de terre et de sable stérile.

B. Extraction des nématodes pour la transmission

L'extraction des nématodes est effectuée à partir d'un sol ayant montré sa capacité à transmettre le virus aux plantes pièges.

La récupération se réalise à partir de 8 à 10 l de sol passé au tamis de 1 mm de maille. Le sol fin est placé par fractions de 2 l environ dans un seau rempli d'eau (8 l).

L'ensemble est mélangé et, après une très courte décantation (2-3 mn), le surnageant est filtré sur 2 tamis de maille 40 µm placés sur une bassine qui recueille l'eau et les éléments fins. Les tamis de 40 µm sont ensuite placés sur des cuvettes contenant de l'eau qui affleure à la surface du tamis.

Le contenu des cuvettes est reversé dans le seau. L'opération est répétée 4 fois. Les nématodes sont récupérés au bout de 6 h et 24 h en filtrant l'eau sur 2 tamis de 20 µm juxtaposés. Les observations sont réalisées sur la fraction récupérée de ces 2 tamis qui contiennent des nématodes et des éléments fins du sol.

Les nématodes sont « pêchés » un à un à partir de la suspension et placés immédiatement à proximité des racines des plants à contaminer à raison de 15 ou 30 individus par plante. L'identification est faite sur une vingtaine d'individus de la population.

C. Purification du virus

La purification est effectuée à partir de *N. tabacum* var. « Xanthi n.c. » 7-12 j après l'inoculation. L'extraction est réalisée par broyage des feuilles (W/V = 1/5) en présence de tampon phosphate 0,06 M pH = 7 contenant 0,1 p. 100 de 2-mercaptoéthanol et chloroforme V/V. Après clarification par centrifugation 10 mn à 4 000 RPM, le surnageant est traité au PEG 6 000 à 5 p. 100. Après un repos de 4 h au froid, la suspension est centrifugée 30 mn à 15 000 RPM. La fraction virale est reprise avec du tampon phosphate 0,01 M pH = 7 contenant 1 p. 100 de triton et clarifiée 10 mn à 8 000 RPM. Après une centrifugation de 2 h à 40 000 RPM, le virus est solubilisé avec du tampon phosphate 0,01 M pH = 7 et centrifugé 2 h à 26 000 RPM en gradient de densité

25 p. 100 de saccharose dans le tampon phosphate 0,01 M pH = 7. Après centrifugation, les gradients sont analysés sur ISCO. Les fractions concernées sont collectées avec du tampon phosphate 0,01 M pH = 7.

D. Microscopie électronique

Les préparations (extractions directes de feuilles ou virus purifié) sont déposées sur grilles et colorées à l'acétate d'uranyl 2 p. 100, pH = 7.

E. Sérologie

Les épreuves sérologiques sont réalisées en agarose (Indubiose A₃₇) à 0,8 p. 100 dans un tampon véronal de pH = 8,4.

Les immun-sérums utilisés sont : PRN souche pomme de terre (Ecosse), CAM souche *Bidens pilosa* (Brésil) (HARRISON & WOODS, 1966 ; LISTER & BRACKER, 1969 ; HARRISON, 1970) fournis par Christiane FRITSCH (Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire de Strasbourg) et TRV souche *Solanum nigrum* obtenu par RANA (Université de Bari, Italie).

L'antigène utilisé en immunodiffusion est purifié de *N. tabacum*.

Le virus utilisé dans cette étude est isolé d'artichaut, de *S. nigrum* et du sol, piégé par *P. floridana*.

III. RÉSULTATS

A. Répartition du TRV-A

1. Chez l'artichaut

La plupart des artichauts cultivés dans le Nord-Finistère (var. « Camus de Bretagne ») ne sont pas infectés par le virus. Cependant, le TRV-A est décelé dans les cultures de plusieurs communes.

Les plantes atteintes n'extériorisent pas une symptomatologie spécifique de ce virus. Il est à noter qu'outre le TRV ces plantes sont dans la majorité également affectées par l'artichoke latent virus (ALV), et par un isolat (en cours d'étude) qui pourrait être assimilé au broad bean wilt virus (BBWV).

2. Dans le sol des cultures d'artichaut

Le TRV-A est plus fréquemment mis en évidence dans le sol des cultures d'artichaut. En effet, il n'est pas rare de contaminer *N. tabacum* « Xanthi n.c. » ou *P. floridana* repiqués dans un sol provenant d'une culture d'artichaut du Finistère. Dans ce cas, l'extraction nématologique à partir de la terre entourant les racines des plantes contaminées révèle la présence de *T. primitivus*.

B. Répartition des *Trichodoridae*

Dans la zone prospectée cultivée en artichaut, en première estimation, les *Trichodoridae* étaient représentés dans 21 parcelles sur 35 analysées à des niveaux de population s'échelonnant de 1 à 111 individus/kg de sol tamisé. Dans les parcelles éprouvées pour la transmission du TRV, *T. primitivus* était présent.

C. Plantes spontanées hôtes du TRV-A

S. nigrum est abondant en Bretagne, les plantes qui poussent dans les cultures d'artichaut peuvent être infectées par le TRV-A.

Dans une culture où le virus a été piégé au niveau du sol, 40 *S. nigrum* ont été éprouvés biologiquement en séparant les feuilles des racines lavées afin de comparer pour chaque plante les 2 extraits.

L'épreuve indique une concentration virale plus forte au niveau des racines par rapport au système aérien. 18 *S. nigrum* sur les 40 éprouvés se sont révélés contaminés.

D. Propriétés biologiques

1. Réaction des hôtes différentiels

Le virus est transmis sans difficulté par voie mécanique. Les hôtes les plus appropriés pour différencier le TRV-A sont *Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn., *Cucurbita pepo* Duch. var. « F₁ Diamant », *Vigna radiata* (L.) Wilczek, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (*V. sinensis*) qui réagissent par des lésions locales nécrotiques et *N. tabacum* var. « Xanthi n.c. » qui réagit par des anneaux et lésions locales nécrotiques irrégulières sur les feuilles inoculées et par des nécroses sur les feuilles et tiges avec déformation apicale.

2. Transmission au niveau du sol

N. tabacum et *P. floridana* sont contaminés après repiquage dans un sol prélevé dans une culture, la contamination est variable mais généralement faible. L'examen nématologique effectué au niveau des racines des plantes contaminées a toujours révélé la présence de *T. primitivus*.

3. Transmission par *T. primitivus*

Les *T. primitivus* prélevés au pied des plantes-pièges contaminées puis placés au niveau des racines des jeunes plantules dans un substrat stérile a permis la contamination de *C. scolymus* et *P. floridana*.

E. Propriétés sérologiques

L'épreuve sérologique en immunodiffusion a permis d'obtenir des arcs de précipitation avec l'antigène TRV-A et les immun-sérums PRN, CAM et TRV souche *S. nigrum*.

Les divers extraits mentionnés ci-après, TRV-artichaut, TRV-*S. nigrum* inoculés à *N. tabacum* et TRV piégé au niveau du sol par cette même plante ont réagi positivement vis-à-vis des 3 immun-sérums.

F. Microscopie électronique

1. Observation directe

L'observation des différents extraits déposés sur grilles après purification a permis de révéler la présence du TRV dans tous les cas étudiés, artichaut, *S. nigrum* et après transmission du virus par *T. primitivus*.

Les particules sont de 3 dimensions : courtes 60 nm, moyennes 120 nm et longues 200 nm ; dans nos préparations les particules courtes ne sont pas représentatives.

IV. CONCLUSION ET DISCUSSION

L'étude des maladies virales de l'artichaut a permis d'observer un 5^e virus. Les réactions des hôtes différentiels, les épreuves sérologiques, la transmission du pathogène par le nématode *T. primitivus* et l'observation des particules virales au microscope électronique ont permis de différencier ce virus de ceux déjà décrits (MIGLIORI *et al.*, 1984a,b) et de l'assimiler au tobacco rattle virus (TRV), dénommé TRV-A.

Ce virus est fréquemment piégé dans le sol des cultures d'artichaut de plusieurs communes du Finistère ; il est, par contre, moins évident de le révéler chez l'artichaut.

S. nigrum, largement répandu, est un hôte spontané important du TRV-A ; 45 p. 100 de ces plantes éprouvées biologiquement sont infectées sans en être affectées. La même observation a été faite en Ile-et-Vilaine avec le virus Y de la pomme de terre qui infecte *S. nigrum* de façon abondante sans extérioriser des symptômes (Joëlle ROUZE-JOUAN comm. pers.).

Les premières études sérologiques indiquent une légère relation de TRV-A avec la souche CAM (sérotypage III), considérée différente des souches du TRV (ROBINSON, 1983) et une analogie avec les souches PRN (Ecosse) et *S. nigrum* (Italie). Cette observation laisse supposer que l'isolat TRV-A pourrait être également présent dans d'autres cultures, notamment de pomme de terre, dans lesquelles *S. nigrum* est aussi abondant. La maintenance de ce virus est probablement assurée par *T. primitivus*, relativement plus répandu en Bretagne (Nord Finistère) que ne le laissent supposer les travaux de VAN HOOFF *et al.* (1967). Cette espèce est citée comme l'une des plus vectrices du TRV en Europe (TAYLOR & CADMAN, 1969).

La présence de 5 virus dans les champs d'artichaut en Bretagne devrait inciter à considérer plus sérieusement l'aspect phytopathologique de cette culture.

Une expérimentation concernant précisément l'effet pathogène propre du virus a été mise en place en avril 1984. Les premiers résultats indiquent un effet pathogène chez la plante. Cet effet sera évalué en fonction du virus considéré par rapport aux plants sains témoins.

Si la perte de rendement due au(x) virus s'avère significative, il sera nécessaire de mettre en place une sélection sanitaire. On dispose actuellement de la culture de méristèmes suivie de la multiplication *in vitro* ; cette technique proposée par PECAUT (1983) est fiable et présente en outre l'intérêt d'homogénéiser le matériel végétal. Pour la Bretagne, le remplacement de l'artichaut contaminé par du plant régénéré permettrait, d'une part, l'obtention d'un rendement plus élevé et plus régulier et, d'autre part, l'élimination du cumul des virus dans les cultures d'artichaut ainsi que leur progression et leur maintenance.

Afin de mieux assurer la mise en place du plant régénéré, la répartition des virus mis en évidence devra être établie en Bretagne. L'étude épidémiologique devrait situer parfaitement le problème notamment au niveau des sources d'inoculum (hôtes spontanés), des vecteurs et de la recontamination.

REMERCIEMENTS

Nous remercions vivement M. SCOTTO LA MASSÈSE (I.N.R.A. Antibes) pour ses conseils et son travail d'identification.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Chagas C. M., Flores E., Carner J.**, 1969. Una nova doenca de virus da alcachofra no estado de Sao Paulo. *Biologico*, **35**, 271-274.
- Chagas C. M., Silberschmidt K. M.**, 1972. Virus da faixa amarela da alcachofra : occorencia, transmissao mecanica e propriedades fisicas. *Biologico*, **38**, 35-40.
- Fritsch C., Mayo M. A., Hirth L.**, 1977. Further studies on the translation products of tobacco rattle virus RNA *in vitro*. *Virology*, **77**, 722-732.
- Harrison B. D.**, 1970. Tobacco Rattle Virus. In *CMI/AAB. Descr. Plant Viruses*, n° 12.
- Harrison B. D., Robinson D. J.**, 1978. The tobnaviruses. *Adv. Virus Res.*, **23**, 25-77.
- Harrison B. D., Woods R. V.**, 1966. Serotypes and particle dimensions of tobacco rattle viruses from Europe and America. *Virology*, **28**, 610-620.
- Hoof Van H. A., Maat D. Z., Seinhorst J. W.**, 1967. Quelques données sur la présence du Rattle Virus du tabac et de ses vecteurs en France. *Meded. Landbowh. Gent*, 1967, XXXII nr. 3/4, 939-947.
- Kurppa A., Jones A. T., Harrison B. D.**, 1981. Properties of spinach yellow mottle, a distinctive strain of tobacco rattle virus. *Ann. Appl. Biol.*, **98**, 243-254.
- Lister R. M., Bracker C. E.**, 1969. Defectiveness and dependence in three related strains of tobacco rattle virus. *Virology*, **37**, 262-275.
- Mayo M. A.**, 1982. Polypeptides induced by tobacco rattle virus during multiplication in tobacco protoplasts. *Intervirology*, **17**, 240-246.
- Migliori A., Lot H., Pecaut P., Duteil M., Rouze-Jouan J.**, 1984a. Les virus de l'artichaut. I — Mise en évidence de trois virus dans les cultures françaises d'artichaut. *Agronomie*, **4**, 257-268.
- Migliori A., Marzin H., Rana G. L.**, 1984b. Mise en évidence du Tomato Black Ring Virus (TBRV) chez l'artichaut en France. *Agro-nomie*, **4**, 683-686.
- Pecaut 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.
- Robinson D. J.**, 1983. RNA species of tobacco rattle virus strains and their nucleotide sequence relationships. *J. Gen. Virol.*, **64**, 657-665.
- Taylor C. D., Cadman C. M.**, 1969. In « *Viruses, Vectors and Vegetation* ». New York, Intersci. Publ., 55-94.