

Presencia de Virus en el Cultivo de Ajo (*Allium sativum* L.) en Zacatecas, México

*Virus Presence in the Cultivation of Garlic (*Allium sativum* L.) in Zacatecas, México*

Rodolfo Velásquez-Valle, INIFAP, Campo Experimental Zacatecas, Apdo. Postal 18. Km. 20.5 Carr. Zacatecas – Fresnillo, Calera de V. R., Zacatecas, México. CP 98500; **Yasmín Ileana Chew-Madinaveitia**, INIFAP, Campo Experimental La Laguna, Apdo. Postal # 1. Blvd. José Santos Valdez No. 1200, Col. Mariano Matamoros, Matamoros, Coahuila, México. CP 27440; **Mario Domingo Amador-Ramírez** y **Manuel Reveles-Hernández**, INIFAP, Campo Experimental Zacatecas, Apdo. Postal 18. Km. 20.5 Carr. Zacatecas – Fresnillo, Calera de V. R., Zacatecas, México. CP 98500. Correspondencia: fitovalle58@yahoo.com.mx

(Recibido: Diciembre 01, 2009 Aceptado: Octubre 15, 2010)

Velásquez-Valle, R., Chew-Madinaveitia, Y.I., Amador-Ramírez, M.D. y Reveles-Hernández, M. 2010. Presencia de Virus en el Cultivo de Ajo (*Allium sativum* L.) en Zacatecas, México. Revista Mexicana de Fitopatología 28:135-143.

Velásquez-Valle, R., Chew-Madinaveitia, Y.I., Amador-Ramírez, M.D. and Reveles-Hernández, M. 2010. Virus Presence in the Cultivation of Garlic (*Allium sativum* L.) in Zacatecas, México. Revista Mexicana de Fitopatología 28:135-143.

Resumen. El cultivo del ajo en Zacatecas, México se enfrenta a diversas enfermedades como las provocadas por virus. Acerca de este tipo de enfermedades existe poca información en el estado, consecuentemente, el objetivo del trabajo consistió en identificar los virus presentes en las parcelas comerciales o experimentales de ajo en Zacatecas. Durante los ciclos 2007–2008 y 2008–2009 se identificaron el *Onion yellow dwarf virus* (OYDV, virus del enanismo amarillo de la cebolla), *Garlic common latent virus* (GarCLV, virus latente común del ajo), *Shallot latent virus* (SLV, virus latente del shallot), *Leek yellow stripe virus* (LYSV, virus del rayado amarillo del puerro) y *Tobacco etch virus* (TEV, virus del jaspeado del tabaco) en diferentes variedades de ajo que se desarrollaban en parcelas comerciales y experimentales en los principales municipios productores de ajo del estado. La incidencia de esos virus en las muestras analizadas varió de 25.4 a 100% (OYDV); 9.8 a 54.7% (LYSV); 25.4 a 18.2% (TEV) y de 9.8 a 100% (GarCLV) en los ciclos de cultivo 2007–2008 y 2008–2009 respectivamente. La incidencia de SLV (8.6%) se registró solamente en el ciclo 2008–2009. En plantas de ajo aparentemente sanas también se identificaron los virus ya mencionados a excepción de TEV.

Abstract. Garlic cultivation in Zacatecas, Mexico faces a number of diseases including those caused by viruses. A lack of information about these diseases prevails in the state; consequently, the present study is aimed to identify the virus present in commercial or experimental plots of garlic, in Zacatecas. The *Onion yellow dwarf virus* (OYDV), the *Garlic common latent virus* (GarCLV), the *Shallot latent virus* (SLV), the *Leek yellow stripe virus* (LYSV) and the *Tobacco etch virus* (TEV) were identified during the 2007-2008 and 2008-2009 growing seasons in different garlic varieties that were developed in experimental and commercial plots in the main garlic producing municipalities statewide. The incidence of these viruses in the samples ranged from 25.4 to 100% (OYDV); 9.8 to 54.7% (LYSV); 25.4 to 18.2% (TEV) and from 9.8 to 100% (GarCLV) in the 2007–2008 and 2008–2009 growing seasons, respectively. The SLV incidence (8.6%) was observed only in the 2008–2009 cycle. The viruses previously mentioned were also identified in apparently healthy garlic plants, except for TEV.

Palabras clave adicionales: Potyvirus, Carlavirus, síntomas, variedades, incidencia.

Additional Keywords: Potyvirus, Carlavirus, symptoms, varieties, incidence.

INTRODUCCION

El cultivo del ajo en Zacatecas representa la principal opción

INTRODUCTION

Garlic cultivation in Zacatecas is the main labor source in rural areas in winter. It has been reported that during the 2005-2006 cycle, a total of 2,170 hectares of this crop were

de trabajo en el medio rural durante el invierno; se reporta que durante el ciclo 2005 – 2006 se establecieron 2, 170 hectáreas con esta hortaliza en el estado, las cuales generaron más de 200, 000 jornales (Mena, 2006). Los principales problemas fitopatológicos a los que se enfrenta el ajo en la región están representados por enfermedades del bulbo y la raíz como las causadas por *Sclerotium cepivorum* Berk., *Penicillium* spp. y *Fusarium* spp. (Velásquez y Medina, 2004). La información publicada acerca de la ocurrencia de enfermedades provocadas por virus en el cultivo de ajo en Zacatecas es reducida (Velásquez *et al.*, 2007). La presencia de virus en otras regiones productoras de ajo en el mundo como Argentina, Australia, Brasil y Francia, entre otros, ha sido mencionada por diferentes autores (Conci *et al.*, 2003; Fajardo *et al.*, 2001; Lot *et al.*, 1998; Sward y Brennan, 1994). Globalmente los principales virus detectados afectando plantas de ajo son los Potyvirus *Onion yellow dwarf virus* y *Leek yellow stripe virus* mientras que entre los Carlavirus se ha mencionado al *Shallot latent virus* y al *Garlic common latent virus* (Koch y Salomon, 1994; Takaichi *et al.*, 2001; Fajardo *et al.*, 2001). En México se ha descrito la incidencia y efecto de las enfermedades provocadas por virus en las parcelas comerciales y experimentales de ajo en el estado de Guanajuato (Pérez-Moreno *et al.*, 2007; Pérez-Moreno *et al.*, 2008). Otros potyvirus como el virus del mosaico del pepino (*Cucumber mosaic virus*) y el virus del mosaico del tabaco (*Tobacco mosaic virus*) que son comunes a hortalizas como pepino (*Cucumis sativus* L.) o chile (*Capsicum annum* L.) también han sido reportados afectando al cultivo de ajo (Pérez y Rico, 2004). Reportes sobre enfermedades virales en el cultivo de ajo en Zacatecas han sido escasos debido a la reducida importancia que se les concede, sin embargo, algunos estudios (Koch y Salomon, 1994; Lunello *et al.*, 1999) señalan que el efecto de la infección viral se refleja en menor emergencia, altura de la planta y número de hojas por lo que las pérdidas que sufren las plantas de ajo infectadas solamente con virus que causan mosaicos pueden ser superiores a 25%, aunque otros estudios señalan que el virus del enanismo amarillo de la cebolla causó pérdidas de peso en bulbos de ajo que variaban desde 39 hasta 60% en cultivares franceses como Germidour (Lot *et al.*, 1998). Los productores de ajo de Zacatecas han observado reducciones en el rendimiento de las principales variedades cultivadas en la región que han sido arbitrariamente atribuidas al efecto de infecciones virales; un efecto similar había sido reportado en plantas de ajo infectadas con *Garlic mosaic virus* y *Garlic latent virus* por Tsuneyoshi y Sumi (1996) en Japón, por lo que el objetivo del presente trabajo consistió en identificar los virus presentes en las variedades comerciales y experimentales de ajo en Zacatecas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron recorridos en parcelas comerciales y experimentales localizadas en la zona productora de ajo en el centro y sur de Zacatecas durante los ciclos de cultivo 2007 – 2008 y 2008–2009 para coleccionar plantas de ajo con sintomatología asociada con la presencia de virus como amarillamientos, enanismo y deformaciones. Durante el ciclo

establecido en el estado, generando over 200,000 wages, thus (Mena, 2006). The main plant disease problems faced by garlic in the region are represented by diseases of bulb and root as those presented by *Sclerotium cepivorum* Berk., *Penicillium* spp. and *Fusarium* spp. (Velásquez and Medina, 2004). The information published about the occurrence of diseases caused by viruses in garlic growing regions worldwide, such as Argentina, Australia, Brazil and France, among others, has been mentioned by several authors (Conci *et al.*, 2003; Fajardo *et al.*, 2001; Lot *et al.*, 1998; Sward and Brennan, 1994). Globally, the main viruses detected affecting garlic plants are the OYDV and LYSV Potyvirus; whereas among Carlavirus, the SLV and the GarCLV have been mentioned (Koch and Salomon, 1994; Takaichi *et al.*, 2001; Fajardo *et al.*, 2001). The incidence and impact of diseases caused by viruses in commercial and experimental plots of garlic has been described in Mexico, in the state of Guanajuato (Pérez-Moreno *et al.*, 2007; Pérez-Moreno *et al.*, 2008). Other Potyviruses, such as the *Cucumber mosaic virus* and the *Tobacco mosaic virus*, which are common to vegetables such as cucumber (*Cucumis sativus* L.) or chile (*Capsicum annum* L.), have also been reported to affect garlic culture (Pérez and Rico, 2004). Reports on viral diseases in the cultivation of garlic in the state of Zacatecas have been scarce due to the reduced importance given to them. However, it has been indicated by some studies (Koch and Salomon, 1994; Lunello *et al.*, 1999) that the effect of infection reflected in lower viral emergence, plant height and number of leaves. Therefore, the losses suffered by garlic plants infected only with viruses that cause mosaics can be above 25%, although it has been indicated as well by other studies that the weight loss of garlic bulbs was caused by OYDV, ranging from 39 to 60% in French cultivars such as Germidour (Lot *et al.*, 1998). Yield reductions in the main garlic varieties grown in the region were observed by the garlic producers in Zacatecas, which have been attributed to the effect of viral infections; a similar effect had been reported in garlic plants infected with the *Garlic mosaic virus* and *Garlic latent virus* by Tsuneyoshi and Sumi (1996) in Japan, so that the objective of the study hereby was to identify the virus present in garlic commercial and experimental varieties in Zacatecas.

MATERIALS AND METHODS

Tours were conducted in both commercial and experimental plots located in the central and southern garlic producing areas of Zacatecas during the 2007-2008 and 2008-2009 growing seasons to collect garlic plants with symptoms associated with the presence of viruses, such as yellowing, dwarfism and deformities. Samples were collected from plants of different varieties of garlic during the 2007-2008 growing season in commercial and experimental plots located in the municipalities of Guadalupe, Morelos and Villa de Cos; whereas in the 2008-2009 growing season, samples of both types were collected in the municipalities of Morelos, Ojocaliente, Sain Alto and Villa de Cos. A variable number of samples were collected within each visited plot, having the symptoms observed in each collected sample

de cultivo 2007–2008 se colectaron muestras de plantas de diferentes variedades de ajo en parcelas comerciales y experimentales localizadas en los municipios de Guadalupe, Morelos y Villa de Cos; mientras que en la temporada de cultivo 2008–2009 se colectaron muestras de ambos tipos de parcelas ubicadas en los municipios de Morelos, Ojocaliente, Sain Alto y Villa de Cos. Dentro de cada parcela visitada se colectó un número variable de muestras registrándose la sintomatología observada en cada muestra colectada; además se obtuvo una muestra de una planta sin síntomas aparentes de infección viral. Las muestras colectadas (principalmente hojas, aunque ocasionalmente se incluyeron muestras de escape o tallo floral de la planta) se trasladaron al laboratorio de Fitopatología del Campo Experimental La Laguna (INIFAP) en Matamoros, Coahuila, México, donde se sometieron a pruebas para detección de virus empleando la técnica de inmunoabsorción enzimática denominada sándwich de doble anticuerpo (DAS–ELISA), la cual ha sido consistentemente empleada en este tipo de estudios (Pérez-Moreno *et al.*, 2008). Se utilizaron los anticuerpos para las proteínas de cubierta del virus del enanismo amarillo de la cebolla (OYDV), virus del rayado amarillo del puerro (LYSV), virus latente del shallot (SLV), virus latente común del ajo (GarCLV) y virus jaspeado del tabaco (TEV). Las plantas de ajo colectadas durante el ciclo de cultivo 2007–2008 no se sometieron a la prueba de detección de SLV ya que no se dispuso de los reactivos necesarios para llevar a cabo la prueba. La lectura de absorbancia se realizó en un espectrofotómetro Plate-Reader Mca. DAS Mod. A 1 a una longitud de onda de 405 nm para todos los virus con excepción de SLV en donde la longitud de onda fue de 650 nm. Como criterio para determinar el límite de detección se utilizó el valor duplicado de la desviación estandar (S) del testigo negativo. Los valores superiores a este límite de detección se consideraron positivos como lo mencionan Pérez-Moreno *et al.*, (2008).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el ciclo de cultivo 2007–2008 se colectaron un total de 51 muestras, de las cuales el 52.9% (27 muestras) correspondían a parcelas comerciales mientras que el restante 47.1% (24 muestras) se obtuvieron en parcelas experimentales establecidas dentro de las instalaciones del Campo Experimental Zacatecas (INIFAP). Los síntomas observados en las plantas muestreadas consistieron en mosaicos difusos o amarillos (95.2%) y deformaciones en la vena central (4.8%). Las variedades de ajo muestreadas, tipo de producción y virus detectados durante el ciclo de cultivo 2007–2008 se muestran en el cuadro 1. Es interesante notar que no se detectó ningún virus en la muestra obtenida de la variedad experimental Blanco HN a pesar de que las plantas muestreadas y analizadas expresaban síntomas de mosaico difuso; estos resultados no significan necesariamente que esa variedad se encontraba libre de virus sino que posiblemente la concentración de los mismos haya sido tan baja en el momento de colecta de la muestra que el resultado de la prueba ELISA resultó negativo de acuerdo con lo explicado por Pérez-Moreno *et al.*, (2007). Otra posibilidad es que en la

registered; each collected sample registered; in addition, a sample of a plant with no apparent symptoms of viral infection was obtained. The samples collected (mainly leaves, but occasionally samples of escape or flower stalk of the plant were also included) were taken to the La Laguna Laboratory of Phytopathology of the Experimental field (INIFAP facilities) located in Matamoros, Coahuila, México, where they were submitted to virus detection tests by using the enzyme-linked immunosorbent called double antibody sandwich (DAS – ELISA), which has been consistently used in these type of studies (Pérez-Moreno *et al.*, 2008). Antibodies to the OYDV, the LYSV, the SLV, the GarCLV and the TEV were used. Garlic plants collected during the 2007-2008 growing season were not submitted to the SLV detection test, since the reagents required to do so were not available. The absorbance reading was performed in a plate reader spectrophotometer (DAS Mod. A-1), at a wavelength of 405 nm for all the viruses, except SLV, where the wavelength was 650 nm. The duplicated value of the standard deviation (S) control was used as the criterion to determine the detection limit of the negative control. The values above this detection limit were considered positive, as mentioned by Pérez-Moreno *et al.*, (2008).

RESULTS AND DISCUSSION

A total of 51 samples were collected in the 2007-2008 growing season, out of which 52.9% (27 samples) came from commercial fields, while the remaining 47.1% (24 samples) were obtained from experimental plots within the premises of the Experimental field in Zacatecas (INIFAP facilities). The symptoms observed in the sampled plants consisted of diffuse or yellow mosaic (95.2%) and deformations in the central vein (4.8%). The sampled garlic varieties, production type and viruses detected during the 2007-2008 growing season are shown in Table 1. Even though the sampled and analyzed plants expressed diffuse mosaic symptoms, it is noteworthy that no virus was detected in the sample obtained from the HN White experimental variety; these results do not necessarily mean that such variety was virus free, but perhaps their concentration had been low at the time of the sample collection that the ELISA test result came out negative in accordance with what had been previously explained by Pérez-Moreno *et al.*, (2007). Another possibility is that other viruses are not detected with the antiserum used in the sample. It also highlights the positive reactions to TEV in the rest of the sampled varieties in this phase of the study hereby; it is noteworthy to point out that this virus has not yet been reported to be affecting garlic or onion neither at a nation nor worldwide level (American Phytopathological Society, 1995; Sutic *et al.*, 1999; Pérez y Rico, 2004); nevertheless, an initial report has been confirmed about the presence of TEV in Zacatecas on plants of some varieties of garlic, such as CEZAC 06 (previously known as Marbled Calera), Korean, European and Ensenada with symptoms such as stunting, waxy-looking leaves, leaf and bulb with a little differentiation of teeth (Velásquez *et al.*, 2007). Although it is necessary to consider that these latter plants, collected during the 2006-2007 growing season, were not submitted to DAS –

Cuadro 1. Variedades de ajo (*Allium sativum*), tipo de producción y virus detectados durante los ciclos de cultivo 2007-2008 y 2008-2009 en Zacatecas, México.

Table 1. Garlic varieties (*Allium sativum*), production type and viruses detected during the 2007–2008 and the 2008–2009 growing seasons in the state of Zacatecas, México.

Variedad	Produccion	Virus detectados								
		Ciclos de cultivo								
		2007 - 2008					2008 - 2009			
		OYDV	Gar CLV	LYSV	TEV	OYDV	Gar CLV	LYSV	SLV	TEV
Jaspeado										
Calera	Comercial	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Chino	Comercial	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Perla										
Zacatecas	Experimental	+	-	-	+	+	+	-	-	-
Blnaco P	Experimental	-	-	+	+	+	+	-	-	-
Blanco T	Experimental	-	-	-	+	NM	NM	NM	NM	NM
Blanco										
HN	Experimental	-	-	-	-	NM	NM	NM	NM	NM
Coreano	Experimental	NM	NM	NM	NM	+	+	-	-	-
Chino	Experimental	NM	NM	NM	NM	+	+	+	+	-
Europeo	Experimental	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Ensenada	Experimental	NM	NM	NM	NM	+	+	-	-	-
Jaspeado										
Calera	Experimental	NM	NM	NM	NM	+	+	-	-	-

OYDV: Onion Yellow Dwarf virus; GarCLV: Garlic Common Latent Virus; LYSV: Leek Yellow Stripe Virus; TEV: Tobacco Etch Virus; SLV: Shallot Latent Virus; NM: No Muestreado;

muestra analizada se encuentren otros virus no detectados con los antisueros empleados. También destaca la reacción positiva a TEV en el resto de las variedades muestreadas en esta fase del estudio; es importante señalar que este virus no ha sido reportado afectando ajo o cebolla a nivel nacional o mundial (American Phytopathological Society, 1995; Sutic *et al.*, 1999; Pérez y Rico, 2004); pero se confirma un reporte inicial sobre la presencia en Zacatecas de TEV en plantas de algunas variedades de ajo como CEZAC 06 (anteriormente Jaspeado Calera), Coreano, Europeo y Ensenada que mostraban síntomas como achaparramiento, follaje de apariencia cerosa, deformación foliar y bulbo con poca diferenciación de dientes (Velásquez *et al.*, 2007), aunque es necesario considerar que estas últimas plantas, colectadas durante el ciclo de cultivo 2006 – 2007 no se sometieron a DAS – ELISA para la detección de OYDV, LYSV, GarCLV o SLV y por lo tanto no se puede descartar su presencia. En el presente estudio la presencia de TEV se detectó en forma individual o en conjunto con OYDV, LYSV o GarCLV y se encontró en plantas que mostraban síntomas como vena central gruesa, mosaico difuso o en plantas asintomáticas, lo cual no corresponde con la sintomatología reportada previamente por Velásquez *et al.*, (2007), consecuentemente es difícil responsabilizarlo de cualquiera de esos síntomas. En los tres municipios muestreados (Morelos, Guadalupe y Villa de Cos) durante el ciclo de cultivo 2007 – 2008 se encontraron plantas de ajo infectadas por uno o más virus; el municipio con mayor porcentaje de detección (Número de plantas muestreadas/Número de plantas positivas a uno o más virus)

ELISA OYDV, LYSV, GarCLV or SLV detection and, consequently, their presence cannot be discarded. The presence of TEV was detected in the study hereby alone or in conjunction with OYDV, LYSV or GarCLV and it has been found in plants showing symptoms as thick central vein, diffuse mosaic or in asymptomatic plants, which is not consistent with the symptoms previously reported by Velásquez *et al.*, (2007); therefore, it is difficult to make it responsible for any of these symptoms. Plants infected by one or more viruses were found during the 2007-2008 growing season among the three sampled municipalities (Morelos, Guadalupe and Villa de Cos); the municipality with the highest detection percentage (number of sampled plants/Number of plants positive to one or more viruses) was Guadalupe (25%) followed by Morelos and Villa de Cos with 16.6 and 14%, respectively. One or more virus were detected in 43.1% of the samples obtained, regardless their geographical origin, variety or production type; such general incidence seems moderate since there are reports of individual incidence of virus as the *Garlic virus A*, which reaches as much as 70% of the analyzed samples (Lunello *et al.*, 2000) although it is known that the effects of double virus infection in garlic plants are more severe than when one single virus is present (Tuneyoshi and Sumi, 1996). A total of four viruses (OYDV, GarCLV, LYSV and TEV) were identified in this growing season in the garlic plots of the sampled municipalities, except for GarCLV, which was not detected in the collected samples located in the Villa de Cos municipality. The presence of these viruses had been previously reported in

correspondió a Guadalupe (25%) seguido por Morelos y Villa de Cos con 16.6 y 14% respectivamente. Se detectaron uno o más virus en el 43.1% de las muestras obtenidas, independientemente de su origen geográfico, variedad o tipo de producción; esta incidencia general parece moderada toda vez que existen reportes de incidencia individual de virus como la del *Garlic virus A* que alcanza hasta 70% de las muestras analizadas (Lunello *et al.*, 2000), aunque también se sabe que los efectos de la doble infección de virus en plantas de ajo son más severos que cuando solamente se presenta un virus (Tuneyoshi y Sumi, 1996). Durante este ciclo de cultivo se identificaron cuatro virus (OYDV, GarCLV, LYSV y TEV) en las parcelas de ajo de los municipios muestreados, con excepción de GarCLV que no se detectó en las muestras colectadas en el municipio de Villa de Cos; en Guanajuato Pérez-Moreno *et al.*, (2006) habían reportado la presencia de estos virus en plantas de ajo empleando para su detección la técnica ELISA. Los virus más frecuentemente detectados, sin tomar en cuenta la variedad de ajo, municipio o presencia/ausencia de síntomas fueron el OYDV y TEV (25.4% en cada caso) seguidos por GarCLV y LYSV (9.8% en ambos casos) (Cuadro 2), lo cual coincide solo parcialmente con lo reportado por Pérez-Moreno *et al.*, (2007) respecto a la predominancia del OYDV y LYSV en las muestras de ajo colectadas en esa entidad. Por otro lado, en el ciclo de cultivo 2007–2008 las muestras de ajo donde solamente se identificó un virus resultaron las más frecuentes (50%) seguidas por aquellas donde se detectaron 2 y 3 virus (36.3 y 13.6% respectivamente). El porcentaje de identificación de infecciones individuales resultó elevado si se toma en cuenta que las infecciones virales múltiples son frecuentes en el cultivo (Bruna *et al.*, 1992; Fajardo *et al.*, 2001; Pérez-Moreno *et al.*, 2007). Es probable que otros virus presentes en la muestra no hayan sido detectados por su baja titulación en las muestras examinadas que a su vez pudiera estar influenciado por la fecha de muestreo o por tratarse de virus que no podrían haber sido detectados con los antisueros empleados. Durante el ciclo de cultivo 2008–2009 se colectaron 114 muestras de ajo en cuatro municipios: Sain

Guanajuato by Pérez-Moreno *et al.*, (2006) in garlic plants, using the ELISA technique for their detection. The most frequently detected virus, regardless the garlic variety, municipality or presence/absence of symptoms, were the OYDV and TEV (25.4% in both cases) followed by GarCLV and LYSV (9.8% in both cases) (Table 2), which is only partially consistent to what had been previously reported Pérez-Moreno *et al.*, (2007) concerning OYDV and LYSV predominance in the garlic samples collected in that particular entity. The garlic samples where only one virus was detected in the 2007-2008 growing season, on the other hand, were the most frequent (50%), followed by those where 2 and 3 viruses were detected (36.3 and 13.6% respectively). The identification percentage of individual infections was high, considering that the multiple viral infections are rather common in the culture (Bruna *et al.*, 1992; Fajardo *et al.*, 2001; Pérez-Moreno *et al.*, 2007). It is likely that other viruses present in the sample could have been undetected because of their low degree in the examined samples, which could have also been influenced by the sampling date or because it was a virus that it could not have ever been detected with the antiserum used. A total of 114 garlic samples were collected during the 2008-2009 growing season in four municipalities: Sain Alto (7.8%), Ojocaliente (7.0%), Morelos (22.8%) and Villa de Cos (62.2%). The garlic samples corresponded to both commercial and experimental varieties Sainero, CEZAC 06, Chinese (Vazquez selection), Chinese (Muñoz selection), Chinese, Pearl, Korean, European, Ensenada and California P. Virus were identified in 100% of the collected samples in this crop cycle, including those from apparently healthy plants; a similar situation has been reported in the North American State of Oregon, where the 100% of the symptomatic plants, Germinator variety, were positive to OYDV, LYSV and GarCLV (Gieck *et al.*, 2007). The results obtained in the crop cycle emphasize the presence of the OYDV Potyvirus and the GarCLV Carlavirus in all garlic sampled varieties, whereas the LYSV, SLV and TEV manifested a presence less consistent than the first, without taking into account the production type, variety or the sample geographical origin (Table 1). The symptoms observed in the sampled plants included diffuse or severe mosaic, united leaf and escape, wavy or prominent venation, a zigzag central vein, yellow central vein, stripped yellow, leathery leaves, thick, shiny and leathery upright growth. The most common symptoms were the presence of diffuse mosaic followed by the presence of yellow stripes and united leaf and escape (61, 9 and 8% respectively). It has been mentioned by Pérez-Moreno *et al.*, (2007) and Peña-Iglesias (1988) that the symptoms observed in garlic plants in Guanajuato, Mex., and Spain included curl, mosaic, leaf deformation, yellowing and stunting striatum; nevertheless, there are apparently some differences in the symptoms reported in the work of the authors previously mentioned and the current study. It must be noted that the expression of symptoms variables reflects the interaction of environmental and biological factors (as the presence of unidentified viruses in both studies); thus, some flexibility should be given in the description of the symptoms. The

Cuadro 2. Municipios muestreados y frecuencia de virus detectados en el cultivo de ajo (*Allium sativum*) durante el ciclo de cultivo 2007-2008 en Zacatecas, México.

Table 2. Municipalities sampled and virus frequency detected in garlic cultivation (*Allium sativum*) during 2007–2008 growing season in the state of Zacatecas, México.

Virus	Municipio			Promedio (%)
	Morelos	Guadalupe	Villa de Cos	
Gar CLV	24 ¹ /4 ²	11/1	16/0	9.8
LYSV	24/2	11/2	16/1	9.8
OYDV	24/4	11/5	16/4	25.4
TEV	24/6	11/3	16/4	25.4

¹Plantas muestreadas; ²Plantas detectadas con el virus.

Alto (7.8%), Ojocaliente (7.0%), Morelos (22.8%) y Villa de Cos (62.2%). Las muestras de ajo correspondían a las variedades de ajo comerciales y experimentales Sainero, CEZAC 06, Chino (Selección Vazquez), Chino (Selección Muñoz), Chino, Perla, Coreano, Europeo, Ensenada y California P. Se identificaron virus en el 100% de las muestras colectadas en este ciclo de cultivo, incluyendo las provenientes de plantas aparentemente sanas; una situación similar es reportada en el estado norteamericano de Oregon donde el 100% de las plantas sintomáticas de la variedad Germinador resultaron positivas a OYDV, LYSV y GarCLV (Gieck *et al.*, 2007). Los resultados obtenidos en este ciclo de cultivo enfatizan la presencia del Potyvirus OYDV y del Carlavirus GarCLV en todas las variedades de ajo muestreadas mientras que LYSV, SLV y TEV manifiestan una presencia menos consistente que los primeros, sin tomar en cuenta el tipo de producción, variedad u origen geográfico de la muestra (Cuadro 1). La sintomatología observada en las plantas muestreadas comprendía mosaico severo o difuso, hoja y escapo unidos, venación ondulada o prominente, vena central en zig-zag, vena central amarilla, franjeado amarillo, hojas coriáceas, gruesas o brillantes y crecimiento erecto y coriáceo. Las sintomatologías más comunes fueron la presencia de mosaico difuso seguida por la presencia de franjas amarillas y hoja y escapo unidos (61, 9 y 8% respectivamente). Pérez-Moreno *et al.*, (2007) y Peña-Iglesias (1988) menciona que la sintomatología observada en plantas de ajo en Guanajuato, Méx. y España incluyó enchinamiento, mosaico, deformación de hojas, estriado amarillento y enanismo; aunque aparentemente existen algunas diferencias en la sintomatología reportada en los trabajos de los autores mencionados y el estudio actual debe recordarse que la expresión de síntomas es variable y obedece a la interacción de factores ambientales y biológicos (como la presencia de virus no identificados en ambos trabajos) por lo que debe otorgarse cierta flexibilidad en la descripción de la sintomatología. Se confirmó la presencia de cuatro virus (OYDV, LYSV, GarCLV y TEV) y se corroboró la ocurrencia de SLV en las diferentes variedades de ajo en Zacatecas. Se encontraron dos o más virus en las 114 muestras analizadas, a pesar de que en el análisis se incluyeron muestras de plantas que en el campo no expresaban síntomas de infección viral como los mencionados previamente. A diferencia de los resultados obtenidos en el ciclo de cultivo anterior (2007 – 2008) no se detectaron muestras con un solo virus, por el contrario, en el 45, 33.3, 20.0 y 1.6% de las muestras analizadas se encontraron 2, 3, 4 y 5 virus respectivamente, coincidiendo con lo señalado por otros autores cultivo (Bruna *et al.*, 1992; Fajardo *et al.*, 2001; Pérez-Moreno *et al.*, 2007) en el sentido de que las plantas de ajo comúnmente presentan infecciones múltiples. Al analizar la presencia de virus en el cultivo de ajo por municipio muestreado en el ciclo de cultivo 2008 – 2009 se observa que SLV, LYSV y TEV no se identificaron o se registraron en porcentajes reducidos en las muestras obtenidas en los municipios de Sain Alto, Ojocaliente y Morelos; en contraste, OYDV y GarCLV se encontraron en todas las muestras de ajo examinadas, independientemente del municipio, variedad, tipo de

presencia de OYDV, LYSV, GarCLV and TEV was confirmed and the SLV occurrence was corroborated in the different garlic varieties in Zacatecas. There were two or more viruses in the 114 tested samples despite of the fact that sampled plants which did not expressed viral infection symptoms, as those previously mentioned, were included in the analysis. Unlike the results obtained in the previous growing season (2007 – 2008), samples with a single virus were not detected; quite the opposite, were revealed in 45, 33.3, 20.0 and 1.6% of the tested samples revealing 2, 3, 4 and 5 viruses, respectively; which is consistent with other culture reports from other authors (Bruna *et al.*, 1992; Fajardo *et al.*, 2001; Pérez-Moreno *et al.*, 2007) in the sense that multiple infections are commonly revealed by garlic plants. It is observed when analyzing the presence of virus in garlic crops per sampled municipality in the 2008-2009 growing season that SLV, LYSV and TEV were not identified or present at reduced rates in samples collected in the municipalities of Sain Alto, Ojocaliente and Morelos; in contrast, OYDV and GarCLV were revealed in all garlic samples examined, regardless the municipality, variety, production type or symptoms observed. The incidence of viral agents stands out in the municipality of Villa de Cos, main garlic producer in the state, where the five virus considered in the study hereby were identified (Table 3), which is more evident when the previous crop cycle (2007 – 2008) had obtained the lowest incidence (14%) among the municipalities sampled in that crop cycle. The viruses incidence in the garlic plants sampled in the 2008-2009 growing season was 100% for OYDV and GarCLV; 54.7% for LYSV; 18.2% for TEV and 8.6% for SLV (Table 3); these results are partially consistent with what had been previously reported by Pérez-Moreno *et al.*, (2007), who also point out OYDV as the most frequent virus, but present only in 63% of the garlic plants sampled in Guanajuato; the GarCLV was revealed in 32.3% of cases within the same entity, being remarkably different from the 100% incidence registered by both of the viruses in the samples collected in Zacatecas. The incidence of LYSV, on the other hand, seems similar between Guanajuato and Zacatecas, 60.5 and 54.7% respectively; in Argentina, Conci *et al.*, (2002) indicate that LYSV was identified in 80 – 98% of the total collected samples, but at the Santa Cruz site the incidence reached was only 34%. The SLV incidence in both states was lower with regards to the others, but in Guanajuato it was identified in 21% of the samples against the 8.6% registered in Zacatecas. The variation in virus detection rates in the studies reported in Argentina, Guanajuato and the study hereby could be explained by the interaction of several factors, among which the time (growing seasons) under which the studies were performed, the different ecological conditions of the garlic producing areas from both of the states, the presence of vectors such as aphids or mites, the use of different garlic varieties (with special emphasis on phytosanitary seed quality) and the phenological state at the time of sampling, stand out. The TEV presence was detected in both growing cycles of garlic plants at some of the municipalities sampled; the symptoms expressed in these plants included mosaic and deformation or discoloration of the central vein, but it is worth

producción o sintomatología observada. Destaca la incidencia de agentes virales en el municipio de Villa de Cos, principal productor de ajo en el estado, donde se identificaron los cinco virus considerados en el estudio (Cuadro 3), lo cual resulta más evidente cuando en el ciclo de cultivo anterior (2007 – 2008) había obtenido la menor incidencia (14%) entre los municipios muestreados en ese ciclo de cultivo. La incidencia de virus en las plantas de ajo muestreadas en el ciclo de cultivo 2008 – 2009 fue de 100% para OYDV y GarCLV; 54.7% para LYSV; 18.2% para TEV y 8.6% para SLV (Cuadro 3); estos resultados coinciden solo parcialmente con los reportados por Pérez-Moreno *et al.*, (2007) quienes también señalan al OYDV como el virus más frecuente aunque presente solo en el 63% de las plantas de ajo muestreadas en Guanajuato; GarCLV se encontró en el 32.3% de los casos en la misma entidad, lo cual es marcadamente diferente a la incidencia de 100% registrada para ambos virus en las muestras colectadas en Zacatecas. Por otro lado, la incidencia de LYSV parece semejante entre Guanajuato y Zacatecas, 60.5 y 54.7% respectivamente; en Argentina, Conci *et al.*, (2002) indican que LYSV fue identificado en 80 – 98% del total de muestras colectadas pero en la localidad Santa Cruz su incidencia alcanzaba solo 34%. En ambos estados la incidencia de SLV fue menor con respecto a los otros virus pero en Guanajuato se identificó en el 21% de las muestras contra el 8.6% registrado en Zacatecas. La variación en porcentajes de detección de virus en los trabajos reportados en Argentina, Guanajuato y los de este trabajo podría explicarse por la interacción entre algunos factores entre los que destacan la época (ciclos de cultivo) en que se llevaron a cabo los estudios; las diferentes condiciones ecológicas de las zonas productoras de ajo en ambos estados; la presencia de vectores como áfidos o ácaros; el empleo de diferentes variedades de ajo (con especial énfasis en la calidad fitosanitaria de la semilla) y el estado fenológico del cultivo al momento del muestreo. En ambos ciclos de cultivo se detectó la presencia de TEV en plantas de ajo en algunos de los municipios muestreados; la sintomatología expresada en esas plantas comprendía mosaicos y deformación o decoloración de la vena central, pero es conveniente mencionar que en las muestras positivas a TEV colectadas en el ciclo 2008 – 2009 también se detectaron otros virus por lo que esta sintomatología no puede ser atribuida totalmente a la presencia de TEV. En las muestras de plantas de ajo pertenecientes a la variedad Chino que mostraban el escapo floral unido a la última hoja se identificaron al OYDV (100%), GarCLV (100%), SLV (25%) y LYSV (87.5%), sin embargo, los tres primeros también estuvieron presentes en todas las muestras donde el escapo no se encontraba unido a la última hoja; SLV solamente se detectó en una de las muestras aparentemente sanas. La ocurrencia de esos virus en muestras de plantas con síntomas y plantas aparentemente sanas hace poco probable que esta sintomatología en especial pueda ser asociada con alguno de los virus mencionados. En plantas de ajo aparentemente sanas se detectaron todos los virus anteriores excepto TEV aunque OYDV y GarCLV se encontraron en todas las muestras independientemente de la variedad o localización geográfica de la parcela. LYSV fue identificado en el 27.2% de las

Cuadro 3. Municipios muestreados y frecuencia de virus detectados en el cultivo de ajo (*Allium sativum*) durante el ciclo de cultivo 2008-2009 en Zacatecas, Mexico.

Table 3. Municipalities sampled and virus frequency detected in garlic cultivation (*Allium sativum*) during 2008–2009 growing season in Zacatecas, México.

Virus	Municipio				Promedio (%)
	Sain Alto	Ojocaliente	Morelos	Villa de Cos	
Gar CLV	9 ¹ /9 ²	8/8	26/26	72/72	100
SLV	9/1	8/0	26/2	72/7	8.6
LYSV	9/0	8/0	26/1	72/62	54.7
OYDV	9/9	8/8	26/26	72/72	100
TEV	9/0	8/0	26/0	72/21	18.2

¹ Plantas muestreadas; ² Plantas positivas al virus

mentioning that other viruses were also detected in the TEV positive samples collected in the 2008-2009 growing season; consequently, these symptoms cannot be entirely attributed to the presence of TEV. The OYDV (100%), GarCLV (100%), SLV (25%) and LYSV (87.5%) were identified in the samples of garlic plants belonging to the Chinese variety that showed the flower stalk attached to the last leaf; however, the first three were also present in all the samples where the escape was not attached to the last leaf; the SLV was detected only in apparently healthy samples. The virus occurrence in plant samples with symptoms and apparently healthy plants makes it unlikely that these particular symptoms could be associated with one of the viruses previously mentioned. All the viruses previously mentioned were detected except TEV although OYDV and GarCLV were found in all samples, regardless variety or the plot geographical location. The LYSV was identified in 27.2% of the samples from apparently healthy plants, but the CEZAC 06 and the Chinese viruses exhibited a high incidence (86.1%) from the municipality of Villa de Cos. Furthermore, the SLV was detected only in samples of two CEZAC 06 and Chinese varieties collected in Villa de Cos and Morelos, respectively; the SLV incidence in this growing season was 18.1%. It is noteworthy that according to the results obtained the same viruses were identified in plants with symptoms of possible viral origin and those apparently healthy, which is consistent with what has been reported by Pérez-Moreno *et al.*, (2007) in the sense that the most common viruses in garlic plants with viral symptoms were also more frequent in asymptomatic plants, as it had been already pointed out by Pérez-Moreno *et al.*, (2007) in Guanajuato, México. It can be observed by comparing the virus incidence detected in samples collected in both growing seasons that the incidence rates were lower in the 2007-2008 cycle and increased significantly in the 2008-2009 cycle; this phenomenon had already been mentioned by Pérez-Moreno *et al.*, (2007) who reported variations in the incidence of viruses of garlic in Guanajuato, Mexico in accordance with the sampling period in the very same cycle, making it possible that such variation is higher in samples taken from Zacatecas in different culture

muestras provenientes de plantas aparentemente sanas pero destacaron por su alta incidencia (86.1%) con este virus las variedades CEZAC 06 y Chino provenientes del municipio de Villa de Cos. Por otro lado, SLV se detectó solamente en muestras de dos variedades CEZAC 06 y Chino colectadas en Villa de Cos y Morelos respectivamente por lo que la incidencia de SLV en este ciclo de cultivo fue de 18.1%. Es importante notar que de acuerdo con los resultados obtenidos, en las plantas con síntomas de posible origen viral y aquellas aparentemente sanas se identificaron los mismos virus lo cual concuerda con lo señalado por Pérez-Moreno *et al.*, (2007) en el sentido de que los virus más comunes en plantas de ajo con síntomas virales resultaron también los más frecuentes en plantas asintomáticas. La sintomatología observada en el campo y la presencia de virus en las muestras colectadas no parece guardar una relación estrecha, situación que se acentúa por la presencia de esos virus en plantas asintomáticas como ya lo habían señalado Pérez-Moreno *et al.*, (2007) en Guanajuato, México. Al comparar la incidencia de virus detectados en las muestras colectadas en ambos ciclos de cultivo se puede observar que los porcentajes de incidencia fueron menores en el ciclo 2007 – 2008 y se incrementan notablemente en el ciclo 2008 – 2009, este fenómeno ya había sido mencionado por Pérez-Moreno *et al.*, (2007) quienes reportan que se encontraron variaciones en la incidencia de virus de ajo en Guanajuato, México de acuerdo con la época de muestreo durante un mismo ciclo por lo que es probable que dicha variación sea mayor en los muestreos realizados en Zacatecas en ciclos de cultivo diferentes, sobre todo considerando que no se tomaron muestras de las mismas plantas y parcelas y que los muestreos pudieron ocurrir en etapas fenológicas diferentes; un estudio llevado a cabo en Argentina (Conci *et al.*, 2002) reveló que LYSV puede ser detectado más frecuentemente en determinadas etapas como el inicio del ciclo o la etapa de bulbificación y esto es también influenciado por el tipo de ajo muestreado. Los resultados obtenidos por Pérez-Moreno *et al.*, (2007) en parcelas de ajo señalan que los Potyvirus OYDV y LYSV mostraban una amplia distribución geográfica y predominancia sobre los Carlavirus GarCLV y SLV en Guanajuato; sin embargo, los resultados obtenidos en las parcelas de ajo de Zacatecas en el ciclo de cultivo 2007 – 2008 mostraron que los Potyvirus OYDV y TEV fueron los más frecuentes, aunque la distribución geográfica de esos virus en los municipios muestreados resultó uniforme, con excepción de GarCLV que no se detectó en Villa de Cos; durante el ciclo de cultivo 2008 – 2009 el OYDV y el GarCLV se encontraban ampliamente distribuidos en las parcelas de ajo de los cuatro municipios muestreados, además su incidencia fue mayor que la de los otros virus incluidos en las pruebas de laboratorio. La incidencia de TEV es errática al comparar ambos ciclos de cultivo ya que su presencia se detectó en todos los municipios muestreados en el primer ciclo de cultivo mientras que en el segundo solamente se le identificó en las muestras colectadas en Villa de Cos. La presencia de LYSV en ambos ciclos de cultivo fue constante en los municipios de Morelos y Villa de Cos, aunque sus valores de incidencia fueron diferentes en cada ciclo de cultivo. Por su parte, se encontró que SLV se

cycles, especially considering that no samples were taken from the same plants and plots and that the sampling could have taken place at different phenological stages. It was revealed by a study performed in Argentina (Conci *et al.*, 2002) that the LYSV can be more frequently detected at certain stages, such as the beginning of the cycle or at the bulb formation stage; this is also influenced by the type of garlic sampled. The results obtained by Pérez-Moreno *et al.*, (2007) in garlic plots indicate that the OYDV and LYSV Potyvirus revealed a wide geographical distribution and predominance over the GarCLV and SLV Carlavirus in Guanajuato; nevertheless, the results obtained in garlic fields of Zacatecas in the 2007-2008 growing cycle revealed that the OYDV and TEV Potyvirus were the most frequent, even though the geographical distribution of these viruses in the sampled municipalities was consistent, except for GarCLV, which was not detected in Villa de Cos. Both the OYDV and the GarCLV were widely distributed in the garlic plots from the four sampled municipalities during the 2008-2009 growing cycle; moreover, its incidence was higher than that of the other viruses included in laboratory tests. The TEV incidence is erratic when comparing both crop cycles and its presence was detected in all sampled municipalities in the first growing season, while the second was identified only in samples collected in Villa de Cos. The LYSV presence in both crop cycles was constant in the municipalities of Morelos and Villa de Cos although their incidence rates were different for each crop cycle. It was revealed that SLV was distributed in three out of four sampled municipalities in Zacatecas (Tables 2 and 3). The OYDV seems to prevail in both regions (Guanajuato and Zacatecas) despite the differences in growing seasons, varieties, crop management and time of sampling

CONCLUSIONS

A total of five viruses were identified in the state of Zacatecas, Mexico to be affecting plants of different garlic varieties in both commercial and experimental plots; the viruses identified were the OYDV, the GarCLV, the LYSV, the SLV and the TEV in garlic plants showing symptoms of apparent viral origin. The symptoms observed in garlic plants included mainly mosaic and deformations, but a relationship among the symptoms observed in plants and the incidence of specific virus was not revealed; furthermore, the same viral agents were detected in asymptomatic plants.

LITERATURA CITADA

- American Phytopathological Society. 1995. Compendium of onion and garlic diseases. Edited by H. F. Schwartz and S. K. Mohan. The APS Press. Saint Paul, Minnesota, United States of America. 54 p.
- Bruna, V. A., Escaff, G. M. y Muñoz, S. C. 1992. Identificación del virus del enanismo amarillo de la cebolla (“onion yellow dwarf virus”) en ajo (*Allium sativum* L.). Agricultura Técnica (Chile) 52:85-89.
- Conci, V. C., Lunello, P., Buraschi, D., Italia, R. R., and Nome, S. F. 2002. Variations of *Leek yellow stripe virus* concentration in garlic and its incidence in Argentina. Plant Disease 86:1085-1088.

distribuyó en tres de cuatro municipios muestreados en Zacatecas (Cuadros 2 y 3). En ambas regiones (Guanajuato y Zacatecas) parece predominar OYDV a pesar de las diferencias en ciclos de cultivo, variedades, manejo del cultivo, época de muestreo.

CONCLUSIONES

En Zacatecas, México se identificaron cinco virus afectando plantas de diferentes variedades de ajo en parcelas comerciales y experimentales; los virus identificados fueron el *Onion yellow dwarf virus* (virus del enanismo amarillo de la cebolla, OYDV), *Garlic common latent virus* (virus latente común del ajo), *Leek yellow stripe virus* (virus del rayado amarillo del puerro, LYSV), *Shallot latent virus* (virus latente del shallot, SLV) y *Tobacco etch virus* (virus del jaspeado del tabaco, TEV) en plantas de ajo que mostraban sintomatología de aparente origen viral. La sintomatología observada en las plantas de ajo incluía principalmente mosaicos y deformaciones pero no se advierte una relación entre los síntomas observados en las plantas y la incidencia de virus específicos además de que en las plantas asintomáticas también se detectaron los mismos agentes virales.

- Conci, V. C., Cafrune, E., Lunello, P., Canavelli, A., Nome, S., Bracamonte, R., Alocas, P. y Perotto, C. 2003. Incidencia de los virus en la producción de ajo y su control. *Idia XXI*:55-60.
- Fajardo, T. V. M., Nishijima, M., Buso, J. A., Torres, A. C., Ávila, A. C., and Resende, R. O. 2001. Garlic viral complex: identification of *potyvirus*es and *carlavirus* in central Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 26:619-626.
- Gieck, S. L., Pappu, H. R., Hamm, P. B., and David, N. L. 2007. First report of *Onion yellow dwarf virus*, *Leek yellow stripe virus*, and *Garlic common latent virus* in garlic in Oregon. *Plant Disease* 91:461-468
- Koch, M. and Salomon, R. 1994. Serological detection of onion yellow dwarf virus in garlic. *Plant Disease* 78:785-788.
- Lot, H., Chovelon, V., Souche, S., and Delecolle, B. 1988. Effects of onion yellow dwarf and leek yellow stripe viruses on symptomatology and yield loss of three French garlic cultivars. *Plant Disease* 82:1382-1385.
- Lunello, P., Nome, S., and Conci, V. 1999. Resultados preliminares sobre el efecto del leek yellow stripe virus (LYSV) en el cultivo de ajo. Memoria. XXVI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Guadalajara, Jalisco, México. Resumen 226.
- Lunello, P., Bravo-Almonacid, F., Kobayashi, K., Helguera, M., Nome, S. F., Mentaberry, A., and Conci, V. C. 2000. Distribution of *Garlic virus A* in different garlic production regions of Argentina. *Journal of Plant Pathology* 82:17-21.
- Mena, C. J. 2006. Manejo integrado de plagas: una propuesta para el cultivo de ajo. P. 38-46. Programa y memorias II Foro Nacional del Ajo. Zacatecas, Zacatecas, México. 124 p.
- Peña-Iglesias, A. 1988. El ajo: virosis, fisiopatías y selección clonal y sanitaria. II Parte científico-experimental. *Boletín Sanidad Vegetal. Plagas*. 14:493-533.
- Pérez, M. L. y Rico, J. E. 2004. Virus fitopatógenos en cultivos hortícolas de importancia económica en el estado de Guanajuato. Universidad de Guanajuato. Offset Libra, México, D.F. 143 p.
- Pérez-Moreno, L., Córdova-Rosales, Z., Barboza-Corona, E., Ramírez-Malagón, R., Ramírez-Lua, J., Ruiz-Castro, S., and Silva-Rosales, L. 2006. First report of *Leek yellow stripe virus* in garlic in the state of Guanajuato, México. *Plant Disease* 90:1458.
- Pérez-Moreno, L., Córdova-Rosales, Z. V., Rico-Jaramillo, E., Ramírez-Malagón, R., Barboza-Corona, E., Zuñiga-Zuñiga, J., Ruiz-Castro, S. y Silva-Rosales, L. 2007. Identificación de virus fitopatógenos en ajo 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 fitopatógenos sobre características y calidad del ajo (*Allium sativum* L.) en el estado de Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 26:40-48.
- Sutic, D. D., Ford, R. E., and Tosic, M. T. 1999. Handbook of plant virus diseases. CRC Press. Boca Raton, Florida, United States of America. 533 p.
- Sward, R. J. and Brennan, A. P. 1994. Diagnosis and control of *Allium* virus diseases in Victoria, Australia. *Acta Horticulturae* 358:295-298.
- Takaichi, M., Nagakubo, T., and Oeda, K. 2001. Mixed virus infections of garlic determined by a multivalent polyclonal antiserum and virus effects on disease symptoms. *Plant Disease* 85:71-75.
- Tsuneyoshi T., and Sumi, S. 1996. Differentiation among garlic viruses in mixed infections based on RT-PCR procedures and direct tissue blotting immunoassays. *Phytopathology* 86:253-259.
- Velásquez, V. R. y Medina, A. M. M. 2004. Guía para conocer y manejar las enfermedades más comunes de la raíz del ajo en Aguascalientes y Zacatecas. Folleto para Productores Núm. 34. Campo Experimental Pabellón, INIFAP. Aguascalientes, Aguascalientes, México. 18 p.
- Velásquez, V. R., Reveles, H. M. y Amador, R. M. D. 2007. Incidencia de una virosis de ajo en diferentes fechas de siembra en Zacatecas. 13° Simposio Estatal de Investigación y Desarrollo Tecnológico Aguascalientes 2007. Aguascalientes, Aguascalientes, México. 35p.