

Impacto e Identificación de Virus Fitopatógenos Sobre Rendimiento y Calidad del Ajo (*Allium sativum* L), en el Estado de Guanajuato, México

*Impact and Identification of Phytopathogenic Viruses on Yield and Quality of Garlic (*Allium sativum* L) in the State of Guanajuato, Mexico*

Luis Pérez-Moreno, Martha Juana Navarro-León, Rafael Ramírez-Malagón y Briseida Mendoza-Celedón. División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Apdo. Postal 311, Irapuato, Guanajuato, México. CP 36500. Correspondencia: luispm@correo.ugto.mx

(Recibido: Diciembre 01, 2009 Aceptado: Septiembre 03, 2010)

Pérez-Moreno, L., Navarro-León, M.J., Ramírez-Malagón, R. y Mendoza-Celedón, B. 2010. Impacto e Identificación de Virus Fitopatógenos Sobre Rendimiento y Calidad del Ajo (*Allium sativum* L), en el Estado de Guanajuato, México. Revista Mexicana de Fitopatología 28:97-110.

Pérez-Moreno, L., Navarro-León, M.J., Ramírez-Malagón, R. and Mendoza-Celedón, B. 2010. Impact and Identification of Phytopathogenic Viruses on Yield and Quality of Garlic (*Allium sativum* L) in the State of Guanajuato, Mexico. Revista Mexicana de Fitopatología 28:97-110.

Resumen. La producción de ajo (*Allium sativum*) en México se ha reducido debido a infecciones causadas por virus. En el presente trabajo realizado en el estado de Guanajuato, México, durante el ciclo otoño-invierno 2008-2009, se identificaron mediante ELISA, los potyvirus, virus enanismo amarillo de la cebolla (*Onion yellow dwarf virus*: OYDV) y virus rayado amarillo del puerro (*Leek yellow stripe virus*: LYSV), los carlavirus, virus latente del shallot (*Shallot latent virus*: SLV), virus latente común del ajo (*Garlic common latent virus*: GarCLV), y el tospovirus, virus manchado amarillo del iris (*Iris Yellow Spot Virus*: IYSV). Los cinco virus estuvieron presentes en los ensayos ICA, SAL y SLP; LYSV con 100, 100 y 100% de incidencia, OYDV con 92, 94 y 91%, GarCLV con 89, 92 y 92%, SLV con 28, 100 y 61%, IYSV con 42, 36 y 42%, para la primer, segunda y tercer fechas de muestreo, respectivamente. Se evaluaron 12 compuestos de ajo de la variedad Taiwán de los cuales el 5 (Santa Teresa, Tabla 3, Salamanca, Gto.) y el 4 (El Pato, Bodegas, Salamanca, Gto.) produjeron los mayores rendimientos (13.6 ton/ha) de bulbo, a pesar de las infecciones virales.

Abstract. The production of garlic (*Allium sativum*) in Mexico has become reduced due the infections caused by viruses. The present study is aimed to identify *potyvirus*, *onion yellow dwarf virus* (OYDV), and *leek yellow striped virus* (LYSV), *carlavirus*, *shallot latent virus* (SLV), *garlic common latent virus* (GarCLV), and *tospovirus*, *iris yellow spot virus* (IYSV) by means of ELISA, in the state of Guanajuato, Mexico during the autumn-winter cycle 2008-2009. The five viruses were present in the ICA, SAL and SLP; LYSV tests, with 100, 100 and 100% incidence, OYDV with 92, 94 and 91%, GarCLV with 89, 92 y 92%, SLV with 28, 100 and 61%, IYSV with 42, 36 and 42%, for the first, second and third sampling dates, respectively. Despite the viral infections, a total of 12 compounds of the Taiwan garlic variety were evaluated, out of which, 5 (Santa Teresa, Table 3, Salamanca, Gto.) and 4 (El Pato, Warehouses, Salamanca, Gto.) produced the highest yield (13.6 ton/ha), of the bulb.

Additional keywords: Virus diseases of garlic, viral complex, performance, quality.

Palabras clave adicionales: Virosis del ajo, complejo viral, rendimiento, calidad.

INTRODUCCIÓN

La producción de ajo en México se ha reducido alrededor de un 20% debido a las infecciones virales, las cuales han presentado una incidencia elevada en lotes comerciales de la región del Bajío mexicano (Pérez *et al.*, 1997; 2007; Pérez y Rico, 2004; Pérez-Moreno *et al.*, 2006; 2008; Ramírez *et al.*,

INTRODUCTION

The garlic production in Mexico has revealed about 20% decrease due to viral infections, which presented a high incidence in commercial batches of the Mexican Bajío (Pérez *et al.*, 1997; 2007; Pérez and Rico, 2004; Pérez-Moreno *et al.*, 2006; 2008; Ramírez *et al.*, 2006). The garlic crop is infected with virus mixtures that are rather complex to identify (Cadilhac *et al.*, 1976; Delecalle and Lot, 1981; Fajardo *et al.*, 2001). The virus complex consists of more than eight species belonging to the Potyvirus, Carlavirus and

2006). El cultivo de ajo es infectado por mezclas de virus que hacen compleja su identificación (Cadilhac *et al.*, 1976; Delecotte y Lot, 1981; Fajardo *et al.*, 2001). El complejo viral está integrado por más de ocho especies pertenecientes a los géneros Potyvirus, Carlavirus y Allxivirus, y producen una enfermedad denominada el mosaico del ajo (Cafrune *et al.*, 2005). El sistema de propagación vegetativa lleva a la acumulación de virus en las plantas de ajo, permitiendo su diseminación e induciendo pérdidas del rendimiento (Davis, 1995). Los potyvirus: virus enanismo amarillo de la cebolla (*Onion yellow dwarf virus*: OYDV) y virus rayado amarillo del puerro (*Leek yellow stripe virus*: LYSV), y varias especies de allxivirus (GarV-A, B, C, D y X) son los patógenos virales más extendidos en los cultivos del género *Allium* a nivel mundial (Cafrune *et al.*, 2006). Los virus OYDV y LYSV de la familia Potyviridae son los más comunes y probablemente los más dañinos al follaje de ajo y por consiguiente los que más afectan el rendimiento y la calidad de los bulbos en el mundo (Dovas *et al.*, 2001). Messiaen *et al.*, (1981) reportaron en Francia reducciones del rendimiento de ajo por efecto de las infecciones virales del 25 al 50% dependiendo del cultivar sembrado. Lot *et al.*, (1998) compararon en Francia los rendimientos de ajo libre de los virus OYDV y LYSV contra material de propagación comercial, y observaron que la infección simultánea de ambos virus causa reducciones significativas en peso y desarrollo del bulbo, estimando una pérdida del rendimiento atribuible a la infección de los virus de aproximadamente un 50%. En Checoslovaquia, las plantas de ajo infectadas por virus pueden reducir más del 45% el número de bulbillos por bulbo, comparado con los producidos por las plantas sanas (Havranek, 1974). En Argentina, cuando las plantas de ajo son infectadas por el LYSV, el virus afecta la germinación de los bulbillos, además reduce la altura y el número de hojas de las plantas, lo cual se traduce en reducción del rendimiento (Lunello *et al.*, 1999). Cafrune *et al.* (2005), evaluaron el efecto de inocular dos Allxivirus comparado con ajo sano y ajo comercial que contenía el complejo viral de campo, sobre componentes del rendimiento y calidad de los cultivares de ajo Morado-INTA y Blanco IFFIVE; encontraron que el Allxivirus GarMBFV produjo siempre bulbos menores que el tratamiento sano, con reducciones del 14 al 32% en peso y del 6 al 11% en calibre. Este virus redujo el número de bulbillos por bulbo más en ajo Blanco que en Morado, detectándose en este último una disminución del 18 al 22%. Perotto *et al.* (2005a), evaluaron el efecto del complejo viral del ajo sobre el número y peso de bulbillos, peso y calibre de los bulbos, en ajo sano y enfermo de los cultivares Blanco IFFIVE y Morado-INTA, detectando que los virus causaron efectos deletéreos. En el cultivar Blanco IFFIVE el peso se redujo entre 57 al 61% y el número de bulbillos de 20 al 48%; sin embargo, en el cultivar Morado-INTA la disminución fue menor, el peso se redujo entre 0 al 36% y el número de bulbillos de 9 al 33%. Perotto *et al.*, (2005b) evaluaron el efecto de un Allxivirus serológicamente relacionado al *Garlic virus D* en suma al de otros virus (Potyvirus y Carlavirus) que recontaminaron el cultivo de ajo bajo condiciones de campo, detectando diferencias significativas respecto a las plantas que estuvieron

Allxivirus genus, producing a disease called garlic mosaic (Cafrune *et al.*, 2005). The vegetative propagation system leads to the viral accumulation in garlic plants, allowing their spreading and inducing yield losses, (Davis, 1995). The potyvirus: *Onion yellow dwarf virus* (OYDV) and *Leek yellow stripe virus* (LYSV), and several allxivirus species (GarV-A, B, C, D and X) are the most common viral pathogens of the *Allium* genus worldwide (Cafrune *et al.*, 2006). The OYDV and LYSV virus of the Potyviridae family are the most common and perhaps the most harmful to garlic foliage and, consequently, the most affecting viruses for yield and quality of the bulbs worldwide (Dovas *et al.*, 2001). As reported by Messiaen *et al.*, (1981) in France, 25 to 50% garlic yield reduction is a result of viral infections, depending on the cultivar planted. It was reported by Lot *et al.* (1998), that the performance of the virus-free garlic and LYSV, as well as OYDV was compared in France against some commercial propagation material; a significant reduction in weight and bulb development was observed by the simultaneous infection of both viruses, estimating a yield loss attributable to virus infection of approximately 50%. Over 45% of the number of cloves per bulb can become reduced by the virus infected garlic plants in Czechoslovakia, compared with those produced by healthy plants (Havranek, 1974). The germination of the bulbs in Argentina, when garlic plants are LYSV infected, is also affected by reducing height and number of the leaves of the plants, resulting in a reduced yield, (Lunello *et al.*, 1999). The inocular effect of two Allxivirus was evaluated by Cafrune *et al.* (2005), having it compared with both healthy and commercial garlic which contained the viral field complex of yield components and quality of Purple-INTA and White IFFIVE garlic cultivars; it was revealed that a less than healthy treatment with reductions ranging from 14 to 32% in weight and from 6 to 11% in size was always produced by the GarMBFV Allxivirus bulbs. The number of cloves per bulb was more reduced in White garlic than in Purple by this virus, having a decrease ranging from 18 to 22%, detected in the latter. The effect of the complex garlic virus on the number and weight of bulblets, weight and size of the bulbs in healthy and diseased White IFFIVE and Purple-INTA garlic cultivars was evaluated by Perotto *et al.* (2005a), detecting some deleterious effects caused by the viruses. The weight was reduced from 57 to 61% in the White IFFIVE cultivar, as well as the number of bulblets, which was reduced from 20 to 48%. Nevertheless, such decrease was lower in the Purple-INTA cultivar; the weight reduction ranged from 0 to 36% and the number of bulblets from 9 to 33%. The effect of an Allxivirus serologically related to the *D Garlic virus* was evaluated by Perotto *et al.* (2005b), in addition to some other viruses (Potyvirus and Carlavirus) that re-contaminated the garlic growing under field conditions, detecting significant differences compared to plants that were originally free of virus, and discovered a reduction of 12% in body weight, a 7% reduction in bulbs size and a 40% reduction in the number of cloves per bulb. The reduction in the yield of garlic caused by the viral mixture is high; although, the contribution to the total damage of each individual virus mixture has not yet been

originalmente libres de virus, encontrando 12% de reducción en el peso, 7% en el calibre de los bulbos y 40% en el número de bulbillos por bulbo. La reducción en el rendimiento de ajo causado por la mezcla de virus es alta; sin embargo, la contribución al daño total de cada uno de los virus individuales de la mezcla no se ha investigado todavía en México, salvo en el caso del grupo Potyvirus (OYDV y LYSV) (Pérez y Rico, 2004; Ramírez-Malagón *et al.*, 2006; Pérez *et al.*, 2008) y del grupo carlavirus (GarCLV y SLV) (Pérez *et al.*, 2008). El presente trabajo tuvo como objetivos: a) determinar el efecto del complejo viral sobre rendimiento y calidad en los compuestos de ajo bajo estudio, durante el ciclo otoño-invierno 2008-2009, en el estado de Guanajuato, México; y b) identificar los virus presentes en el cultivo del ajo durante el ciclo otoño-invierno 2008-2009, en follaje de plantas originadas de bulbos aparentemente sanos (asintomáticos) y aparentemente enfermos con distintos síntomas de probable origen viral, de diferentes zonas productoras del estado de Guanajuato, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material genético de ajo. Para el caso de este estudio, se formaron 10 compuestos de ajo con follaje aparentemente sano (asintomático) y dos compuestos aparentemente enfermos con distintos síntomas presuntivos de una virosis por ejemplo: enchinamiento y/o enrollamiento, mosaico, deformación de hojas, amarillamiento y ampollamiento, bandeado y enanismo; los 12 compuestos fueron del tipo Taiwán. Los bulbos originales de los 12 compuestos se produjeron en el ciclo otoño-invierno 2004-2005 y se cosecharon en marzo de 2005 en cada una de 10 localidades de municipios del estado de Guanajuato: "Monte Cristo 2, Los Rodríguez", de San Miguel de Allende y "tabla I, El Ramillete", "tabla II, El Ramillete" y "tabla III, El Ramillete", de San Luis de La Paz, en la zona norte, "Santa Teresa tabla III, Valtierra", y "Santa Teresa tabla IV, Valtierra", de Salamanca y "Pozo Alto 1, El Pato", "Pozo Alto 2, El Pato", "Laurel 1, El Pato", "Bodegas, El Pato", de Salamanca. Los compuestos del Ensayo ICA se originaron en el Instituto de Ciencias Agrícolas, en Irapuato, Gto., México, en el ciclo otoño-invierno 2006-2007; los compuestos del Ensayo SAL se originaron en el Rancho Aguilares en Salamanca, Gto., México, en el ciclo otoño-invierno 2006-2007; los compuestos del Ensayo SLP se originaron en el Rancho La Mina, Los Rodríguez, en San Miguel de Allende, Gto., México, en el ciclo otoño-invierno 2007-2008.

Localización del experimento y ciclo de cultivo. La siembra de los ensayos ICA y SAL se realizó el 17 de Octubre de 2008, en el Campo Agrícola Experimental de la División de Ciencias de la Vida del Campus Irapuato-Salamanca de la Universidad de Guanajuato (DICIVA - CIS - UG), en Irapuato, Gto., México. La fecha de siembra del ensayo SLP fue el 30 de Octubre de 2008, en el Rancho San Agustín I, en San Luis de La Paz, Gto., México. **Análisis estadístico.** El diseño experimental utilizado fue un bloques completos al azar, con tres repeticiones, y una comparación múltiple de medias con Tukey $P \leq 0.05$.

investigated in Mexico, with the exception of the Potyvirus group (OYDV and LYSV) (Pérez and Rico, 2004; Ramírez-Malagón *et al.*, 2006; Pérez *et al.*, 2008) and the carlavirus group (GarCLV and SLV) (Pérez *et al.*, 2008). The present study is aimed to: a) determine the effect of the viral complex on yield and quality of the garlic compounds under study in the autumn-winter cycle 2008-2009 in the state of Guanajuato, Mexico; b) identify the virus present in the autumn-winter cycle 2008-2009 in foliage of plants developed from apparently sick bulbs (asymptomatic) and apparently sick with several symptoms of probable viral origin, from different areas in the state of Guanajuato, Mexico.

MATERIALS AND METHODS

Garlic genetic material. A total of 10 garlic compounds were formed with apparently healthy foliage (asymptomatic) and two compounds apparently sick, with different viral presumptive symptoms, as an instance: curling and/or rolling, mosaic, leaf deformation, yellowing and blistering, striping and stunting; the 12 compounds were Taiwan type. The 12 compounds original bulbs were produced in the autumn-winter cycle 2004-2005, and harvested in March 2005 in each of the 10 locations from municipalities in the state of Guanajuato: "Monte Cristo 2, Los Rodríguez", from San Miguel de Allende from "tabla I, El Ramillete", "tabla II, El Ramillete" and "tabla III, El Ramillete", from San Luis de La Paz, in the northern area, "Santa Teresa tabla III, Valtierra" and "Santa Teresa tabla IV, Valtierra", from Salamanca and "Pozo Alto 1, El Pato", "Pozo Alto 2, El Pato", "Laurel 1, El Pato", "Bodegas, El Pato", from Salamanca. The ICA test compounds were originated at the Instituto de Ciencias Agrícolas, in Irapuato, Gto., México, during the 2006-2007 autumn-winter cycle; the SAL test compounds were originated at the Rancho Aguilares in Salamanca, Gto., México, in the 2006-2007 autumn-winter cycle; the SLP test compounds were originated at the Rancho La Mina, Los Rodríguez, in San Miguel de Allende, Gto., México, in the autumn-winter cycle 2007-2008.

Location of the experiment and crop cycle. The planting of the ICA and SAL trials was performed on October 17, 2008, at the Agricultural Experiment Division of Life Sciences Campus Irapuato, Salamanca, University of Guanajuato (DICIVA-CIS-UG), in Irapuato, Gto., México. The sowing date of the SLP test was October 30, 2008, at the Rancho San Agustín I, in San Luis de La Paz, Gto, Mexico.

Statistical analysis. The experimental design used was a randomized complete block design with three replicates, plus a multiple comparison of means with Tukey $P \leq 0.05$.

Analysed Variables.

a) Viral incidence on the basis of external symptoms (%). The total plants and plants expressing virus symptoms were counted in each experimental unit at 70, 110 and 140 days after sowing (DAS). The number of plants with viral symptoms were divided between the total number of plants, in order to determine virus incidence. **b) Severity of viruses.** Graded on a scale from 1 to 5 where: 1 = plants without any symptoms of virus infection; 2 = slight

Variables analizadas.

a) Incidencia de virosis en función de síntomas externos (%). En cada unidad experimental se contaron las plantas totales y las plantas que manifestaban síntomas de virosis, a los 70, 110 y 140 días después de la siembra. Para determinar la incidencia de virosis se dividió el número de plantas con síntomas virales entre el número de plantas totales.

b) Severidad de virosis. Calificado con una escala de 1 a 5, donde: 1 = plantas sin ningún síntoma de virosis; 2 = ligeros síntomas de virosis; 3 = síntomas regulares de virosis; 4 = síntomas fuertes de virosis y 5 = síntomas intensos de virosis.

c) Peso promedio del bulbo (g). Al momento de la cosecha cada repetición y de cada compuesto, se pesaron 10 bulbos, y se calculó el peso promedio de cada bulbo.

d) Diámetro promedio del bulbo (cm). Al momento de la cosecha de cada repetición y de cada compuesto, se midieron 10 bulbos con un vernier en la parte ecuatorial del bulbo, y se calculó el diámetro promedio de cada.

e) Altura promedio del bulbo (cm). Al momento de la cosecha de cada repetición y de cada compuesto, se midieron 10 bulbos con un vernier en la parte polar del bulbo, y se calculó la altura promedio de cada bulbo.

f) Rendimiento de bulbo (ton ha^{-1}). Se obtuvo después de arrancar las plantas y colocarlas apretadamente contiguas con los bulbos enterrados en el suelo de cultivo seco (enchufado) durante 21 días, después de los cuales se desechó el follaje y la raíz y se pesaron únicamente los bulbos de la parcela útil.

g) Número promedio de dientes por bulbo. Al momento de la cosecha de cada repetición y de cada compuesto, se desgranaron 10 bulbos y se contaron los dientes por bulbo, con esto se calculó el número de dientes promedio de cada bulbo.

También, se evaluó la presencia de los virus: los potyvirus, virus enanismo amarillo de la cebolla (*Onion yellow dwarf virus*: OYDV) y virus rayado amarillo del puerro (*Leek yellow stripe virus*: LYSV), los carlavirus, virus latente del shallot (*Shallot latent virus*: SLV), virus latente común del ajo (*Garlic common latent virus*: GarCLV), y el tospovirus, virus manchado amarillo del iris (*Iris Yellow Spot Virus*: IYSV). Para la detección de los virus se utilizó la técnica de inmunoabsorción enzimática (ELISA).

Fechas de evaluación y colectas. La detección viral se realizó en tres fechas de muestreo, a los 70, 110 y 140 días después de la siembra para los compuestos ICA, SAL. Para los compuestos SLP a los 70, 110 y 125 días después de la siembra. Para formar la muestra a evaluar, se colectó una hoja de cada una de cinco plantas de la parcela experimental; dependiendo del compuesto sembrado, las plantas podían presentar síntomas presuntivos de una virosis, o estar aparentemente sanas o asintomáticas. Cada uno de los tres ensayos evaluados tuvo 36 parcelas o unidades experimentales, a las cuales se realizaron tres muestreos ($3 \times 36 \times 3 = 324$), lo anterior dio un total de 324 muestras. Estas se colocaron en bolsas de plástico y se mantuvieron en congelación (-20°C) hasta su procesamiento.

Procesamiento de las muestras. Las muestras se procesaron en el Laboratorio de Fitopatología de la DICIVA-CIS-UG. Los virus se detectaron mediante la inmunoabsorción

virus symptoms; 3 = regular viral symptoms; 4 = severe symptoms of virus infections; 5 = intense symptoms of the virus.

c) Average bulb weight (g). A total of 10 bulbs were weighed at harvest time from each replicate and each compound, calculating the average weight of each bulb.

d) Average diameter of bulb (cm). The average diameter of each of the 10 bulbs measured was calculated with a vernier on the equatorial bulge at harvest time from each replicate and each compound.

e) Average height of bulb (cm). The average height of each of the 10 bulbs measured was calculated with a vernier in the polar part of the bulb at harvest time from each replicate and each compound.

f) Yield of the bulb (ton ha^{-1}). It was obtained after taking the plants out and placed tightly adjacent to the bulbs buried in dry crop soil (plugged) for 21 days, which dismissed the foliage and roots, afterwards; only the bulbs of the useful plot were weighed.

g) Average number of cloves per bulb. Bulbs and seeds were removed at harvest time from each repetition and each compound, having 10 teeth counted per bulb, having the average number of teeth from each bulb calculated.

The presence of the virus was also evaluated: potyvirus, *Onion yellow dwarf virus* (OYDV) and *Leek yellow stripe virus* (LYSV), carlavirus, *Shallot latent virus* (SLV), *Garlic common latent virus* (GarCLV), and tospovirus, *Iris Yellow Spot Virus* (IYSV). The enzymatic immunosorbent assay (ELISA) was used for the detection of the virus.

Dates of assessment and collection. The viral detection was performed in three sampling dates at 70, 110 and 140 das for ICA, SAL compounds; for SLP compounds sampling dates were performed at 70, 110 and 125 das. One leaf out of five plants from the experimental plot was collected to form the test sample; the plants could present presumptive viral symptoms depending on the compound seed, or even appear healthy or asymptomatic. Each of the three evaluated tests had 36 plots or experimental units, to which three samplings were performed ($3 \times 36 \times 3 = 324$); a total of 324 samples resulted from this sampling. They were placed in plastic bags and kept frozen (-20°C) until processing.

Sample processing. The samples were processed at the DICIVA-CIS-UG Plant Pathology Laboratory. Viruses were detected by double antibody enzyme-linked immunosorbent (DAS) (Clarck and Adams, 1977; Cruz and Frías, 1997). The GarCLV, LYSV, OYDV and IYSV were conjugated with the alkaline phosphatase enzyme for antibodies (Agdia Inc.); whereas the SLV was conjugated with the horseradish peroxidase enzyme. The positive and negative controls (onion leaves extract) were Agdia Inc. The absorbance was determined in the BIO-RAD Model 3550-UV spectrophotometer, at a wavelength of 405 nm for GarCLV, LYSV, OYDV and IYSV and 630 nm for the SLV virus.

Results evaluation and determination of detection limit. The mean of duplicate readings for each sample was obtained. The value of healthy control was achieved with the average of the two values for each virus. The detection limit was based upon the mean value of negative control + 0,050 optical densities; any value above this limit was considered positive.

enzimática de doble anticuerpo (DAS) (Clarck y Adams, 1977; Cruz y Frías, 1997). Para los anticuerpos (Agdia Inc.) de GarCLV, LYSV, OYDV y IYSV se conjugaron con la enzima fosfatasa alcalina, mientras que el SLV, se conjugó con la enzima peroxidasa. Los controles positivo y negativo (extracto de hojas de cebolla) fueron de Agdia Inc. La absorbancia se determinó en el espectrofotómetro BIO-RAD Modelo 3550-UV, a una longitud de onda de 405 nm para GarCLV, LYSV, OYDV y IYSV y 630 nm para el virus SLV.

Evaluación de resultados y determinación del límite de detección. Se obtuvo la media de lecturas por duplicado de cada muestra. El valor del control sano se logró con el promedio de los dos valores para cada virus. El límite de detección se basó en el valor medio del control negativo + 0.050 de densidad óptica; todo valor por arriba de este límite se consideró positivo.

RESULTADOS

Para las variables incidencia y severidad de virosis a los 110 y 140 dds, hubo diferencias altamente significativas, para los factores ensayos y compuestos, con coeficientes de variación del 41 y 52% para incidencia y 17 y 17% para severidad, respectivamente, con excepción del factor ensayos a los 140 dds en la variable incidencia, donde no hubo diferencias significativas. La incidencia de virosis fue estadísticamente menor en el segundo muestreo, 15.9, 16.5 y 32.5% en los compuestos de los ensayos ICA, SAL y SLP, respectivamente; en comparación con el tercer muestreo, 46.6, 44.2 y 51.2% en los compuestos de los ensayos de ICA, SAL y SLP, respectivamente (Figura 1). La severidad de virosis fue estadísticamente menor en el segundo muestreo, 1.4, 1.3 y 1.5 en los compuestos de los ensayos ICA, SAL y SLP, respectivamente; en comparación con el tercer muestreo, 2.2, 2.3 y 2.0 en los compuestos de los ensayos ICA, SAL y SLP, respectivamente (Figura 3). Los compuestos que presentaron estadísticamente menor incidencia y severidad de virosis en la tercer fecha de evaluación fueron los Compuestos 6 (Santa Teresa, Tabla 4, Salamanca, Gto.) y 4 (El Pato, Bodegas, Salamanca, Gto.), lo anterior en comparación con el Compuesto 12 (Ajo enfermo, varias regiones del Edo. de Gto.), el cual presentó la mayor incidencia y severidad de virosis (Figuras 2, 4 y 5). Al llevar a cabo las correlaciones para las variables incidencia y severidad de virosis a los 110 y 140 dds con peso promedio de bulbo y rendimiento de bulbo resultaron negativas, lo cual muestra que la presencia de virus en las plantas disminuye peso de bulbo y rendimiento, ya que si se incrementa la incidencia y severidad de virosis traerá como consecuencia que se reduzca el valor de esas variables (Cuadro 1). Para las variables peso, diámetro y altura de bulbo, se observaron diferencias altamente significativas, para los factores ensayos y compuestos, con coeficientes de variación del 17, 10 y 9%, respectivamente; estableciéndose que para peso y diámetro de bulbo, los ensayos ICA y SAL fueron mejores y estadísticamente iguales con valores promedio de 61.5 y 62.0 gramos y de 5.6 y 5.6 cm, respectivamente; en cambio en el ensayo SLP el promedio fue de 45.3 gramos y 4.9 cm lo cual es sensiblemente menor; en cuanto a altura de

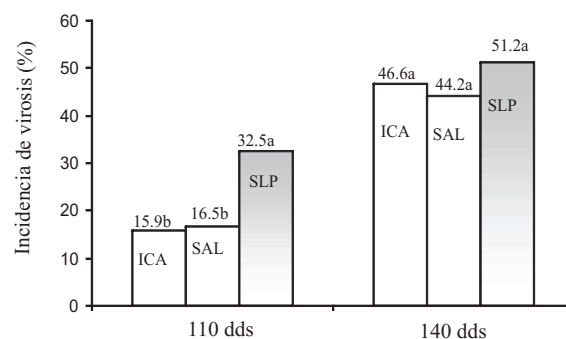


Figura 1. Incidencia de virosis en plantas de ajo (*Allium sativum* L.) como promedio de los porcentajes de plantas con síntomas externos de 12 Compuestos en los Ensayos ICA, SAL y SLP, en dos fechas de evaluación, durante el ciclo Otoño-Invierno 2008-2009.

Figure 1. Incidence of viruses in garlic plants (*Allium sativum* L.) as the average percentages of plants with external symptoms of 12 Compounds in the ICA, SAL and SLP tests in two evaluation dates, during the Fall-Winter cycle 2008-2009.

RESULTS

Highly significant differences were revealed by the incidence and severity variables of the virus at 110 and 140 DAS for the testing and compound factors, with variation coefficients of 41 and 52% for incidence, plus 17 and 17% for severity, respectively, except for the test factor of 140 DAS in the incidence variable, where no significant differences were revealed. The incidence of viruses was statistically lower in the second sampling, 15.9, 16.5 and 32.5% in the ICA, SAL and SLP, tests compounds, respectively, compared with the third sampling, 46.6, 44.2 and 51.2% ICA, SAL and SLP tests compounds, respectively (Figure 1). The severity of viral diseases was statistically lower in the, 1.4, 1.3 and 1.5 second sampling of the ICA, SAL and SLP test compounds, respectively, compared to the 2.2, 2.3 and 2.0 third sampling of the ICA, SAL and SLP compound tests, respectively (Figure 3). The compounds that showed a statistically lower incidence and severity of virus in the third evaluation date were the compounds 6 (Santa Teresa, Table 4, Salamanca, Gto.) and 4 (El Pato, Bodegas, Salamanca, Gto.); this is in comparison with compound 12 (sick garlic, several regions from the state of Guanajuato), which had the highest incidence and severity of virus (Figures 2, 4 and 5). The average bulb weight and bulb yield were negative in carrying out the correlations for incidence and severity of virus at 110 and 140 DAS, showing incidence presence of viruses in plants, decreases bulb weight and yield and that increasing the incidence and severity of virus, will result in a reduction in the value of these variables (Table 1). Significant differences were observed for the test factors and compounds concerning weight, diameter and height of the bulb variables, with variation coefficients of 17, 10 and 9%, respectively.

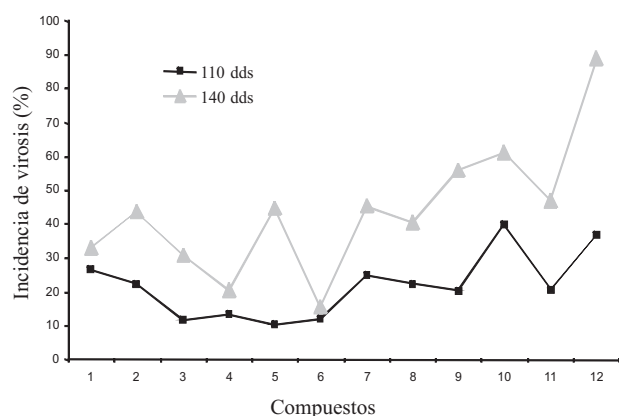


Figura 2. Incidencia de virosis en plantas de ajo (*Allium sativum* L.) como promedio de los porcentajes de plantas con síntomas externos de 12 Compuestos, promedio de tres ensayos, en dos fechas de evaluación, durante el ciclo Otoño-Invierno 2008-2009.

Figure 2. Incidence of viruses in garlic plants (*Allium sativum* L.) as the average of the percentages of plants with external symptoms of 12 Compounds, average from three tests in two evaluation dates during the Fall-Winter cycle 2008-2009.

Compuesto No. 1: Ajo sano, varias regiones del Edo. de Gto.; Compuesto No. 2: El pato, pozo alto 1, Salamanca, Gto.; Compuesto No. 3: El pato, laurel 1, Salamanca, Gto.; Compuesto No. 4: El pato, bodegas, Salamanca, Gto.; Compuesto No. 5: Santa Teresa, Tabla 3, Salamanca, Gto.; Compuesto No. 6: Santa Teresa, Tabla 4, Salamanca, Gto.; Compuesto No. 7: Monte Cristo 2, San Miguel de Allende, Gto.; Compuesto No. 8: El ramillete, Tabla 1, San Luis de la Paz, Gto.; Compuesto No. 9: El ramillete, Tabla 2, San Luis de la Paz, Gto.; Compuesto No. 10: El ramillete, Tabla 3, San Luis de la Paz, Gto.; Compuesto No. 11: Ajo enfermo, varias regiones del Edo. de Gto.; Compuesto No. 12: Ajo enfermo, varias regiones del Edo. de Gto.

bulbo, el ensayo SAL fue mejor con promedio de 6.6 cm; en cambio en los ensayos SLP e ICA el promedio fue de 6.3 y 6.1 cm, respectivamente (Figura 6). Los compuestos que presentaron estadísticamente un mayor peso fueron los Compuestos 5 (Santa Teresa, tabla 3, Salamanca, Gto.), 7 (Monte Cristo 2, San Miguel de Allende, Gto.), 6 (Santa Teresa, tabla 4, Salamanca, Gto.), 4 (El pato, bodegas, Salamanca, Gto.), y 9 (El ramillete, tabla 2, San Luis de la Paz, Gto.), en comparación con los Compuestos 11 y 12 (Ajo enfermo, varias regiones del Edo. de Gto.), los cuales presentaron el menor peso promedio de bulbo (Figura 7). En cuanto a diámetro y altura de bulbo, la figura 7 muestra que las diferencias, aunque significativas no tienen relevancia gráfica. Al realizar las correlaciones para las variables peso y diámetro de bulbo, con rendimiento de bulbo fueron positivas, lo cual es favorable para el productor, ya que si se

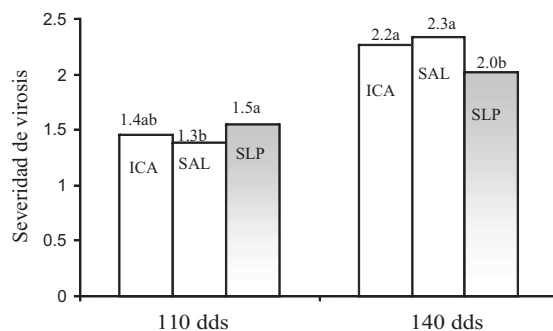


Figura 3. Severidad de virosis en plantas de ajo (*Allium sativum* L.) como promedio de la calificación de severidad en las plantas con síntomas externos de 12 Compuestos en los Ensayos ICA, SAL y SLP, en dos fechas de evaluación, durante el ciclo Otoño-Invierno 2008-2009.

Figure 3. Severity of viruses in garlic plants (*Allium sativum* L.) as an average of severity rating in plants with external symptoms of 12 Compounds in the ICA, SAL and SLP tests in two evaluation dates, during the Fall-Winter cycle 2008-2009.

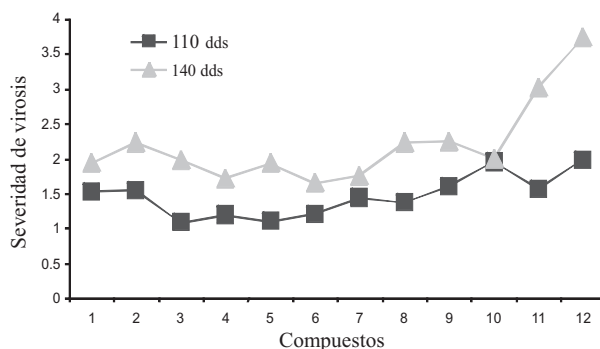


Figura 4. Severidad de virosis en plantas de ajo (*Allium sativum* L.) como promedio de la calificación de severidad en las plantas con síntomas externos de 12 Compuestos, promedio de tres ensayos, en dos fechas de evaluación, durante el ciclo Otoño-Invierno 2008-2009.

Figure 4. Severity of viruses in garlic plants (*Allium sativum* L.) as an average of severity rating in plants with external symptoms of 12 Compounds, average from three tests in two evaluation dates during the Fall-Winter cycle 2008-2009.

Compuesto No. 1: Ajo sano, varias regiones del Edo. de Gto.; Compuesto No. 2: El pato, pozo alto 1, Salamanca, Gto.; Compuesto No. 3: El pato, laurel 1, Salamanca, Gto.; Compuesto No. 4: El pato, bodegas, Salamanca, Gto.; Compuesto No. 5: Santa Teresa, Tabla 3, Salamanca, Gto.; Compuesto No. 6: Santa Teresa, Tabla 4, Salamanca, Gto.; Compuesto No. 7: Monte Cristo 2, San Miguel de Allende, Gto.; Compuesto No. 8: El ramillete, Tabla 1, San Luis de la Paz, Gto.; Compuesto No. 9: El ramillete, Tabla 2, San Luis de la Paz, Gto.; Compuesto No. 10: El ramillete, Tabla 3, San Luis de la Paz, Gto.; Compuesto No. 11: Ajo enfermo, varias regiones del Edo. de Gto.; Compuesto No. 12: Ajo enfermo, varias regiones del Edo. de Gto.

comparación con los Compuestos 11 y 12 (Ajo enfermo, varias regiones del Edo. de Gto.), los cuales presentaron el menor rendimiento promedio de bulbo, con 7,398.9 y 6,769.5 kg/ha, respectivamente (Figura 9). Al llevar a cabo la correlación para la variable rendimiento de bulbo con número de dientes por bulbo resultó positiva, lo cual implica que si se incrementa el número de dientes por bulbo traerá como consecuencia que se incremente el rendimiento de bulbo (Cuadro 1). Para número de dientes por bulbo se observaron diferencias altamente significativas, para los factores ensayos y compuestos, con un coeficiente de variación del 29%. Estadísticamente el mayor número de dientes por bulbo se tuvo en el ensayo ICA con 15.5a, seguido del ensayo SAL con 14.1b, y finalmente el ensayo SLP con 10.1c (Figura 10). De igual forma, los compuestos que presentaron estadísticamente el mayor número promedio de dientes por bulbo de ajo fueron: el Compuesto 6 (Santa Teresa, Tabla 4, Salamanca, Gto.), y el Compuesto 2 (El Pato, Pozo Alto 1, Salamanca, Gto.), con 15.3 y 15.3, respectivamente; lo

coeficiente de 28%. Statistically, the greatest bulb yield was 28%. Statistically, the greatest bulb yield was revealed by the SLP test with 17,209.0a kg/ha; this could be because, as stated by Perez *et al* (2008), the compounds 1, 2, 3, 4, 5 and 6, which is 50% of the tested genetic material that was originally from farms that could have been located at the Bajío of Guanajuato and not on the northern side of the state, reveals that the Taiwan materials have good yield and good quality as they alternate from warm temperatures (Irapuato, Gto. Annual average temperature: 17.2 °C in 2008 and 18.3 °C in 2009) to cool (San Luis de la Paz, Gto. Annual average temperature: 15.4 °C in 2008 and 16.3 °C in 2009) as revealed by the results of the study hereby; followed by the SAL test with 7,374.8b kg/ha, and ICA with 7,071.4b kg/ha, which were statistically similar (Figure 8). Also, the compounds that revealed a higher average yields of bulb were: Compound 5 (Santa Teresa, Tabla 3, Salamanca, Gto.), and Compound 4 (El Pato, Bodegas, Salamanca, Gto.), with 13,685.2 and 13,630.6 kg/ha, respectively, when compared to Compounds 11 and 12

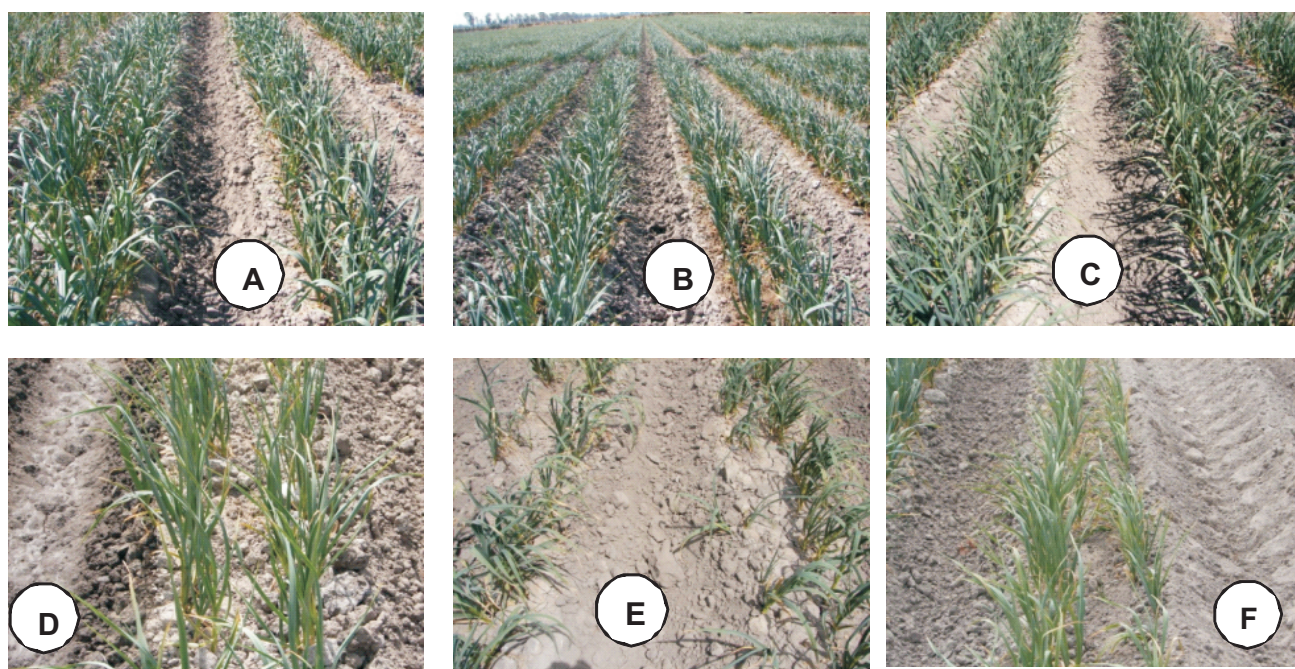


Figura 5. Comparación de sintomatología entre plantas de ajo (*Allium sativum* L.), a los 110 días después de la siembra de los Compuestos No. 1: Ajo sano, varias regiones del Edo. de Gto. (A), Compuesto No. 4: El pato, bodegas, Salamanca, Gto. (B) y Compuesto No. 5: Santa Teresa, Tabla 3, Salamanca, Gto. Santa Teresa, Tabla 3, Salamanca, Gto. (C), con plantas aparentemente sanas (asintomáticas), y Compuesto No. 8: El ramillete, Tabla 1, San Luis de la Paz, Gto. (D), Compuesto No. 11: Ajo enfermo, varias regiones del Edo. de Gto. (E) y Compuesto No. 12: Ajo enfermo, varias regiones del Edo. de Gto. (F), plantas con sintomatología causada por los virus LYSV, OYDV, GarCLV, SLV y IYSV, en San Luis de la Paz, Guanajuato, México, durante el ciclo Otoño-Invierno 2008-2009.

Figure 5. Comparison of symptoms among garlic plants (*Allium sativum* L.), at 110 days after sowing of the Compounds No. 1: healthy garlic, several regions in the state of Guanajuato. (A), Compound No. 4: El pato, bodegas, Salamanca, Gto. (B) and Compound No. 5: Santa Teresa, Tabla 3, Salamanca, Gto. Santa Teresa, Tabla 3, Salamanca, Gto. (C), with apparently healthy plants (asymptomatic), and Compound No. 8: El ramillete, Tabla 1, San Luis de la Paz, Gto. (D), Compound No. 11: sick garlic, several regions in the state of Guanajuato. (E) And Compound No. 12: sick garlic, several regions in the state of Guanajuato. (F) plants with the symptomatology caused by the LYSV, OYDV, GarCLV, SLV and IYSV viruses, in San Luis de la Paz, Guanajuato, México, during the Fall-Winter cycle 2008-2009.

anterior en comparación con el Compuesto 8 (El Ramillete, Tabla 1, San Luis de la Paz, Gto.), el cual presentó el menor número promedio de dientes por bulbo, con 10.2 (Figura 11). Finalmente, se confirmó que los cinco virus estuvieron presentes en el follaje de todos los Compuestos muestreados y analizados. Los virus detectados en orden de frecuencia fueron los potyvirus LYSV con 100, 100 y 100%, OYDV con un 92, 94 y 91%; seguido de los carlavirus GarCLV con un 89, 92 y 92% y SLV con un 28, 100 y 61%; finalmente, el tospovirus IYSV con 42, 36 y 42%, para la primera, segunda y tercera fechas de muestreo, respectivamente (Figura 12).

DISCUSIÓN

El sistema de propagación vegetativa del ajo mantiene de una generación a otra sistemas bióticos, especialmente lleva a la acumulación de virus en las plantas, induciendo su diseminación y causando pérdidas del rendimiento durante ciclos de cultivo sucesivos (Davis, 1995). Los resultados obtenidos en este trabajo, muestran que en los cultivos comerciales de ajo del estado de Guanajuato, México, se presentan infecciones complejas de virus, y coincide con otros autores en Brasil (Fajardo *et al.*, 2001), Argentina (Conci *et al.*, 2002) y en México (Pérez-Moreno *et al.*, 2006; 2008; Pérez *et al.*, 2007). En relación a los cinco virus estudiados, éstos están presentes en la mayoría de las plantas muestreadas, observando su presencia en el material genético de ajo de los tres ensayos incluidos en el estudio. Por otra parte, las plantas infectadas presentan sintomatologías similares tales como: enchinamiento, mosaico, deformación de hojas, amarillamiento y achaparramiento, lo cual no permite asociar una sintomatología específica con alguno de los virus en particular por la sola observación óptica y no se puede determinar con precisión que virus están presentes al estar frente al síntoma. Es decir, un solo virus o un complejo viral pueden ocasionar una sintomatología similar, aún cuando existan diferencias relacionadas con el estado fisiológico del cultivo, la relación virus-cultivar y la

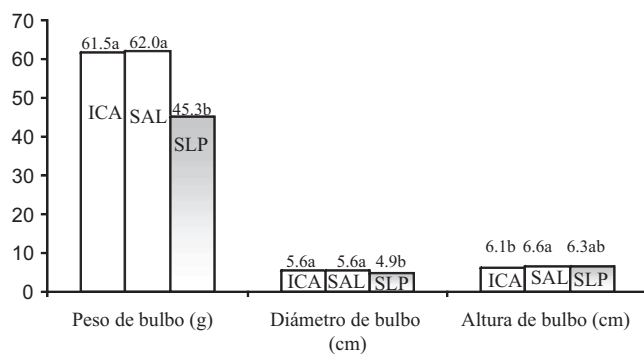


Figura 6. Peso, diámetro y altura de bulbo de ajo (*Allium sativum* L.) como promedio de 12 Compuestos en los Ensayos ICA, SAL y SLP, durante el ciclo Otoño-Invierno 2008-2009.

Figure 6. Weight, diameter and height of the garlic bulb (*Allium sativum* L.) as an average of 12 Compounds from ICA, SAL and SLP tests, during the Fall-Winter cycle 2008-2009.

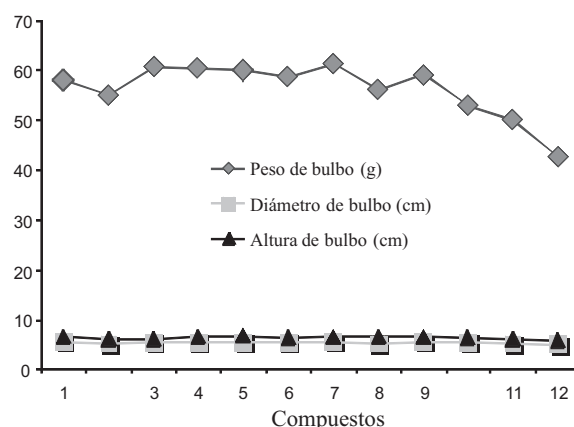


Figura 7. Peso, diámetro y altura de bulbo de ajo (*Allium sativum* L.) de 12 Compuestos, como promedio de tres ensayos, durante el ciclo Otoño-Invierno 2008-2009.

Figure 7. Weight, diameter and height of the garlic bulb (*Allium sativum* L.) of 12 Compounds as the average of three tests during the Fall-Winter cycle 2008-2009.

Compuesto No. 1: Ajo sano, varias regiones del Edo. de Gto.; Compuesto No. 2: El pato, pozo alto 1, Salamanca, Gto.; Compuesto No. 3: El pato, laurel 1, Salamanca, Gto.; Compuesto No. 4: El pato, bodegas, Salamanca, Gto.; Compuesto No. 5: Santa Teresa, Tabla 3, Salamanca, Gto.; Compuesto No. 6: Santa Teresa, Tabla 4, Salamanca, Gto.; Compuesto No. 7: Monte Cristo 2, San Miguel de Allende, Gto.; Compuesto No. 8: El ramillete, Tabla 1, San Luis de la Paz, Gto.; Compuesto No. 9: El ramillete, Tabla 2, San Luis de la Paz, Gto.; Compuesto No. 10: El ramillete, Tabla 3, San Luis de la Paz, Gto.; Compuesto No. 11: Ajo enfermo, varias regiones del Edo. de Gto.; Compuesto No. 12: Ajo enfermo, varias regiones del Edo. de Gto

(sick garlic, several regions in the state of Guanajuato), which revealed the lowest average yield of the bulb with 7,398.9 and 6,769.5 kg/ha, respectively (Figure 9). The number of cloves came up positive when the correlation with the variable of bulb yield was carried out, which implies that an increasing number of cloves per bulb will result in an increase of bulb yield (Table 1). Regarding the number of cloves per bulb, highly significant differences were observed for test factors and compounds, with a variation coefficient of 29%. Statistically, the highest number of cloves per bulb was held at the ICA test with 15.5a, followed by the SAL test with 14.1b, and finally the SLP test with 10.1c (Figure 10). Likewise, the compounds revealing a statistically higher average number of cloves per bulb of garlic were: Compound 6 (Santa Teresa, Tabla 4, Salamanca, Gto.), and Compound 2 (El Pato, Pozo Alto 1, Salamanca, Gto.), with 15.3 and 15.3, respectively; this is in comparison with Compound 8 (El Ramillete, Tabla 1, San Luis de la Paz, Gto.), which had the lowest average number of cloves per bulb, with 10.2 (Figure 11). Finally, it was confirmed that the five viruses were present in the leaves of all sampled and analyzed Compounds. The virus detected in order of frequency were the potyvirus LYSV with 100, 100

temperatura del ambiente (Figura 5). 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 qué atribuirlo aunque se presume la presencia de virus. Esa determinación es posible con el uso de técnicas inmunológicas como se hizo en el presente estudio o con el uso de técnicas moleculares como es el caso de la RT-PCR, y coincide con otros autores en Brasil (Fajardo *et al.*, 2001). 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, como resultado del rápido crecimiento de la planta en esa etapa. 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 meristemas. Asimismo, Conci *et al.* (2002) reportaron cambios en las concentraciones de LYSV en plantas de ajo en diferentes estadios 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 LYSV y OYDV fueron los más conspicuos en los diferentes materiales evaluados, con porcentajes de infección de 100 y 92.3%, respectivamente, esto concuerda con los porcentajes de potyvirus reportados por Alvarado-Rodríguez (1999), Pérez *et al.* (2007), quienes encontraron que 64 y 62% de las plantas muestreadas estaban infectadas por potyvirus, respectivamente; también, por Pérez *et al.* (2008), quienes encontraron que 96.5 y 84.4% de las plantas muestreadas estaban infectadas por los potyvirus LYSV y OYDV, respectivamente. Los porcentajes altos de incidencia y los niveles altos de severidad observados en este estudio, sugieren que la presencia del complejo viral incrementa la sintomatología de las plantas enfermas, dando lugar a un incremento en la enfermedad (Figura 5). Los resultados obtenidos también muestran que la presencia del complejo viral afectó negativamente las características de calidad, ya que una planta de ajo infectada por virus, se ve afectada en su peso y altura de bulbo. En los ensayos ICA y SAL, para las variables peso y diámetro de bulbo, no se observaron diferencias significativas (61.5a g, 5.6a cm y 62.0a g, 5.6a cm), respectivamente; sin embargo para el ensayo SLP, para peso y diámetro de bulbo, se observaron diferencias significativas (45.3b g y 4.9b cm), respectivamente (Figura 6). Se reportan resultados similares en otros estudios, como en los de Messiaen *et al.* (1981), para las siembras comerciales de Francia y por, Lunello *et al.* (1999), Cafrune *et al.* (2005), Perotto *et al.* (2005a), Perotto *et al.* (2005b) para las siembras comerciales de Argentina, Pérez *et al.* (2008), para las siembras comerciales de México. Muchos productores de ajo seleccionan los bulbillos más grandes para la siembra con lo cual obtienen bulbos más grandes; el tamaño de diente de una determinada planta es afectado por su posición en el bulbo, por las condiciones ambientales, la fertilidad del suelo y por el daño de otros factores bióticos.

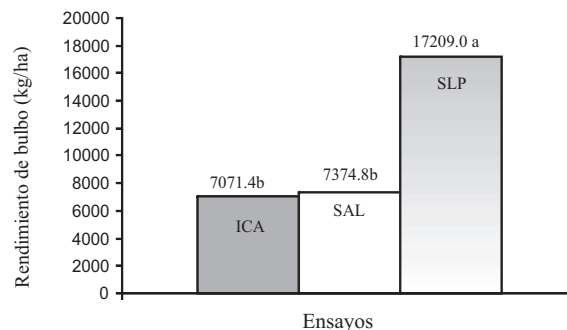


Figura 8. Rendimiento de bulbo de ajo (*Allium sativum* L.) (kg/ha) como promedio de 12 Compuestos en los Ensayos ICA, SAL y SLP, durante el ciclo Otoño-Invierno 2008-2009.

Figure 8. Garlic bulb yield (*Allium sativum* L.) (Kg/ha) as an average of 12 Compounds from the ICA, SAL and SLP tests, during the Fall-Winter cycle 2008-2009.

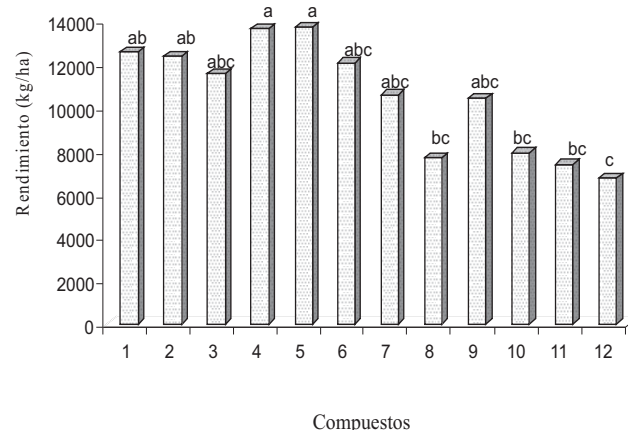


Figura 9. Rendimiento de bulbo de ajo (*Allium sativum* L.) (kg/ha) de 12 Compuestos, como promedio de tres ensayos, durante el ciclo Otoño-Invierno 2008-2009.

Figure 9. Garlic bulb yield (*Allium sativum* L.) (Kg/ha) of 12 Compounds, as an average of three tests during the Fall-Winter cycle 2008-2009.

Compuesto No. 1: Ajo sano, varias regiones del Edo. de Gto.;
 Compuesto No. 2: El pato, pozo alto 1, Salamanca, Gto.;
 Compuesto No. 3: El pato, laurel 1, Salamanca, Gto.;
 Compuesto No. 4: El pato, bodegas, Salamanca, Gto.;
 Compuesto No. 5: Santa Teresa, Tabla 3, Salamanca, Gto.;
 Compuesto No. 6: Santa Teresa, Tabla 4, Salamanca, Gto.;
 Compuesto No. 7: Monte Cristo 2, San Miguel de Allende, Gto.;
 Compuesto No. 8: El ramillete, Tabla 1, San Luis de la Paz, Gto.;
 Compuesto No. 9: El ramillete, Tabla 2, San Luis de la Paz, Gto.;
 Compuesto No. 10: El ramillete, Tabla 3, San Luis de la Paz, Gto.;
 Compuesto No. 11: Ajo enfermo, varias regiones del Edo. de Gto.;
 Compuesto No. 12: Ajo enfermo, varias regiones del Edo. de Gto.

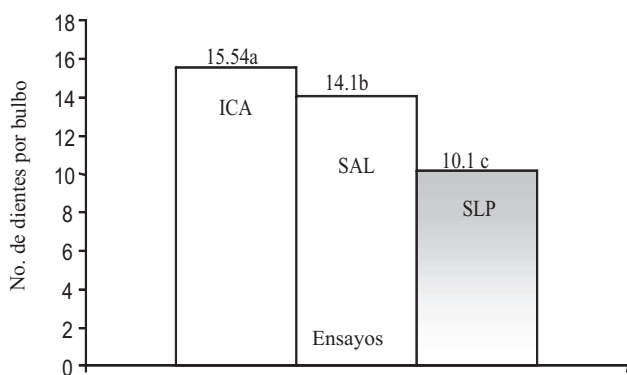


Figura 10. Número de dientes por bulbo de ajo (*Allium sativum* L.) como promedio de 12 Compuestos de los Ensayos ICA, SAL y SLP, durante el ciclo Otoño-Invierno 2008-2009. *Figure 10. Number of cloves per garlic bulb (*Allium sativum* L.) as an average of 12 Compounds and the ICA, SAL and SLP tests, during the Fall-Winter cycle 2008-2009.*

La selección de bulbos más grandes y por lo tanto bulbillos más grandes dentro de un campo comercial de ajo dirige indirectamente a la selección de plantas en las cuales la concentración de los virus es reducida (Figura 5A, B, C, D). Esta práctica se traduce en un incremento en el costo de la semilla de ajo y por ende en los costos de producción. La eliminación de la mayor parte de las plantas que contienen alta concentración de los virus se traduce en incrementos en el rendimiento del ciclo de cultivo siguiente, debido principalmente a un incremento de más del 50% del tamaño de los bulbos y de los bulbillos, debido a un daño menor y un incremento en vigor de las plantas libres de virus (Figuras 8 y 9) (Walkey y Antill, 1989; Walkey, 1990; Oh *et al.*, 1994; Verbeek *et al.*, 1995; Lot *et al.*, 1998; Ramírez *et al.*, 2006; Pérez *et al.*, 2008). La disminución en diámetro, altura, y peso de bulbo en las plantas con síntomas de virosis demuestra el efecto de los virus, sobre el rendimiento y calidad, estos resultados son similares a los reportados por otros autores (Walkey y Antill, 1989; Conci, 1997; Canavelli *et al.*, 1998; Lot *et al.*, 1998; Pérez *et al.*, 2008). Las ventajas de usar semilla de ajo sana en comparación con el uso de semilla infectada por virus se evidencian con las importantes diferencias en peso promedio de bulbo, rendimiento y número de dientes por bulbo (Figuras 7, 9 y 11). La calidad expresada en términos de peso y diámetro promedio de bulbo y número de bulbillos por bulbo, así como el rendimiento de los materiales de ajo sanos (asintomáticos) fueron más altos (Figuras 7, 9 y 11). El efecto de los virus sobre las plantas induce bajos rendimientos, lo que se traduce en pérdidas para el productor, ya que actúan en los tejidos de las plantas afectando las hojas mediante la producción de: mosaico, enrollamiento de hojas, amarillamiento, enanismo, franjas amarillas en hojas, reducción en altura y número de hojas de

and 100%; the OYDV with a 92, 94 and 91%; the carlavirus GarCLV with an 89, 92 and 92%; the SLV with a 28, 100 and 61%; finally, the tospovirus IYSV with 42, 36 and 42%, for the first, second and third sampling dates, respectively (Figure 12).

DISCUSSION

The system maintains vegetative propagation of garlic from one generation to other biotic systems; it specially leads to the accumulation of plant viruses, inducing its spreading, causing loss of performance during successive growing seasons (Davis, 1995). It is revealed by the results of the study hereby that in commercial crops of garlic in the state of Guanajuato, Mexico, are complex virus infections, which is consistent with other authors in Brazil (Fajardo *et al.*, 2001), Argentina (Conci *et al.*, 2002) and México (Pérez-Moreno *et al.*, 2006; 2008; Pérez *et al.*, 2007). Concerning the five viruses under evaluation, they are present in most of the sampled plants, having their presence revealed in the genetic material of garlic from the three trials included in the study hereby. Moreover, similar symptoms are revealed by the infected plants, such as curl, mosaic, leaf deformation, yellowing and stunting, which does not permit to have specific symptoms associated with any of the particular virus just by means of an

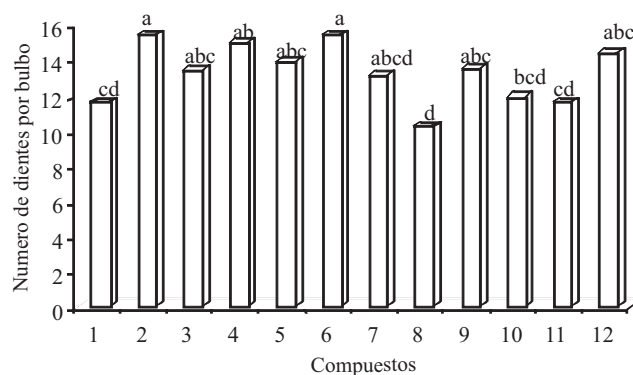


Figura 11. Número de dientes por bulbo de ajo (*Allium sativum* L.) de 12 Compuestos, como promedio de tres ensayos, durante el ciclo Otoño-Invierno 2008-2009. *Figure 11. Number of cloves per garlic bulb (*Allium sativum* L.) of 12 Compounds, as an average of three tests during the Fall-Winter cycle 2008-2009.*

Figura 11. Número de dientes por bulbo de ajo (*Allium sativum* L.) de 12 Compuestos, como promedio de tres ensayos, durante el ciclo Otoño-Invierno 2008-2009. *Figure 11. Number of cloves per garlic bulb (*Allium sativum* L.) of 12 Compounds, as an average of three tests during the Fall-Winter cycle 2008-2009.*

Compuesto No. 1: Ajo sano, varias regiones del Edo. de Gto.; Compuesto No. 2: El pato, pozo alto 1, Salamanca, Gto.; Compuesto No. 3: El pato, laurel 1, Salamanca, Gto.; Compuesto No. 4: El pato, bodegas, Salamanca, Gto.; Compuesto No. 5: Santa Teresa, Tabla 3, Salamanca, Gto.; Compuesto No. 6: Santa Teresa, Tabla 4, Salamanca, Gto.; Compuesto No. 7: Monte Cristo 2, San Miguel de Allende, Gto.; Compuesto No. 8: El ramillete, Tabla 1, San Luis de la Paz, Gto.; Compuesto No. 9: El ramillete, Tabla 2, San Luis de la Paz, Gto.; Compuesto No. 10: El ramillete, Tabla 3, San Luis de la Paz, Gto.; Compuesto No. 11: Ajo enfermo, varias regiones del Edo. de Gto.; Compuesto No. 12: Ajo enfermo, varias regiones del Edo. de Gto.

las plantas de ajo (Figuras 8 y 9). Por otra parte, los compuestos de ajo que presentaron los mayores rendimientos de bulbo y mejores características agronómicas fueron: el Compuesto 5 (Santa Teresa, Tabla 3, Salamanca, Gto.), el Compuesto 4 (El Pato, Bodegas, Salamanca, Gto.), el Compuesto 10 (El Ramillete, Tabla 3, San Luis de la Paz, Gto.), y el Compuesto 7 (Monte Cristo 2, San Miguel de Allende, Gto.), evidenciándose menores rendimientos en las plantas enfermas (Figura 9), esto puede ser debido a la época en que se realizó cada muestreo, al origen de la semilla botánica del cultivar sembrado por los diferentes productores, a la región del estado de Guanajuato donde se siembra el ajo o a la concentración que de estos virus están teniendo las plantas; se observa que un bulbo enfermo es afectado en su altura, diámetro, peso y en el número de bulbillos, lo que lo lleva a obtener una calidad deficiente (Figuras 7 y 11). Con base en los resultados encontrados es conveniente 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 diseminación, rango de hospedantes, transmisión por semilla, prácticas de cultivo, y conocer su efecto en el rendimiento, para poder establecer las medidas de control que sean necesarias.

CONCLUSIONES

Los cinco virus estudiados pueden reducir el rendimiento y el peso promedio de bulbo, hasta en un 50 y 30%, respectivamente. Los compuestos de ajo que presentaron el mayor rendimiento y peso promedio de bulbo fueron: el Compuesto 5 (Santa Teresa, Tabla 3, Salamanca, Gto.) y el Compuesto 4 (El Pato, Bodegas, Salamanca, Gto.), con 13.6 ton/ha y 60.0 g/bulbo, respectivamente.

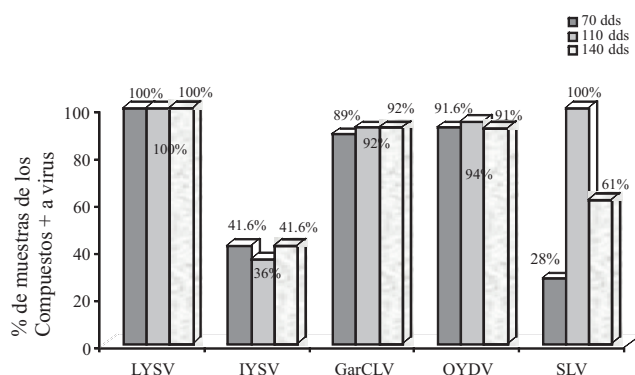


Figura 12. Porcentaje de muestras de follaje de ajo (*Allium sativum* L.) como promedio de 12 Compuestos y de los ensayos ICA, SAL y SLP, positivas (+) a los virus LYSV, IYSV, GarCLV, OYDV y SLV, en tres fechas de evaluación, durante el ciclo Otoño-Invierno 2008-2009.

Figure 12. Sampling percentage of garlic foliage (*Allium sativum* L.) as an average of 12 Compounds and the ICA, SAL and SLP tests, which came out positive (+) to the LYSV, IYSV, GarCLV, OYDV and SLV virus tests, in three evaluation dates, during the Fall-Winter cycle 2008-2009.

optical observation, and it cannot be determined exactly what viruses are present when facing symptoms. This means that a single virus or complex virus can cause similar symptoms, although there are differences related to the physiological state of the cultivation, the virus-crop relation and environmental temperature (Figure 5). Nevertheless, it has been reported by Peña-Iglesias and Ayuso (1982), which viral symptoms are often not even visible and a reduction in the size of the bulb is noticed by many farmers, but they do not know what the problem is, even though the presence of the virus is presumed. This determination is possible with the use of immunological techniques, such as RT-PCR, being consistent with other authors in Brazil (Fajardo *et al.*, 2001). Generally, the percentages of positive samples were higher in the first and third sample and lower in the second. This does not mean that the virus has actually disappeared from the plants in the second sampling, but it has probably reduced the viral titer as a result of the rapid growth of the plant at that stage. Similar results have been reported by Koch and Salomón (1994), who observed changes in the OYDV concentrations over time by analyzing plants grown from meristems. Also, changes in the LYSV concentrations in garlic plants at different crop stages have been reported by Conci *et al.* (2002). Thus, the important of limiting viral reading at different times to get reliable results and reduce the ability to diagnose diseased or importance plants has been demonstrated. It has been revealed by the study hereby that the potyvirus LYSV and OYDV were the most conspicuous in the different evaluated materials, with infection rates of 100 and 92.3%, respectively. This is consistent with the potyvirus percentages reported by Alvarado-Rodríguez (1999), and by Pérez *et al.* (2007), who discovered that 64 and 62% of the sample plants infected by potyvirus, respectively, and by Pérez *et al.* (2008), who discovered that 96.5 and 84.4% of the sample plants were infected by the potyvirus LYSV and OYDV, respectively. It is suggested by the high rates of incidence and high severity levels observed in the present study that the symptomatology of the diseased plants becomes increased by presence of viral complex, resulting in an increase of the disease (Figure 5). It is also revealed by these results that the quality characteristics are negatively affected by the presence of viral complex, since a garlic plant infected by viruses is affected in weight and height of the bulb. No significant differences were revealed neither in the ICA nor the SAL tests for the variable of weight and diameter of the bulb (61.5a g, 5.6a cm and 62.0a g, 5.6a cm), respectively; nevertheless, for the SLP test significant differences were revealed by the variables of weight and diameter of the bulb (45.3b g and 4.9b cm), respectively (Figure 6). Similar results have been reported in other studies, as those of Messiaen *et al.* (1981), for commercial planting in France, and by Lunello *et al.* (1999), Cafrune *et al.* (2005), Perotto *et al.* (2005a), Perotto *et al.* (2005b), for commercial planting in Argentina, as well as by Pérez *et al.*, (2008) for commercial planting in Mexico. The largest bulbs are selected by many garlic producers for planting in order to get bigger bulbs, thus; the tooth size of a particular plant is affected by its position in the bulb, environmental conditions,

La incidencia de los cinco virus estudiados en las tres fechas de muestreo fue: los *potyvirus* LYSV con 100, 100 y 100%, OYDV con un 92, 94 y 91%; los *carlavirus* GarCLV con un 89, 92 y 92%; SLV con un 28, 100 y 61%; finalmente, el *tospovirus* IYSV con 42, 36 y 42%.

Agradecimientos. Se agradece el financiamiento parcial para la realización del proyecto, a la Dirección de Investigación y Posgrado (DINPO), ahora Dirección de Apoyo a la Investigación y Posgrado (DAIP) de la Universidad de Guanajuato, dentro de la Convocatoria 2008 para Apoyo a la Investigación, por el financiamiento parcial para la realización de este proyecto de investigación. y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), dentro de la Convocatoria 2008 para investigadores del SNI-1, el financiamiento parcial para la realización de este proyecto de investigación (000000000090825).

LITERATURACITADA

- Alvarado-Rodríguez, M. 1999. Obtención de plantas de *Allium sativum* libres de patógenos. IV Simposio Internacional; V Reunión Nacional sobre Agricultura Sostenible. Fundación Michoacán Produce. Morelia, Michoacán, México. 220 p.
- Cafrune, E. E., Perotto, M. C. y Conci, V. C. 2005. Efecto de dos Alexivirus en el rendimiento de ajo. En: Resúmenes del XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología y III Taller de la Asociación Argentina de Fitopatología. Villa Carlos Paz, Córdoba, Argentina. p. 561.
- Cafrune, E. E., Perotto, M. C. y Conci, V. C. 2006. Effect of two Alexivirus isolates on garlic yield. *Plant Disease* 90: 898-904.
- Cadilhac, B., Quiot, J. B., Marrou, J. et Leroux, J. P. 1976. Mise en evidence au microscope electronique de deux virus differents infectants l'ail (*Allium sativum* L.) et l'echalote (*Allium cepa* L. var. *ascalonicum*). *Annals de Phytopathologie* 8:65-72.
- Canavelli, A., None, S. and Conci, V. C. 1998. Incidencia de las virosis en el cultivo de ajo Rosado Paraguay. *Fitopatologia Brasileira* 23:354-358.
- 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. 1997. Virus y fitoplasmas de ajo. pp. 267-291. In: J.L. Burba (ed.). 50 Temas Sobre Producción de Ajo. Vol. 3. EEA-INTA La Consulta, Mendoza, Argentina. 311 p.
- 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 Friás, T. G. A. 1997. Guía ilustrada de la prueba de inmunoabsorción 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.

soil fertility and by the damage of some other biotic factors. The selection of the largest bulbs and consequently larger bulbs in a commercial garlic field leads indirectly to the selection of plants in which the concentration of virus is reduced (Figure 5A, B, C, D). Such practice derives in an increase in the cost of garlic seed and hence in production cost. The elimination of most of the plants containing a high virus concentration results in yield increases for the following crop cycle, mainly due to an over 50% increase of bulbs and bulbils size because of a minor damage and an increase in force of the virus-free plants (Figures 8 and 9) (Walkey and Antill, 1989; Walkey, 1990; Oh *et al.*, 1994; Verbeek *et al.*, 1995; Lot *et al.*, 1998; Ramírez *et al.*, 2006; Pérez *et al.*, 2008). The effect of the virus is revealed by a decrease in diameter, height and weight of the bulb in the plants with virus symptoms, showing the effect of viruses on both yield and quality; these results are consistent with those reported by some other authors (Walkey and Antill, 1989; Conci, 1997; Canavelli *et al.*, 1998; Lot *et al.*, 1998; Pérez *et al.*, 2008). The advantages of using healthy garlic seed compared with the use of virus-infected seeds turn evident because of the significant differences in average bulb weight, yield and number of cloves per bulb (Figures 7, 9 and 11). The quality expressed in terms of weight and average diameter of the bulb and number of bulblets per bulb, as well as yield of healthy garlic materials (asymptomatic) were higher (Figures 7, 9 and 11). Low yields are induced by the effect of viruses on plants, resulting in losses for the producer in the tissues of the plants affected by leaf production: mosaic, leaf curl, yellowing, stunting, yellow stripes on leaves, height reduction and leaves number of garlic plants (Figures 8 and 9). Additionally, the highest bulb yields and improved agronomic characteristics were revealed by the following garlic compounds: Compound 5 (Santa Teresa, Tabla 3, Salamanca, Gto.), Compound 4 (El Pato, Bodegas, Salamanca, Gto.), Compound 10 (El Ramillete, Tabla 3, San Luis de la Paz, Gto.), and Compound 7 (Monte Cristo 2, San Miguel de Allende, Gto.). Showing lower yields in the diseased plants (Figure 9), which may be due to the time when each sampling was performed, to the origin of the cultivar botanic seed planted by the different producers, to the Guanajuato state region where garlic is planted or to the concentration of such viruses revealed in plants; it is observed that a bulb carrying out the disease is affected in its height, diameter, weight and in the number of bulbils, which can only take it to get a rather poor quality (Figures 7 and 11). Based on these final results, it is convenient to become aware of some of the aspects concerning the symptomatology and epidemiology of viruses in garlic production areas of the state and the country, such as distribution, manner of spread, host range, seed transmission, farming practices, as well as determining their effect on yield, looking forward to establish the necessary control measures

CONCLUSIONS

Yield and average weight of the bulb can be reduced by the five viruses under evaluation up to 50 and 30%. The garlic compounds revealing the highest yield and bulb weight were: Compound 5 (Santa Teresa, Tabla 3, Salamanca, Gto.) and

- Davis, R. M. 1995. Diseases caused by virus and mycoplasma-like organisms. pp. 40-42. In: H.F. Schwartz and S. K. Mohan (eds.). Compendium of Onion and Garlic Diseases. APS Press. St. Paul. Mn, USA. 54 p.
- Delecote, B. et Lot, H. 1981. Viroses de l'ail: 1.- Mise en évidence et essais de caractérisation par immunoelectromicroscopie d'un complexe de trois virus chez différents populations d'ail atteintes de mosaïque. *Agronomie* 1:763-770.
- Dovas, C., Hatziloukas, E., Salomon, R., Barg, E., Shibolet, Y. M. and Katis, N. 2001. Incidence of viruses infecting *Allium* spp. in Greece. *European Journal of Plant Pathology* 107:677-684.
- 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* 26:619-626.
- Havranek, P. 1974. The effect of virus disease on the yield of common garlic. *Ochrana Rostlin* 8:291-298.
- Koch, M. and Salomon, R. 1994. Serological detection of *Onion yellow dwarf virus* in garlic. *Plant Disease* 78:785-788.
- Lot, H., Chevelon, V., Souche, S. and Dellecolle, B. 1998. Effects of *Onion yellow dwarf virus* and *Leek yellow stripe virus* on symptomatology and yield loss of three French garlic cultivars. *Plant Disease* 82:1381-1385.
- 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. p. 226.
- Messiaen, C. M., Youcef-Benkada, M., and Beyries, A. 1981. Rendement potentiel et tolerance aux virus chez l'ail (*Allium sativum* L.). *Agronomie* 1:759-762.
- Oh, D. G., Suh, H. D., Kim, K. T. and Lee, J. W. 1994. Field performance of meristem-tip-culture derived seed garlic. *Acta Horticulturae* 358:281-284.
- 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. *Resúmenes del IX Congreso Latinoamericano de Fitopatología*. Montevideo, Uruguay. p. 198.
- Pérez, M. L. y Rico, J. E. 2004. Identificación de virus fitopatógenos en cultivos hortícolas de importancia económica en el estado de Guanajuato, México. *Editorial de la Universidad de Guanajuato*. Primera Edición. Guanajuato, Guanajuato, México. 143 p.
- Pérez-Moreno, L., Córdova-Rosales, Z. V., Barboza-Corona, E., Ramírez-Malagón, R., Ruiz-Castro, S. and Silva-Rosales, L. 2006. First report of *Leek yellow stripe virus* in garlic in the State of Guanajuato, Mexico. *Plant Disease* 90:1458.
- Pérez, M. L., Córdova, R. Z. V., Rico, J. E., Ramírez, M. R., Barboza, C. E., Zúñiga, Z. J., Ruiz, C. S. y Silva, R. L. Compound 4 (El Pato, Bodegas, Salamanca, Gto.), with 13.6 ton/ha and 60.0 g/bulb, respectively. The incidence of the five under evaluation in the three sampling dates was: *potyvirus* LYSV with 100, 100 and 100%; OYDV with a 92, 94 and 91%; *carlavirus* GarCLV with an 89, 92 and 92%; SLV with a 28, 100 and 61%; finally, *tosspovirus* IYSV with 42, 36 and 42%.
- Acknowledgements.** We acknowledge the partial funding for the Project to the Dirección de Investigación y Posgrado (DINPO), now Dirección de Apoyo a la Investigación y Posgrado (DAIP) at the University of Guanajuato, in the 2008 call for Research Support, to the partial funding for the performance of this research Project and to the National Council of Science and Technology (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología: CONACYT), under the 2008 call for researchers SNI-1, the partial funding for the performance of this research project (000000000090825).
2007. Identificación de virus fitopatógenos en ajo (*Allium sativum* L.), en el estado de Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 25:11-17.
- Pérez-Moreno, L., Santiago-Gómez, D., Rico-Jaramillo, E., Ramírez-Malagón, R. y Mendoza-Celedón, B. 2008. Efecto de virus sobre características agronómicas y calidad del ajo (*Allium sativum* L.), en el estado de Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 26:40-48.
- Perotto, M. C., Cafrune, E. E., Avila, G. Y., and Conci, V. C. 2005a. Efecto de virus de ajo sobre componentes de rendimiento y calidad. *Resúmenes del XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología y III Taller de la Asociación Argentina de Fitopatología*. Villa Carlos Paz, Córdoba, Argentina. p. 571.
- Perotto, M. C., Quiroga, M. P., Torrico, A. K., Cafrune, E. E., Quevedo, V. Y., and Conci, V. C. 2005b. Resultados preliminares sobre caracterización de un Allexivirus detectado en ajo y efectos en los rendimientos. *Resúmenes del XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología y III Taller de la Asociación Argentina de Fitopatología*. Villa Carlos Paz, Córdoba, Argentina. p. 572.
- Ramírez, M. R., Borodanenko, A., Pérez, M. L. and Salinas, J. G. 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.
- Verbeek, M., Van Dijk, P. M. and Van Well, A. 1995. Efficiency of eradication of four viruses from garlic (*Allium sativum*) by meristem tip culture. *European Journal of Plant Pathology* 101:231-239.
- Walkey, D. G. A. 1990. Virus Diseases. pp. 191-212. In: H.D. Rabinowitch and J.L. Brewster (eds.). *Onion and Allied Crops*. Vol II. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA. 320 p.
- Walkey, D. G. A. and Antill, D. N. 1989. Agronomic evaluation of virus-free and virus-infected garlic (*Allium sativum* L.). *Journal of Horticultural Science* 64:53-60.