

## **Detección del virus de la mancha amarilla del iris en almácigos de cebolla en Zacatecas, México\***

### **Detection of the yellow spot virus in onion seedlings in Zacatecas, Mexico**

**Rodolfo Velásquez-Valle<sup>1</sup>, Luis Roberto Reveles-Torres<sup>1§</sup>, Silvia Salas Muñoz<sup>1</sup>, Jorge Armando Mauricio-Castillo<sup>2</sup> y Manuel Reveles-Hernández<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Campo Experimental Zacatecas- INIFAP. Carretera Zacatecas-Fresnillo, km 24.5. Calera de V. R., Zacatecas, México. CP. 98500. Tel. 01 478 98501098. (velasquez.rodolfo@inifap.gob.mx; silviasm0207@gmail.com; reveles.manuel@inifap.gob.mx). <sup>2</sup>Universidad Autónoma de Zacatecas. Carretera Zacatecas-Guadalajara, km 15.5. Cieneguillas, Zacatecas, México (jamaca1209@hotmail.com). <sup>§</sup>Autor para correspondencia: reveles.roberto@inifap.gob.mx.

#### **Resumen**

El estado de Zacatecas es una de las más importantes regiones productoras de cebolla en México. El virus de la mancha amarilla del iris (IYSV) fue detectado en ésta área afectando parcelas comerciales de ésta hortaliza. Las plántulas de cebolla son producidas en almácigos con baja tecnología que podría permitir la infestación de trips y por consiguiente la infección viral. El propósito de éste trabajo fue detectar la presencia del virus de la mancha amarilla del iris en almácigos de cebolla en Zacatecas, México así como determinar la correlación entre las lecturas de absorbancia y la frecuencia de detección del IYSV. Muestras de plántulas de cebolla fueron obtenidas de 30 almácigos y una muestra de tejido de cada plántula fue analizado por DAS-ELISA para detectar la presencia del virus. No se encontraron lesiones provocadas por el IYSV, sin embargo, por lo menos una plántula fue positiva al virus en el 90% de los almácigos muestreados. La incidencia del IYSV dentro de los almácigos varió entre 8.3 y 100%. No se encontró una clara correlación entre los valores de absorbancia de DAS-ELISA y la incidencia del virus.

#### **Abstract**

The state of Zacatecas is one of the most important onion producing regions in Mexico. The yellow iris spot virus (IYSV) was detected in this area affecting commercial plots of this vegetable. The onion seedlings are produced in seedlings with low technology that could allow the infestation of thrips and consequently viral infection. The objective of this work was to detect the presence of the yellow spot virus in onion seedlings in Zacatecas, Mexico and to determine the correlation between the absorbance readings and the detection frequency of the IYSV. Samples of onion seedlings were obtained from 30 seedlings and a tissue sample from each seedling was analyzed by DAS-ELISA to detect the presence of the virus. No lesions were found caused by the IYSV, however, at least one seedling was positive to the virus in 90% of the seedlings sampled. The incidence of IYSV within seedlings varied between 8.3 and 100%. No clear correlation was found between the absorbance values of DAS-ELISA and the incidence of the virus.

\* Recibido: enero de 2017  
Aceptado: febrero de 2017

**Palabras clave:** DAS-ELISA, incidencia, IYSV, lecturas de absorbancia, variedades, trips.

En México los principales estados productores de cebolla (*Allium cepa* L.) son Baja California, Guanajuato, Michoacán, Chihuahua y Zacatecas; en ellos se establecieron 44, 398 ha con cebolla durante la temporada agrícola de 2012 en las cuales se alcanzó una producción de 1 238 000 toneladas; para el mismo ciclo de cultivo se plantaron 4 142 ha con esa hortaliza en el estado de Zacatecas en donde se obtuvieron 162 204 toneladas que significaron un rendimiento promedio de 39.1 t ha<sup>-1</sup> (Osuna y Ramírez, 2013; Reveles-Hernández *et al.*, 2014).

El ciclo de cultivo de cebolla en Zacatecas principia con el establecimiento de los almácigos entre septiembre y noviembre para las variedades o híbridos de día corto que serán trasplantados entre diciembre y marzo mientras que los almácigos para las variedades o híbridos de día intermedio son establecidos entre diciembre y febrero para ser trasplantados de marzo a mayo (Reveles-Hernández *et al.*, 2014). La producción de plántula de cebolla en ésta región se realiza en condiciones de cielo abierto con escasa protección contra infestaciones de trips, lo que puede facilitar la infección por virus como el de la mancha amarilla del iris Iris yellow spot virus (IYSV) que es diseminada eficientemente por medio de ese insecto (Gent *et al.*, 2004).

La transmisión del IYSV es realizada por medio de los trips *Thrips tabaci* Lind. y *Frankliniella fusca* (Hind.) (Srinivasan *et al.*, 2012); en Zacatecas se ha reportado la ocurrencia del primero mientras que la presencia del segundo ha sido mencionada en México (Johansen, 2002; Velásquez *et al.*, 2009). La presencia del IYSV en parcelas comerciales de cebolla en Zacatecas fue detectada por medios serológicos en el ciclo de cultivo 2010 (Velásquez-Valle y Reveles-Hernández, 2011); sin embargo, la importancia de los almácigos de plántula de cebolla con escaso empleo de tecnología de producción como potenciales fuentes de inóculo viral en el estado de Zacatecas no ha sido investigada. Consecuentemente, el objetivo del presente trabajo fue detectar la presencia de IYSV en almácigos de cebolla en Zacatecas, México así como determinar la correlación entre las lecturas de absorbancia y la frecuencia de detección del IYSV.

Se muestrearon almácigos de plántula de cebolla seleccionados al azar en la región central de Zacatecas; un número variable de plántulas (entre 10 y 30) fueron

**Keywords:** absorbance readings, DAS-ELISA, incidence, IYSV, varieties, thrips.

In Mexico the main onion producing states (*Allium cepa* L.) are Baja California, Guanajuato, Michoacan, Chihuahua and Zacatecas; 44 398 ha with onion during the agricultural season of 2012 in which a production of 1 238 000 tonnes was reached; for the same crop cycle, 4 142 ha were planted with that vegetable in the state of Zacatecas, where 162 204 tonnes were obtained, which represented an average yield of 39.1 t ha<sup>-1</sup> (Osuna and Ramírez, 2013; Reveles-Hernández *et al.*, 2014).

The onion culture cycle in Zacatecas begins with the establishment of seedlings between September and November for varieties or short-day hybrids that will be transplanted between december and march while seedlings for intermediate day varieties or hybrids are established between December and February to be transplanted from March to May (Reveles-Hernández *et al.*, 2014). The production of onion seedlings in this region is performed under open sky conditions with little protection against thrips infestations, which may facilitate infection by viruses such as the yellow spot of the iris yellow spot virus (IYSV) that is disseminated efficiently through this insect (Gent *et al.*, 2004).

The transmission of IYSV is performed by trips *Thrips tabaci* Lind. and *Frankliniella fusca* (Hind.) (Srinivasan *et al.*, 2012); in Zacatecas the occurrence of the first one has been reported whereas the presence of the second has been mentioned in Mexico (Johansen, 2002; Velásquez *et al.*, 2009). The presence of IYSV in commercial onion plots in Zacatecas was detected by serological means in the 2010 crop cycle (Velásquez-Valle and Reveles-Hernández, 2011), however, the importance of onion seedlings with low employment of production technology as potential sources of viral inoculum in the state of Zacatecas has not been investigated. Consequently, the objective of the present work was to detect the presence of IYSV in onion seedlings in Zacatecas, Mexico and to determine the correlation between the absorbance readings and the detection frequency of IYSV.

The seedlings randomly selected in the central region of Zacatecas were sampled; a variable number of seedlings (between 10 and 30) were collected randomly in each of the varieties or hybrids present in each seedling. In some

colectadas al azar en cada una de las variedades o híbridos presentes en cada almácigo. En algunos almácigos fue posible obtener el nombre de las variedades o híbridos sembrados; en caso contrario solamente se registró el tipo de cebolla (blanca, morada o industrial). Las plántulas colectadas se trasladaron al laboratorio de Fitopatología del Campo Experimental Zacatecas (INIFAP), cada plántula se examinó detenidamente en busca de lesiones provocadas por el IYSV (manchas en forma de diamante de color café pajizo, ocasionalmente con “islas” verdes dentro de la lesión). Una porción de tejido foliar de cada plántula muestreada fue analizada para detectar la presencia del IYSV siguiendo el protocolo mencionado por Velásquez-Valle y Reveles-Hernández (2011) y que consistió en utilizar la técnica de inmunoabsorción enzimática, denominada sándwich de doble anticuerpo (DAS) para desarrollarse en dos días empleando el anticuerpo para la proteína de cubierta del IYSV conjugado con la enzima fosfatasa alcalina (Agdia Inc.).

Como testigos positivo y negativo se emplearon los controles positivo y negativo (extract of onion leaves) del método (Agdia Inc.). La lectura de absorbancia se realizó en el espectrofotómetro modelo BioTek ELx 800 a una longitud de onda de 405 nm. Los valores de densidad óptica que excedían tres veces el valor medio de los controles negativos fueron considerados positivos a la presencia del IYSV. Se calculó el promedio y desviación estándar de las lecturas de absorbancia obtenida de las muestras positivas al IYSV en cada almácigo para comparar esa variable entre almácigos.

Entre enero y marzo de 2015 se muestrearon 30 almácigos de cebolla localizados en los municipios de Calera de V.R. y Villa de Cos, Zacatecas (6.7 y 93.3% respectivamente). Aunque no se encontraron lesiones provocadas por el IYSV en ninguna de las plántulas colectadas, los resultados de DAS-ELISA indicaron que el patógeno se encontraba presente en 90% de los almácigos visitados, lo cual puede ser parcialmente provocado por el sistema de producción de plántula a cielo abierto que no impide la infestación de las plántulas por *T. tabaci*, vector del IYSV presente en ésta área. Por otro lado, se ha sugerido que el periodo de incubación del IYSV (desde la infección hasta la expresión de síntomas) es de 30 días (Hsu *et al.*, 2010), lo cual impediría el registro de síntomas durante el muestreo.

Además, la práctica de cortar repetidamente el follaje de las plántulas con el objetivo de fortalecer su desarrollo subterráneo podría haber eliminado la o las porciones infectadas impidiendo registrar los síntomas. La presencia

seedlings it was possible to obtain the name of the varieties or hybrids planted; otherwise, only the type of onion (white, purple or industrial) was recorded. The seedlings collected were transferred to the Phytopathology Laboratory of the Zacatecas Experimental Field (INIFAP). Each seedling was carefully examined for lesions caused by IYSV (straw-colored diamond-shaped spots, occasionally with green “islands” within the injury). A portion of foliar tissue from each sampled seedling was analyzed for the presence of IYSV following the protocol mentioned by Velásquez-Valle and Reveles-Hernández (2011) and consisted in using the enzymatic immunoabsorption technique called the double antibody sandwich (DAS) to be developed in two days, using the antibody to the IYSV coat protein conjugated to the alkaline phosphatase enzyme (Agdia Inc.).

As positive and negative controls, the method used was the positive and negative controls (extract of onion leaves) method (Agdia Inc.). The absorbance reading was performed on the BioTek ELx 800 spectrophotometer at a wavelength of 405 nm. The optical density values that exceeded three times the mean value of negative controls were considered positive for IYSV. The mean and standard deviation of the absorbance readings obtained from the IYSV positive samples in each nursery were calculated to compare that variable between nurseries.

Between January and March 2015, 30 onion seedlings located in the municipalities of Calera de V.R. and Villa de Cos, Zacatecas (6.7 and 93.3% respectively). Although no IYSV lesions were found in any of the seedlings collected, the DAS-ELISA results indicated that the pathogen was present in 90% of the seedlings visited, which may be partially caused by the seedling production system which does not prevent the infestation of the seedlings by *T. tabaci*, a vector of IYSV present in this area. On the other hand, it has been suggested that the incubation period of IYSV (from infection to expression of symptoms) is 30 days (Hsu *et al.*, 2010), which would prevent the recording of symptoms during sampling.

In addition, the practice of repeatedly cutting the foliage of the seedlings with the aim of strengthening their subterranean development could have eliminated the infected portions by preventing the symptoms from being recorded. The presence of IYSV in asymptomatic seedlings could hamper their management in onion seedlings since, generally, the producers opt to fight the vector until severe damage is observed due to their feeding habits, that is to say when

del IYSV en plántulas asintomáticas podría obstaculizar su manejo en los almácigos de cebolla ya que, generalmente, los productores optan por combatir al vector hasta que se observan daños severos por sus hábitos de alimentación, es decir cuando la transmisión y diseminación viral pudo haber alcanzado un número considerable de plántulas. Los tres almácigos sin plantas serológicamente positivas al IYSV tenían variedades o híbridos cuyo bulbo era de color blanco; es probable que una baja población natural de trips virulíferos haya sido la responsable por la baja concentración viral en esas plántulas.

La variedad Sierra Blanca se obtuvo en almácigos relativamente cercanos entre ellos en la comunidad de Sierra Vieja perteneciente al municipio de Villa de Cos, pero aislados del resto de los almácigos muestreados, por lo que presentaban una frecuencia de detección viral semejante, 73.3 y 80%. La variedad Mata Hari (cebolla morada) se muestreó en cinco almácigos en Villa de Cos y presentó un amplio rango de incidencia del patógeno, desde 13.3 hasta 73%. Estos rangos de variación en la detección del virus en una misma variedad o híbrido podrían reflejar a su vez, la variabilidad en las prácticas de manejo del trips vector del IYSV o posibles diferencias en la capacidad de transmisión del virus por los vectores causada por la disponibilidad del patógeno en maleza u otros hospederos (Cuadro 1).

La frecuencia de detección del virus osciló entre 8.3 y 100%, 60 y 80% y 23 y 96.7% en plántulas pertenecientes a los tipos de cebolla blanco, industrial (naranja o café) y morado respectivamente (Cuadro 1). El color de las hojas de las plantas de cebolla ha sido asociado con la resistencia a la infestación por trips (Díaz-Montano *et al.*, 2012), sin embargo, durante la etapa de almácigo el color del follaje no es claramente diferente entre los tipos de cebolla. Por otro lado, los productores de plántula de cebolla cortan el follaje de las plántulas a fin de produzcan más raíces; consecuentemente, el color del follaje frecuentemente es más cercano a verde pálido que podría resultar más atractivo para los vectores.

De acuerdo con Mohseni-Moghadam *et al.* (2011) se encontró una fuerte correlación entre las lecturas visuales de severidad de infección por IYSV en plantas de 13 accesiones de cebolla y las lecturas de absorbancia obtenidos por medio de ELISA, sin embargo, en el presente trabajo, donde las variables a relacionar eran la incidencia y las lecturas de absorbancia, la mayoría de éstas últimas proporcionaron amplios valores de desviación estándar que impidieron

viral transmission and dissemination could have reached a considerable number of seedlings. The three seedlings without plants serologically positive to IYSV had varieties or hybrids whose bulb was white; it is likely that a low natural population of viruliferous thrips has been responsible for the low viral concentration in these seedlings.

The Sierra Blanca variety was obtained in relatively close seedlings between them in the community of Sierra Vieja, belonging to the municipality of Villa de Cos, but isolated from the rest of the sampled seedlings, thus presenting a similar viral detection frequency, 73.3 and 80%. The Mata Hari variety (purple onion) was sampled in five seedlings in Villa de Cos and presented a wide range of pathogen incidence, from 13.3 to 73%. These ranges of variation in the detection of the virus in the same variety or hybrid could reflect, in turn, the variability in the management practices of the vector thrips of the IYSV or possible differences in the ability of virus transmission by the vectors caused by the availability of the pathogen in weeds or other hosts (Table 1).

The frequency of detection of the virus varied between 8.3 and 100%, 60 and 80%, and 23 and 96.7% in seedlings belonging to the types of white, industrial (orange or brown) and purple onion, respectively (Table 1). The leaf color of onion plants has been associated with resistance to thrip infestation (Díaz-Montano *et al.*, 2012), however, during the nursery stage the color of the foliage is not clearly different between the types of onion. On the other hand, producers of onion seedlings cut the foliage of seedlings in order to produce more roots; consequently, foliage color is often closer to pale green that might be more attractive to vectors.

According to Mohseni-Moghadam *et al.* (2011) found a strong correlation between the visual readings of IYSV infection severity in plants of 13 onion accessions and the absorbance readings obtained by means of ELISA, however, in the present work, where the variables to be related were the incidence and absorbance readings, the majority of the latter provided broad values of standard deviation that prevented a clear separation between seedlings with different incidence of IYSV, however, 20, 53.3 and 16.7% of the sampled seedlings had readings of absorbance greater than 1.31, between 0.5 and 1.3, and between 0.1 and 0.49 respectively. The mean incidence of IYSV was 55.1, 48.1 and 67.7% for those where the absorbance reading was greater than 1.31, between 0.5 and 1.3 and between 0.1 and 0.49, respectively. Coincidentally, the lowest mean absorbance value ( $0.268 \pm 0.122$ ) also obtained the lowest incidence value (8.3%)

**Cuadro 1. Frecuencia de detección del IYSV, variedad/híbrido o tipo de cebolla, lectura de absorbancia y localización de almácigos de cebolla muestreados entre enero y marzo de 2015 en Zacatecas, México.**

**Table 1. Frequency of detection of IYSV, variety/hybrid or onion type, absorbance reading and location of onion seedlings sampled between January and March 2015 in Zacatecas, Mexico.**

Almácigo	Variedad/híbrido/tipo	Frecuencia de detección del IYSV (%)	Lectura de absorbancia (nm) (media y desviación estándar)	Municipio
1	Blanca	85	1.667 ± 0.874	Calera de V. R.
2	Blanca	76.2	1.058 ± 0.628	Calera de V. R.
3	Blanca	60	0.753 ± 0.144	Villa de Cos
4	Blanca	40	0.725 ± 0.211	Villa de Cos
5	Blanca	0	-	Villa de Cos
6	Blanca	8.3	0.268 ± 0.122	Villa de Cos
7	Blanca	0	-	Villa de Cos
8	Blanca	0	-	Villa de Cos
9	Blanca	73	0.955 ± 0.353	Villa de Cos
10	Blanca	40	0.943 ± 0.195	Villa de Cos
11	Blanca	20	0.528 ± 0.022	Villa de Cos
12	Industrial	60	0.72 ± 0.203	Villa de Cos
13	Cristal	13	0.651 ± 0.214	Villa de Cos
14	Mata Hari	40	0.727 ± 0.251	Villa de Cos
15	Blanca	47	0.757 ± 0.171	Villa de Cos
16	Blanca	67	1.323 ± 0.733	Villa de Cos
17	Carta Blanca	33	1.372 ± 0.542	Villa de Cos
18	Cristal	13.3	0.61 ± 0.11	Villa de Cos
19	Mata Hari	60	0.587 ± 0.108	Villa de Cos
20	Mata Hari	73	0.859 ± 0.454	Villa de Cos
21	Industrial	80	0.95 ± 0.338	Villa de Cos
22	Blanca	100	2.238 ± 0.725	Villa de Cos
23	Blanca	45	2.514 ± 0.659	Villa de Cos
24	Mata Hari	23	0.888 ± 0.175	Villa de Cos
25	Carta Blanca	16.7	1.049 ± 0.449	Villa de Cos
26	Blanca	15	1.402 ± 0.388	Villa de Cos
27	Mata Hari	96.7	0.44 ± 0.089	Villa de Cos
28	Sierra Blanca	80	0.47 ± 0.104	Villa de Cos
29	Sierra Blanca	73.3	0.4 ± 0.054	Villa de Cos
30	Magia Blanca	80	0.426 ± 0.114	Villa de Cos

establecer una clara separación entre almácigos con diferente incidencia del IYSV, sin embargo, el 20, 53.3 y 16.7% de los almácigos muestreados presentaron lecturas de absorbancia promedio mayores de 1.31, entre 0.5 y 1.3, y entre 0.1 y 0.49 respectivamente. El promedio de incidencia del IYSV

among IYSV-positive seedlings. In general, high values of absorbance reading did not always correspond to higher values of virus detection frequency; on the contrary, it was observed that with the samples obtained in seedlings 27 to 30, where values of viral detection ranging from 73.3 to



fue de 55.1, 48.1 y 67.7% para aquellos donde la lectura de absorbancia fue mayor a 1.31, entre 0.5 y 1.3 y entre 0.1 y 0.49 respectivamente. Coincidentemente, el valor promedio de absorbancia más bajo ( $0.268 \pm 0.122$ ) también obtuvo el valor de incidencia más bajo (8.3%) entre los almácigos positivos al IYSV. En general, valores altos de la lectura de absorbancia no siempre correspondieron con valores superiores de frecuencia de detección del virus; por el contrario, se observó que con las muestras obtenidas en los almácigos 27 a 30, donde a valores relativamente bajos de la lectura de absorbancia ( $0.4 \pm 0.054$  a  $0.47 \pm 0.104$ ) correspondieron valores de detección viral que fluctuaban entre 73.3 y 96.7%; un fenómeno similar es reportado por Resende *et al.* (2000) en plantas de jitomate que mostraban síntomas ligeros de infección por Tomato spotted wilt virus (TSWV) y altos valores de absorbancia aunque en cultivares susceptibles la evolución de síntomas de TSWV se encontraba relacionada con la multiplicación viral (Cuadro 1).

## Conclusiones

El IYSV se detectó en plántulas de cebolla asintomáticas en el 90% de almácigos muestreados y establecidos en Calera de V. R. y Villa de Cos, Zacatecas. La frecuencia de detección del IYSV en esos almácigos varió entre 8.3 y 100%.

Los resultados aquí obtenidos deben confirmarse con otras técnicas, como las moleculares, sin embargo, la información recabada demuestra la factibilidad de que las plántulas producidas en los almácigos de cebolla constituyan una potencial fuente de inóculo del IYSV.

## Literatura citada

- ADíaz, M. J.; Fuchs, M.; Nault, B. A.; Shelton, A. M. 2012. Evaluation of onion cultivars for resistance to onion thrips (Thysanoptera: Thripidae) and *Iris yellow spot virus*. J. Econ. Entomol. 103:925-937.
- Gent, D. H.; Schwartz, H. F.; Khosla, R. 2004. Distribution and incidence of *Iris yellow spot virus* in Colorado and its relation to onion plant population and yield. Plant Dis. 88:446-452.
- Hsu, C. L.; Hoepfing, C. A.; Fuchs, M.; Shelton, A. M.; and Nault, B. A. 2010. Temporal dynamics of *Iris yellow spot virus* and its vector, *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae), in seeded and transplanted onion fields. Environ. Entomol. 39:266-277.
- Johansen, R. M. 2002. The Mexican *Frankliniella fusca* (Hinds), *F. pallida* (Uzel) and *F. schultzei* (Trybom) species assemblages, in the "intonsa group" (Insecta, Thysanoptera: Thripidae). Acta Zoológica Mexicana. 85:51-82.

96.7% were found at relatively low values of the absorbance reading ( $0.4 \pm 0.054$  a  $0.47 \pm 0.104$ ); a similar phenomenon is reported by Resende *et al.* (2000) in tomato plants showing slight symptoms of TSWV infection and high absorbance values, although susceptible cultivars showed TSWV symptoms to be related to viral multiplication (Table 1).

## Conclusions

The IYSV was detected in asymptomatic onion seedlings in 90% of seedlings sampled and established in Calera de V. R. and Villa de Cos, Zacatecas. The frequency of IYSV detection in these seedlings ranged from 8.3 to 100%.

The results obtained here should be confirmed by other techniques, such as molecular techniques, however, the information collected demonstrates the feasibility that the seedlings produced in onion seedlings constitute a potential source of IYSV inoculum.

*End of the English version*



- Mohseni, M. M.; Cramer, C. S.; Steiner R. L. and Creamer, R. 2011. Evaluating winter-sown onion entries for *Iris yellow spot virus* susceptibility. HortSci. 46:1224-1229.
- Osuna, C. F. J. y Ramírez, R. S. 2013. Manual para cultivar cebolla con fertirriego y riego por gravedad en el estado de Morelos. Campo Experimental Zacatepec-INIFAP. Libro Técnico Núm. 12. 155 p.
- Resende, L. V.; Maluf, W. R.; Figueira, A. dos R. and Resende, J. T. V. 2000. Correlations between symptoms and DAS-ELISA values in two sources of resistance against tomato spotted wilt virus. Braz. J. Microbiol. 31:135-139.
- Reveles, H. M., Velásquez, V. R.; Reveles, T. L. R. y Cid, R. J. A. 2014. Guía para producción de cebolla en Zacatecas. Campo Experimental Zacatecas-INIFAP. Calera de V. R., Zacatecas. México. Folleto Técnico Núm. 62. 40 p.
- Srinivasan, R.; Sundaraj, S.; Pappu, H.R.; Diffie, S.; Riley, D.G.; and Gitaitis, R.D. 2012. Transmission of *Iris yellow spot virus* by *Frankliniella fusca* and *Thrips tabaci*. J. Econom. Entomol. 105:40-47.
- Velásquez, V. R.; Mena, C. J.; Amador, R. M. D. y Reveles, H. M. 2009. El virus de la marchitez manchada del jitomate afectando chile y jitomate en Zacatecas. Campo Experimental Zacatecas-INIFAP. Aguascalientes, Aguascalientes, México. Folleto Técnico No. 20. 24 p.
- Velásquez, V. R. y Reveles, H. M. 2011. Detección del *Iris yellow spot virus* en el cultivo de cebolla en Zacatecas, México. Rev. Mex. Cienc. Agríc. 2:971-978.