

EL VIRUS DE LA SHARKA (PLUM POX VIRUS) EN FRUTALES

Martínez-Gómez, P.¹; R. Nieto-Angel²; F. Dicenta¹

¹ Departamento de Mejora y Patología Vegetal. CEBAS-CSIC. Murcia, España.

² Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Méx.

RESUMEN: En la actualidad, el virus de la sharka (Plum pox virus) supone uno de los mayores factores limitantes en la producción de diferentes frutales del género *Prunus* en Europa, como son en orden de importancia, el chabacano, el ciruelo y el durazno. Este virus es transmitido por pulgones y en el caso particular del chabacano llega a deformar totalmente los frutos de los árboles infectados haciéndolos inercializables. Los métodos de detección de la enfermedad más utilizados en la actualidad son: observación visual de síntomas, técnica inmunoenzimática (ELISA), hibridación molecular (radioactiva y no radioactiva) y nuevas técnicas derivadas de la PCR. Por otro lado, el control de esta virosis pasa por una estrategia combinada de métodos de tipo preventivo, como el arranque de las plantas enfermas y la plantación de material certificado libre de esta enfermedad, y la obtención de plantas resistentes, como solución más eficaz.

PALABRAS CLAVE: Enfermedad, chabacano, durazno, ciruelo, epidemiología, detección, control.

PLUM POX VIRUS (SHARKA) IN STONE FRUIT TREES

SUMMARY: At present, Plum pox virus (Sharka) is one of the most important factors limiting production of stone fruits of the *Prunus* genus in Europe, such as apricot, plum and peach. This disease is transmitted by insects (aphids), and in apricot trees produces malformed fruits. The more usual detection methods of the virus are: visual observation of symptoms, ELISA test, molecular hybridation (radioactive and no radioactive) and PCR techniques. On the other hand, control of this virosis may be carried out by preventive methods and, more effectively, using resistant cultivars.

KEY WORDS: Disease, apricot, peach, plum, epidemiology, detection, control.

INTRODUCCION

La sharka, enfermedad producida por el "Plum pox virus", es la enfermedad viral más grave que afecta actualmente a los frutales del género *Prunus* en Europa, fundamentalmente al chabacano (*Prunus armeniaca*), ciruelo (*P. domestica*, *P. salicina*) y durazno (*P. persica*). Desde su aparición en Europa en 1917 (Atanasoff, 1932), la Sharka es uno de los principales factores limitantes de la producción de estos frutales en las zonas afectadas.

La naturaleza vírica de la enfermedad hace difícil su erradicación y, en la actualidad, la única solución para combatirla es arrancar los árboles enfermos y replantar con material certificado libre de virus. Los resultados de los programas de erradicación están dando sus frutos y en el futuro, se debe continuar con la eliminación de los focos de infección y utilizar planta certificada libre de virus para no continuar introduciendo la enfermedad en las zonas de producción de frutales todavía no infectadas. Como solución a más largo plazo está la obtención de plantas resistentes.

EL VIRUS DE LA SHARKA

Taxonomía y descripción del virus.

La sharka es una enfermedad causada por el potyvirus denominado "Plum pox virus" (PPV). Es un potyvirus filamentosos con simetría helicoidal de 750 x 15 nm, que posee una proteína de la cápsida de 36 kDa y un ARN positivo monocatenario de 3.5 kDa (Ward y Shukla, 1991).

El virus de la sharka se caracteriza por su gran variabilidad. A mediados de los años 70 los trabajos del INRA de Burdeos (Francia), pusieron de manifiesto la existencia de dos grupos de aislamientos: M (Marcus) y D (Dideron) (Marenaud, 1979). En la actualidad, tras la aparición de un nuevo aislamiento denominado El Amar (Wetzel *et al.*, 1991a) existen discrepancias entre diferentes autores, que lo consideran dentro del tipo M o como un tipo diferente.

Los principales tipos de aislamientos presentan las siguientes características:

- **Tipo M** (Marcus): Tiene una gran patogenicidad. También parece que su difusión en el campo es

muy rápida afectando principalmente al durazno. Hasta el momento este tipo de aislado se ha detectado en países del Este de Europa como Grecia, Francia, Italia y Alemania.

- **Tipo D (Diderón):** Muestra una menor patogenicidad y velocidad de difusión, habiéndose detectado en todas las zonas infectadas de PPV, exceptuando algunos países del Este de Europa. Afecta fundamentalmente al chabacano y al ciruelo.
- **Tipo E (El Amar):** Descubierto en Egipto. Como ya se ha comentado, existe una diferencia de opiniones en cuanto a si realmente puede considerarse un aislado diferente del serotipo M.

Recientemente ha sido descubierto un nuevo aislado en cerezo en Moldavia (PPV-SC), que ha sido secuenciado, caracterizado y clasificado dentro de un nuevo tipo (Tipo C) (Nemchinov y Hadidi, 1996).

Origen y diseminación de la enfermedad

El virus de la sharka fue detectado por primera vez hacia 1917 en ciruelo en Bulgaria (Atanasoff, 1932). Posteriormente se extendió por el resto de Europa, Oriente próximo (Turquía, Chipre y Siria) y Egipto. Actualmente los países europeos son los más afectados, exceptuando Suiza, Dinamarca, Holanda y Estonia. Más recientemente, ha sido descrita en el norte de la

India y en Chile y, posiblemente se encuentre en otros países sudamericanos o en otras partes del mundo (Nemeth, 1994). En la Figura 1 se muestra el año de aparición de la enfermedad en los diferentes países.

Si bien algunos autores inicialmente tradujeron como nombre común de este virus el de "la viruela del chabacano" (Nemeth, 1986), este nombre no es correcto ya que "la viruela" es otra fisiopatía ya descrita anteriormente en chabacano en algunas zonas de España y cuya etiología no es del todo conocida (García *et al.*, 1990). Por tanto, el nombre común utilizado para denominar este virus en español sería el de "virus de la sharka".

Las plantas afectadas

Las principales plantas que pueden ser afectadas por la sharka son los frutales del género *Prunus*, fundamentalmente el chabacano, ciruelo y el durazno; aunque el PPV ha sido experimentalmente transmitido al almendro (*P. dulcis*) y cerezo (*P. avium*, *P. cerasus*, *P. mahaleb*), en la práctica, hoy en día, la sharka no supone un riesgo real para estas especies. Diversas especies de *Prunus* silvestres y ornamentales (*P. insititia*, *P. spinosa*, *P. cerasifera*, *P. tomentosa*, *P. glandulosa*, *P. salicina*), pueden ser igualmente infectados por el virus (Nemeth, 1994).

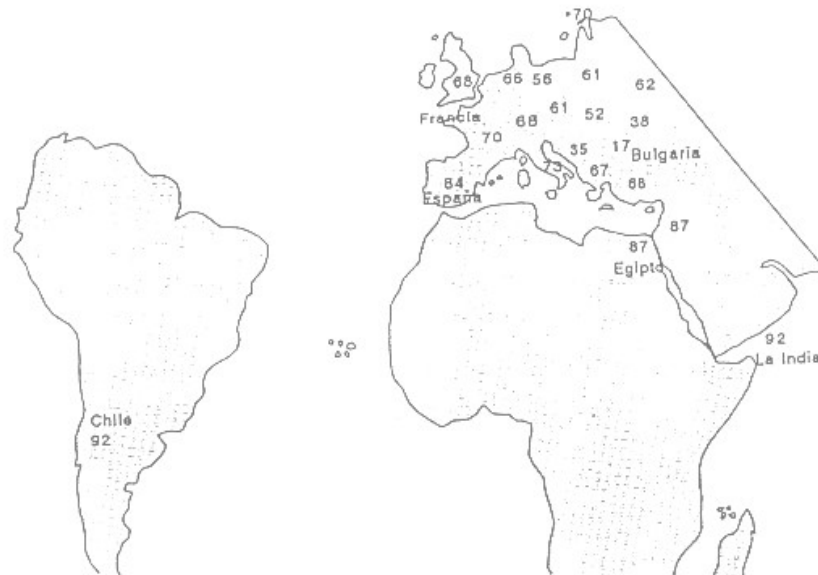


Fig. 1. Origen y dispersión del virus de la sharka.

El PPV también puede afectar a numerosas plantas herbáceas que multiplican el virus actuando como focos de infección para los *Prunus*. Son muchas las plantas herbáceas conocidas, capaces de ser infectadas y permitir la multiplicación del virus: *Chenopodium foetidum*, *Nicotiana benthamiana* y *Nicotiana clevelandii* son utilizadas en investigación (Lansac *et al.*, 1982).

EPIDEMIOLOGIA DEL VIRUS

Propagación del virus

La propagación del virus de la sharka se puede realizar mediante dos mecanismos: en primer lugar, mediante la multiplicación vegetativa de cultivares o portainjertos infectados, lo que puede propagar la enfermedad a grandes distancias. Esta ha sido la causa de la dispersión de la enfermedad de un país a otro. La utilización de material vegetal certificado, libre de virus, podría en este caso detener la progresión de la enfermedad.

Por otro lado, el virus se transmite de un modo natural por pulgones. La transmisión se realiza según el modo "no persistente", por lo que el pulgón puede tomar el virus al comenzar a alimentarse, desplazarse inmediatamente a otro árbol e inocular el virus al alimentarse de nuevo (Kunze y Krczal, 1971), siendo muy difícil detener su progresión (Labonne y Lauriot, 1993).

Son numerosas las especies de pulgones capaces de transmitir el virus de la sharka, entre los más comunes se encuentran *Aphis gossypii*, *Aphis craccivora*, *Aphis fabae*, *Aphis spiraeicola*, *Brauchycaudus helichrysi*, *Brauchycaudus cardui*, *Myzus persicae*, *Myzus variaus*, *Hyalopterus pruni* y *Phorodon humili* (Kunze y Krczal, 1971; Avinent *et al.*, 1994).

En general, los pulgones son fáciles de controlar en todos los casos en chabacano, durazno (con excepción de *Myzus persicae*) y ciruelo (excepto *Aphis fabae*), sin embargo y debido a que la transmisión es muy rápida del tipo no persistente, el control de los vectores no consigue controlar el virus definitivamente.

La transmisión del virus por las semillas ha sido descrita por algunos autores (Nemeth y Kölber, 1982), si bien ha sido un tema muy discutido y los resultados obtenidos por los diferentes autores son contradictorios; actualmente la hipótesis más aceptada es que la enfermedad no se transmite por la vía sexual (Triolo *et al.*, 1993).

Sintomatología de la sharka

Sin lugar a dudas, entre los frutales afectados por la sharka, el chabacano es el más amenazado y el que

está sufriendo los daños económicos más importantes, seguido del ciruelo. La totalidad de las variedades de chabacano europeas que han sido ensayadas son muy susceptibles a la sharka. Los únicos cultivares resistentes proceden de los Estados Unidos de América ('Stark Early Orange', 'Stella', 'Henderson', 'NJA2', 'Goldrich', 'Sunglo', 'Veecot') y de Canadá ('Harcot', 'Harlayne') (Audergon *et al.*, 1994).

Cuando este virus infecta las plantas de chabacano aparecen en las hojas unas manchas y anillos con color amarillento (cloróticos) (Figura 2A). En frutos se aprecian decoloraciones en forma de anillos y manchas, así como deformaciones y depresiones en la superficie del fruto, presentando la pulpa del mismo un aspecto gomoso. También sobre los huesos del fruto pueden aparecer anillos cloróticos en la superficie (Figura 2B).

En el ciruelo los síntomas en hoja son manchas cloróticas y anillos, similares a los del chabacano. En el fruto, los síntomas también son parecidos, presentando la pulpa un aspecto acorchado (Figura 2C). En durazno, los síntomas en hojas son más suaves y en los frutos apenas aparecen unas manchas (Figura 2D). La presencia del virus en la planta ocasiona los síntomas visibles antes descritos que llevan consigo un debilitamiento del árbol, además de que en el caso del chabacano, hace totalmente inercializable la producción. En el caso del ciruelo y el durazno la producción se ve menos afectada.

DETECCION DE LA ENFERMEDAD Y EL VIRUS

El diagnóstico de la enfermedad puede llevarse a cabo mediante diversos métodos de detección: observación visual de síntomas, realización de un ensayo sobre plantas indicadoras y utilizando técnicas serológicas y moleculares.

Observación visual de síntomas.

Es el método de diagnóstico más antiguo, utilizado en campo y es el más económico, pero el menos confiable debido a la posible confusión con síntomas producidos por otras causas. Es necesaria una práctica importante debido a los numerosos factores que influyen en la manifestación de la enfermedad.

La ventaja de este método es la facilidad con la que un gran número de árboles puede ser examinado por un personal no altamente calificado. Su mayor inconveniente es la posibilidad de confundir los síntomas con los de otras enfermedades junto con la dificultad de localizarlos, dada la distribución aleatoria del virus en el árbol;



Fig. 2.- Síntomas de sharka en frutales. A.- Hojas de chabacano. B.- Frutos de chabacano. C.- Frutos de ciruelo. D.- Frutos de durazno.

además, desde que se produce la infección del árbol hasta que la planta manifiesta los primeros síntomas pueden transcurrir muchos meses, durante los cuales los árboles "enfermos" pueden ser considerados "sanos" (Breniaux *et al.*, 1990). Aunque este método es el más ampliamente utilizado, generalmente se complementa con otras técnicas más confiables.

Indicadores biológicos sensibles

Es otro método de diagnóstico tradicionalmente utilizado. El durazno 'GF305', procedente de la Estación Experimental de La Grande Ferrade en Francia, fue seleccionado en los años sesenta por su elevada susceptibilidad a un gran número de virus de plantas leñosas, como es el caso del "Plum pox virus" (PPV), del "Apple Chlorotic Leaf Spot Virus" (ACLSV), etc. (Bernhard *et al.*, 1969). En estos momentos es el indicador biológico más utilizado en el caso de la sharka.

Cabe señalar que la utilización de los indicadores biológicos requiere fuertes inversiones en invernaderos a prueba de insectos (pulgonos principalmente) y el mantenimiento de un elevado número de plantas en cultivo.

Métodos serológicos

El método que en algunos años ha hecho los progresos más espectaculares y que en la actualidad es el más extendido, es el método serológico, debido fundamentalmente a su sencillez de aplicación. Este método está basado en la reacción antígeno-anticuerpo. La técnica más empleada es la denominada ELISA ("Enzyme Linked Immunosorbent Assay"). Adams (1978) publicó el primer trabajo sobre detección de PPV en especies del género *Prunus* mediante esta técnica utilizando anticuerpos policlonales.

La prueba inmunoenzimática del ELISA, es aplicada de una manera rutinaria para diagnosticar la presencia del PPV en plantas. Básicamente consiste en obtener en el laboratorio un extracto de la planta a examinar (hoja, tallo, flor, fruto, etc.) y someterlo a una reacción inmunoenzimática (antígeno-anticuerpo) que produce una coloración amarillenta en caso de muestras infectadas con el virus. La principal ventaja de la prueba ELISA es la posibilidad de analizar un número elevado de muestras, obteniéndose un diagnóstico rápido (48 horas) y confiable. En este proceso, la utilización de anticuerpos monoclonales contra el PPV mejora la sensibilidad de la técnica (Cambra *et al.*, 1994).

Métodos moleculares

Más recientemente la aplicación de las nuevas tecnologías de recombinación del ADN, ha permitido el uso de métodos de detección basados en la detección de parte o del genomio completo del virus en la planta. Las nuevas técnicas moleculares de amplificación del ácido nucleico del virus mediante la PCR (Polymerase Chain Reaction) y la hibridación con sondas, parecen ser las técnicas más sensibles para la detección de virus en plantas.

La hibridación molecular se basa en la desnaturación del ácido nucleico del virus y su hibridación en una membrana de nylon (normalmente) con una sonda marcada mediante un marcador radioactivo (normalmente fósforo marcado) (Varveri *et al.*, 1988), también se ha utilizado un marcador no radioactivo (normalmente biotina o digoxigenina) utilizando una reacción colorimétrica o luminiscente para la visualización del ARN viral.

Más recientemente, para la detección de PPV se ha aplicado la técnica PCR, desarrollando una serie de "cebadores" específicos para este virus y capaces de amplificar el ácido nucleico del mismo mediante un ciclador térmico (Korschinec *et al.*, 1991; Wetzel *et al.*, 1991b).

Se ha desarrollado una variante de la técnica PCR para aumentar su sensibilidad, es lo que se ha llamado Inmuncaptura-PCR (IC-PCR) (Wetzel *et al.*, 1992). En este nuevo método se combinan las técnicas serológicas y moleculares para aumentar la sensibilidad en la detección del virus. Candresse *et al.* (1995) la describen como 2 000 veces más sensible que la técnica ELISA (Cuadro 1). Por último, se ha desarrollado una variante de esta técnica tendente a simplificar su realización llamada Print Capture-PCR (PC-PCR) (Olmos *et al.*, 1996).

CONTROL DE LA ENFERMEDAD

Dadas las características de la enfermedad, la lucha contra la sharka debe de orientarse desde una óptica multidisciplinaria. De forma inmediata la progresión de la enfermedad puede ser detenida mediante el arranque de los árboles infectados y la utilización de material certificado libre de virus. La lucha contra los pulgones, aunque en teoría sería un método eficaz para luchar contra la difusión de la enfermedad, en la práctica no es así. Se ha demostrado que las formas aladas de los pulgones son las que transmiten el virus de un árbol a otro, suelen ser detectadas cuando ya se

encuentran en toda la plantación y normalmente ya han transmitido el virus.

Medidas preventivas de control legal

En la actualidad, en la Comunidad Autónoma de Murcia (España) desde el año de 1987 se realiza una campaña legal de erradicación de la enfermedad consistente en el arranque subvencionado de los árboles enfermos. La detección de la enfermedad en campo se realiza mediante prospecciones periódicas llevadas a cabo por personal técnico calificado. Para la búsqueda de árboles con síntomas, el equipo de prospección se reparte por la finca elegida, tomando cada miembro del equipo una fila de árboles y examinándolos visualmente. La presencia de síntomas suele apreciarse más claramente sobre brotes jóvenes y en los frutos maduros.

CUADRO 1. Comparación del límite de detección del virus de la sharka utilizando diferentes métodos.

Método	Límite de detección	
	(pg de virus por ml)	(Partículas virales por ml)
ELISA	5 000	40 000 000
Hibridación molecular	500	5 000 000
RT-PCR	200	2 000 000
IC-PCR	2	20 000

Desde la declaración oficial de la presencia de la sharka en la Comunidad Autónoma de Murcia y tras ordenar el arranque obligatorio de los árboles afectados por la enfermedad, se han eliminado hasta la fecha en esta Comunidad cerca de 10 000 árboles de chabacanos y 95 000 de ciruelos. La cuantía de las indemnizaciones correspondientes a estos arranques asciende a cerca de 1 millón de dólares con una media de 10 dólares por árbol arrancado.

Utilización de plantas resistentes

De forma definitiva la utilización de cultivares resistentes a la enfermedad es la única solución al problema, si bien actualmente no se conocen variedades resistentes capaces de igualar en calidad a las existentes en el mercado (Martínez-Gómez, 1995). La obtención de estos cultivares es uno de los objetivos más importantes de los programas de mejoramiento del

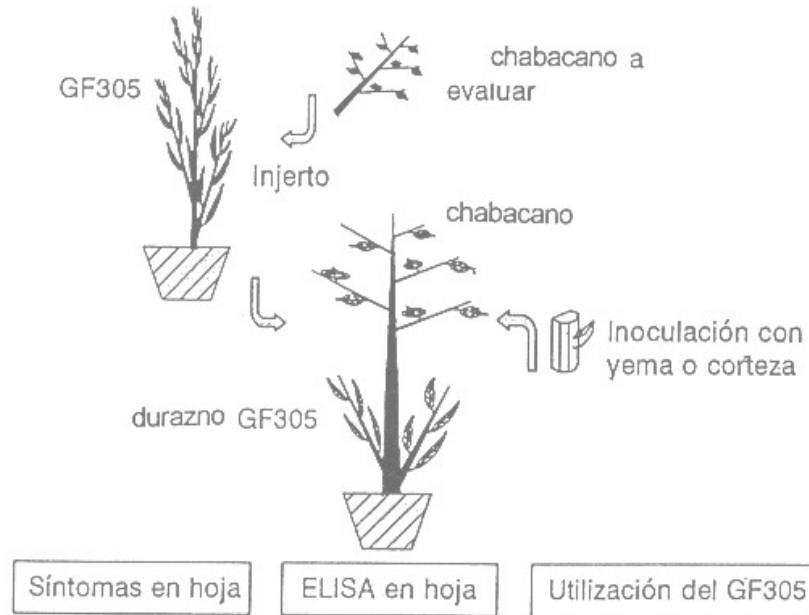


Fig. 3.- Método para la determinación del nivel de resistencia del chabacano a la sharka

chabacano en España y toda Europa (Dicenta *et al.*, 1996). Más recientemente han comenzado los trabajos de obtención de plantas resistentes mediante transformación genética (Cámara-Machado *et al.*, 1994).

Para la evaluación de la resistencia a la sharka, el método más utilizado en la actualidad es básicamente el descrito por Audergon y Morvan (1990) (Figura 3). Todos los ensayos se deben realizar en condiciones aisladas para impedir la difusión de la enfermedad al exterior. En este método se utilizan árboles procedentes de semillas del durazno 'GF305', muy susceptible a la sharka, como material sobre el que se realizan los ensayos. Las semillas del 'GF305' son germinadas y una vez que la planta tiene aproximadamente unos 5 mm de diámetro de tronco, se injerta el cultivar o híbrido a evaluar; posteriormente, se procede a su inoculación con el virus mediante injerto de una yema o corteza de 'GF305' enfermo, o mediante pulgón. La inoculación mecánica es utilizada normalmente en los ensayos con plantas herbáceas (Materazzi *et al.*, 1991). Por último, mediante la detección del virus en el material a evaluar se evalúa su resistencia o susceptibilidad.

LITERATURA CITADA

- ADAMS, A.N. 1978. The detection of plum pox virus in *Prunus* species by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Annals of Applied Biology* 90:215-221.
- ATANASOFF, D. 1932. Plum pox. A new virus disease. *Ann. Univ. Sofia, Fac. Agron. Sylvic.* 11: 46-49.
- AUDERGON, J.M.; G. MORVAN. 1990. A rapid method for assessing the sensitivity of apricot to plum pox virus. 13 International Horticultural Congress. Firenze. August-September, 1990.
- AUDERGON, J.M.; F. DOSBA; Y. KARAYIANIS; F. DICENTA. 1994. Amélioration génétique de l'abricotier pour la résistance à la sharka. *EPPO Bulletin* 24:741-748.
- AVINENT, L.; A. HERMOSO; G. LLACER. 1994. Transmission of plum pox potyvirus in Spain. *EPPO Bulletin* 24:669-674.
- BERNHARD, R.; MARENAUD, C.; D. SUTIC. 1969. Le pêcher GF305, indicateur polyvalent des virus des espèces à noyau. *Ann. Phytopathol.* 1:603-617.
- BRENIAUX, D.; MICOUD, A.; M. OLLIER. 1990. Etude de l'exteriorisation du virus de la sharka sur pêcher. Ministère de l'Agriculture et de la Forêt. SRPV Rhône-Alpes.
- CÂMARA-MACHADO, A.; H. KATINGER; M. LAIMER. 1994. Coat protein-mediated protection against plum pox virus in herbaceous model plants and transformation of apricot and plum. *Euphytica* 77:129-134.
- CAMBRA, M.; M. ASENSIO; M.T. GORRIS; E. CAMARASA; A. SANZ; J.A. GARCÍA; J. ARAMBURU; J.J. LÓPEZ-MOYA; D. LÓPEZ-ABELLA; C. VELA; A. SANZ. 1994. Detection of Plum pox potyvirus using monoclonal antibodies to structural and non-structural proteins. *EPPO Bulletin* 24(3): 569-578.

- CANDRESSE, T.; G. MACQUAIRE; M. LANNEAU; M. BOUSALEM; L. QUIOT-DOULINE; J.B. QUIOT; J. DUNEZ. 1995. Analysis of Plum pox virus variability and development of strain-specific PCR assays. *Acta Horticulturae* 386: 357-369.
- DICENTA, F.; J.E. GARCÍA; R. GELLA; P. MARTÍNEZ-GÓMEZ. 1996. Resistencia al virus de la sharka: un carácter a mejorar en los albaricoqueros españoles. *Información Técnica Económica Agraria* 92(2):131-143.
- GARCIA, J. E.; L. EGEA; J. EGEA; T. BERENQUER. 1990. El albaricoquero en la Región de Murcia. Fichas Agronómicas del Manejo del Riego. Ed. Consejería de Agricultura de la Región de Murcia. 2 p.
- KORSCHINECK, I.; G. HIMMLER; R. SAGL; H. STEINKELLNER; H. KATINGER. 1991. A PCR membrane spot assay for the detection of plum pox virus RNA in bark of infected trees. *J. Virol. Meth.* 31:139-145.
- KUNZE, L.; H. KRCZAL. 1971. Transmission of sharka virus by aphids. 8 Symposium européen sur les maladies à virus des arbres fruitières. Bordeaux, pp. 255-262.
- LABONNE, G.; F. LAURIAOT. 1993. Evaluation de la pression d'inoculum qui s'exerce sur un arbre en fonction de la proportion de pucerons porteurs de plum pox virus. Deuxièmes rencontres sur l'abricotier. Avignon, Mai 1991, pp. 151-153.
- LANSAC, M.; R. BERNHARD; G. MASSONIE; P. MAISON; C. KERLAN; J. DUNEZ; G. MORVAN. 1982. La sharka: connaissances actuelles. 3 Journ. Franc. Etud. Info. ACTA. Paris, Octobre 1979, pp. 452-468.
- MARENAUD, C. 1979. Caracterisation d'écotypes du virus de la sharka par analyse du comportement de la lignée GF305 de *Prunus persica*. *Acad. Agric. France*, pp. 110-115.
- MARTÍNEZ-GÓMEZ, P. 1995. Programa de mejora para la creación de nuevas variedades de albaricoquero adaptadas al cultivo en España resistentes a sharka, incluyendo la compatibilidad con los patrones más utilizados. Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza (CIHEAM). 59 p.
- MATERAZZI, A.; J.M. AUDERGON.; C. BRUCHOU; H. LECOQ. 1991. Sensibilité des semis de pêcher GF305 à la sharka ou PPV. Résultats préliminaires concernant la comparaison de deux types d'inoculation. 2 Rencontre du Groupe "Abricotier". Avignon. Mai 1991, pp. 147-148.
- NEMCHINOV, L.; A HADIDI. 1996. Characterization of the sour cherry strain of Plum pox virus. *Phytopathology* 86(6): 575-580.
- NEMETH, M. 1986. Virus, mycoplasma and rickettsia diseases of fruit trees. Martinus Nijhoff publishers. Dordrech. 834 p.
- NEMETH, M. 1994. History and importance of plum pox in stone fruit production. *EPPA Bulletin* 24(3): 525-537.
- NEMETH, M.; M. KÖLBER. 1982. Additional evidence on seed transmission of plum pox virus in apricot, peach and plum proved by ELISA. *Acta Horticulturae* 130: 293-300.
- OLMOS, A.; M.A DASÍ; T. CADRESSE; M. CAMBRA. 1996. Print-capture PCR. a simple and highly sensitive method for the detection of Plum pox virus (PPV) in plant tissues. *Nucleic Acids Researchs* 24(11): 2192-2193.
- TRIOLO, E.; M. GINANNI; A. MATERAZZI; A. PAOLUCCI. 1993. Further evidence of the non-transmission through seed of plum pox virus in apricot. *Adv. Hort. Sci.* 7:109-111.
- VARVERI, C.; T. CANDRESSE; M. CUGUSI; M. RAVELONANDRO; J DUNEZ. 1988. Use of a 32P-labeled transcribed RNA probe for dot hybridization detection of plum pox virus. *Phytopathology* 78:1280-1283.
- WARD, C.W.; DD. SHUKLA. 1991. Taxonomy of potyviruses: current problems and some solutions. *Intervirolgy* 32:269-296.
- WETZEL, T.; T. CANDRESSE; M. RAVELONANDRO; R.P. DELBOS; H. MAZYAD; A.E. ABOUL-ATA; J. DUNEZ. 1991a. Nucleotide sequence of the 3'-terminal region of the RNA of the El Amar strain of plum pox potyvirus. *J. Gen. Virol.* 72:1741-1746.
- WETZEL, T.; T. CANDRESSE; M. RAVELONANDRO; J. DUNEZ. 1991b. A polymerase chain reaction assay adapted to plum pox potyvirus detection. *J. Virol. Meth.* 33:355-365.
- WETZEL, T.; T. CANDRESSE; G. MACQUAIRE; M. RAVELONANDRO; J. DUNEZ. 1992. A highly sensitive immunocapture polymerase chain reaction method for plum pox potyvirus detection. *J. Virol. Meth.* 39: 27-37.