

VIROSIS EN CLONES INTERNACIONALES DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.) EN EL VALLE DE TOLUCA, MÉXICO

VIRUSES IN INTERNATIONAL POTATO CLONES (*Solanum tuberosum* L.) IN THE TOLUCA VALLEY, MÉXICO

Héctor Lozoya-Saldaña^{1,3}, Vladimir Sánchez-López², Reynaldo Román-Vázquez² y Alejandro Hernández-Vilchis³

¹Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 56230. Chapingo, México. (lozoya@taurus1.chapingo.mx). ²Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. 56230. Chapingo, México. ³Programa Internacional Cooperativo del Tizón Tardío de la Papa (PICTIPAPA). Apartado Postal 3-12. 52176. Metepec, México. (picti@prodigy.net.mx)

RESUMEN

Desde 1995 el Programa Internacional Cooperativo del Tizón Tardío de la Papa (PICTIPAPA) ha introducido a México anualmente más de 2500 clones de papa del extranjero bajo la modalidad de cuarentena-custodia, por lo que, a fin de detectar y eliminar oportunamente agentes patógenos, es importante su continuo cotejo sanitario. Aquí se reporta dicho cotejo respecto a virus. Por serología enzimática (ELISA) de folíolos y tubérculos de 352 clones de papa (*Solanum tuberosum* L.) de lotes experimentales internacionales, 17% resultó positivo para el potexvirus X (PVX); 1.1%, para el potyvirus Y (PVY); 3.1%, para el carlavirus S (PVS); 1.4% para el luteovirus del enrollamiento de la hoja (PLRV); y 1.1%, para el potexvirus mosaico aucuba de la papa (PAMV). No se detectaron el carlavirus M (PVM), el potyvirus A, ni el tymovirus latente andino de la papa (APLV). De los clones muestreados en el verano de 1998 evaluados por primera vez, 20% resultó positivo para alguno de los virus, 31% de los de segundo año y 60% de los de tres años, deduciéndose que la incidencia viral fue por infecciones primarias en el campo. Esto se respalda por los resultados de muestreos adicionales en clones con síntomas en 1999, que sólo evidenciaron presencia limitada de PVX, PVS y PLRV. Por otro lado, en los sondeos del año 2000 se detectó 3% de infección únicamente de PVX en clones de tercero y cuarto año. En el muestreo de 1998 el PAMV se encontró mezclado con el PVX en el tubérculo de un clon y con el del enrollamiento de la hoja en tubérculos de otros dos, sin síntomas o reacción serológica positiva en el follaje, por lo que se hicieron ensayos adicionales de serología y de transmisión. La inoculación mecánica de la mezcla PAMV+PVX (ambos transmisibles mecánicamente) sólo indujo síntomas en *Datura stramonium* y en *Capsicum annuum*, pero la ELISA fue negativa para ambos virus en *D. stramonium* y positiva para el PAMV en *C. annuum*, *Nicotiana rustica* y en *Solanum tuberosum*, evidenciando en *D. stramonium*: a) Falta de transmisión de dichos virus a esa planta diferencial, b) La posible presencia de agente(s) patógeno(s) no identificado(s), y c) La transmisión sólo del PAMV en las otras solanáceas. La inoculación con áfidos también sólo indujo síntomas en *D. stramonium* y en *C.*

ABSTRACT

Since 1995, the International Cooperative Program for Potato Late Blight (PICTIPAPA) has introduced annually more than 2500 foreign potato clones into México under quarantine-custody regulations, which require constant sanitary monitoring for opportune detection and elimination of pathogenic agents. We report here the results of the monitoring process for viral infections. Enzyme-linked immunosorbant assay (ELISA) detection in leaflets and tubers of 352 randomly sampled potato (*Solanum tuberosum* L.) clones, from international experimental plots, resulted in 17% positive tests for potexvirus X (PVX), 1.1% for potyvirus Y (PVY), 3.1% for potato virus S (carlavirus, PVS), 1.4% for potato leaf roll virus (PLRV, leuteovirus), and 1.1% for potato aucuba mosaic potexvirus (PAMV). No samples tested positive for potato virus M (carlavirus, PYM), potato virus A (potyvirus, PVA) or Andean potato latent virus (tymovirus, APLV). Twenty percent of the clones sampled during the summer of 1998 tested positive for one of the viruses during the first year, 31% during the second year, and 60% on the third year. Viral incidence was apparently due to primary field infection, as supported by further testing of additional symptomatic clones sampled in 1999, with only a limited presence of PVX, PVS, and PLRV. Samples of third and fourth year clones taken in 2000, however, revealed 3% initial infection by PVX only. Samples from 1998 detected PAMV mixed with PVX in the tubers of one clone and leaf roll virus in tubers of another two clones with an absence of symptoms or positive serological reactions in foliage. Additional serological and transmission assays were performed on these samples. Mechanical inoculation with PAMV+PVX (both transmitted mechanically) induced symptoms only in *Datura stramonium* and in *Capsicum annuum*. The ELISAs were negative, however, for both viruses in *D. stramonium* and positive for PAMV in *C. annuum*, *Nicotiana rustica* and *Solanum tuberosum*. Presumably the viruses failed to infect *D. stramonium* while the presence of unidentified pathogenic agents produced symptoms and PAMV alone infected the other Solanaceae. Aphid inoculation with both viruses from sap with PAMV+PLRV (both transmissible by insects) induced symptoms only in *D. stramonium* and *C. annuum*. ELISAs confirmed only the presence of PAMV in the indicator species mentioned as well as in *N. tabacum* cv. Xanthi,

Recibido: Noviembre, 2000. Aprobado: Enero, 2002.
Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 36: 93-102. 2002.

annuum, pero únicamente de la savia con PAMV+PLRV (ambos transmisibles por insectos). Por ELISA se confirmó la presencia del PAMV nada más, tanto en las diferenciales mencionadas como en *N. tabacum* cv. Xanthi, *N. occidentalis*, *Lycopersicon esculentum* y en *Solanum tuberosum*. Con esto se demuestra la presencia y transmisión exitosa solamente del PAMV, desapareciendo los otros dos virus (PVX y PLRV). Después de 1998 no se volvió a encontrar al PAMV en el campo. Posiblemente la eliminación natural de los genotipos de papa susceptibles al tizón tardío (*Phytophthora infestans* Mont. De Bary) también nulificó la de por sí limitada presencia de este virus.

Palabras clave: ELISA, transmisión mecánica, vectores.

INTRODUCCIÓN

Al valle de Toluca se le considera el centro de origen, diversificación y distribución del tizón tardío de la papa (*Phytophthora infestans* Mont. de Bary) (Niederhauser, 1992; Goodwin, 1996). Ahí se encuentran en forma natural y permanente los dos grupos de compatibilidad del Oomiceto (A_1 y A_2) en solanáceas silvestres, que le confieren diversidad patogénica a dicho microorganismo, en un clima ideal para el desarrollo de la enfermedad. Por tanto, durante poco más de 40 años se han introducido al valle miles de clones de papa (*Solanum tuberosum* L.) de todo el mundo, para evaluar su resistencia genética al patógeno (Lozoya Saldaña, 1999a; Niederhauser, 1956). Durante el período 1996-2000 el Programa Internacional Cooperativo del Tizón Tardío de la Papa (PCTIPAPA) ha recibido más de diez mil genotipos de papa del extranjero para el fin mencionado, con el consiguiente riesgo de la introducción de patógenos. La gran mayoría de estos clones han muerto antes de completar su ciclo de crecimiento, a causa de la infección natural del oomiceto (Lozoya Saldaña, 1999b).

México tiene internacionalmente reconocidos sólo cinco virus en el cultivo de la papa; el potexvirus X (PVX), el potyvirus Y (PVY), el carlavirus S (PVS), el potyvirus A (PVA) y el luteovirus del enrollamiento de la hoja (PLRV) (NAPPO, 1996). Sin embargo, NAPPO clasifica como presentes en el país otras virosis en cultivos filogenéticamente cercanos, como el jitomate y el tabaco, potencialmente en papa, pero no propiamente en el cultivo; además, se reportan 27 enfermedades de síntomas parecidos causadas por virus, viroides y fitoplasmas en papa (Salazar, 1995). Dada la facilidad del movimiento internacional e introducción inadvertida de este tipo de patógenos en material de propagación vegetativa como la papa, tanto las autoridades fitosanitarias dentro de sus organizaciones de regionalización internacional (NAPPO, EPPO, OIRSA, etc.), como las instituciones nacionales e internacionales de investigación agrícola, han puesto especial énfasis a su

N. occidentalis, *Lycopersicon esculentum* and in *Solanum tuberosum*. These results demonstrate the presence and successful transmission of only PAMV, with loss of the other two viruses (PVX and PLRV). PAMV was not found again in the field after the 1998 sampling. Perhaps natural elimination of susceptible potato genotypes by potato late blight (*Phytophthora infestans* Mont. De Bary) eradicated the already limited presence of PAMV.

Key words: ELISA, mechanical transmission, vectors.

INTRODUCTION

The Toluca Valley in Mexico is considered the center of origin, diversification, and distribution of potato late blight (*Phytophthora infestans* Mont. De Bary) (Niederhauser, 1992; Goodwin, 1996). In the region, both mating types of this oomycete (A_1 and A_2) are found naturally and permanently in wild Solanaceae, conferring pathogenic diversity to the microorganism in the ideal climate for disease development. For little more than 40 years, thousands of potato (*Solanum tuberosum* L.) clones from all over the world have been introduced into the Valley for evaluation of genetic resistance to this pathogen (Lozoya Saldaña, 1999a; Niederhauser, 1956). Over the period 1996-2000, the International Cooperative Program for Potato Late Blight (PCTIPAPA) has received more than ten thousand potato genotypes from abroad for such testing, with the inherent risk of introducing pathogens to the area. Most of these clones failed to survive the growing cycle due to natural infection of the oomycete (Lozoya Saldaña, 1999b).

Only five viruses are internationally recognized in Mexican potato cultivation; potexvirus X (PVS), potyvirus Y (PVY), carlavirus S (PVS), potyvirus A (PVA), and luteovirus potato leaf roll virus (PLRV) (NAPPO, 1996). NAPPO does, however, classify the presence of other viruses in the country for phylogenetically related crops such as tomato and tobacco. These viruses could potentially be present in potato but not necessarily in the commercial fields. Twenty-seven additional diseases are recognized in potato as having similar symptoms to those caused by viruses, viroids and phytoplasmas (Salazar, 1995). Pathogens in propagative material such as potato move easily across countries and may be introduced inadvertently. Thus, due to easiness of international movement and undetected introduction of these pathogens on vegetative propagation material such as potatoes, phytosanitation authorities, within the international regional organizations NAPPO, EPPO, OIRSA, and others, as well as national and international agricultural research institutions, have emphasized the importance of opportune detection, exclusion, and elimination of such introduced pathogens (Lozoya-Saldaña, 2001).

detección oportuna, exclusión, eliminación o ambos (Lozoya-Saldaña, 2001).

El presente estudio reporta los resultados de continuos y recientes sondeos para la identificación de virus en clones internacionales de papa introducidos a México con fines experimentales en un lapso de cinco años, cuyos genotipos sobrevivientes al tizón tardío se han mantenido bajo estricta vigilancia en repetidos ciclos de evaluación. Se encontraron los virus conocidos y reportados, en proporciones relativamente bajas. En 1998 se detectó un pequeño brote del potexvirus mosaico aucuba de la papa (PAMV), se hicieron estudios de confirmación, pero no se volvió a encontrar en el campo en muestras posteriores.

MATERIALES Y MÉTODOS

A los 75 días después de la siembra, en el verano de 1998, se colectaron hojas con y sin síntomas de aparente infección viral de 352 clones que mostraban cierta resistencia al tizón tardío y con uno a cuatro años de evaluación (Cuadro 1). Esta colecta se efectuó en los lotes del Programa Internacional Cooperativo del Tizón Tardío de la Papa (PICTIPAPA), en el Municipio de Metepec, Estado de México, 60 km al poniente de la ciudad de México, a una altitud de 2602 m. Después de la cosecha también se tomaron tubérculos de 231 clones del mismo grupo, que se seleccionaron por su resistencia al tizón, para exponer, el follaje y los tubérculos, a ensayos serológicos para detectar la presencia de virus.

A fin de continuar con los cotejos serológicos, durante los ciclos de cultivo de 1999 y de 2000 también se hicieron colectas específicas de folíolos de 14 y 93

This study reports the results of continuous samplings for viral identification in international potato clones introduced into Mexico for experimental purposes over a period of five years. Genotypes surviving late blight have been maintained under strict surveillance through repeated evaluation cycles. The viruses detected and reported here were found in relatively low proportions. In 1998 a minor outbreak of potato aucuba mosaic virus (PAMV) occurred. Studies were performed to confirm the presence of this virus, and no further samples have been found testing positive in the field ever since.

MATERIALS AND METHODS

In the summer of 1998, leaves with and without apparent viral infection symptoms were collected at 75 days post planting from 352 clones. The clones had been evaluated within one to four years and selected for a certain degree of resistance to potato late blight (Table 1). Collection was made in experimental plots of the International Cooperative Program for Potato Late Blight (PICTIPAPA) in Metepec, State of México, México, at 60 km west of México City with an altitude of 2602 m. Following harvest, tubers from 231 clones of the same group were selected for their resistance to late blight to expose them, foliage and tubers, to serological assays to detect viruses.

Serological sampling was continued on specific foliar collections of 14 and 93 genetic clones, during the 1999 and 2000 growing seasons, respectively. These clones had been sampled previously and showed evidence of foliar aberrations apparently due to viral infection. Over this same time period, tests were performed to detect the

Cuadro 1. Muestras totales (hojas y tubérculos) colectados en los lotes experimentales en 1998, número de ciclos agrícolas de evaluación previos al muestreo y origen geográfico-institucional de los genotipos.

Table 1. Total samples (leaf and tuber) collected from experimental plots in 1998, number of agricultural evaluation cycles prior to sampling and geographic-institutional origin of the genotypes.

Ciclos de evaluación en el campo para resistencia al tizón tardío	Número de muestras	Procedencia de los genotipos
1	25	Universidad de Wisconsin, EE.UU. (UW-USDA)
	12	IPO/DLO, Holanda
	16	Universidad del Estado de Washington (WSU-USDA)
	240	Universidad de Idaho, EE.UU. (UI-USDA)
	8	Univ. Nacional Autónoma de México (UNAM-MX)
	10	Universidad Autónoma Chapingo (U.A.CH.)
2	1	Holanda
	24	Universidad de Idaho, EE.UU. (UI-USDA)
3	7	Universidad de Wisconsin, EE.UU. (UW-USDA)
	2	Polonia
4	3	Universidad de Idaho, EE.UU. (UI-USDA)
	4	Universidad de Wisconsin, EE.UU. (UW-USDA)
Total	352	

materiales genéticos, respectivamente, de los mismos muestreados previamente y que manifestaban evidentes aberraciones foliares parecidas a virosis. En el mismo periodo se trabajó la confirmación de la presencia del tymovirus latente andino de la papa (APLV), detectado en 1998 mediante ensayos serológicos y de transmisión.

La identificación de los virus fue mediante serología de enzimas conjugadas o ELISA (Clark y Adams, 1977). Los juegos de reactivos fueron de la empresa Agdia Inc. (30380 County Road 6, Elkhart, IN, 46514, EE.UU.), para el potexvirus X de la papa (PVX), el potyvirus Y de la papa (PVY), el carlavirus S de la papa (PVS), el carlavirus M de la papa (PVM), el potyvirus A de la papa (PVA), el luteovirus del enrollamiento de la hoja de la papa (PLRV), el tymovirus latente andino de la papa (APLV) y el potexvirus mosaico aucuba de la papa (PAMV). Los ensayos serológicos se hicieron en el laboratorio de Virología del Departamento de Parasitología Agrícola en la Universidad Autónoma Chapingo, en Chapingo, Estado de México.

Confirmación de la presencia del PAMV y su separación de las mezclas

En el muestreo de 1998 los clones Atz X TPS-67, A9583-8, y A96861-23 tuvieron tubérculos positivos para el PAMV, mezclado con el PVX o con el PLRV, por lo que se confirmó su presencia mediante ELISA, además de separar las mezclas con base en las características de transmisión de cada virus. Los clones se sembraron en invernadero; cuatro semanas después se tomó una muestra del follaje y se maceró en amortiguador de fosfatos, 0.025 M, pH 7.2, con cuya savia se inocularon mecánicamente cuatro hojas de las siguientes especies de plantas diferenciales: *Datura stramonium*, *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi, *Gomphrena globosa*, *Chenopodium amaranticolor*, *Capsicum annuum*, *Nicotiana rustica*, *Chenopodium quinoa*, *Nicotiana occidentalis*, *Lycopersicon esculentum*, *Nicotiana glutinosa*, *Nicotiana benthamiana* y *Solanum tuberosum* cv. Alpha.

La transmisión por áfidos se hizo mediante la exposición de plantas de los tres clones a poblaciones de cinco individuos de *Myzus persicae* por 24 h, seguida por la transferencia de los insectos a las plantas diferenciales de las especies ya mencionadas por otro período de 24 h. Tres semanas después se observaron los síntomas, e independientemente de éstos, se corroboró la transmisión mediante ELISA en las diferenciales receptoras (Figura 1).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De 312 clones muestreados de primer año de evaluación en el campo, 62 resultaron positivos para algún

presence of Andean potato latent virus (APLV), which had been detected in 1998 using serological and transmission assays.

Viral identification was confirmed using enzyme-linked immunosorbant assays (ELISA) (Clark and Adams, 1997). Reaction kits were purchased from Agdia, Inc., (30380 County Road 6, Elkhart, Indiana, 46514, U.S.A.), for potato potexvirus X (PVX) potato potyvirus Y (PYV), potato carlavirus S (PVS), potato carlavirus M (PVM), potato potyvirus A (PVA), potato leaf roll virus (APLV), and potato aucuba mosaic virus (PAMV). Serological assays were performed in the virology laboratory of the Department of Agricultural Parasitology of the Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, State of Mexico, Mexico.

Confirmation of the presence of PAMV and isolation of PAMV from mixed inoculants

Clones Atz X TPS-67, A9583-8, and A96861-23 (sampled in 1998) tested positive in tubers for PAMV mixed with PVX or PLRV. The presence of these viruses was confirmed by ELISA, and viral mixtures were separated based on differential transmission mechanisms for each virus. The clones were planted in a greenhouse. Leaf samples were taken at four weeks and ground in 0.025 M phosphate buffer, pH 7.2. The resulting mixture was used for mechanical inoculation of the following indicator plant species: *Datura stramonium*, *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi, *Gomphrena globosa*, *Chenopodium amaranticolor*, *Capsicum annuum*, *Nicotiana rustica*, *Chenopodium quinoa*, *Nicotiana occidentalis*, *Lycopersicon esculentum*, *Nicotiana glutinosa*, *Nicotiana benthamiana*, and *Solanum tuberosum* cv. Alpha.

Transmission by aphids was achieved by exposing plants from the three clones to populations of five individuals of *Myzus persicae* for 24 h, followed by transfer of the insects to indicator plants of the species listed above for another 24 h period. Three weeks later symptoms were recorded and, regardless of symptoms, transmission was confirmed using ELISAs for differential receptors (Figure 1).

RESULTS AND DISCUSSION

Sixty-two of the 312 clones sampled during the first year of field evaluation (20%) tested positive to viruses. Of those 312, 48 tested positive for PVX; four for PVY; eight for PVS; three for PLRV; and three for PAMV. Twenty-one of the clones infected with PVX tested positive only in foliar samples (no virus present in the tubers), 21 tested positive only in the tubers (late infection, the virus had not appeared in the foliage at the time of

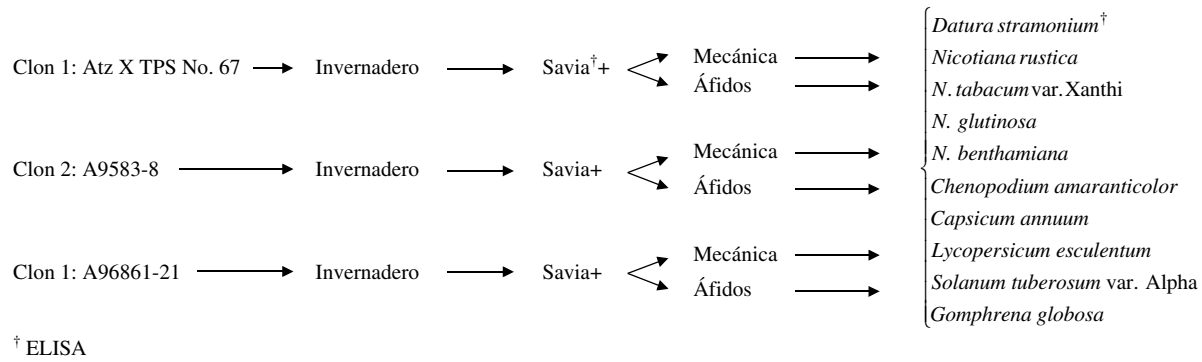


Figura 1. Cronología de los procesos de inoculación para la separación de los virus.
Figure 1. Chronology of inoculation process for viral isolation.

virus, lo que representa 20 % de esa población. De éstos, 48 tuvieron PVX; cuatro, PVY; ocho, PVS; tres, PLRV; y otros tres, PAMV. De los materiales infectados con PVX, 21 lo presentaron sólo en el follaje (el virus no bajó al tubérculo); otros 21 sólo en el tubérculo (infección tardía, el virus estaba ausente del follaje a los 75 días de la siembra, cuando se tomó la muestra); y seis en ambos órganos. Cinco materiales resultaron con mezcla; los clones Sarquís-2 y Sarquís-4, ambos con PVX+PAMV y que finalmente resultaron ser un mismo clon, derivado de la cruce Atzimba X TPS-67; el clon 275182-10, con PVX y PVY; la variedad Torridon, con PVS+PLRV; y el clon A96861-23, con PLRV+PAMV (Cuadro 2A). Dos genotipos resultaron con PVS tanto en el follaje como en el tubérculo (infección temprana), mientras que la infección tardía, con virus sólo en el tubérculo y no en las hojas, se vio en un clon con PVY; seis con PVS; dos con PLRV; y tres con PAMV.

De esta población infectada, expuesta por primera vez al campo en Toluca, 24 clones rindieron más de un kilogramo de tubérculo por planta, es decir, la presencia de los virus no afectó mayormente su producción. Con excepción de los materiales de la UNAM que resultaron todos positivos para uno o más virus, no hubo relación de incidencia viral con el origen geográfico o institucional de los clones. La mayoría de los clones infectados proviene del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), los clones norteamericanos sumaron más de 2500 de los cuales se tomó muestra de 281, resultando 49 positivos para algún virus (17% de la muestra).

Entre los clones de segundo año de evaluación de campo, nueve tuvieron PVX, dos de los cuales lo presentaron en follaje y tubérculo; uno tuvo PVS y a uno más con la mezcla PLRV+PAMV (clon A9583-8), para un total de 11 (31% de la población muestreada). Todos estos clones fueron seleccionados para una siguiente evaluación, excepto *Solanum stoloniferum*, del cual no se obtuvieron tubérculos.

De los cinco clones muestreados de tercer año de evaluación, tres fueron positivos en el follaje (uno para

sampling, 75 days after seeding), and 6 tested positive in both foliage and tubers. Five clones were infected with a mixture of viruses: Clones Sarquis-2 and Sarquis-4, which turned out to be the same clone from the cross Atzimba X TPS-67, tested positive for PVX+PAMV; clone 25182-10 for PVX and PVY; Torridon variety for PVS+PLRV; and clone A96861-23 for PLRV+PAMV (Table 2A). Two genotypes tested positive for PVS in both foliage and tuber (early infections). Late infection, with virus only in the tuber and absent in the leaves, was observed in one clone for PVY, six for PVS, two for PLRV, and three for PAMV.

In this infected population, exposed to the field for the first time in Toluca, 24 clones yielded greater than one kilogram of tubers per plant. This suggested that the presence of viruses had no major detrimental effect on production. Except for clones from the Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), which were all positive for one or more viruses, there was no relationship between viral incidence and geographic or institutional origin of the clones. Most of the infected clones originated from the United States Department of Agriculture (USDA), the North American clones added up to more than 2500, of which 281 samples were selected for testing and 49 (17%) were positive for the presence of some virus.

Screening of clones evaluated in the field for the second year revealed nine clones with PVX, two of which tested positive in leaves and tubers, one clone with PVS, and another that tested positive for the mixture PLRV+PAMV (clone A9583-8). Eleven clones from this group (31% of the population sampled) tested positive for some virus. All of these clones were selected for subsequent evaluation except *Solanum stoloniferum*, which produced no tubers.

Of the five clones sampled for the third year of evaluation, two were foliage-positive (one for PVX+PLRV and another for PVS), and a third for PVS in the tuber (Table 2 C). Of the four clones for the fourth year, only one was foliage-positive for PVX (Table 2 D).

Cuadro 2. Muestras positivas para virus de diverso año de evaluación en el campo para resistencia al tizón tardío en el Valle de Toluca en 1998.**Table 2. Samples testing positive for virus from different years of field evaluation for resistance to late blight in the Toluca Valley, 1998.**

A. Clones evaluados por primera vez de un total de 312 muestreados ✧ Clones evaluated the first time, from a total of 312 sampled.

Muestra	Clon	Mejorador	Institución	Rend. g/planta	PVX	PVY	PVS	PVM	PVA	PLRV	APLV	PAMV	Selecio- nados para el próximo año
					F	T	F	T	F	T	F	T	
38	95LB1-264	H	UW-USDA	650	+	-	-	-	-	-	-	-	☐
45	95LB2-44	H	UW-USDA	850	-	+	-	-	-	-	-	-	☐
48	95LB2-80	H	UW-USDA	900	+	-	-	-	-	-	-	-	☐
†51	95LB2-82	H	UW-USDA	300	-	-	+	-	-	-	-	-	☐
55	95LB1-9	H	UW-USDA	600	-	-	-	-	+	-	-	-	☐
56	SARQUIS-1	S	UNAM-MX	1025	-	+	-	-	-	-	-	-	☐
57	SARQUIS-2	S	UNAM-MX	1050	-	+	-	-	-	-	-	-	☐
58	SARQUIS-3	S	UNAM-MX	915	-	+	-	-	-	-	-	-	☐
59	SARQUIS-4	S	UNAM-MX	1095	-	+	-	-	-	-	-	-	☐
60	SARQUIS-5	S	UNAM-MX	1000	-	+	-	-	-	-	-	-	☐
61	SARQUIS-6	S	UNAM-MX	942.5	-	+	-	-	-	-	-	-	☐
62	SARQUIS-7	S	UNAM-MX	1095	-	+	-	-	-	-	-	-	☐
63	SARQUIS-8	S	UNAM-MX	792.5	-	+	-	-	-	-	-	-	☐
65	275182(IO)	B	UW-USDA		+	x	+	x	-	x	-	x	☐
†66	275182(IO)	B	UW-USDA		+	x	-	x	-	x	-	x	☐
67	251740(PA)	B	UW-USDA		+	x	-	x	-	x	-	x	☐
73	Víctor	B	UW-USDA		+	+	-	-	-	-	-	-	☐
74	W-2	W	HOLANDA		-	-	-	-	-	-	+	-	☐
84	Kartel		HOLANDA		-	-	+	-	-	-	-	-	☐
85	Monserate	CH	WSU-USDA	560	-	-	-	-	+	-	-	-	☐
86	Torridon	CH	WSU-USDA	1460	-	-	-	-	+	+	-	-	☐
93	AWN86514-2	CH	WSU-USDA	1566	-	+	-	-	-	-	-	-	☐
94	97HGS1-14	CH	WSU-USDA	200	-	-	-	-	+	-	-	-	☐
†95	G6582-3	CH	WSU-USDA	1280	-	-	-	-	+	+	-	-	☐
96	G6582-3	CH	WSU-USDA	1280	-	-	-	-	+	-	-	-	☐
97	97HGS1-94	CH	WSU-USDA	400	-	-	-	-	+	-	-	-	☐
†99	575045	CH	WSU-USDA	1200	+	-	-	-	-	-	-	-	☐
†100	385240-2	CH	WSU-USDA	500	+	x	-	x	-	x	-	x	☐
102	A96760-13	C	UI-USDA	750	-	+	-	-	-	-	-	-	☐
123	A96763-6	C	UI-USDA		+	x	-	x	-	x	-	x	☐
124	A96763-8	C	UI-USDA		+	x	-	x	-	x	-	x	☐
125	A96763-13	C	UI-USDA	1800	-	-	-	-	+	-	-	-	☐
126	A96763-15	C	UI-USDA	1600	-	+	-	-	-	-	-	-	☐
129	A96763-22	C	UI-USDA	1850	-	+	-	-	-	-	-	-	☐
131	A96763-32	C	UI-USDA	550	+	-	-	-	-	-	-	-	☐
132	A96764-8	C	UI-USDA		+	-	-	-	-	-	-	-	☐
144	A96764-40	C	UI-USDA	1650	-	+	-	-	-	-	-	-	☐
146	A96764-50	C	UI-USDA	600	-	+	-	-	-	-	-	-	☐
162	A96768-18	C	UI-USDA	1650	+	+	-	-	-	-	-	-	☐
163	A96768-20	C	UI-USDA	1400	+	-	-	-	-	-	-	-	☐
182	A96773-22	C	UI-USDA	1800	-	+	-	-	-	-	-	-	☐
183	A96773-23	C	UI-USDA		+	x	-	x	-	x	-	x	☐
†184	A96773-24	C	UI-USDA	1050	+	+	-	-	-	-	-	-	☐
185	A96773-37	C	UI-USDA		+	x	-	x	-	x	-	x	☐
216	A96777-19	C	UI-USDA	2250	-	+	-	-	-	-	-	-	☐
218	A96778-7	C	UI-USDA	950	+	+	-	-	-	-	-	-	☐
219	A96778-8	C	UI-USDA	2600	+	-	-	-	-	-	-	-	☐
†233	A96779-6	C	UI-USDA		+	x	-	x	-	x	-	x	☐
234	A96779-11	C	UI-USDA		+	x	-	x	-	x	-	x	☐
255	A96781-16	C	UI-USDA	650	-	-	-	+	-	-	-	-	☐
259	A96782-28	C	UI-USDA		+	x	-	x	-	x	-	x	☐
260	A96782-49	C	UI-USDA		+	x	-	x	-	x	-	x	☐
261	A96782-50	C	UI-USDA	2300	+	x	-	x	-	x	-	x	☐
295	A96860-3	C	UI-USDA	700	+	+	-	-	-	-	-	-	☐
305	A96861-23	C	UI-USDA	2200	-	-	-	-	-	-	+	-	☐
320	A96870-18	C	UI-USDA		+	x	-	x	-	x	-	x	☐
323	A96871-3	C	UI-USDA	1250	x	+	x	-	x	-	x	-	☐
331	A96872-13	C	UI-USDA	500	x	+	x	-	x	-	x	-	☐
351	LOZOYA-1	L	U.A.Ch.		-	+	-	-	-	-	-	-	☐
359	LOZOYA-9	L	U.A.Ch.		-	+	-	-	-	-	-	-	☐
360	LOZOYA-10	L	U.A.Ch.		+	-	-	-	-	-	-	-	☐
364	A96859-32	C	UI-USDA	1400	+	+	-	-	-	-	-	-	☐

B. Clones evaluados el segundo año, de un total de 31 muestreados ✦ Clones evaluated the second year, from a total of 31 sampled.

Muestra	Clon	Mejorador	Institución	Rend. g/planta	PVX PVY PVS PVM PVA PLRV APLV PAMV												Selecionados para el próximo año			
					F	T	F	T	F	T	F	T	F	T	F	T				
†8	A9517-51	C	UI-USDA	366	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	☐
9	A9520-3	C	UI-USDA	633	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	☐
14	A9525-12	C	UI-USDA	500	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	☐
15	A9525-16	C	UI-USDA	400	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	☐
19	A9583-8	C	UI-USDA	966	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	☐
21	A9583-26	C	UI-USDA	700	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	☐
22	A9540-54	C	UI-USDA	766	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	☐
23	A9540-55	C	UI-USDA	450	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	☐
30	LB2-44	H	UW-USDA	150	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	☐
31	A9588-53	C	UI-USDA	766	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	☐
72	Stoloniferum	B	UW-USDA		-	X	-	X	+	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	☐

C. Clones evaluados el tercer año, de un total de cinco muestreados ✦ Clones evaluated the third year, from a total of five sampled.

1	D8-330	E	POLAND	833	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	☐
2	D8-399	E	POLAND	375	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	☐
29	A9517-28	C	UI-USDA	566	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	☐

D. Clones evaluados el cuarto año, de un total de cuatro muestreados ✦ Clones evaluated the fourth year, from a total of four sampled.

3	J101A15	H	UW-USDA		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	☐
---	---------	---	---------	--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

† Con síntomas al momento del muestreo.

¶ H: J.P. Helgeson, B: J. Bamberg, CH: C. Brown, C: D. Corsini, E: E. Zimnoch, L: H. Lozoya, W: W. Flier, S: Sarquis.

§ Última lectura semanal a los 90 días de la siembra.

P Datos proporcionados por el Ing. Alejandro Hernández Vilchis (PICKITPAPA).

¶ F: Follaje, T: Tubérculo, +: muestra positiva, -: muestra negativa.

†† Seleccionado para evaluación de resistencia al tizón tardío para 1999.

X: No hubo muestra de tubérculo o follaje.

PVX+PLRV y otro para PVS) y un tercero en el tubérculo para PVS (Cuadro 2 C). De los cuatro materiales de cuarto año, sólo uno resultó positivo para PVX en el follaje (Cuadro 2 D). En estos lotes de tercero y cuarto año, se tuvo especial atención fitosanitaria para prevenir principalmente la incidencia del tizón tardío, las virosis y fitoplasmas, pues son materiales valiosos cuya siembra no fue para evaluación de campo, sino para incrementar el material propagativo.

La gran diferencia en el número de muestras por lotes de diferente tiempo de valuación (312 de primer año, 31 de segundo, cinco de tercero y cuatro de cuarto año de exposición en el campo de Toluca al tizón tardío en condiciones naturales), se debe a que los genotipos susceptibles al oomiceto son eliminados por éste en 80 a 90% durante el primer año de exposición en el campo, y los muestreos estuvieron acordes con las poblaciones de los clones. La relativa diferencia en el porcentaje de incidencia viral (20, 31, 60 y 25%, respectivamente) también se debe al número de ciclos de cultivo por los que han pasado los materiales genéticos, pues a medida que aumenta su antigüedad también aumenta su incidencia

In these third and fourth year batches, special phytosanitary attention was taken to prevent late blight, viral, and phytoplasma infection, because these clones were valuable and were planted to increase propagative material and not for evaluation.

The large difference in sample number (312 the first year, 31 the second, five the third, and four the fourth year) over the yearly evaluation periods of field exposure to late blight, under natural conditions in Toluca, is due to the fact that genotypes susceptible to the oomycete were eliminated by 80 to 90% during the first year of field exposure, and sampling was done according to clone population size. The relative percent difference of viral incidence (20, 31, 60, and 25% over the years) was also due to the number of growing cycles that the genetic materials went through, since viral incidence increases with clone's age. In this case, as mentioned, plots in the fourth year were safeguarded against attack from pathogens.

The 1999 sampling was exclusively for clones with accentuated viral infection symptoms (mosaic, mottled, chlorosis, dwarfism, crumpled leaves), which were

viral. En este caso, como ya se mencionó, los lotes de cuarto año estuvieron particularmente protegidos.

El muestreo de 1999 fue exclusivamente para clones con acentuados síntomas de infección viral (mosaicos, moteados, clorosis, enanismos, rugosidad, etc.), a los que se les hizo ELISA para los ocho virus ya mencionados. No obstante, la incidencia viral fue limitada, pues siete muestras tuvieron PVX, cinco de las cuales correspondían a clones de primer año, tres resultaron con PVS, de segundo y tercer año, y una sola de éstas tuvo mezcla de PLRV+PVS (Cuadro 3). El clon Atz X TP S-67, que el año anterior fue positivo para PAMV, en este muestreo sólo resultó con PVX. Los otros dos clones que en 1998 resultaron con PAMV se eliminaron ese mismo año, y no se incluyeron en este sondeo.

En 2000 se hizo otro muestreo, dirigido a individuos sospechosos de infección viral, con ELISA para los mismos ocho virus. Únicamente tres de 93 tuvieron PVX, el resto fue negativo para todos los virus (análisis cortesía de la C. Quim. Ana María García Manzanedo y Mario Salazar Segura, Laboratorio de Virología, Departamento de Parasitología Agrícola, UACH). Con esto se demuestra que algunos aparentes síntomas foliares de virus son aberraciones genéticas propias de los clones (Dr. Dennis Corsini, fitomejorador, USDA, Aberdeen, Idaho, EE.UU., comunicación personal). Además, la drástica eliminación natural de los clones por el mismo tizón no permite alta incidencia viral en los pocos ciclos de cultivo en la zona, que se caracteriza por bajas temperaturas y abundante lluvia en el verano, que evita la dispersión de virus por vectores.

Cuadro 3. Serología enzimática (ELISA), muestreo del ciclo 1999, practicado a clones con probable infección viral.

Table 3. Enzyme-linked immunosorbant assay (ELISA) of clones with suspected viral infection, sampling from the 1999 cycle.

Clon	*	Virus			
		PLRV	PVS	PVX	PAMV
1. Papa de la var. Alpha	2	-	-	+	-
2. Atz x T PS 67	2	-	-	+	-
3. Achirana x T-PS-67	2	-	-	-	-
4. Chiquita x T-PS-67	2	-	-	-	-
5. 385240-2 G x E (2)	2	-	+	-	-
6. E- 274 E (1)	1	-	-	+	-
7. B- 149 E (1)	1	-	-	+	-
8. 95 LB-2-29 H (2)	2	-	-	-	-
9. A9520-18 (3)	3	-	+	-	-
10. CRUZA 148 SIFT (1)	1	-	-	-	-
11. BIRRI SIFT (1)	1	-	-	+	-
12. OKADAE-12 (1)	1	-	-	+	-
13. OKADAE-31 (1)	1	-	-	+	-
14. CLON-14	4	+	+	-	-

* Ciclos consecutivos en el campo ♦ Consecutive cycles in the field.

evaluated by ELISA for the eight viruses mentioned. Still, viral incidence was limited, as seven samples had PVX, five of these corresponded to first year clones; three with PVS were from the second and third year; and only one of these had a mixed virus infection of PLRV+PVS (Table 3). The clone Atz X TP S-67, which had been positive for PAMV the previous year, resulted positive only for PVX in 1999. The other two clones that had PAMV in 1998 were eliminated that same year and thus could not be included in the sampling.

Another sampling was done in 2000, selecting individual clones suspected of having viral infection and were tested using ELISA for the same eight virus. Only three of the 93 samples tested positive for PVX, the rest were negative for all viruses (analysis courtesy of Ana María García Manzanedo and Mario Salazar Segura, Virology Laboratory, Department of Agricultural Parasitology, Universidad Autónoma Chapingo). This analysis indicates that some apparent viral leaf symptoms could be attributed to genetic aberrations inherent in the clones (personal communication, Dr. Dennis Corsini, USDA, Aberdeen, Idaho, U.S.A.). In addition, drastic natural elimination of the clones by late blight limited high viral incidence for the few growing cycles in the region, and the characteristic summer climate of low temperatures and abundant rainfall was likely to reduce insect vector viral dispersion.

Confirmation of the presence of PAMV and isolation of PAMV from viral mixtures

Mechanical transmission of the viral mix PAMV+PVX to indicator plants induced symptoms in *Datura stramonium* and in *Capsicum annuum*. However, neither virus was detected by ELISA in *D. stramonium*, indicating that there was no mechanical transmission of the viral mix, and that symptoms were induced by some other unexpected and unidentified cause or agent. Serology did detect the presence of PAMV in *C. annuum*, and in symptomless *Nicotiana rustica* and *Solanum tuberosum*. The other viral mixture (PAMV+PLRV) did not induce symptoms in any of the indicator plants, and ELISAs also failed to detect the presence of these viruses (Table 4).

Transmission by aphids only produced symptoms in *D. stramonium* and *C. annuum* as well, but only from leaf sap containing PAMV+PLRV (both transmissible by insects). ELISA confirmed the presence of PAMV in the indicator plants mentioned, as well as in *N. tabacum* cv. Xanthi, *N. occidentalis*, *Lycopersicon esculentum* and *Solanum tuberosum*. Thus, the presence and successful transmission was only demonstrated for PAMV, and the other two viruses disappeared (PVS and PLRV).

The viral mixtures aided PAMV transmission as reported. PVX has no vectors (Koenig and Lesemann,

Confirmación de la presencia del PAMV y su separación de las mezclas

La transmisión mecánica de la mezcla PAMV+PVX a las plantas diferenciales, indujo síntomas en *Datura stramonium* y en *Capsicum annuum*. No obstante, por ELISA no se detectó ninguno de los dos virus en *D. stramonium*, por lo que no hubo transmisión mecánica de la mezcla y los síntomas fueron inducidos por algun(os) agente(s) no esperados ni identificados. La serología demostró la presencia del PAMV tanto en *C. annuum* como en *Nicotiana rustica*, y en *Solanum tuberosum*, estas dos últimas especies sin síntomas. La otra mezcla (PAMV+PLRV) no indujo síntomas en ninguna diferencial ni se detectó en ellas por ELISA (Cuadro 4).

La transmisión por áfidos sólo indujo síntomas en *D. stramonium* y en *C. annuum*, pero sólo de la savia con PAMV+PLRV (ambos transmisibles por insectos). Por ELISA se confirmó la presencia de PAMV en las diferenciales mencionadas y en *N. tabacum* cv. Xanthi, *N. occidentalis*, *Lycopersicum esculentum* y en *Solanum tuberosum*. Con esto se demostró la presencia y transmisión exitosa solamente del PAMV, desapareciendo los otros dos virus (PVX y PLRV).

Las mezclas ayudaron a la transmisión del PAMV de acuerdo con lo reportado; con el PVX de forma mecánica, pues este virus no tiene vectores (Koenig y Lesemann, 1989) y mediante áfidos cuando estuvo en

1989) and is transmitted mechanically; PVX together with PLRV is transmitted through aphids and infects the phloem. PLRV is transmitted in a persistent way by insect vectors or by circulative-propagation (Harrison, 1984). PAMV is transmitted both mechanically and by vectors (Kassanis, 1972), although its transmission by insects is not persistent when other viruses are present, since its transmission is dependent on helper components in some varieties (Brunt *et al.*, 1996; Kassanis, 1961). PAMV can contribute, as well, to insect transmission of PVX by inserting a fragment of the PAMV protein coat into PVX. This protein fragment allows PVX to be transmitted by aphids in a dependent way, which shows that dependence is given by the protein fragment (Baulcombe *et al.*, 1993). This was not observed in our study.

CONCLUSIONS

The percentage of viral incidence was related to the number of cycles a clone was exposed to natural conditions in Toluca, especially for the first three years of evaluation. Continuous subsequent depuration reduced the viral incidence in experimental plots until only 3% of the clones were infected in the year 2000. In the sampling for PAMV mixed with PVX and PLRV, both PVX and PLRV were eliminated from the process since they were not detected using serologic methods. PAMV

Cuadro 4. Reacciones en plantas diferenciales en función del tipo de inóculo y método de inoculación para la detección de los virus en las mezclas reportadas en clones internacionales de papa.

Table 4. Indicator plant reactions to inoculum type and inoculation method for detecting viruses in mixed infections reported in international potato clones.

Diferenciales	Síntomas		Ensayo de inmuoabsorción con conjugados enzimáticos (ELISA)																						
			Inoculación mecánica						Inoculación por áfidos																
	Inoculación mecánica	Inoculación por áfidos	PAMV			PVX			PLRV			PAMV			PVX			PLRV							
C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3		
<i>Datura stramonium</i>	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>N. tabacum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
<i>Gomphrena globosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Capsicum annuum</i>	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>Nicotiana rustica</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Chenopodium quinoa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Nicotiana glutinosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lycopersicum esculentum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>Nicotiana benthamiana</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>Nicotiana occidentalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
Alpha	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-

C1 = Atz x TPS No. 67 (PVX + PAMV).
 C2 = A9583-8 (PLRV + PAMV).
 C3 = A96861-23 (PLRV + PAMV).
 (-) = Resultado negativo, ausencia del virus.
 (+) = Resultado positivo, presencia del virus.

mezcla con el PLRV, que se limita al floema y se transmite por vectores de forma persistente o circulativa-propagativa (Harrison, 1984). El PAMV es transmisible de ambas maneras (Kassanis, 1972), aunque por insectos su transmisión es de forma no persistente cuando es acompañado por otros virus, como transmisión dependiente o mediante componentes de ayuda y sólo de algunas variantes (Brunt *et al.*, 1996; Kassanis, 1961). El PAMV puede contribuir a la transmisión por insectos del PVX al insertar un fragmento de la cubierta protéica del PAMV a PVX, y éste se vuelve transmisible por áfidos de manera dependiente, demostrándose que dicha dependencia se confiere por ese fragmento (Baulcombe *et al.*, 1993). Esto no ocurrió en el presente estudio.

CONCLUSIONES

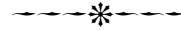
El porcentaje de incidencia viral se relacionó con el número de ciclos que el material estuvo expuesto a las condiciones naturales de Toluca, particularmente del primero al tercer año de evaluación. Las continuas depuraciones posteriores redujeron la incidencia viral en los lotes experimentales hasta encontrar sólo 3% de individuos infectados en el año 2000. En el cotejo de la presencia del PAMV en mezcla con otros dos virus, tanto el PVX como el PLRV desaparecieron del proceso y no fueron detectados serológicamente. El PAMV sí pudo transmitirse mecánicamente y por insectos en el invernadero, pero no se le volvió a encontrar en el campo después de 1998.

LITERATURA CITADA

Baulcombe, D. C., L. I. Manoussopolus, M. I. Roberts, and B. D. Harrison. 1993. Signal for potyvirus-dependent aphid transmission of potato aucuba mosaic virus and the effect of its transfer to potato virus X. *J. Gen. Virol.* 74: 1245-1253.

was transmitted mechanically and by insect vectors in the greenhouse, but was not detected again in the field after 1998.

—End of the English version—



- Brunt, A. A., K. Crabtree, and M. Dallwitz. 1996. Viruses of plants. Descriptions and Lists from the VIDE Database. Oxon. CAB International. UK, 1484 p.
- Clark, M. F., and A. N. Adams. 1977. Characteristics of the microplate method of the enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34: 475-483.
- Goodwin, S. B. 1996. Origin and ecology of *Phytophthora infestans*. *Rev. Mex. de Fitopatol.* 14: 143-147.
- Harrison, B. D. 1984. Potato Leafroll Virus. *In: CMI/AAB Description of Plant Viruses. Description 291 (No. 36 Revised)*. Association of Applied Biologists. Warwick, UK. 6 p.
- Kassanis, B. 1961. The transmission of potato aucuba mosaic virus by aphids from plant also infected by potato viruses A or Y. *Virology* 13: 93-97.
- Kassanis, B. 1972. Potato aucuba mosaic virus. *In: CMI/AAB Description of Plant Viruses. Description 98*. Association of Applied Biologists. Warwick, UK. 4 p.
- Koenig, R., and D. E. Lesemann. 1989. Potato virus X. *In: CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses. Description 354 (No. 4 Revised)*. Association of Applied Biologists, Warwick, UK. 5 p.
- Lozoya-Saldaña, H. 1999a. The value of international standard tests for late Blight resistance. *In: Proceedings of the Global Initiative on Late Blight Conference, Late Blight: A Threat to Global Food Security, Vol. I. GILB, March 16-19, Quito, Ecuador.* pp: 51-53.
- Lozoya-Saldaña, H. 1999b. Technical Report 1999. International Cooperative Program for Potato Late Blight. Metepec, México. 103 p.
- Lozoya-Saldaña, H. 2001. Phytosanitary and quarantine considerations in the international exchange of plant germplasm. *Rev. Mex. Fitopat.* 19: In press.
- NAPPO. 1996. Northamerican Plant Protection Organization.
- Niederhauser, J. S. 1992. International cooperation in agricultural research and development. *HortScience* 27: 962-967.
- Salazar, L. F. 1995. Los Virus de la Papa y su Control. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú. 226 p.