

## VIRUS FITOPATÓGENOS EN INSECTOS ASOCIADOS AL AJO

Octavio Gustavo García-Rodríguez<sup>1</sup>; Luis Pérez-Moreno<sup>1\*</sup>; Martha Juana Navarro-León<sup>1</sup>; Manuel Darío Salas-Araiza<sup>1</sup>; Oscar Alejandro Martínez-Jaime<sup>1</sup>; Ma. Fabiola León-Galván<sup>2</sup>; Héctor Gordon Núñez-Palenius<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca, División de Ciencias de la Vida, Departamento de Agronomía. km 9 Carretera Irapuato-Silao, Irapuato, Guanajuato, MÉXICO. C. P. 36500

Correo-e.: luispm@ugto.mx. (\*Autor para correspondencia)

<sup>2</sup>Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca, División de Ciencias de la Vida, Departamento de Alimentos. km 9 Carretera Irapuato-Silao, Irapuato, Guanajuato, MÉXICO. C. P. 36500,

### RESUMEN

La propagación vegetativa del ajo (*Allium sativum*) es la principal vía de transmisión de virus para este cultivo. No obstante, no se debe descartar la dispersión por insectos vectores. El objetivo del presente estudio fue detectar, mediante la prueba de ELISA, la presencia de virus en insectos colectados en plantas de ajo. El experimento se llevó a cabo durante el ciclo Otoño-Invierno 2008-2009. La toma de muestras de insectos se realizó en tres fechas después de la siembra. La identificación de las especies de insectos se realizó utilizando un estereomicroscopio Zeiss de 30X y claves taxonómicas. La detección de virus fue mediante la técnica de DAS-ELISA para los potyvirus Virus del rayado amarillo del puerro (*Leek yellow spot virus*: LYSV) y Virus del enanismo amarillo de la cebolla (*Onion yellow dwarf virus*: OYDV); los carlavirus Virus latente común del ajo (*Garlic common latent virus*: GCLV) y Virus latente del chalote (*Shallot latent virus*: SLV); y el tospovirus Virus del manchado amarillo del iris (*Iris yellow spot virus*: IYSV). Se identificaron 19 especies de insectos, de los que destacaron *Thrips tabaci* Lindeman, como positivo en 18 muestras para GCLV y dos muestras para IYSV, y *Collops quadrimaculatus*, como positivo en una muestra para GCLV.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: *Allium sativum*, GCLV, OYDV, SLV, IYSV, LYSV.

### PLANT VIRUSES IN GARLIC-ASSOCIATED INSECTS

#### ABSTRACT

Vegetative propagation of garlic (*Allium sativum*) is the main route of virus transmission for this crop. However, insect-vector spread should not be ruled out. The aim of this study was to detect, by means of the ELISA test, the presence of five viruses in insects collected in garlic plants. The experiment was conducted during the fall-winter (2008-2009) cycle. Insect samples were taken on three dates: 45, 110 and 140 days after garlic sowing. Insect species identification was performed using a Zeiss (30X) stereomicroscope and the O'Brien and Wilson (1985) and Mound and Kibby (1998) taxonomy keys. The serology test for virus detection was the DAS-ELISA technique. Coat-protein virus antibodies were applied for the potyviruses: *Leek yellow spot virus* (LYSV) and *Onion yellow dwarf virus* (OYDV); for the carlaviruses: *Garlic common latent virus* (GCLV) and *Shallot latent virus* (SLV); and for the tospovirus: *Iris yellow spot virus* (IYSV). Of the 19 insect species identified, *Thrips tabaci* Lindeman tested positive in 18 samples for GCLV and in 2 samples for IYSV, and *Collops quadrimaculatus* tested positive in one sample for GCLV.

ADDITIONAL KEYWORDS: *Allium sativum*, GCLV, OYDV, SLV, IYSV, LYSV.

## INTRODUCCIÓN

Por el daño que ocasionan, las enfermedades virales se sitúan entre los agentes nocivos más importantes del ajo (Velázquez-Valle *et al.*, 2010; Pérez-Moreno *et al.*, 2010), ya que pueden reducir de 33 a 50 % el rendimiento y hasta el 30 % el peso de los bulbos, cuando la frecuencia de varios virus es elevada, principalmente la de LYSV, OYDV, GCLV, SLV y IYSV (Pérez-Moreno *et al.*, 2010; Pérez-Moreno *et al.*, 2013). La propagación vegetativa del cultivo permite la continuidad en transmisión y diseminación del agente causal a través del tiempo y espacio, aunado a la falta de medidas preventivas como reducción en la población de vectores y el uso de semilla libre de virus. Sin embargo, la intervención de otros agentes transmisores no se han reportado en México. Entre los agentes potencialmente transmisores de virus se encuentran los insectos, ácaros, nematodos y plantas parásitas (Matthews, 1991).

Entre los vectores asociados a infecciones virales en ajo se encuentra *Aceria tulipae* Keifer (Acari: Eriophyidae), el cual transmite algunos virus de la familia *Rymoviridae* (Van Dijk *et al.*, 1991). De igual manera, el áfido *Myzus persicae* (Sulcer) (Hemiptera: Aphididae) se relaciona con la transmisión de virus de las familias *Potyviridae* y *Allexiviridae* (Miyazaki, 1987; Van Dijk *et al.*, 1991). No obstante que algunas especies del orden Thysanoptera, y en particular *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae), son transmisoras de tospovirus (Ullman *et al.*, 1992; Chatzivassiliou *et al.*, 1999), en ajo no se ha reportado como vector a *F. occidentalis*. Sin embargo, *Thrips tabaci* Lindeman transmite el virus del manchado amarillo del iris en cebolla (Gent *et al.*, 2006).

En relación con organismos transmisores, algunas especies de la familia Aphididae (Conci, 1997; Lunello *et al.*, 2007), el ácaro *Aceria tulipae* (Yamashita *et al.*, 1996), trips (Nagata *et al.*, 1999) y nematodos (Graichen, 1975) son los únicos reportados como transmisores de virus en Alliaceae, y se desconoce la influencia del resto de la población de artrópodos asociados al cultivo, ante lo cual surge la interrogante de qué relación existe entre los insectos presentes durante el ciclo de desarrollo del ajo y la presencia de plantas con síntomas virales. Es de gran importancia conocer cuáles especies de insectos y ácaros, presentes en el cultivo de ajo, son portadoras de virus. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue detectar la presencia de virus de ajo en muestras de sus insectos-plaga.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó durante el invierno 2008-2009, en el Campo Agrícola Experimental de la División de Ciencias de la Vida del Campus Irapuato - Salamanca de la Universidad de Guanajuato, localizado en la Exhacienda "El Copal" ubicado en el km 9 de la carretera Irapuato-Silao, en el municipio de Irapuato, Guanajuato, México; situado geográficamente a 20° 44' 39.2" latitud norte y 101° 19' 39.4" longitud oeste, a una altitud de 1,757 msnm. Se utilizó el Compuesto de Ajo No. 4 del tipo Taiwán. La fecha de siem-

## INTRODUCTION

For the damage they cause, viral diseases are among the most important harmful agents affecting garlic (Velázquez-Valle *et al.*, 2010; Pérez-Moreno *et al.*, 2010), since they can reduce yield by 33-50 % and bulb weight by up to 30 %, when the frequency of several viruses is high, mainly of LYSV, OYDV, GCLV, SLV and IYSV (Pérez-Moreno *et al.*, 2010; Pérez-Moreno *et al.*, 2013). Vegetative propagation of the crop permits continuous transmission and spread of the causal agent through time and space, coupled with the lack of preventive measures such as reducing the population of vectors and using virus-free seed. However, the involvement of other transmitter agents has not been reported in Mexico. Among the potential transmitter agents of viruses are insects, mites, nematodes and parasitic agents (Matthews, 1991).

Vectors associated with viral infections in garlic include *Aceria tulipae* Keifer (Acari: Eriophyidae), which transmits some viruses of the family *Rymoviridae* (Van Dijk *et al.*, 1991). Similarly, the aphid *Myzus persicae* (Sulcer) (Hemiptera: Aphididae) is related to the transmission of viruses of the families *Potyviridae* and *Allexiviridae* (Miyazaki, 1987; Van Dijk *et al.*, 1991). Although some species of the order Thysanoptera, particularly *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae), are transmitters of tospoviruses (Ullman *et al.*, 1992; Chatzivassiliou *et al.*, 1999), *F. occidentalis* has not been reported as a vector in onion. However, *Thrips tabaci* Lindeman transmits the *Iris yellow spot virus* in onion (Gent *et al.*, 2006).

In relation to transmitting organisms, some species of the family Aphididae (Conci, 1997; Lunello *et al.*, 2007), the mite *Aceria tulipae* (Yamashita *et al.*, 1996), thrips (Nagata *et al.*, 1999) and nematodes (Graichen, 1975) are the only ones reported as virus transmitters in Alliaceae, and the influence of the rest of the population of arthropods associated with the crop is unknown, raising the question of what relationship exists between the insects present during the development cycle of garlic and the presence of plants with viral symptoms. It is very important to know which species of insects and mites, present in the garlic crop, are virus carriers. Therefore, the objective of this study was to detect the presence of garlic viruses in samples of their pest insects.

## MATERIALS AND METHODS

The present study was conducted during the 2008-2009 winter, at the Experimental Agricultural Field belonging to the Life Sciences Division of the Irapuato-Salamanca Campus of the University of Guanajuato, located in the former "El Copal" hacienda located at km 9 of the Irapuato-Silao highway, in the municipality of Irapuato, Guanajuato, Mexico, geographically situated at 20° 44' 39.2" north latitude and 101° 19' 39.4" west longitude, at an altitude of 1,757 masl. Taiwan-type No. 4 garlic compound was used. The planting date was October 17, 2008, and harvesting was on April 16, 2009.

bra fue el 17 de octubre de 2008, y de cosecha, el 16 de abril de 2009.

La recolección de muestras de insectos se realizó de las 10:00 a las 14:00 horas, mediante una bomba D-Vac ECHO PB-210, aspirando sobre las plantas. Los insectos capturados se colocaron en bolsas de plástico transparente de 20 x 30 cm, y se llevaron al laboratorio, en donde se mantuvieron en congelación (-20 °C) hasta su procesamiento. Se muestreó a los 45 (etapa fenológica de ocho hojas), 110 (etapa fenológica de máximo crecimiento vegetativo) y 140 (etapa fenológica de llenado de bulbo) días después de la siembra (dds).

Cada muestra se tomó en cada uno de los seis bloques de 72 surcos de 6.0 m de longitud y 0.76 m de ancho, (6 bloques x 3 fechas de muestreo = 18 muestras) (Pérez-Moreno *et al.*, 2010).

Las muestras se limpiaron de impurezas y los insectos se separaron por orden y familia. Para la identificación específica se utilizaron 20 ejemplares de cada uno de los insectos colectados y se usaron las claves dicotómicas propuestas por O'Brien y Wilson (1985), Palmer *et al.*, (1989), y Mound y Kibby (1998).

Para la detección de los virus en insectos se utilizó como antígeno una muestra de 1 g de cada especie de insecto a evaluar y se utilizó la técnica de inmunoabsorción enzimática (ELISA) (Clark y Adams, 1977; Cruz y Frías, 1997) para los potyvirus Virus del rayado amarillo del puerro (*Leek yellow spot virus*, LYSV) y Virus del enanismo amarillo de la cebolla (*Onion yellow dwarf virus*, OYDV); carlavirus Virus latente común del ajo (*Garlic common latent virus*, GCLV) y Virus latente del chalote (*Shallot latent virus*, SLV); y tospovirus Virus del manchado amarillo del iris (*Iris yellow spot virus*, IYSV). Estos virus se seleccionaron por ser los patógenos virales más extendidos en los cultivos del género *Allium* a nivel mundial (Dovas *et al.*, 2001). Además, estos mismos virus se han detectado infectando al cultivo de ajo en el estado de Guanajuato, México (Pérez-Moreno *et al.*, 2006; Pérez *et al.*, 2007; Pérez-Moreno *et al.*, 2010). Para los virus GCLV, LYSV, IYSV y OYDV se utilizaron anticuerpos conjugados con la enzima fosfatasa alcalina, mientras que para el virus SLV, el anticuerpo estuvo conjugado con la enzima peroxidasa. Las lecturas de absorbancia se realizaron con un espectrofotómetro BIORAD Modelo 3550-UV, a una longitud de onda de 405 nm para los anticuerpos de GCLV, LYSV, IYSV y OYDV con la enzima conjugada de fosfatasa alcalina, y 655 nm para los anticuerpos de SLV con la enzima conjugada de peroxidasa.

Se obtuvieron lecturas por duplicado de cada muestra de insectos, y el valor medio de cada par fue el asignado. Como testigos se emplearon dos pozos: un testigo positivo proporcionado por el proveedor (Agdia Inc. 30380 County Road 6, Elkhart, Indiana, 46514, USA) y un testigo negativo, eligiendo para tal efecto a la mosca doméstica (*Musca domestica* L.), la cual es una especie que no se alimenta de la planta de

Insect samples were collected from 10:00 to 14:00 hours, using an ECHO D-Vac PB-210 vacuum for suction sampling on the plants. Captured insects were placed in 20 x 30 cm clear plastic bags, and were taken to the laboratory where they were kept frozen (-20 °C) until processing. Sampling was conducted at 45 (phenological stage of eight leaves), 110 (phenological stage of maximum vegetative growth) and 140 (phenological stage of bulb fill) days after sowing (das).

Each sample was taken in each of the six blocks of 72 rows of 6.0 m long and 0.76 m wide, (6 blocks x 3 sampling dates = 18 samples) (Pérez-Moreno *et al.*, 2010).

The samples were cleaned of impurities and insects were separated by order and family. For specific identification, 20 specimens of each of the collected insects were used, and the dichotomous keys proposed by O'Brien and Wilson (1985), Palmer *et al.* (1989), and Mound and Kibby (1998) were used.

To detect the viruses in insects, a 1 g sample of each insect species to evaluate was used as an antigen, and the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Clark and Adams, 1977; Cruz and Frías, 1997) was used for the potyviruses *Leek yellow spot virus* (LYSV) and *Onion yellow dwarf virus* (OYDV), the carlaviruses *Garlic common latent virus* (GCLV) and *Shallot latent virus* (SLV), and the tospovirus *Iris yellow spot virus* (IYSV). These viruses were selected for being the most widespread viral pathogens in crops of the genus *Allium* worldwide (Dovas *et al.*, 2001). In addition, these same viruses have been detected infecting the garlic crop in the state of Guanajuato, Mexico (Pérez-Moreno *et al.*, 2006; Pérez *et al.*, 2007; Pérez-Moreno *et al.*, 2010). For the viruses GCLV, LYSV, IYSV and OYDV, antibodies conjugated with alkaline phosphatase enzyme were used, whereas for the SLV virus, the antibody was conjugated with the peroxidase enzyme. Absorbance readings were made with a Bio Rad Model 3550-UV spectrophotometer, at a wavelength of 405 nm for the GCLV, LYSV, IYSV and OYDV antibodies with the alkaline phosphatase-conjugated enzyme, and 655 nm for the SLV antibodies with the peroxidase-conjugated enzyme.

Readings were obtained in duplicate of each sample of insects, and the average value of each pair was assigned to the sample. Two controls were used: a positive control provided by the supplier (Agdia Inc. 30380 County Road 6, Elkhart, Indiana, 46514, USA) and a negative control, choosing for this purpose the housefly (*Musca domestica* L.), which is a species that does not feed on the garlic plant, which ensures the absence of garlic viruses. The negative control value was obtained with the average of the two average absorbance reading values of the negative control (housefly), which were obtained for each virus in the different insect samples analyzed. As a criterion to determine the detection limit, twice the average value of the negative control was used for each of the viruses studied. Any value above this detection limit was considered positive.

ajo, lo que asegura la ausencia de los virus de ajo. El valor del testigo negativo se obtuvo con el promedio de los dos valores promedio de lectura de absorbancia del testigo negativo (mosca doméstica), que se obtuvieron para cada virus en las diferentes muestras de insectos analizadas. Como criterio para determinar el límite de detección, se utilizó el doble del valor promedio del testigo negativo para cada uno de los virus estudiados. Todo valor por arriba de este límite de detección se consideró positivo.

## RESULTADOS

Se identificaron insectos de los órdenes Thysanoptera, Hemiptera y Coleoptera (Cuadro 1) (O'Brien y Wilson, 1985; Palmer *et al.*, 1989; Mound y Kibby, 1998). Con base en las capturas, se observó claramente que la especie *Thrips tabaci* superó en número a las especies de los demás órdenes (datos no reportados).

Los resultados de la prueba de ELISA a 38 muestras de insectos, *Thrips tabaci*, *Collops quadrimaculatus*, *Chlorotettix* spp., *Empoasca* spp., *Oliarus* spp., *Diabrotica balteata*, *Diabrotica undecimpunctata*, *Epitrix* spp., *Lygus* spp. y *Macrosiphum euphorbiae*, indicaron diversos valores de absorbancia para cada uno de los cinco virus evaluados.

## RESULTS

Insects of the orders Thysanoptera, Hemiptera and Coleoptera were identified (Table 1) (O'Brien and Wilson, 1985; Palmer *et al.*, 1989; Mound and Kibby, 1998). Based on the captures, it was clearly seen that the species *Thrips tabaci* outnumbered the species of the other orders (data not reported).

ELISA test results for 38 Insect samples (*Thrips tabaci*, *Collops quadrimaculatus*, *Chlorotettix* spp., *Empoasca* spp., *Oliarus* spp., *Diabrotica balteata*, *Diabrotica undecimpunctata*, *Epitrix* spp., *Lygus* spp. and *Macrosiphum euphorbiae*) indicated diverse absorbance values for each of the five viruses evaluated.

The absorbance values exhibited by all of the 38 analyzed insect samples showed a broad range of values. However, none exceeded the detection limits of 0.342, 0.264, and 0.178, which is why the analyzed insects were considered negative for the *Leek yellow spot virus* (LYSV), the *Onion yellow dwarf virus* (OYDV) and the *Shallot latent virus* (SLV).

The absorbance values for the *Iris yellow spot virus* (IYSV) are shown in Table 2, where values above the detection limit

CUADRO 1. Especies de insectos colectadas en las unidades experimentales

TABLE 1. Insect species collected in the experimental units

Orden/ Order	Familia/ Family	Nombre científico/ Scientific name
Coleoptera	Coccinellidae	<i>Hippodamia convergens</i> Guérin-Ménéville <i>Diabrotica balteata</i> LeConte
	Chrysomelidae	<i>Diabrotica undecimpunctata</i> Howard Barber
	Chrysomelidae	<i>Epitrix</i> spp.
	Melyridae	
	Staphylinidae	<i>Collops quadrimaculatus</i> (Fab)
Hemiptera	Anthocoridae	<i>Orius thyeses</i> Herring
	Anthocoridae	<i>Orius tristicolor</i> (White)
	Anthocoridae	
	Berytidae	<i>Orius insidiosus</i> (Say)
	Cicadellidae	<i>Jalysus wickhami</i> (Van Duzee)
	Cicadellidae	<i>Chlorotettix</i> spp.
	Miridae	<i>Empoasca</i> spp.
	Nabidae	<i>Lygus</i> spp.
Homoptera Hymenoptera	Enicocephalidae	<i>Nabis</i> spp.
	Aphididae	<i>Systelloderes bicipes</i> (Say)
	Cixiidae	<i>Macrosiphum euphorbiae</i> (Thomas)
Thysanoptera	Braconidae	<i>Oliarus</i> spp.
Neuroptera	Hemerobiidae	<i>Hemerobis</i> spp.
Thysanoptera	Thripidae	<i>Thrips tabaci</i> Lindeman

CUADRO 2. Valores de absorbancia (405 nm) del Virus del manchado amarillo del iris (IYSV).

TABLE 2. Absorbance values (405 nm) of the *Iris yellow spot virus* (IYSV).

Muestra / Sample	Especie / Species	Fecha / Date	Repeticiones / Replicates I II		Promedio / Average	Resultado / Result
1	<i>Thrips tabaci</i>	1	0.408	0.488	0.448	Negativo / Negative
2	<i>Thrips tabaci</i>	1	0.427	0.395	0.411	Negativo/ Negative
3	<i>Thrips tabaci</i>	1	0.546	0.555	0.551	Negativo/ Negativeo
4	<i>Thrips tabaci</i>	1	0.456	0.409	0.433	Negativo/ Negative
5	<i>Thrips tabaci</i>	1	0.446	0.432	0.439	Negativo/ Negative
6	<i>Thrips tabaci</i>	1	0.486	0.594	0.540	Negativo/ Negative
7	<i>Thrips tabaci</i>	2	0.429	0.535	0.482	Negativo/ Negative
8	<i>Thrips tabaci</i>	2	0.467	0.435	0.451	Negativo/ Negative
9	<i>Thrips tabaci</i>	2	0.425	0.465	0.445	Negativo/ Negative
10	<i>Thrips tabaci</i>	2	0.694	0.632	0.663	Positivo / Positive
11	<i>Thrips tabaci</i>	2	0.617	0.746	0.682	Positivo / Positive
12	<i>Thrips tabaci</i>	2	0.462	0.364	0.413	Negativo / Negative
13	<i>Thrips tabaci</i>	3	0.343	0.354	0.349	Negativo / Negative
14	<i>Thrips tabaci</i>	3	0.425	0.417	0.421	Negativo / Negative
15	<i>Thrips tabaci</i>	3	0.361	0.377	0.369	Negativo / Negative
16	<i>Thrips tabaci</i>	3	0.311	0.400	0.356	Negativo / Negative
17	<i>Thrips tabaci</i>	3	0.356	0.370	0.363	Negativo / Negative
18	<i>Thrips tabaci</i>	3	0.334	0.269	0.302	Negativo / Negative
19	<i>Chlorotettix</i> spp.	2	0.349	0.357	0.353	Negativo / Negative
20	<i>Chlorotettix</i> spp.	2	0.327	0.310	0.319	Negativo / Negative
21	<i>Chlorotettix</i> spp.	2	0.464	0.431	0.448	Negativo / Negative
22	<i>Chlorotettix</i> spp.	2	0.264	0.270	0.267	Negativo / Negative
23	<i>Chlorotettix</i> spp.	2	0.411	0.404	0.408	Negativo / Negative
24	<i>Chlorotettix</i> spp.	2	0.362	0.351	0.357	Negativo / Negative
25	<i>Empoasca</i> spp.	2	0.227	0.213	0.220	Negativo / Negative
26	<i>Empoasca</i> spp.	2	0.179	0.173	0.176	Negativo / Negative
27	<i>Empoasca</i> spp.	2	0.231	0.224	0.228	Negativo / Negative
28	<i>Empoasca</i> spp.	2	0.155	0.155	0.155	Negativo / Negative
29	<i>Oliarus</i> spp.	2	0.175	0.186	0.181	Negativo / Negative
30	<i>Diabrotica balteata</i>	2	0.293	0.297	0.295	Negativo / Negative
31	<i>Diabrotica undecimpunctata</i>	2	0.274	0.268	0.271	Negativo / Negative
32	<i>Collops quadrimaculatus</i>	2	0.166	0.166	0.166	Negativo / Negative
33	<i>Epitrix</i> spp.	2	0.143	0.147	0.145	Negativo / Negative
34	<i>Lygus</i> spp.	2	0.188	0.200	0.194	Negativo / Negative
35	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	3	0.135	0.142	0.139	Negativo / Negative
36	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	3	0.122	0.136	0.129	Negativo / Negative
37	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	3	0.151	0.147	0.149	Negativo / Negative
38	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	3	0.155	0.154	0.155	Negativo / Negative
(-)	<i>Musca domestica</i> Control negativo		0.308	0.268	0.288	Negativo / Negative
(+)	Control Positivo (Agdia Inc.)		1.441	1.126	1.284	

Las fechas de muestreo fueron a los 45 (1), 110 (2) y 140 (3) días después de la siembra (dds). / Sampling dates were at 45 (1), 110 (2) and 140 (3) days after sowing (das).

La parte sombreada resalta las muestras positivas./ The shaded part highlights the positive samples.

Límite de detección (L. D.) = Promedio Control Negativo x 2=0.576/Detection Limit (D.L.) = Average Negative Control x 2=0.576

\*: Muestra única./\*: Single sample.



Los valores de absorbancia que exhibieron la totalidad de las 38 muestras de insectos analizados mostraron un rango de valores amplios. Sin embargo, ninguno superó los límites de detección de 0.342, 0.264, y 0.178, por lo cual se consideró que los insectos analizados fueron negativos para el Virus del rayado amarillo del puerro (LYSV), Virus del enanismo amarillo de la cebolla (OYDV), y Virus latente del chalote (SLV).

Los valores de absorbancia para el Virus del manchado amarillo del iris (IYSV) se muestran en el Cuadro 2, en donde se aprecian valores superiores al límite de detección en las muestras # 10 (*T. tabaci*, en la segunda fecha de muestreo, en el cuarto bloque) y # 11 (*T. tabaci*, en la segunda fecha de muestreo, en el quinto bloque), cuyas lecturas de absorbancia fueron de 0.663 y 0.682, respectivamente, por lo cual se consideró que los insectos de las muestras # 10 y # 11 fueron positivos al IYSV. El resto de las especies de insectos resultó con valores inferiores al límite de detección, por lo cual se consideró que fueron negativos al IYSV. Estos resultados concuerdan con los obtenidos con Miller *et al.* (2006), quienes encontraron que *Thrips tabaci* transmite eficientemente IYSV en cebolla. De la misma forma, Nagata *et al.* (1999) encontraron que *Thrips tabaci* fue el único en transmitir IYSV de una planta infectada a una planta sana.

Los valores de absorbancia para el Virus latente común del ajo (GCLV) se muestran en el Cuadro 3, y se aprecian valores superiores al límite de detección desde la muestra 1 a la 6 (*T. tabaci*, en la primera fecha de muestreo, del primero al sexto bloque), de la muestra 7 a la 12 (*T. tabaci*, en la segunda fecha de muestreo, del primero al sexto bloque), de la muestra 13 a la 18 (*T. tabaci*, en la tercera fecha de muestreo, del primero al sexto bloque), y en la muestra 32 (*Collops quadrimaculatus*), cuyas lecturas de absorbancia superaron el límite de detección, el cual fue de 0.382. Por ello se consideró que los insectos de las muestras uno a la 18 y la 32 fueron positivas al GCLV, por lo que se consideraron portadores del referido virus. El resto de las especies analizadas resultó con valores inferiores al límite de detección, por lo cual se consideró que los insectos analizados fueron negativos al GCLV. Es importante señalar que a la fecha no existen reportes que establezcan a *T. tabaci* como vector del virus GCLV. Estos resultados difieren de los resultados de diversas investigaciones que establecen a *Thrips tabaci* como vector de los tospovirus TSWV e IYSV (Ullman *et al.*, 1992; Wijkamp *et al.*, 1995; Hogenhout *et al.*, 2008).

## DISCUSIÓN

La mayoría de las investigaciones realizadas a la fecha en el patosistema virus-ajo abordan la detección e identificación de los principales virus asociados a la enfermedad. Sin embargo, la identificación de los mecanismos de propagación es limitada, y lo que se conoce se atribuye principalmente al sistema de propagación vegetativa (Barg *et al.*, 1994; Cafrune *et al.*, 2006).

are seen in samples # 10 (*T. tabaci*, on the second sampling date, in the fourth block) and # 11 (*T. tabaci*, on the second sampling date, in the fifth block), whose absorbance readings were 0.663 and 0.682, respectively, which is why the insects of samples # 10 and # 11 were considered positive for IYSV. The rest of the insect species had values lower than the detection limit, which is why they were considered negative for IYSV. These results agree with those obtained by Miller *et al.* (2006), who found that *Thrips tabaci* efficiently transmits IYSV in onion. Likewise, Nagata *et al.* (1999) found that *Thrips tabaci* was the only one to transmit IYSV from an infected plant to a healthy plant.

The absorbance values for the *Garlic common latent virus* (GCLV) are shown in Table 3, and values higher than the detection limit are seen from sample 1 through 6 (*T. tabaci*, on the first sampling date, from the first to the sixth block), from sample 7 to 12 (*T. tabaci*, on the second sampling date, from the first to sixth block), from sample 13 to 18 (*T. tabaci*, on the third sampling date, from the first to the sixth block) and in sample 32 (*Collops quadrimaculatus*), whose absorbance readings exceeded the detection limit, which was 0.382. Therefore, the insects of the samples one to 18 and 32 were considered positive for GCLV, so they were deemed to be carriers of the said virus. The rest of the analyzed species had values lower than the detection limit, which is why the analyzed insects were considered negative for GCLV. It is important to note that to date there are no reports that establish *T. tabaci* as a GCLV virus vector. These results differ from those of various investigations that establish *Thrips tabaci* as a vector of the TSWV and IYSV tospoviruses (Ullman *et al.*, 1992; Wijkamp *et al.*, 1995; Hogenhout *et al.*, 2008.).

## DISCUSSION

Most of the research conducted to date on the garlic-virus pathosystem addresses the detection and identification of the main viruses associated with disease. However, the identification of the propagation mechanisms is limited, and what is known is mainly attributed to the vegetative propagation system (Barg *et al.*, 1994; Cafrune *et al.*, 2006).

The virus transmission process in plants by vectors implies the involvement of different factors, among which are: a) the phenological stage of the crop, b) leaf layer of the plant, c) vector development stage, d) presence of glycoproteins or "helper" in the mouthparts that facilitate the acquisition of the virus, among others (Ullman *et al.*, 1992; Doivas *et al.*, 2002. Andret-Link and Fuchs, 2005; Pérez *et al.*, 2007.). However, although in this study the samplings were carried out only in the phenological plant stages of eight leaves (45das), maximum vegetative growth (110das) and bulb fill (140das), and *Thrips tabaci* was positive for GCLV in the three samplings, it is important to consider that the study of insect vectors involves extensive knowledge of taxonomy, biology, and ecology, and of the control of the factors involved in the infection process.

CUADRO 3. Valores de absorbancia (405 nm) del Virus latente común del ajo (GCLV).

TABLE 3. Absorbance values (405 nm) of the Garlic common latent virus (GCLV).

Muestra / Sample	Especie / Species	Fecha / Date	Repeticiones / Replicates		Promedio /Average	Resultado / Result
			I	II		
1	<i>Thrips tabaci</i>	1	0.644	0.824	0.734	Positivo / Positive
2	<i>Thrips tabaci</i>	1	1.209	1.192	1.201	Positivo / Positive
3	<i>Thrips tabaci</i>	1	1.139	0.967	1.053	Positivo / Positive
4	<i>Thrips tabaci</i>	1	1.245	0.864	1.055	Positivo / Positive
5	<i>Thrips tabaci</i>	1	1.069	0.851	0.960	Positivo / Positive
6	<i>Thrips tabaci</i>	1	1.125	0.725	0.925	Positivo / Positive
7	<i>Thrips tabaci</i>	2	0.885	1.360	1.123	Positivo / Positive
8	<i>Thrips tabaci</i>	2	1.990	1.258	1.624	Positivo / Positive
9	<i>Thrips tabaci</i>	2	1.795	1.186	1.491	Positivo / Positive
10	<i>Thrips tabaci</i>	2	1.413	1.020	1.217	Positivo / Positive
11	<i>Thrips tabaci</i>	2	1.367	0.984	1.176	Positivo / Positive
12	<i>Thrips tabaci</i>	2	1.963	0.591	1.277	Positivo / Positive
13	<i>Thrips tabaci</i>	3	0.662	1.046	0.854	Positivo / Positive
14	<i>Thrips tabaci</i>	3	0.816	0.844	0.830	Positivo / Positive
15	<i>Thrips tabaci</i>	3	1.135	1.189	1.162	Positivo / Positive
16	<i>Thrips tabaci</i>	3	1.660	1.291	1.476	Positivo / Positive
17	<i>Thrips tabaci</i>	3	1.044	0.861	0.953	Positivo / Positive
18	<i>Thrips tabaci</i>	3	0.965	0.320	0.643	Positivo / Positive
19	<i>Chlorotettix</i> spp.	2	0.234	0.233	0.234	Negativo / Negative
20	<i>Chlorotettix</i> spp.	2	0.215	0.202	0.209	Negativo / Negative
21	<i>Chlorotettix</i> spp.	2	0.349	0.321	0.335	Negativo / Negative
22	<i>Chlorotettix</i> spp.	2	0.331	0.291	0.311	Negativo / Negative
23	<i>Chlorotettix</i> spp.	2	0.275	0.280	0.278	Negativo / Negative
24	<i>Chlorotettix</i> spp.	2	0.229	0.207	0.218	Negativo / Negative
25	<i>Empoasca</i> spp.	2	0.166	0.164	0.165	Negativo / Negative
26	<i>Empoasca</i> spp.	2	0.159	0.143	0.151	Negativo / Negative
27	<i>Empoasca</i> spp.	2	0.180	0.169	0.175	Negativo / Negative
28	<i>Empoasca</i> spp.	2	0.148	0.137	0.143	Negativo / Negative
29	<i>Oliarus</i> spp.	2	0.153	0.147	0.150	Negativo / Negative
30	<i>Diabrotica balteata</i>	2	0.184	0.158	0.171	Negativo / Negative
31	<i>Diabrotica undecimpunctata</i>	2	0.170	0.184	0.177	Negativo / Negative
32	<i>Collops quadrimaculatus</i>	2	0.490	0.404	0.447	Positivo / Positive
33	<i>Epitrix</i> spp.	2	0.143	0.117	0.130	Negativo / Negative
34	<i>Lygus</i> spp.	2	0.144	0.144	0.144	Negativo / Negative
35	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	3	0.148	0.148	0.148	Negativo / Negative
36	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	3	0.425	0.198	0.312	Negativo / Negative
37	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	3	0.152	0.153	0.153	Negativo / Negative
38	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	3	0.163	0.139	0.151	Negativo / Negative
(-)	<i>Musca domestica</i>		0.194	0.188	0.191	Negativo / Negative
(+)			**	**		

Las fechas de muestreo fueron a los 45 (1), 110 (2) y 140 (3) días después de la siembra (dds). / Sampling dates were at 45 (1), 110 (2) and 140 (3) day after sowing (das).

Límite de detección (L.D.) = Promedio Control Negativo x 2=0.382 / Detection Limit (D.L.) = Average Negative Control x 2=0.382

\*: Muestra única. / \*: Single sample.

El proceso de transmisión de virus en las plantas mediante vectores implica la participación de diferentes factores entre los que se encuentran: a) la etapa fenológica del cultivo, b) estrato foliar de la planta, c) etapa de desarrollo del vector, d) presencia de glicoproteínas o “helper” en las piezas bucales que facilitan la adquisición del virus, entre otras (Ullman *et al.*, 1992; Dovas *et al.*, 2002; Andret-Link y Fuchs, 2005; Pérez *et al.*, 2007). Sin embargo, aun cuando en este estudio los muestreos se realizaron sólo en las etapas fenológicas de las plantas de ocho hojas (45dds), máximo crecimiento vegetativo (110dds) y llenado de bulbo (140dds), y *Thrips tabaci* fue positivo al GCLV en los tres muestreos, es importante considerar que el estudio de insectos vectores implica un amplio conocimiento de la taxonomía, la biología, y la ecología, además del control de los factores participantes en el proceso de infección.

Entre los virus que resultaron positivos en algunas de las muestras de insectos analizados se encuentra el IYSV, el cual fue detectado en dos muestras de *T. tabaci* que corresponden a la segunda fecha de muestreo, y es en esta fecha en donde se registran los valores de absorbancia más elevados, lo que indica una mayor presencia del Virus de la mancha amarilla del iris (IYSV) en el cultivo de ajo (Pérez-Moreno *et al.*, 2010). Este resultado concuerda con lo obtenido por Miller *et al.* (2006), quienes encontraron que *T. tabaci* transmite IYSV en cebolla. Similarmente, Nagata *et al.* (1999) encontraron que *T. tabaci* fue el único en transmitir IYSV de una planta infectada a una planta sana, por lo que, considerando el resultado del análisis de *T. tabaci*, existe la posibilidad de que este insecto sea vector del IYSV en ajo en el estado de Guanajuato.

Para el caso del Virus latente común del ajo (GCLV), el comportamiento fue diferente, ya que el total de las muestras de *T. tabaci* resultaron positivas con valores superiores al límite de detección. Es importante señalar que a la fecha no existen reportes que establezcan a *T. tabaci* como vector del virus GCLV, por lo que los resultados del presente estudio difieren de los que establecen a *T. tabaci* como vector de los Tospovirus TSWV e IYSV (Ullman *et al.*, 1992; Wijkamp *et al.*, 1995; Hogenhout *et al.*, 2008). Sin embargo, los resultados de la prueba ELISA y la detección positiva de todas las muestras de *T. tabaci* sugieren la existencia de una condición que favorece la adquisición del GCLV por esta especie, lo que abre un escenario de estudio interesante, ya que éste es el primer estudio que reporta la presencia de este virus en *T. tabaci*. Estos resultados podrán verificarse en investigaciones subsecuentes, utilizando métodos de detección más sensibles de biología molecular, tales como RT-PCR (Majumder y Baranwal, 2009).

## CONCLUSIÓN

Se detectaron los virus IYSV y GCLV en *Thrips tabaci* y GCLV en *Collops quadrimacullatus*.

Among the viruses that were positive in some of the analyzed insect samples is the IYSV, which was detected in two *T. tabaci* samples corresponding to the second sampling date, and it is on this date when the highest absorbance values were recorded, indicating a greater presence of the *Iris yellow spot virus* (IYSV) in the garlic crop (Pérez-Moreno *et al.*, 2010). This result agrees with that obtained by Miller *et al.* (2006), who found that *T. tabaci* transmits IYSV in onion. Similarly, Nagata *et al.* (1999) found that *T. tabaci* was the only one to transmit IYSV from an infected plant to a healthy plant; therefore, considering the results of the analysis of *T. tabaci*, the possibility exists that this insect is an IYSV vector in garlic in the state of Guanajuato.

In the case of the *Garlic common latent virus* (GCLV), the behavior was different, since all of the *T. tabaci* samples tested positive with values higher than the detection limit. It is important to note that to date there are no reports that establish *T. tabaci* as a vector of the GCLV virus, so the results of this study differ from those that establish *T. tabaci* as a vector of the TSWV and IYSV tospoviruses (Ullman *et al.*, 1992; Wijkamp *et al.*, 1995; Hogenhout *et al.*, 2008). However, the ELISA test results and the positive detection of all the *T. tabaci* samples suggest the existence of a condition that favors the acquisition of GCLV by this species, which opens up an interesting study scenario, since this is the first study to report the presence of this virus in *T. tabaci*. These results could be verified in subsequent research using more sensitive molecular biology detection methods, such as RT-PCR (Majumder and Baranwal, 2009).

## CONCLUSION

The viruses IYSV and GCLV were detected in *Thrips tabaci* and GCLV in *Collops quadrimacullatus*.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors gratefully acknowledge the support provided by the Division of Life Sciences, Irapuato-Salamanca Campus, University of Guanajuato (DICIVA-CIS-UG) for this research project, from which this scientific note was derived. They also thank the DICIVA-CIS-UG office, and the Comprehensive Institutional Building Program (known by the Spanish acronym PIFI in Mexico) 2013 (partially supported by SEP PIFI -2013 Universidad de Guanajuato) for the economic support provided for publishing this work.

*End of English Version*



## AGRADECIMIENTOS

Los autores reconocen a la División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato (DICIVA-CIS-UG), por el apoyo para la realización del proyecto de investigación del cual se generó esta nota científica. Asimismo, agradecen a la Dirección de la DICIVA-CIS-UG, y al Programa Integral de Fortalecimiento Institucional (PIFI) 2013 (Partially supported by SEP PIFI -2013 Universidad de Guanajuato) por el apoyo económico brindado en la contribución para la publicación de este trabajo.

## LITERATURA CITADA

- ANDRET-LINK, P.; FUCHS, M. 2005. Transmission specificity of plant viruses by vectors. *Journal of Plant Pathology* 87(3): 153-165. doi: 10.4454/jpp.v87i3.913
- BARG, E.; LESEMANN, D. E.; VETTEN, H. J.; GREEN, S. K. 1994. Identification, partial characterization, and distribution of viruses infecting allium crops in south and southeast Asia. *Acta Horticulturae* 358: 251-258. [http://www.actahort.org/books/358/358\\_41.htm](http://www.actahort.org/books/358/358_41.htm)
- CAFRUNE, E. E.; PEROTTO, M. C.; CONCI, V. C. 2006. Effect of two *Allexivirus* isolates on Garlic yield. *Plant Disease* 90(7): 898-904. doi: 10.1094/PD-90-0898
- CHATZIVASSILIOU, E. K.; NAGATA, T.; KATIS, N. I.; PETERS, D. 1999. Transmission of tomato spotted wilt tospovirus by *Thrips tabaci* populations originating from leek. *Plant Pathology* 48(6): 700-706. doi: 10.1046/j.1365-3059.1999.00414.x
- CLARK, M. F.; ADAMS, A. N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology* 34(3): 475-483. doi: 10.1099/0022-1317-34-3-475
- CONCI, V. C. 1997. Virus y fitoplasmas de ajo, pp. 267-291. In: 50 Temas Sobre Producción de Ajo. Vol. 3. BURBA, J. L. (ed.) Estación Experimental Agropecuaria-Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria-Instituto de Fitopatología y Fisiología Vegetal. La Consulta, Mendoza, Argentina.
- CRUZ, F. M.; FRÍAS, T. G. A. 1997. Guía Ilustrada de la Prueba Inmunoabsorción con Enzimas Ligadas para la Detección de Fitopatógenos. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. D. F., México. 23 p.
- DOVAS, C. I.; HATZIOUKAS, E.; SALOMON, R.; BARG, E.; SHIBOLETH, Y. M.; KATIS, N. 2001. Incidence of viruses infecting *Allium* spp. in Greece. *European Journal of Plant Pathology* 107(7): 677-684. doi: 10.1023/A:1011958914573
- DOVAS, C. I.; MAMOLOS, A. P.; KATIS, N. I. 2002. Fluctuations in concentration of two potyviruses in garlic during the growing period and sampling conditions for reliable detection by ELISA. *Annals of Applied Biology* 140(1): 21-28. doi: 10.1111/j.1744-7348.2002.tb00153.x
- GENT, D. H.; TOIT, L. J.; FICHTNER, S. F.; MOHAN, S. K.; PAPPU, H. R.; SCHWARTZ, H. F. 2006. *Iris yellow spot virus*: An emerging threat to onion bulb and seed production. *Plant Disease* 90(12): 1468-1480. doi: 10.1094/PD-90-1468
- GRAICHEN, K. 1975. *Allium* species as natural host of nematodes transmissible viruses. *Archiv für Phytopathologie und Pflanzenschutz* 11(6): 399-403. doi: 10.1080/03235407509431716
- HOGENDOUT, S. A.; AMMAR, E. D.; WHITFIELD, A. E.; REDINBAUGH, M. G. 2008. Insect Vector Interactions with persistently transmitted viruses. *Annual Review of Phytopathology* 46: 327-359. doi: 10.1146/annurev.phyto.022508.092135
- LUNELLO, P.; MUÑOZ, R.; LERMA, M. L.; LÓPEZ, F. P.; PONZ, F. 2007. Potyvirus, allexivirus y tospovirus de alliáceas en Castilla La Mancha. *Actas de Horticultura* 48: 222-225. [http://www.sech.info/index.php?option=com\\_content&view=category&layout=blog&id=28&Itemid=36](http://www.sech.info/index.php?option=com_content&view=category&layout=blog&id=28&Itemid=36)
- MAJUMDER, S.; BARANWAL, V. K. 2009. First report of *Garlic common latent virus* in garlic from India. *Plant Disease* 93(1): 106. doi: 10.1094/PDIS-93-1-0106C
- MATTHEWS, R. E. F. 1991. *Plant Virology*. Third edition. Academic Press. 835 p.
- MILLER, M. E.; SALDANA, R. R.; BLACK, M. C.; PAPPU, H. R. 2006. First report of *Iris yellow spot virus* on onion (*Allium cepa*) in Texas. *Plant Disease* 90(10): 1359. doi: 10.1094/PD-90-1359B
- MIYAZAKI, M. 1987. Morphology of Aphids, pp. 1-23. In: *World Crop Pests: Aphids their Biology Natural Enemies and Control*. MINKS, A. K.; HARREWIJN, P. (eds.) Elsevier. Amsterdam, The Netherlands.
- MOUND, L. A.; KIBBY, G. 1998. *Thysanoptera: an Identification Guide* CAB International. New York, USA. 70 p.
- NAGATA, T. A.; ALMEIDA, C. L.; RESENDE, R. O.; AVILA, A. C. 1999. The identification of the vector species of *Iris yellow spot tospovirus* occurring on onion in Brazil. *Plant Disease* 83(4): 399. doi: 10.1094/PDIS.1999.83.4.399A
- O'BRIEN, L. B.; WILSON, S. W. 1985. Planthopper systematic an external morphology, pp. 61-102. In: *The Leafhoppers and Planthoppers*. NAULT, L. R.; RODRIGUEZ, J. G. (eds.). John Wiley & Sons. USA.
- PALMER, J. M.; MOUND, L. A.; DU HEAUME, G. J. 1989. *CIE Guides to Insects of Importance to Man. 2 Thysanoptera*. C. A. B. International Institute of Entomology. UK. 73 p.
- PÉREZ-MORENO, L.; CÓRDOVA-ROSALES, Z. V.; BARBOZA-CORONA, E.; RAMÍREZ-MALAGÓN, R.; RUIZ-CASTRO, S.; SILVA-ROSALES, L. 2006. First Report of Leek yellow stripe virus in Garlic in the State of Guanajuato, Mexico. *Plant Disease* 90(11): 1458. doi: 10.1094/PD-90-1458A
- PÉREZ, M. L.; CÓRDOVA, R. Z. V.; RICO, J. E.; RAMÍREZ, M. R.; BARBOZA, C. E.; ZÚÑIGA, Z. J.; RUIZ, C. S.; SILVA, R. L. 2007. Identificación de virus fitopatógenos en ajo (*Allium sativum* L.), en el estado de Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 25(1): 11-17. <http://www.socmexfito.org/2014-01-08-17-34-56/2013-06-19-02-43-48/001-vol-25/113-revista-smf/2007/001/424-identificacion-de-virus-fitopatogenos-en-ajo-allium-sativum-l-en-el-estado-de-guanajuato-mexico>
- PÉREZ-MORENO, L.; NAVARRO-LEÓN, M. J.; RAMÍREZ-MALAGÓN, R.; MENDOZA-CELEDÓN, B. 2010. Impacto e identificación de virus fitopatógenos sobre

- rendimiento y calidad de ajo, en el estado de Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 28(2): 75-85. <http://www.socmexfito.org/2014-02-28-18-48-09/120-revista-smf/2010/002/497-impacto-e-identificacion-de-virus-fitopatogenos-sobre-rendimiento-y-calidad-del-ajo-allium-sativum-l-en-el-estado-de-guanajuato-mexico>
- PÉREZ-MORENO, L.; NAVARRO-LEÓN, M. J.; RAMÍREZ-MALAGÓN, R.; MENDOZA-CELEDÓN, B.; NÚÑEZ-PALENIUS, H. G.; LEÓN-GALVÁN, M. F. 2013. Pérdidas en rendimiento y calidad de compuestos seleccionados de ajo causadas por infecciones naturales de mezcla de virus. *Revista Interciencia* 38(5): 370-376. [http://www.interciencia.org/v38\\_05/370.pdf](http://www.interciencia.org/v38_05/370.pdf)
- ULLMAN, D. E.; CHO, J. J.; MAU, R. F. L.; WESTCOT, D. M.; CUSTER, D. M. 1992. A midgut barrier to tomato spotted wilt virus acquisition by adult western flower thrips. *Phytopathology* 82(11): 1333-1342. [http://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1992Articles/Phyto82n11\\_1333.pdf](http://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1992Articles/Phyto82n11_1333.pdf)
- VAN DIJK, P.; VERBEEK, M.; BOS, L. 1991. Mite-borne virus isolates from cultivated allium species and their classification into two new rymoviruses in the family potyviridae. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 97(6): 381-399. doi: 10.1007/BF03041386
- VELÁZQUEZ-VALLE, R.; CHEW-MEDINAVEITIA, Y. I.; AMADOR-RAMÍREZ, M. D.; REVELES-HERNÁNDEZ, M. 2010. Presencia de virus en el cultivo de ajo (*Allium sativum* L.) en Zacatecas, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 28(2): 135-143. <http://www.socmexfito.org/2014-01-08-17-34-56/2013-06-19-02-51-17/002-vol-28/120-revista-smf/2010/002/500-presencia-de-virus-en-el-cultivo-de-ajo-allium-sativum-l-en-zacatecas-mexico>
- WIJKAMP, I.; ALMARZA, N.; GOLDBACH, R.; PETERS, D. 1995. Distinct levels of specificity in thrips transmission of tospoviruses. *Phytopathology* 85(10): 1069-1074. doi: 10.1094/Phyto-85-1069
- YAMASHITA, K.; SAKAI, J.; HANADA, K. 1996. Characterization of a new virus from garlic (*Allium sativum* L.), garlic mite borne mosaic virus. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 62(5): 483-489. doi: 10.3186/jjphytopath.62.483