

Identificación de Virus Fitopatógenos en Ajo (*Allium sativum* L.), en el Estado de Guanajuato, México

Luis Pérez-Moreno, Zoraida Vanesa Córdova-Rosales, Esteban Rico-Jaramillo, Rafael Ramírez-Malagón, Eleazar Barboza-Corona, Juan Zúñiga-Zúñiga, Universidad de Guanajuato, Instituto de Ciencias Agrícolas, km 9.0 Carr. Irapuato-León, Irapuato, Guanajuato, México CP 36500; Susana Ruiz-Castro y Laura Silva-Rosales. Departamento de Ingeniería Genética de Plantas, CINVESTAV Campus Guanajuato, km 9.6 Lib. Norte Irapuato, Guanajuato, México CP 36500. Correspondencia: luispm@dulcinea.ugto.mx

(Recibido: Julio 12, 2006 Aceptado: Septiembre 25, 2006)

Pérez-Moreno, L., Córdova-Rosales, Z.V., Rico-Jaramillo, E., Ramírez-Malagón, R., Barboza-Corona, E., Zúñiga-Zúñiga, J., Ruiz-Castro, S. y Silva-Rosales, L. 2007. Identificación de virus fitopatógenos en ajo (*Allium sativum* L.), en el estado de Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 25:11-17.

Resumen. Se utilizó la técnica de inmunoabsorción con conjugados enzimáticos (ELISA) para la identificación de los agentes causales de las enfermedades de origen viral en ajo del estado de Guanajuato, México. Se realizaron pruebas para la detección de los virus Virus latente común del ajo (GarCLV *Garlic common latent virus*), Virus del rayado amarillo del puerro (LYSV *Leek yellow stripe virus*), Virus enanismo amarillo de la cebolla (OYDV *Onion yellow dwarf virus*) y Virus latente del shallot (SLV *Shallot latent virus*). Se analizaron 80, 85 y 30 muestras de follaje de plantas de ajo en el primero, segundo y tercer muestreos, respectivamente, con lo cual se tuvieron 195 muestras totales en las tres fechas de evaluación. Se realizaron dos muestreos en los municipios de San Miguel de Allende (40 muestras), San Luis de La Paz (15) y Valle de Santiago (40) y tres en los municipios de Salamanca (30) y Villagrán (70), Guanajuato. Se confirmó la presencia de los cuatro virus en follaje de plantas de ajo en todos los municipios muestreados. Los virus detectados en orden de frecuencia fueron OYDV con un 63%, LYSV 60.5%, GarCLV 32.3% y SLV con un 21%. Este es el primer estudio que se realiza sobre virus individuales en ajo en el país, ya que anteriormente se había reportado al grupo de Potyvirus.

Palabras clave adicionales: ELISA, Virus latente común del ajo, Virus del rayado amarillo del puerro, Virus enanismo amarillo de la cebolla, Virus latente del shallot.

Abstract. The enzyme-linked immunosorbent assay technique (ELISA) was used to identify the causal agents of virus diseases on garlic in the state of Guanajuato, Mexico. Tests were carried out to detect the presence of GarCLV *Garlic common latent virus*, LYSV *Leek yellow stripe virus*, OYDV *Onion yellow dwarf virus*, and SLV *Shallot latent virus*. A

total of 80, 85, and 30 garlic leaf samples were analyzed in the first, second, and third samplings respectively, yielding a total of 195 samples. Two samplings were made in the counties of San Miguel de Allende (40 samples), San Luis de La Paz (15) and Valle de Santiago (40), whereas three in counties Salamanca (30), and Villagrán (70). The presence of the four viruses on garlic plant samples from all counties sampled was confirmed. The order of frequency was OYDV with 63%, LYSV 60.5%, GarCLV, 32.3%, and SLV 21.0%. A previous work reported the presence of viruses from the potyvirus group; this is the first work carried out with individual viruses on garlic plants in Mexico.

Additional keywords: ELISA, *Garlic common latent virus*, *Leek yellow stripe virus*, *Onion yellow dwarf virus*, *Shallot latent virus*.

El ajo (*Allium sativum* L.) está considerado junto con la cebolla (*Allium cepa* L.) entre las cuatro hortalizas más importantes en México; su importancia se sustenta en la superficie sembrada y en la mano de obra que demanda. El ajo es además generador de divisas ya que parte de la producción se exporta a los Estados Unidos, Francia, Alemania y Brasil entre otros países (Valadez, 1998). La principal área productora de ajo en México se localiza en la parte centro-norte del país destacando los estados de Guanajuato, Zacatecas, Querétaro y Aguascalientes. Guanajuato es el mayor productor con una superficie cosechada de 2,491 ha y un volumen de producción de 18,517 ton (7.4 ton ha⁻¹) reportadas en el año 2000 (SAGARPA, 2000), destinando alrededor del 50% a la exportación y el otro 50% al consumo interno (Pérez y Rodríguez, 2002). Debido a que el ajo es una hortaliza de consumo mundial, su exportación seguirá siendo importante. El ajo fresco se utiliza ampliamente al cocinar y el ajo deshidratado es común como condimento y en la industria alimentaria (Rabinowitch y Brewster, 1990). Por la importancia económica y social que el ajo representa para el país y en especial para el estado de Guanajuato, es necesario prestar atención a los factores que ocasionan pérdidas a la

producción, siendo uno de ellos las enfermedades, y entre éstas, las causadas por los virus. La producción de ajo en México se ha visto reducida debido a las infecciones virales, pues se ha presentado una elevada incidencia en lotes comerciales de la región del Bajío mexicano (Pérez y Rico, 2004). Debido a que el ajo se cultiva en todo el mundo y es propagado vegetativamente, el cultivo se infecta con varias mezclas de virus haciendo la identificación de estos fitopatógenos más compleja (Cadilhac *et al.*, 1976; Delecotte y Lot, 1981; Walkey *et al.*, 1987 citados por Rabinowitch y Brewster, 1990; Fajardo *et al.*, 2001). Se ha reportado un número variable de Potyvirus y Carlavirus infectando plantas de ajo, pero su identificación permanece incierta, ya que probablemente son mezclas de los virus ya conocidos o de sus razas (Kobayashi *et al.*, 1996; Pérez y Rico, 2004; Tsuneyoshi *et al.*, 1998a, 1998b; Van der Vlugt *et al.*, 1999). De acuerdo a la secuencias nucleotídicas obtenidas se consideran distintas especies de Potyvirus infectando especies del género *Allium* (Tsuneyoshi *et al.*, 1998a), mientras que la información en la literatura con respecto a los Carlavirus que infectan al cultivo de ajo es limitada (Van Dijk, 1993). Sin embargo, los Carlavirus que infectan plantas de ajo en el mundo incluyen a los virus *Garlic common latent virus* (GCLV) y *Shallot latent virus* (SLV). El presente trabajo tuvo como objetivo identificar los agentes causales de tipos virales asociados a las enfermedades con sintomatología característica de virosis, presentes en el cultivo de ajo durante el ciclo otoño-invierno 2004-2005 en tres zonas productoras

del estado de Guanajuato, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fechas de evaluación y colectas. La detección se realizó en dos fechas para las colectas de San Miguel de Allende, San Luis de La Paz y Valle de Santiago y en tres fechas para las de Salamanca y Villagrán, Guanajuato, México (Fig. 1). Las colectas se llevaron a cabo durante los meses de enero a marzo del 2005, hasta llegar a un total de 176 muestras de hojas de plantas de ajo con síntomas presuntivos de una virosis, por ejemplo: enchinamiento y/o enrollamiento, mosaico, deformación de hojas, amarillamiento y ampollamiento, bandeado y enanismo. También, se colectaron 19 muestras de tejido vegetal de plantas de ajo aparentemente sanas, en 12 localidades de municipios del estado de Guanajuato: En la zona norte, Altamira 1, Monte Cristo 2 y Marilu 2, Los Rodríguez de San Miguel de Allende y El Ramillete de San Luis de La Paz; en la zona centro, Santa Teresa 3 y Santa Teresa 4, Valtierra de Salamanca y Pozo Alto 1, Pozo Alto 2, Laurel 1, San Daniel, Bodegas, El Pato, de Villagrán y Rancho El Jabonero, de Valle de Santiago, en la zona centro-sur. El número de muestras totales colectadas por municipios fueron: 40 en San Miguel de Allende, 15 en San Luis de La Paz, 30 en Salamanca, 70 en Villagrán y 40 en Valle de Santiago, con un número total de 195 muestras. Una vez colectadas, las muestras se colocaron en bolsas de plástico y mantuvieron en congelación (-20 °C) hasta el momento de su procesamiento.



Fig. 1. Distribución de los virus GarCLV, SLV, LYSV y OYDV detectados en el follaje del cultivo de ajo (*Allium sativum*), en cinco municipios del estado de Guanajuato, México, durante el ciclo otoño-invierno 2004-2005.

Procesamiento de las muestras. Se realizó en el Laboratorio de Fitopatología-Investigación del Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Guanajuato (ICA-UG) y en el Laboratorio de Interacciones Planta-Virus del CINVESTAV-IPN, Unidad Irapuato. Para la detección de los virus se utilizó la técnica de inmunoabsorción enzimática en fase sólida en doble sándwich (DAS-ELISA) para desarrollarse en dos días (Clark y Adams, 1977; Cruz y Frías, 1997). Se utilizaron los anticuerpos para las proteínas de cubierta: Virus latente común del ajo (GarCLV, *Garlic Common latent virus*); Virus del rayado amarillo del puerro (LYSV, *Leek yellow stripe virus*); Virus enanismo amarillo de la cebolla (OYDV, *Onion yellow dwarf virus*); y Virus latente del shallot (SLV, *Shallot latent virus*). Para los virus GarCLV, LYSV y OYDV se utilizaron anticuerpos conjugados con la enzima fosfatasa alcalina, mientras que para el virus SLV, la enzima estaba conjugada con la enzima peroxidasa. Los antisueros utilizados (Agdia Inc.) se mantuvieron en condiciones de refrigeración (4°C) o ambiente de acuerdo a la recomendación del fabricante, hasta el momento de efectuar las pruebas. La lectura de absorbancia (concentración del virus) se realizó en dos espectrofotómetros, el primero un Ultramarck y el segundo un BIO-RAD Modelo 3550-UV, a una longitud de onda de 405 nm para los anticuerpos de GarCLV, LYSV y OYDV con la enzima conjugada de fosfatasa alcalina y 630 nm para el virus SLV con peroxidasa.

Evaluación de resultados y determinación del límite de detección. Se obtuvieron lecturas por duplicado de cada

muestra, y el valor medio de cada par fue el asignado. El valor del control sano se obtuvo con el promedio de los 2 valores promedios de lectura de absorbancia del testigo sano (negativo) que se obtuvieron para cada virus en las diferentes muestras analizadas. Como criterio para determinar el límite de detección se utilizó dos veces la desviación estándar (S) del testigo sano. Todo valor por arriba de este límite de detección se consideró positivo.

RESULTADOS

Frecuencia de la ocurrencia de GarCLV, SLV, LYSV y OYDV.

A partir del análisis presuntivo reportado se confirmó que los cuatro virus están presentes en todos los municipios muestreados (Cuadros 1 y 2 y Fig. 1). Los virus detectados en orden de frecuencia fueron los dos Potyvirus OYDV y LYSV con un 63 y 60.5%, respectivamente, seguido de los dos Carlavirus GarCLV y SLV con un 32.3 y 21.0%, respectivamente (Cuadro 1 y Fig. 2). Se presentaron las siguientes combinaciones de virus en los tres diferentes muestreos: OYDV y LYSV, GarCLV y SLV, OYDV y SLV, OYDV y GarCLV, LYSV y SLV, LYSV y GarCLV; sin embargo, las combinaciones más frecuentes fueron las de los dos Potyvirus OYDV y LYSV con cualquiera de los dos Carlavirus GarCLV y SLV. De acuerdo a lo reportado en la literatura, los Potyvirus son los principales agentes causales del mosaico del ajo y se han reportado pérdidas por arriba del 50% en campos de ajo infectados por virus comparados con campos sembrados con ajos sanos; por lo anterior, las combinaciones de virus que

Cuadro 1. Detección de virus en muestras de 195 plantas de ajo (*Allium sativum*) por medio del ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA) en muestras de tejido foliar colectadas en cinco municipios del estado de Guanajuato, México.

| Virus | San Miguel de Allende | San Luis de la Paz | Salamanca | Villagrán | Valle de Santiago | Plantas (%) con virus |
|--------|----------------------------------|--------------------|-----------|-----------|-------------------|-----------------------|
| GarCLV | 40 ^a /30 ^b | 15/40 | 30/30 | 70/47.1 | 40/7.5 | 195/32.3 |
| SLV | 37.5 | 33.0 | 23.3 | 17.1 | 5.0 | 21.0 |
| LYSV | 70.0 | 80.0 | 56.6 | 57.1 | 52.5 | 60.5 |
| OYDV | 75.0 | 80.0 | 56.6 | 48.5 | 75.0 | 63.0 |

^aNúmero de muestras analizadas.

^bPorcentaje de plantas con el virus.

Cuadro 2. Detección de virus en muestras de 195 plantas de ajo (*Allium sativum*) por medio del ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA) en muestras de tejido foliar colectadas en los municipios de San Miguel de Allende (SMA), San Luis de La Paz (SLP), Salamanca (SAL), Villagrán (VIL) y Valle de Santiago (VDS), Guanajuato, México.

| | Primer muestreo | | | | | | Segundo muestreo | | | | | | Tercer muestreo | | | | | |
|-----|-----------------|--------|-----|------|------|-----------------|------------------|--------|-----|------|------|----------|-----------------|--------|-----|------|------|----------|
| | PA ^a | GarCLV | SLV | LYSV | OYDV | FC ^b | PA | GarCLV | SLV | LYSV | OYDV | FC | PA | GarCLV | SLV | LYSV | OYDV | FC |
| SMA | 20 | 45 | 55 | 65 | 85 | 24/01/05 | 20 | 15 | 20 | 75 | 65 | 21/02/05 | | | | | | |
| SLP | 5 | 60 | 80 | 100 | 100 | 24/01/05 | 10 | 30 | 10 | 70 | 70 | 21/02/05 | | | | | | |
| SAL | 10 | 40 | 40 | 30 | 80 | 28/01/05 | 10 | 40 | 0 | 40 | 10 | 02/03/05 | 10 | 10 | 30 | 100 | 80 | 19/03/05 |
| VIL | 25 | 56 | 4 | 44 | 80 | 28/01/05 | 25 | 40 | 28 | 40 | 16 | 02/03/05 | 20 | 45 | 20 | 95 | 50 | 19/03/05 |
| VDS | 20 | 15 | 0 | 85 | 100 | 14/02/05 | 20 | 0 | 10 | 20 | 50 | 18/03/05 | | | | | | |

^aNúmero de plantas analizadas.

^bFecha de colecta.

^cPorcentaje de plantas con el virus.

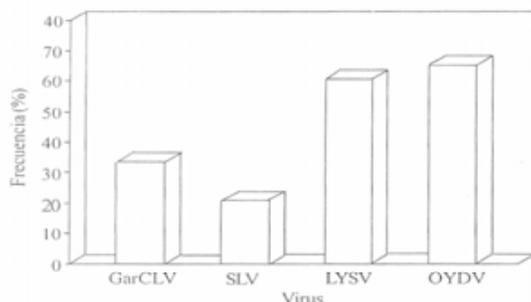


Fig. 2. Frecuencia de los virus GarCLV, SLV, LYSV y OYDV en follaje de plantas de ajo (*Allium sativum*), en los municipios de San Miguel de Allende, San Luis de la Paz, Salamanca, Villagrán y Valle de Santiago, Guanajuato, México, durante el ciclo otoño-invierno 2004-2005.

pueden representar mayores riesgos para las siembras comerciales de ajo son las que involucran a los dos Potyvirus OYDV y LYSV con los dos o con cualquiera de los dos Carlavirus, GarCLV y SLV.

Ocurrencia por municipio y número de muestreo para cada uno de los virus evaluados. **Detección del GarCLV.** Este virus estuvo en todos los municipios muestreados (Cuadro 2). En San Miguel de Allende se presentó en un 45% en el primer muestreo, disminuyendo a un 15% en el segundo. En San Luis de La Paz la frecuencia fue del 60% en el primer muestreo, disminuyendo a un 30% en el segundo. En Salamanca con tres fechas de evaluación, se presentó con un 40% en el primer muestreo, permaneciendo con esa cifra en el segundo muestreo y reduciendo su presencia a un 10% en el tercero. En Villagrán, Guanajuato, también se realizaron tres fechas de muestreo, con valores de 56, 40 y 45%, respectivamente. En Valle de Santiago con dos fechas de muestreo, las frecuencias fueron de 15 y 0%, respectivamente. La mayor presencia de este virus fue en el municipio de San Luis de La Paz en el primer muestreo, mientras que en Valle de Santiago su frecuencia fue nula en el segundo muestreo (Cuadro 2 y Fig. 3). **Detección del SLV.** Este virus se detectó en todos los municipios muestreados (Cuadro 2). En San Miguel de Allende, la frecuencia de este virus se redujo de 55%, detectado en el primer muestreo, a 20% en el segundo. En San Luis de La Paz, el virus se redujo de 80%, detectado en el primer muestreo a 10% en el segundo, mientras que en Salamanca las frecuencias fueron del 40% en el primer muestreo hasta 0%. De manera contrastante, hubo un aumento al 30% en el tercer muestreo. En Villagrán la frecuencia del virus aumentó de un 4%, en el primer muestreo a un 28% en el segundo para disminuir a un 20% en el tercero. En el municipio de Valle de Santiago también hubo un aumento en la frecuencia viral de 0 en el primer muestreo a un 10% en el segundo (Cuadro 2 y Fig. 3).

Detección de LYSV. Este Potyvirus, conjuntamente con OYDV (Potyvirus), se detectó con una mayor frecuencia que los dos anteriores Carlavirus (GarCLV y SLV) en los cinco municipios. En San Miguel de Allende las frecuencias fueron relativamente las mismas en los dos muestreos, con valores de 65 y 75% entre el primero y el segundo. En Salamanca se observó un comportamiento similar en los dos primeros muestreos (30 y 40%), aunque hubo un aumento considerable a 100% en el tercero. Este panorama se repitió en Villagrán pues tuvo valores de 44 y 40% en el primero y segundo muestreo y un ascenso hasta el 95% en el tercero. De manera contrastante, en San Luis de La Paz hubo una disminución de un 100% presente en el primer muestreo a un 70% en el segundo (Cuadro 2 y Fig. 3). **Detección del virus OYDV.** Se confirmó la presencia de este virus en todos los municipios muestreados (Cuadros 1 y 2). En el Cuadro 2 se observan los resultados numéricos y porcentuales de la ocurrencia de este virus. En el municipio de San Miguel de Allende se presentó en un 85% en el primer muestreo, disminuyendo a un 65% en el segundo. En San Luis de La Paz, la frecuencia fue del 100% en el primer muestreo, disminuyendo a un 70% en el segundo. En Valle de Santiago la frecuencia fue del 100% en el primer muestreo, disminuyendo a un 50% en el segundo. En el municipio de Salamanca, con tres fechas de evaluación, se presentó con un 80% en el primer muestreo, disminuyendo a un 10% en el segundo y aumentando su presencia a un 80% en el tercero. En Villagrán, Guanajuato, también se realizaron tres fechas de muestreo, con valores de 80, 16 y 50%, respectivamente. En el primero y segundo muestreos, el mayor porcentaje de presencia del virus fue en el municipio de San Luis de La Paz con un 100 y 70%, respectivamente; mientras que en los mismos muestreos en el municipio de Salamanca se tuvo la menor presencia de este virus con 80 y 10%, respectivamente; sin embargo, Salamanca que mostró menor porcentaje de la presencia del virus en el primero y segundo muestreos, en el tercer muestreo se observó mayor presencia de OYDV (Cuadro 2 y Fig. 3).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran que en las siembras comerciales de ajo del estado de Guanajuato, México, se presentan infecciones complejas de virus. Hay resultados similares en otros estudios, como el reportado por Fajardo *et al.* (2001) y por Conci *et al.* (2002) para las siembras comerciales de ajo de Brasil y Argentina, respectivamente. A nivel mundial se ha reportado la presencia de los virus OYDV, LYSV, GarCLV y SLV en los cultivos de ajo en todas las zonas del mundo con clima templado (Cadilhac *et al.*, 1976; Conci *et al.*, 2002; Delecalle y Lot, 1981; Fajardo *et al.*, 2001; Koch y Salomón, 1994; Lunello *et al.*, 1999; Walkey *et al.*, 1987 citados por Rabinowitch y Brewster, 1990). En el estado de Guanajuato prevalece un clima templado, por lo cual era de esperar la presencia de los virus mencionados. Los resultados obtenidos indican una amplia distribución y predominancia de los Potyvirus OYDV y LYSV así como una menor ocurrencia

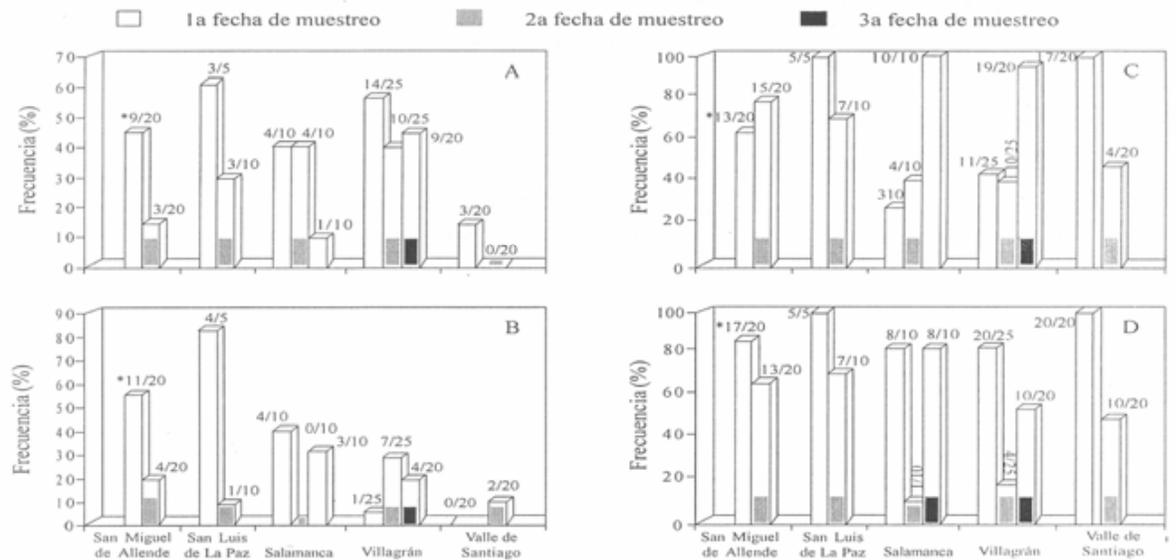


Fig. 3. Frecuencia de virus: A, Virus latente común del ajo (GarCLV, *Garlic common latent virus*); B, Virus del shallot (SLV, *Shallot latent virus*); C, Virus del rayado amarillo del puerro (LYSV, *Leek yellow stripe virus*); D, Virus del enanismo amarillo de la cebolla (OYDV, *Onion yellow dwarf virus*) en follaje de plantas de ajo (*Allium sativum*) por medio del ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA) detectados en diferentes meses durante el ciclo otoño-invierno 2004-2005, en los municipios de San Miguel de Allende, San Luis de La Paz, Salamanca, Villagrán y Valle de Santiago, Guanajuato, México. *9/20 indica la presencia del virus en 9 muestras de 20 analizadas.

para los Carlavirus GarCLV y SLV *Shallot latent virus* en las diferentes zonas productoras de ajo de Guanajuato, México. La presencia de los cuatro virus en el follaje de ajo fue diferente de acuerdo a la época en que se hizo cada muestreo, al origen de producción de la semilla botánica del cultivar Taiwán sembrado por los diferentes productores y a la región del estado de Guanajuato donde se siembra el ajo. De manera general, los porcentajes de muestras seropositivas fueron mayores en el primer y tercer muestreo y menores en el segundo. Lo anterior no significa que los virus hayan desaparecido de las plantas en el segundo muestreo, sino que posiblemente se haya reducido el título viral y por lo tanto la prueba de ELISA resultó negativa. El estado fisiológico del cultivo, la relación virus-cultivar y la temperatura del ambiente también pudieron influir en el menor título viral. Resultados similares han sido reportados por Koch y Salomón (1994) quienes observaron cambios en las concentraciones de OYDV a través del tiempo al analizar plantas obtenidas de merisemos. Asimismo, Conci *et al.* (2002) reportaron cambios en las concentraciones de LYSV en plantas de ajo en diferentes estados de desarrollo del cultivo. Lo anterior demuestra la

importancia de acotar diferentes tiempos de lectura viral para tener resultados confiables y reducir la posibilidad de diagnosticar plantas enfermas como sanas. En el presente trabajo, se encontró que los Potyvirus OYDV y LYSV fueron los más conspicuos en las diferentes localidades muestreadas, con porcentajes de infección de 63 y 60.5, respectivamente. Esto concuerda con los porcentajes de Potyvirus reportados por Alvarado-Rodríguez (1999), quien encontró que 64% de las plantas muestreadas estaban infectadas por Potyvirus. Debido a que la presencia de virus en una misma planta puede ser seropositiva o seronegativa en distintas hojas (Ramírez *et al.*, 2006), podría inferirse que las frecuencias de incidencia de las infecciones sean aún mayores. Los resultados de este estudio muestran que la problemática de la presencia de virus en México es similar a la que se enfrenta en otros países; así, Conci *et al.* (2002), reportan la presencia de LYSV en Argentina; y Lunello *et al.* (1999) los detectaron solos y en asociación con otros Carlavirus, siendo LYSV el virus más comúnmente detectado. Hasta ahora, sólo algunos autores habían reportado la presencia de virus del grupo Potyvirus infectando plantas de

Cuadro 3. Detección de virus en 19 plantas de ajo (*Allium sativum*) sin síntomas de aparente enfermedad viral (plantas aparentemente sanas) por medio del ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA) en muestras de tejido foliar colectadas en cinco municipios del estado de Guanajuato, México.

| Virus | San Miguel de Allende | San Luis de La Paz | Salamanca | Villagrán | Valle de Santiago | Plantas (%) con virus |
|--------|-----------------------|--------------------|-----------|-----------|-------------------|-----------------------|
| GarCLV | 4/25 ^a | 2/0 | 3/33.3 | 6/16.6 | 4/0 | 19/15.8 |
| SLV | 50.0 | 0.0 | 33.3 | 16.6 | 0.0 | 10.5 |
| LYSV | 75.0 | 100 | 33.3 | 66.6 | 25.0 | 57.8 |
| OYDV | 100 | 100 | 33.3 | 33.3 | 75.0 | 63.1 |

^aNúmero de muestras analizadas.

^bPorcentaje de plantas con el virus.

ajo en México: Pérez *et al.* (1997), Alvarado-Rodríguez (1999) y Ramírez *et al.* (1999). Sin embargo, ningún virus ha sido reportado en forma individual para las zonas productoras de ajo de México, por lo tanto, este sería el primer reporte de virus individuales en el cultivo de ajo en nuestro país. Por otra parte, Peña-Iglesias y Ayuso (1982), habían reportado que muchas veces los síntomas virales no son visibles y que muchos agricultores ven reducción del tamaño del bulbo sin saber a que atribuirlo, aunque se presumía la presencia de virus. En el presente trabajo se tomaron algunas muestras de plantas de ajo que no mostraban síntomas, y se corroboró tal presunción: el 63.1 y 57.8% de plantas asintomáticas fueron positivas para los virus OYDV y LYSV, respectivamente (Cuadro 3), resultados parecidos a los encontrados en plantas con síntomas (Cuadros 1 y 2), lo que implica que independientemente de los síntomas, estos virus están presentes en las plantas de ajo en la misma proporción. Los virus GarCLV y SLV se encontraron en porcentajes de 15.8 y 10.5, respectivamente, lo que constituye sólo un 50% en comparación con el porcentaje de plantas infectadas en el estudio de plantas con síntomas, por lo que cabría preguntarse y estudiar si acaso los virus OYDV y LYSV son asintomáticos y los que producen síntomas aparentes son los virus GarCLV y/o SLV. Asimismo, las diferentes combinaciones de virus producen sintomatologías similares tales como: enchinamiento, mosaico, deformación de hojas, amarillamiento y achaparramiento, lo cual imposibilita asociar una sintomatología específica con alguno de los virus en particular. Con base en los resultados encontrados es imprescindible conocer algunos aspectos relacionados con la sintomatología y con la epidemiología de los virus en las zonas productoras de ajo del estado y del país, tales como su distribución, su forma de disseminación, rango de hospederos, transmisión por semilla, prácticas de cultivo, y conocer su efecto en la producción, para poder establecer las medidas de control que sean necesarias.

CONCLUSIONES

Se detectó la presencia en diferentes proporciones, de los cuatro virus estudiados, Virus latente común del ajo (GarCLV,

Garlic common latent virus); Virus del rayado amarillo del puerro (LYSV, *Leek yellow stripe virus*); Virus enanismo amarillo de la cebolla (OYDV, *Onion yellow dwarf virus*) y Virus latente del shallot (SLV, *Shallot latent virus*). De manera general, la concentración de los cuatro virus en el follaje de ajo fue diferente de acuerdo a la época en que se realizó cada muestreo, la concentración fue mayor en el primero y tercero, y menor en el segundo muestreo. En las plantas estudiadas que no mostraban síntomas aparentes de virosis, se detectaron los cuatro virus estudiados en porcentajes similares a los encontrados en plantas con síntomas. Estos son los primeros estudios sobre virus en ajo en México, utilizando antisueros específicos para virus individuales y no para grupos de virus.

Agradecimientos. Se agradece el financiamiento parcial para la realización del proyecto, a la Dirección de Investigación y Posgrado de la Universidad de Guanajuato (Convocatoria 2004, Apoyo a la Investigación) y al Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Guanajuato (Convenio No. 06-16-K117-23); a los Ings. Javier Usabiaga-González, Esteban Macías-Padilla y José de Jesús Aguayo-Mejía (Aguilares, S.P.R. de R.L.) y Sergio Gómez-Santiesteban y José Carlos Hinojosa-Rangel (San José Tenita S.P.R. de R.L.), por las facilidades para realizar los muestreos en sus lotes comerciales de ajo.

LITERATURA CITADA

- Alvarado-Rodríguez, M. 1999. Obtención de plantas de *Allium sativum* libres de patógenos. p. 112. IV Simposio Internacional, V Reunión Nacional sobre Agricultura Sostenible. Fundación Michoacán Produce. Morelia, Michoacán, México. 220 p.
- Cadilhac, B., Quiot, J.B., Marrou, J., et Leroux, J.P. 1976. Mise en évidence au microscope électronique de deux virus différents infectants l'ail (*Allium sativum* L.) et l'échalote (*Allium cepa* L. var. *ascalonicum*). *Annales de Phytopathologie* 8:65-72.
- Clark, M.F., and Adams, A.N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay

- for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology* 34:475-483.
- Conci, V.C., Lunello, P., and Buraschi, D. 2002. Variations of Leek yellow stripe virus Concentration in Garlic and its Incidence in Argentina. *Plant Disease* 86:1085-1088.
- Cruz, F.M. y Frías, T.G.A. 1997. Guía Ilustrada de la Prueba de Inmunoadsorción con Enzimas Ligadas para la Detección de Fitopatógenos. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Subsecretaría de Agricultura y Ganadería, Comisión Nacional de Sanidad Agropecuaria, Dirección General de Sanidad Vegetal, Centro Nacional de Referencia de Diagnóstico Fitosanitario. México, D.F. 23 p.
- Delecalle, B., et Lot, H. 1981. Viroses de l'ail: 1.-Mise en évidence et essais de caractérisation par immunoelectromicroscopie d'un complex de trois virus chez différents populations d'ail atteintes de mosaïque. *Agronomie* 1:763-770.
- Fajardo, T.V.M., Nishijima, M., Buso, J., Torres, A.C., Ávila, A.C., and Resende, R.O. 2001. Garlic viral complex: Identification of potyviruses and carlavirus in Central Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 26:1-15.
- Kobayashi, K., Rabinowicz, P.D., Bravo-Almonacid, F., Helguera, M., Conci, V., Lot, H., and Mentaberry, S. 1996. Coat protein gene sequences of garlic and onion isolates of the Onion yellow dwarf virus (OYDV). *Archives of Virology* 141:2277-2287.
- Koch, M., and Salomon, R. 1994. Serological detection of onion yellow dwarf virus in garlic. *Plant Disease* 78:785-788.
- Lunello, P., Nome, S., y Conci, V. 1999. Resultados preliminares sobre el efecto del Leek Yellow Stripe Virus (LYSV) en el cultivo de ajo. Memorias del XXVI Congreso de la Sociedad Mexicana de Fitopatología y X Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Guadalajara, Jalisco. México. Resumen 226.
- Peña-Iglesias, A., and Ayuso, P. 1982. Characterization of spanish garlic viruses and their elimination by *in vitro* shoot apex culture. *Acta Horticulturae* 127:183-193.
- Pérez, M.L., Ramírez, M.R. y Salinas, G.J.G. 1997. Métodos de obtención de plantas de ajo (*Allium sativum* L.) libres de virus (grupo potyvirus) en México. p. 198. Libro de Resúmenes del IX Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Montevideo, Uruguay. 319 p.
- Pérez, M.L. y Rodríguez, A.A. 2002. Biological control of *Contiomyrium minitans* on sclerotia of *Sclerotium cepivorum* Berk. Memorias del XXIX Congreso Internacional de Fitopatología. Monterrey, Nuevo León, México. Resumen F-113.
- Pérez, M.L. y Rico, J.E. 2004. Identificación de virus fitopatógenos en cultivos hortícolas de importancia económica en el estado de Guanajuato, México. pp. 119-127. Editorial de la Universidad de Guanajuato. 1a Edición. Guanajuato, Guanajuato, México. 143 p.
- Ramírez, M.R., Borodanenko, A., Pérez, M.L., y Salinas, G.J. 1999. Eliminación de virus y observaciones sobre su traslocación en estructuras de plantas de ajo (*Allium sativum* L.). Memorias del XXVI Congreso de la Sociedad Mexicana de Fitopatología y X Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Guadalajara, Jalisco. México. Resumen 103.
- Ramírez-Malagón, R., Pérez-Moreno, L., Borodanenko, A., Salinas-González, J.G., and Ochoa-Alejo, N. 2006. Differential organ infection studies, potyvirus elimination, and field performance of virus-free garlic plants produced by tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 86:103-110.
- Rabinowitch, H.D., and Brewster, J.L. (eds.). 1990. Onion and Allied Crops. pp. 192-205. Volume II. CRC Press, Inc. Florida, USA. 320 p.
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación), 2000. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola de los Estados Unidos Mexicanos. México. 397 p.
- Tsuneyoshi, T., Matsumi, T., Natsuaki, K.T., and Sumi, S. 1998a. Nucleotide sequence analysis of virus isolates indicates the presence of three *Potyvirus* species in *Allium* plants. *Archives of Virology* 143:97-113.
- Tsuneyoshi, T., Matsumi, T., Deng, T.C., Sako, I., and Sumi, S. 1998b. Differentiation of *Allium* carlaviruses isolated from different parts of the world based on the viral coat protein sequence. *Archives of Virology* 143:1093-1107.
- Valadez, L.A. 1998. Producción de Hortalizas. pp. 95-96. Editorial Limusa, S.A. de C.V. México, D.F. 298 p.
- Van der Vlugt, R.A.A., Steffens, P., Cuperus, C., Barg, E., Leemann, D.E., Bos, L., and Vetten, H.J. 1999. Further evidence that *Shallot yellow stripe virus* (SYSV) is a distinct *Potyvirus* and Reidentification of *Welsh onion yellow stripe virus* as a SYSV strain. *Phytopathology* 89:148-155.
- Van Dijk, P. 1993. Survey and characterization of Potyviruses and their strains of *Allium* species. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 99:1-48.