



**HAL**  
open science

## Presence du virus de la Mosaïque du Tabac dans les betteraves sucrières atteintes de rhizomanie. Détection par la méthode immunoenzymatique ELISA

C. Putz, M. Kuszala, J. Kuszala, J. Burckard, M. van Regenmortel

### ► To cite this version:

C. Putz, M. Kuszala, J. Kuszala, J. Burckard, M. van Regenmortel. Presence du virus de la Mosaïque du Tabac dans les betteraves sucrières atteintes de rhizomanie. Détection par la méthode immunoenzymatique ELISA. *Agronomie*, 1981, 1 (2), pp.123-126. hal-02727160

**HAL Id: hal-02727160**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02727160v1>**

Submitted on 2 Jun 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.

# Présence du virus de la Mosaïque du Tabac dans les betteraves sucrières atteintes de Rhizomanie. Détection par la méthode immunoenzymatique ELISA

Charles PUTZ, Maria KUSZALA, Jean KUSZALA, Jacqueline BURCKARD (\*), et Marc VAN REGEN-MORTEL (\*)

*Station de Pathologie Végétale, I.N.R.A. Colmar, 28, rue Herrlisheim, 68021 Colmar.*

*(\*) Laboratoire de Virologie, C.N.R.S., Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire, 15, rue Descartes, 67084 Strasbourg.*

## RÉSUMÉ

*Beet necrotic  
yellow vein virus,  
Tobacco mosaic virus,  
Rhizomanie,  
ELISA,  
Betterave sucrière,  
Beta vulgaris.*

L'étude fondamentale du virus appelé « Beet necrotic yellow vein virus » (BNYVV), responsable de la maladie dite « rhizomanie » de la Betterave sucrière, est fortement perturbée par la présence quasi permanente du virus de la Mosaïque du Tabac (VMT) dans les lots de plantes inoculées. Ce virus n'est cependant pas décelable lors de la première transmission mécanique à une plante-test ; il n'apparaît qu'après plusieurs repiquages. Par contre la méthode sérologique ELISA (CLARK & ADAMS, 1977) montre la présence, dans le jus même de radicules de betteraves rhizomaniées du champ, de très faibles quantités (inférieures à 100 nanogrammes/ml) de VMT appartenant tantôt à la souche U1, tantôt à la souche U2, ou encore aux 2 en mélange. Dans un cas précis, tous les prélèvements provenant d'un même champ ont réagi positivement au VMT. Le fait de déceler la présence du VMT dans les isolats provenant de champs différents de régions diverses nous incite à penser qu'il existe une association entre ce virus et celui de la Rhizomanie.

## ABSTRACT

*Beet necrotic  
yellow vein virus,  
Tobacco mosaic virus,  
Rhizomania,  
ELISA,  
Sugar beet,  
Beta vulgaris.*

*Occurrence of Tobacco Mosaic Virus in the "Rhizomania" infected beets. Detection by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)*

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) has been used to detect TMV in the rootlets of beets infected with beet necrotic yellow vein virus (BNYVV). TMV was present only in very low concentrations in the infected beets and its detection by mechanical inoculation to *Chenopodium quinoa* needed a series of transmissions. The possibility that the presence of TMV could have arisen as a glasshouse contamination was refuted by the serological findings.

## INTRODUCTION

Les études menées tant en Italie (CANOVA, 1966), qu'au Japon (TAMADA & BABA, 1971) sur la *Rhizomanie*, une nouvelle maladie de la Betterave sucrière, montrent que l'agent de cette maladie est un virus en bâtonnets appelé « Beet necrotic yellow vein virus » et transmis par le champignon du sol *Polymyxa betae*. Les travaux entrepris en France en 1972 confirment ces données (PUTZ & VUITTENEZ, 1974 ; VUITTENEZ, 1980).

Cependant la multiplication du virus de la Rhizomanie sur plantes-hôtes en serre se heurte à une inhabituelle « contamination » de ces plantes par le virus de la Mosaïque du Tabac (VMT). Nous avons pensé à une contamination, car les premières inoculations en serre faites avec un jus de

betteraves rhizomaniées du champ ne permettent quasiment jamais d'obtenir des lésions locales, révélatrices du VMT, sur des tabacs hypersensibles. De telles lésions locales n'apparaissent en général qu'aux 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> repiquages. Etant donné l'important pouvoir de multiplication du VMT et la facilité de sa transmission mécanique, l'hypothèse d'une contamination en serre était plausible.

Les précautions d'usage (mortiers stériles, pots bouillis, terre stérilisée, culture sous petits abris) se révèlent inefficaces. De plus, en partant de 50 betteraves rhizomaniées provenant de champs et de régions différentes, nous devons constater qu'aux 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> repiquages, tous les isolats avaient du VMT en plus du virus de la rhizomanie, malgré les précautions prises (isolement par cloisons en serre). Il s'avérait donc nécessaire d'avoir recours à une technique

très fine pour tenter de déceler la présence du VMT dans les racelles mêmes des betteraves rhizomaniées du champ. Nous avons adopté la méthode immunoenzymatique ELISA (CLARK & ADAMS, 1977) qui est connue pour sa grande sensibilité allant jusqu'au nanogramme de virus par ml de jus de plante testée.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les plantes (chénopodes, betteraves, tabacs) sont cultivées en serre (20-22 °C, 16 h d'éclairage) en pots n° 12 stérilisés dans l'eau bouillante. Le mélange terreux est désinfecté à la vapeur. Les tabacs et betteraves sont inoculés au stade 2 feuilles, les chénopodes au stade 10-12 feuilles.

Les isolats proviennent de racelles de betteraves rhizomaniées du champ ou bien conservés sur CaCl<sub>2</sub> en fines lanières de feuilles de chénopodes infectées et séchées (BOS, 1969). Le virus de la rhizomanie est essentiellement multiplié sur *Chenopodium quinoa* Wild. L'inoculum est constitué de 8 à 10 feuilles fraîches de *C. quinoa* couvertes de lésions locales. Ces feuilles, broyées à sec dans un mortier, sont additionnées de 5 ml de tampon phosphate 0,01 M pH 7,2 et d'un abrasif (KUSZALA & PUTZ, 1977). La présence du VMT est détectée par inoculation de tabacs hypersensibles : *Nicotiana tabacum* cvs. « Habana », et Samsun NN, et *N. sylvestris*. Les échantillons à analyser (1 g de racelles de betterave ou de feuilles de *C. quinoa* inoculés) sont broyés dans un mortier en présence de 3 ml de tampon PBS-Tween, puis filtrés sur une étamine.

Les souches U1 et U2 de VMT utilisées comme antigènes de contrôle dans les tests ELISA ainsi que l'obtention des antisérums, sont celles décrites précédemment (VAN REGENMORTEL & BURCKARD, 1980).

La technique ELISA (CLARK & ADAMS, 1977) a été modifiée comme suit : un extrait d'immunoglobulines IgG-anti VMT de chèvre à 1 µg/ml est utilisé à 37 °C pendant 1 h pour l'enrobage des cupules. Après 3 lavages consécutifs au PBS-Tween, on ajoute une solution d'albumine à 1 p. cent, puis la plaque est remise à 37 °C pour 15 mn. Ensuite les conjugués, des IgG de lapin anti-U1 et anti-U2 marquées à la phosphatase alcaline, sont incubées dans la plaque durant 3 h à 37 °C. Enfin, après addition du substrat, la réaction est arrêtée à l'aide d'une solution de soude après 30 mn. Les lectures se font au photomètre à une longueur de 405 nm. Les autres contrôles sérologiques de routine sont effectués par la technique de précipitation sur lame et observation au microscope à fond noir.

## RÉSULTATS

### 1. Inoculation directe en serre

1.1. L'inoculation à partir d'un jus de racelles ou de feuilles de betteraves rhizomaniées du champ n'a jamais permis d'obtenir directement des lésions locales typiques de VMT sur Tabac. Nous avons donc essayé de concentrer le virus présent. En partant de 500 g de feuilles à symptômes systémiques de betteraves rhizomaniées d'un champ de Rougemont (Loiret), nous avons obtenu un extrait purifié concentré 700 x. L'inoculation d'un tabac Habana avec cet extrait s'est traduite, 3 jours plus tard, par l'apparition de 10 lésions locales qui ont pu être attribuées au VMT par épreuve sérologique.

Il convient de rappeler ici que la distinction entre lésions locales dues au VMT et celles dues au virus de la rhizomanie

(BNYVV) n'est pas simple. Une lésion locale jaune, ronde, de 2 mm de diamètre sur une feuille de *C. quinoa* peut avoir été induite par le VMT, le BNYVV ou par une infection mixte. Tout clonage par lésion locale est, par ce fait, voué à l'échec. Une certaine distinction est possible lorsqu'un inoculum suffisamment concentré est utilisé. Dans ce cas, les lésions locales jaunes dues à une infection mixte (BNYVV + des traces de VMT) sont légèrement plus petites et plus vertes ; leur centre a une tendance nette à la nécrose. La présence du VMT est marquée par l'apparition de petites lésions locales imprimées, rondes et grises. Enfin, lorsque le VMT est abondant dans l'inoculum, des lésions locales petites et nombreuses se développent dès les 3<sup>e</sup> ou 4<sup>e</sup> jours après l'inoculation (contre 7 à 9 jours en moyenne avec le BNYVV). Ces lésions vert clair se dessèchent assez rapidement. La symptomatologie n'est donc équivoque sur *C. quinoa* qu'en présence de traces de VMT.

1.2. L'inoculation directe de racelles de betteraves rhizomaniées provenant de Grèce (régions de Larissa et de Platy) a permis de mettre en évidence la présence du VMT. Une souche du virus de la Rhizomanie reçue de Yougoslavie contenait du VMT d'après les symptômes de la feuille de *C. quinoa* yougoslave, puis l'apparition de lésions locales sur *Petunia hybrida* (hôte utilisé pour distinguer les souches U1 et U2 ; seule la souche U2 donne des lésions locales selon BURGYAN *et al.*, 1978).

1.3. Une technique mise au point par A. VUITTENEZ, consiste à planter une betterave rhizomaniée dans un pot de sable stérile et à la cultiver ensuite pendant 1 à 2 mois. La betterave est alors arrachée, le sable mis à sécher, puis un semis de betteraves est effectué. Ces jeunes plantules-pièges vont être contaminées par les spores du *Polymyxa betae* et, en général, extériorisent la maladie au bout de 2 mois. En prélevant les racelles de ces jeunes betteraves et en inoculant le jus obtenu par broyage, des lésions locales attribuables au VMT sont apparues directement sur feuilles de *C. quinoa*.

### 2. Méthode sérologique ELISA

De très faibles réactions colorées sont quelquefois apparues avec les 2 conjugués dans les cupules contenant des échantillons de jus de racelles broyées dans le tampon PBS-Tween (1 g/3 ml). Par comparaison avec des témoins ayant une concentration en U1 ou en U2 de 1, 10 et 100 ng, on peut estimer par densité optique (d.o.) que plusieurs des échantillons contenaient entre 1 et 10 ng de VMT par ml. L'un de ces échantillons a été concentré 40 fois en utilisant la technique classique de purification du BNYVV (PUTZ & KUSZALA, 1978). La d.o. de la réaction a été près de 10 fois plus intense que celle obtenue avec le même échantillon non concentré confirmant ainsi la présence du VMT à très faible dose dans les racelles de betteraves rhizomaniées du champ. Des tests identiques ont permis de montrer que le VMT pouvait également se trouver en très faibles concentrations dans le pivot et dans les feuilles de telles betteraves. Rappelons qu'il n'y a aucun motif antigénique commun entre le VMT et le BNYVV (TAMADA, 1975).

La technique ELISA nous a permis de montrer, en 1979, la présence du VMT dans les betteraves rhizomaniées provenant d'Alsace : Osthause dans 2 des 4 betteraves examinées, Erstein (3/5), Pfulgiesheim (3/3), de Bourgogne : Saülou-la-Chapelle (2/6) et du Bassin Parisien : Mondreville (3/11), Rougemont (1/10), Bucy-le-Roi (5/5). Dans

d'autres cas, cette présence n'a pu être démontrée directement : Yèvre-la-Ville (0/5), Reigneville (0/5), mais seulement lors d'inoculations successives. Au total, le VMT a pu être détecté dans près de 20 p. 100 des cas, directement dans le jus de radicules provenant du champ.

## DISCUSSION

### 1. Présence du VMT au champ

Une contamination fortuite par le VMT peut se produire lors d'une purification de virus, lors d'une inoculation ou même lors de la culture de plantes-hôtes en serre. L'usage du tabac par les fumeurs est une importante source de VMT (WETTER & BERNARD, 1977 ; WETTER, 1980). Pour cette raison, la preuve de la présence du VMT dans un inoculum par la voie de l'inoculation directe ne sera jamais irréfutable. Une simple trace de VMT peut en effet donner lieu à une importante multiplication virale. Il n'en est pas de même pour la méthode ELISA dont les résultats, par comparaison à des témoins, sont fiables. La faible concentration du VMT dans les betteraves rhizomaniées est un fait remarquable. CHEO & GERARD (1971) ont montré que la betterave était une plante très sensible au VMT, contenant plus d'1 mg de ce virus par g de feuille fraîche. Dans les conditions d'infection naturelle au champ, il semble plutôt que l'on soit en présence d'une « infection subliminale » (BALD & TINSLEY, 1967), c'est-à-dire d'un cas de non-extériorisation du virus avec des difficultés de mise en évidence par inoculation de retour ou par les techniques biologiques classiques. Ce faible taux de VMT peut se maintenir au cours des 3 à 4 inoculations suivantes, avant d'envahir littéralement toutes les plantes inoculées. Par clonage de lésions locales, c'est-à-dire en n'utilisant comme inoculum qu'une seule lésion locale de *C. quinoa*, infecté par le virus de la Rhizomanie et par le VMT sous forme de traces, il est parfois possible de maintenir le virus de la Rhizomanie sans pouvoir détecter le VMT. Mais dès que l'on concentre l'inoculum de 10 fois, par exemple en broyant simultanément 10 lésions locales préalablement découpées, le VMT se manifeste et peut alors être décelé dès le 4<sup>e</sup> jour après l'inoculation.

La présence du VMT à l'état de traces a été décrite chez plusieurs autres espèces végétales dont le Pommier et le Poirier (KIRKPATRICK & LINDNER, 1964 ; GILMER & WILKS, 1967), le Groseillier (KLEINHEMPEL, 1969) et la Vigne (GILMER & KELS, 1965 ; BERCKS, 1967). Le nombre de lésions locales obtenues après inoculation directe de *C. quinoa* y est très faible, alors que dès le 2<sup>e</sup> repiquage, la multiplication du VMT est intense. Ni BERCKS, ni KLEINHEMPEL n'ont pu mettre en évidence au microscope électronique des bâtonnets dans les feuilles de Vigne ou de Groseillier respectivement, par la technique pourtant très fine du leaf-dip de BRANDES (1957). Les 2 auteurs concluent à la présence du VMT en « très faibles quantités », les plantes atteintes au champ étant sans symptômes. Ces faits nous conduisent à penser que si le VMT n'est détectable que dans 20 p. 100 des cas par la méthode ELISA, il est quasi permanent dans les betteraves rhizomaniées.

### 2. Provenance du VMT dans les champs de betteraves rhizomaniées

Le VMT est capable d'infecter de nombreuses plantes hôtes. En 1966, l'Index des virus des végétaux évalue sa

gamme d'hôtes à 322 espèces. En 1978, HORVATH porte ce nombre à près de 800. Par inoculation mécanique, nous avons isolé le VMT des racines de Chénopode blanc et d'Epinaud présents dans un champ de betteraves. La transmission par la graine est très controversée pour ce virus, mais bien démontrée dans le cas de la Vigne (GILMER & KELTZ, 1967), du Pommier et du Poirier (GILMER & WILKS, 1967).

Par contre des transmissions par le sol ont été décrites. Par inoculation mécanique de tabacs hypersensibles, MIGLIORI & MARROU (1970) ont montré que les débris de plants de tomates contaminés restant dans le sol après la culture peuvent assurer la transmission du virus pendant plus d'un an. Il est ainsi fort probable que des plantes adventices porteuses de VMT assurent sa conservation dans leurs racines après le labour d'une année sur l'autre. Lorsque les débris de plantes malades ont été détruits par l'action de la microflore du sol, le VMT ne semble pas pouvoir se maintenir dans la terre (MESSIAEN *et al.*, 1962). Aucune transmission biologique du VMT par le sol n'est connue. Le fait que 20 p. 100 des betteraves rhizomaniées soient porteuses de VMT décelable pourrait justifier l'hypothèse d'une transmission par le champignon *Polymyxa betae*. Cependant, une étude portant sur la présence du Virus de la Mosaïque de la Tomate, très proche du VMT, dans les sols de la Côte du Liban, montre que 13 à 45 p. 100 des sols, selon les régions, sont contaminés (MAKKOUK & RANA, 1979). Il pourrait s'agir d'un phénomène général de contamination du sol par un virus connu pour sa très grande stabilité, puisqu'il apparaît être infectieux même après 50 ans de conservation dans du jus de plantes (SILBER & BURCK, 1965) et 52 ans dans des feuilles sèches de tabac (JOHNSON & VALLEAU, 1935). Les sources de contamination peuvent être nombreuses (BROADBENT, 1976).

### 3. Essais de séparation des 2 virus

La présence du VMT dans un isolat de virus de la Rhizomanie est gênante à 2 titres. D'abord le pouvoir de multiplication du VMT étant beaucoup plus important que celui du BNYVV, le VMT envahit toute la culture de chénopodes inoculés en serre et l'isolat de BNYVV est perdu. Ensuite cette présence, indécélable en serre au départ, est une source de contamination en serre par transmission purement mécanique.

Nous avons essayé de séparer ces 2 virus ; les méthodes physiques (colonnes de sépharose, gradients de densité, inactivation par la température, dilutions) se révèlent inefficaces car la structure des 2 virus est très voisine, le VMT étant le virus le plus stable. D'autres techniques telles la neutralisation du VMT par des immunoglobulines IgG-anti VMT, l'insolubilisation différentielle du BNYVV en milieu acide ou la séparation par électrophorèse en veine liquide (VAN REGENMORTEL, 1969) n'ont pas abouti, des traces de VMT parvenant chaque fois à recontaminer l'inoculum.

## CONCLUSION

La démonstration de la présence du VMT au champ sur betteraves atteintes de Rhizomanie a pu être apportée par la méthode ELISA. Le VMT se multiplie lors des inoculations mécaniques de jus de betteraves à des *C. quinoa* et peut entraîner ainsi la contamination de tous les isolats présents en serre. De nombreuses questions, telles la souche exacte du VMT et sa transmission naturelle restent posées. D'une

manière générale, 2 souches de type U1 et U2 sont présentes, parfois simultanément, et leurs propriétés biologiques restent à déterminer. Le rôle exact du VMT, peut-être associé à la maladie et capable d'induire par lui-même déjà quelques symptômes de la maladie, reste

également à préciser. Quoi qu'il en soit la présence quasi permanente d'un virus aussi stable et aussi prolifique que le VMT dans l'inoculum d'un virus à faible pouvoir de multiplication est un handicap sérieux pour l'étude de ce dernier.

Reçu le 6 octobre 1980.  
Accepté le 20 novembre 1980.

#### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bald J. G., Tinsley T. W.**, 1967. A quasi-genetic model for plant virus host ranges. I. Group reactions within taxonomic boundaries. *Virology*, **31**, 616-624.
- Bercks R.**, 1967. Ueber den Nachweis des Tabakmosaik - Virus in Reben. *Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz*, **74**, 346-349.
- Bos L.**, 1969. Experience with a collection of plant viruses in leaf material dried and stored over calcium chloride and a discussion of literature on virus preservation. *Meded. Fac. Landbouwwet. Rijksuniv. Gent.*, **34**, 875-887.
- Brandes J.**, 1957. Eine elektronenmikroskopische Schnellmethode zum Nachweis faden- und stäbchenförmiger Viren, insbesondere in Kartoffeldunkelkeimen. *Nachrichtenbl. Dtsch. Pflanzenschutzdienstes* (Braunschweig), **9**, 151-152.
- Broadbent L.**, 1976. Epidemiology and control of Tomato mosaic virus. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **14**, 75-96.
- Burgyan J., Beczner L., Gaborjanyi R.**, 1978. Relationship among some tobamoviruses. I. A symptomatological and serological comparison. *Acta Phytopathol. Acad. Sci. Hung.*, **13**, 75-85.
- Canova A.**, 1966. Ricerche virologiche nella « Rizomania » della bietola. *Ann. Accad. Naz. Agric. (Bologna)*, **78**, 37-46.
- Cheo P. C.**, 1970. Subliminal infection of cotton by Tobacco mosaic virus. *Phytopathology*, **60**, 41-46.
- Cheo P. C., Gérard J. S.**, 1971. Differences in virus-replicating capacity among plant species inoculated with Tobacco mosaic virus. *Phytopathology*, **61**, 1010-1012.
- Clark M. F., Adams A. N.**, 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.*, **34**, 475-483.
- Gilmer R. M., Kelts L. J.**, 1965. Isolation of tobacco mosaic virus from grape foliage and roots. *Phytopathology*, **55**, 1283.
- Gilmer R. M., Kelts L. J.**, 1965. Isolation of Tobacco mosaic virus in grape seeds. *Phytopathology*, **58**, 277-278.
- Gilmer R. M., Wilks J. M.**, 1967. Seed transmission of Tobacco mosaic virus in apple and pear. *Phytopathology*, **57**, 214-217.
- Horvath J.**, 1978. New artificial hosts and non-hosts of plant viruses and their role in the identification and separation of viruses. IV. Tobamovirus group : Tobacco mosaic virus and Tomato mosaic virus. *Acta Phytopathol. Acad. Sci. Hung.* **13**, 57-73.
- Index of plant virus diseases**, 1966. Agriculture Handbook n° 307, ARS, USDA.
- Johnson E. M., Valleau W. D.**, 1935. Mosaic from tobacco one to fifty two years old. *Ky agric. Exp. Stn Bull.*, **361**, 264-271.
- Kirkpatrick H. C., Lindner R. C.**, 1964. Recovery of Tobacco mosaic virus from apple. *Plant Dis. Rep.*, **48**, 855-857.
- Kleinhempel M.**, 1969. Isolierung des Tabakmosaik-virus (Tobacco Mosaic virus) von Roter Johannisbeere. *Acta Phytopathol. Acad. Sci. Hung.*, **4**, 317-335.
- Kuszala M., Putz C.**, 1977. La Rhizomanie de la Betterave sucrière en Alsace. Gamme d'hôtes et propriétés biologiques du « beet necrotic yellow vein virus ». *Ann. Phytopathol.*, **9**, 4, 435-436.
- Makkouk K. M., Rana N. H.**, 1979. Occurrence of Tomato Mosaic virus in the soils of coastal region of Lebanon. *Plant Dis. Rep.*, **63**, 290-293.
- Messiaen C. M., Maison P., Migliori A.**, 1962. La dégradation de la Mosaïque du Tabac dans le sol est-elle biologique ? *Ann. Virol. Appl.*, **3**, 31-35.
- Migliori A., Marrou J.**, 1970. Le virus de la Mosaïque du Tabac dans le sol ; influence sur la dissémination de ce virus dans les cultures de tomates. *Ann. Phytopathol.*, **2**, 4, 669-680.
- Putz C., Vuittenez A.**, 1974. Observation de particules virales chez des betteraves présentant en Alsace, des symptômes de rhizomanie. *Ann. Phytopathol.*, **6**, 2, 129-138.
- Putz C., Kuszala M.**, 1978. La Rhizomanie de la Betterave sucrière en Alsace. Recherche d'une nouvelle méthode de purification du « beet necrotic yellow vein virus ». *Ann. Phytopathol.*, **10**, 2, 247-262.
- Silber G., Burck L. G.**, 1965. Infectivity of Tobacco Mosaic virus stored for fifty years in extracted, "unpreserved" plant juice. *Nature*, **206**, 740-741.
- Tamada T.**, 1975. Beet necrotic yellow vein virus. *Descr. Plant Viruses*, **144**, 4.
- Tamada T., Baba T.**, 1971. A virus isolated from sugar beet showing "Rizomania" — like symptoms and its transmission in soil. *Bull. Sugar Beet Res. (Tokyo.) Suppl.*, **13**, 179-189.
- Van Regenmortel M. H. V.**, 1969. Quelques applications de l'électrophorèse en virologie. *Ann. Phytopathol.*, **1**, 2, 127-143.
- Van Regenmortel M. H. V., Burckard J.**, 1980. Detection of a wide spectrum of Tobacco mosaic virus strains by indirect Enzyme-linked Immunosorbent Assays (ELISA). *Virology*, **106**, 327-334.
- Vuittenez A.**, 1980. Une nouvelle virose de la Betterave en France : la Rhizomanie. Premiers résultats de 6 années de recherches à l'INRA. *C.R. Acad. Agric. Fr.*, **66**, 4, 376-390.
- Wetter C.**, 1980. Occurrence of para-tobacco mosaic virus in field tobacco in South-West Germany. *Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz*, **87**, 150-154.
- Wetter C., Bernard M.**, 1977. Identifizierung, Reinigung und serologischer Nachweis von Tabakmosaikvirus und Paratabakmosaik-Virus aus Zigaretten. *Phytopathol. Z.*, **90**, 257-267.