

Detection of *Iris yellow spot virus* in onion plants from Tepalcingo, Morelos state, Mexico

Detección de *Iris yellow spot virus* en cebolla cultivada en Tepalcingo, Morelos, México

Sergio Ramírez-Rojas*, Katya Ornelas-Ocampo, Felipe de Jesús Osuna-Canizalez, Juan Carlos Bartolo-Reyes y Vicente Varela-Loza, Campo Experimental Zacatepec, INIFAP. Km. 0.5 Carretera Zacatepec-Galeana. C. P. 62780, Colonia Centro Zacatepec, Morelos, México. Jesús Hernández-Romano, Universidad Politécnica del Estado de Morelos. Bulevard Cuahunahuac #566, C.P. 62550, Colonia Lomas del Texcal, Jiutepec, Morelos, México. Daniel Leobardo Ochoa-Martínez, Posgrado en Fitosanidad-Fitopatología. Colegio de Postgraduados, km 36.5 carretera México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, C.P. 56230 México.

*Correspondencia: sergioinifap@yahoo.com.mx

Recibido: 01 de abril de 2016

Aceptado: 15 de junio de 2016

Ramírez-Rojas S, Ornelas-Ocampo K, Osuna-Canizalez FJ, Bartolo-Reyes JC, Varela-Loza V, Hernández-Romano J y Ochoa-Martínez DL. 2016. Detection of *Iris yellow spot virus* in onion plants from Tepalcingo, Morelos state, Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología* 34: 308-315.

DOI: [10.18781/R.MEX.FIT.1604-1](https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1604-1)

Primera publicación DOI: 16 de junio 2016

First DOI publication: June 16th, 2016

Resumen. En el estado de Morelos recientemente se han observado enfermedades virales en cebolla (*Allium cepa*); una de ellas es la mancha amarilla causada por el *Iris yellow spot virus* perteneciente a la familia *Bunyaviridae* del género *Tospovirus*, el cual se trasmite a la cebolla por *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae). En el 2012 la incidencia de esta enfermedad fue de 100 % en las 2,500 ha cultivadas en la entidad con una severidad superior a 90 %. El objetivo de este trabajo fue detectar mediante RT-PCR en tiempo real y secuen-

Abstract. In Morelos state, recently have been observed viral diseases in onion (*Allium cepa*); one of them is caused by the *Iris yellow spot virus* (IYSV) which belong to the *Bunyaviridae* family and the *Tospovirus* gender and is transmitted by *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) to onion plants. In 2012, there was a 100 % incidence of IYSV and severity of over 90 % on 2,500 ha of commercial crop. The objective of this research was to identify the presence of IYSV through real time RT-PCR and sequencing of the virus. To accomplish this, leaves were sampled from commercial fields at Tepalcingo, Morelos, from transplanting to harvest. Total RNA extraction was done with TRIzol[®] Reagent. Virus detection was done using specific primers for the nucleoprotein gen of IYSV giving as a result the amplification of a specific product through real-time RT-PCR, and an expected strip of 896 bp, which after sequencing confirmed 99 % identity with the nucleoprotein gen of the virus. The IYSV virus was detected in onion plants from Tepalcingo, Morelos and the sequence

ciar la presencia de IYSV. Para su identificación se tomaron muestras de hojas de cebolla con manchas amarillentas alargadas, desde el trasplante hasta la cosecha en Tepalcingo, Morelos. La extracción de ARN total se realizó utilizando TRIzol® Reagent. La detección del virus se realizó con primers específicos al gen de la nucleoproteína de IYSV dando como resultado la amplificación de un producto específico mediante RT-PCR en tiempo real y una banda esperada de 896 pb la cual mediante secuenciación confirmó 99 % de identidad con el gen de la nucleoproteína de este virus. El IYSV fue detectado en plantas de cebolla en Tepalcingo, Morelos y su secuencia se registró en la base de datos del GenBank (JX946658).

Palabras clave: RT-PCR en tiempo real, *Tospovirus*, *Thrips tabaci*, Mancha amarilla de la cebolla.

La cebolla es un cultivo de importancia económica del cual se cosechan anualmente 53 millones de toneladas de bulbos de los casi 3 millones de hectáreas sembradas en todo el mundo (Gent *et al.*, 2006). En Latinoamérica, México es el mayor productor de cebolla con 77,328 t cosechadas en 7,400 ha; además, es el décimo exportador a nivel mundial (FAO, 2011). Es el quinto cultivo más importante de las hortalizas; en Morelos se cosecha 10 % de la superficie sembrada en el país, lo que lo convierte en el cuarto mayor productor a nivel nacional (SIAP, 2012).

Entre las enfermedades que afectan al cultivo se encuentran las de índole viral, especialmente el *Iris yellow spot virus* (IYSV) (Gent *et al.*, 2006).

El IYSV infecta a varias especies del género *Allium* incluyendo a la cebolla (*Allium cepa*) causando la mancha amarilla de la cebolla. Este virus pertenece al género *Tospovirus* de la familia *Bunyaviridae* (Gent *et al.*, 2006). Su presencia se ha detectado desde 1981 en Brasil y Estados Unidos

obtainado was registered in the database of the GenBank (JX946658).

Additional Keywords: Real time RT-PCR, *Tospovirus*, *Thrips tabaci*, Onion yellow spot.

The onion plant is an economically important plant, with 53 million tons of bulbs harvested from the nearly 3 million hectares planted worldwide (Gent *et al.*, 2006). In Latin America, Mexico is the largest onion producer with 77,328 t harvested in 7,400 ha; it is also the tenth exporter worldwide (FAO, 2011). It is the fifth most important vegetable crop; in Morelos, 10 % of the country's production is harvested, which makes it the fourth largest producer on a national scale (SIAP, 2012).

Some of the diseases that affect the crop include viral diseases, particularly the *Iris yellow spot virus* (IYSV) (Gent *et al.*, 2006).

The IYSV infects various species of the genus *Allium*, including onions (*Allium cepa*), causing the onion yellow spot. This virus belongs to the genus *Tospovirus* of the family *Bunyaviridae* (Gent *et al.*, 2006). Its presence has been detected since 1981 in Brazil and the United States (Cortês *et al.*, 1998.). IYSV has extended to important onion-producing regions worldwide (Bulajić *et al.*, 2009; Córdoba *et al.*, 2005; Du Toit *et al.*, 2004; Gent *et al.*, 2006; Gera *et al.*, 2004; Nischwitz *et al.*, 2007; Pozzer *et al.*, 1999; Schwartz *et al.*, 2002; Smith *et al.*, 2006).

In Mexico this virus has been identified in onion plantations and greenhouses in Zacatecas (Velásquez and Reveles, 2011; Velásquez *et al.*, 2016).

IYSV is transmitted by *Thrips tabaci*, main pest of this crop (Riley *et al.*, 2011). Kritzma *et al.* (2001) found a relation between the populations of *T. tabaci* and the incidence of infection of IYSV, and showed that the highest concentrations of the virus are near the neck of the plant, which is the site

(Cortês *et al.*, 1998.). El IYSV se ha propagado a importantes regiones productoras de cebolla a nivel mundial (Bulajić *et al.*, 2009; Córdoba *et al.*, 2005; Du Toit *et al.*, 2004; Gent *et al.*, 2006; Gera *et al.*, 2004; Nischwitz *et al.*, 2007; Pozzer *et al.*, 1999; Schwartz *et al.*, 2002; Smith *et al.*, 2006).

En México este virus se ha identificado en plantaciones y viveros de cebolla de Zacatecas (Velásquez y Reveles, 2011; Velásquez *et al.*, 2016).

El IYSV es transmitido por *Thrips tabaci*, principal plaga de este cultivo (Riley *et al.*, 2011). Kritzman *et al.* (2001) encontraron una relación entre las poblaciones de *T. tabaci* y la incidencia de la infección de IYSV, y demostraron que las concentraciones más elevadas del virus están en el área cercana al cuello de la planta, el cual es el sitio de alimentación y protección de trips.

La incidencia de IYSV aumenta después de la iniciación de la formación del bulbo con un incremento de 40 % comparado con 3 % antes de esta etapa (Fichtner *et al.*, 2004; Hammon 2004), y a menudo alcanza niveles de 50 a 60 % (Kritzman *et al.*, 2001), en países como Brasil ha llegado a niveles de 100 % provocando pérdidas totales de producción tanto de semilla como de bulbos (Pozzer *et al.*, 1999).

El daño causado por el virus propicia el secado del follaje y la detención del crecimiento de los bulbos. Por lo tanto, el principal impacto económico de esta enfermedad está asociado con la reducción del tamaño de bulbo y en consecuencia la disminución del rendimiento (Gent *et al.*, 2004). Además, la infección hace más susceptible a la planta de cebolla a condiciones adversas como sequía, exceso de riego, temperaturas altas, daño de minadores y trips, entre otros (Velásquez *et al.*, 2016).

En México, el cultivo de esta hortaliza se realiza en dos ciclos agrícolas, el más importante es el de otoño-invierno donde se obtiene 60 % de la producción total, pero los síntomas de IYSV han sido observados en los dos ciclos mencionados (Osuna

for the feeding and protection of thrips.

The incidence of IYSV increases after the bulb begins to form, by 40 %, compared with 3 % before this stage (Fichtner *et al.*, 2004; Hammon 2004), and it often reaches levels of 50 to 60 % (Kritzman *et al.*, 2001). In countries such as Brazil it has reached levels of 100 % causing complete losses of both seeds and bulbs (Pozzer *et al.*, 1999).

The damage caused by the virus leads to the drying of the leaves and stops bulb growth. Therefore, the main economic impact of this is related to the reduction in bulb size and consequently the reduction of yield (Gent *et al.*, 2004). Likewise, the infection makes the onion plant more vulnerable to adverse conditions such as drought, excess irrigation, high temperatures, damage of leaf miners and thrips, and others (Velásquez *et al.*, 2016).

In Mexico, this plant is produced in two agricultural cycles, the most important of which is autumn-winter, in which 60 % of the total production is obtained, although the symptoms of IYSV have been observed in the two cycles mentioned (Osuna and Ramírez, 2013). The aim of this study was to detect the presence of IYSV, using RT-PCR in real time, in onion plants from Tepalcingo, Morelos

RNA extraction was performed on a total of five onion plants in the phase of bulb formation with symptoms attributed to IYSV, as observed in Figure 1, using TRIzol[®] Reagent (Invitrogen). The cDNA synthesis was carried out using 1 µg of total RNA with the package QuantiTect Reverse Transcription kit[®] (QIAGEN) using primers IYSV-465c and IYSV-239f, specific for the detection of IYSV (Pappu *et al.*, 2008). The reaction of PCR in real time was carried out using the package QuantiFast[®] SYBR[®] Green PCR (QIAGEN) with 10 ng of cDNA. Each sample was analyzed three times. The real time PCR program consisted of an initial step at 95 °C for 10 min, followed by 40 cycles with

y Ramírez, 2013). El objetivo del presente trabajo fue detectar la presencia de IYSV, mediante RT-PCR en tiempo real, en plantas de cebolla provenientes de Tepalcingo, Morelos.

Se realizó la extracción de RNA total a cinco plantas de cebolla en la fase de formación de bulbo con síntomas atribuidos a IYSV, como se observa en la Figura 1, utilizando TRIzol® Reagent (Invitrogen). La síntesis de cDNA se llevó a cabo con 1 µg de RNA total con el paquete QuantiTect Reverse Transcription kit® (QIAGEN) utilizando los iniciadores IYSV-465c e IYSV-239f, específicos para la detección de IYSV (Pappu *et al.*, 2008). La reacción de PCR en tiempo real se realizó con el paquete QuantiFast® SYBR® Green PCR (QIAGEN) con 10 ng de cDNA. Cada muestra se analizó por triplicado. El programa de PCR en tiempo real consistió de un paso inicial a 95 °C durante 10 min, seguido de 40 ciclos con tres pasos: 95 °C 10 s, 61 °C 15 s, 72 °C 10 s. La ganancia de optimización fue registrada entre los 72 y 95 °C para la curva de disociación. La secuenciación parcial del gen N de la nucleoproteína se realizó utilizando los iniciadores IYSV917L e IYSV56U (Robène-Soustrade *et al.*, 2006). El programa CLC Sequence Viewer 6.7 se utilizó para realizar el análisis filogenético entre la secuencia parcial del gen de la nucleoproteína de IYSV identificada en Tepalcingo, Morelos, con otras muestras reportadas en las bases de datos del GenBank NCBI (National Center for Biotechnology Information). El análisis se realizó con el algoritmo UPGMA con 100 repeticiones.

Los síntomas encontrados en los cultivos de cebolla relacionados con IYSV fueron manchas cloróticas, amarillentas o blancas, secas y alargadas. Las hojas maduras con los síntomas antes descritos presentaban manchas alargadas de diferentes tamaños, las cuales ocuparon hasta 70 % de su superficie (Figura 1).

Para confirmar la presencia del IYSV, se hizo PCR en tiempo real en plantas con síntomas, obte-

three steps: 95 °C 10 s, 61 °C 15 s, 72 °C 10 s. The increase in optimization was registered between 72 and 95 °C for the dissociation curve. The partial sequencing of the gene N of the nucleoprotein was carried out using the primers IYSV917L and IYSV56U (Robène-Soustrade *et al.*, 2006). The program CLC Sequence Viewer 6.7 was used to carry out the phylogenetic analysis between the partial sequence of the gene of the nucleoprotein of IYSV identified in Tepalcingo, Morelos, with other samples reported in the databases of the GenBank NCBI (National Center for Biotechnology Information). The analysis was carried out using the algorithm UPGMA with 100 replications.

The symptoms found in the onion crops related to IYSV were yellow or white chlorotic spots, dry and long. Mature leaves with these symptoms presented long spots of different sized, which covered up to 70 % of their surface (Figure 1).

To confirm the presence of the IYSV, a PCR was carried out in real time on plants with symptoms, obtaining a specific amplification (Figure 2A). The dissociation analysis showed only one peak which corresponded to the amplification of a fragment of a gene of the nucleocapsid of the virus (Figure 2B), which shows that the amplification was specific to this test.

The sequence of the gene of the nucleocapsid of the IYSV detected in onion plants was registered in GenBank with the access number JX946658. The homology analysis confirmed a 99 % identity with previously reported sequences of the gene of the nucleoprotein of the IYSV. The phylogenetic analysis showed that the virus in Tepalcingo, Morelos (JX946658) has a higher similarity with those reported in Europe and Asia. The analysis shows that there is no association between the sequence of the virus and its geographic location, which limits its traceability (Figure 3). The viral genomes of RNA naturally present a high mutation rate during the replication process (Elena *et al.*,



Figura 1. Síntomas asociados a la infección por *Iris yellow spot virus* en plantas de cebolla: a) y b) manchas cloróticas al inicio de la infección; c) manchas alargadas de color pajizo; d) coalescencia de lesiones principalmente en la base de las hojas.

Figure 1. Symptoms related to the infection by *Iris yellow spot virus* in onion plants: a) and b) chlorotic spots in early stages of the infection; c) long hay-colored stains; d) coalescence of damages, mainly on the base of the leaves.

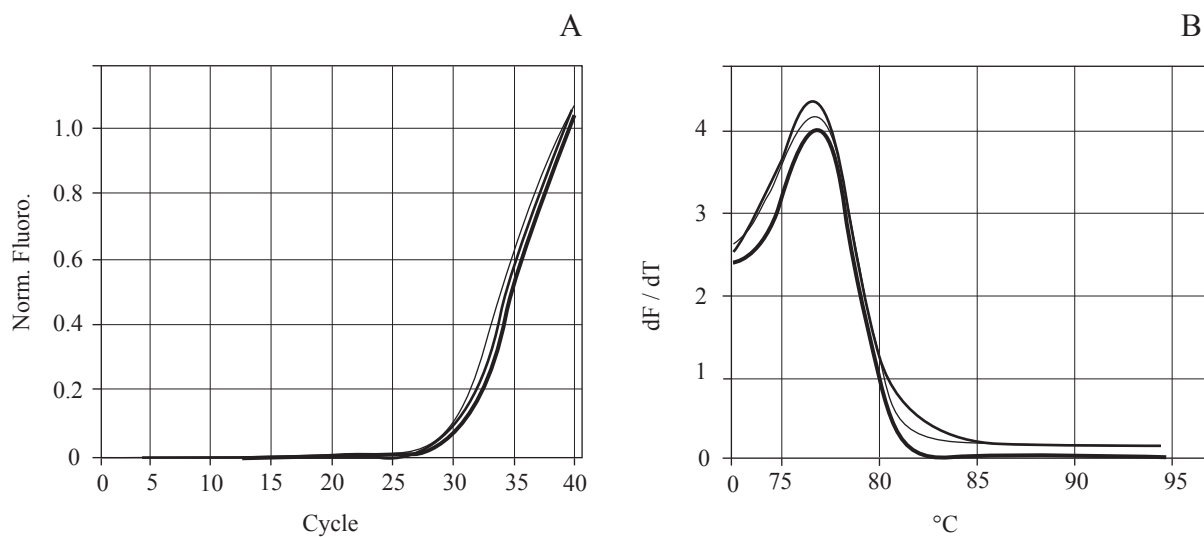


Figura 2. Detección de *Iris yellow spot virus* (IYSV) por PCR en tiempo real. A. Amplificación de un fragmento del gen de la nucleocápside del virus, a partir de lesiones en hojas de cebolla. B. Curva de disociación específica de la amplificación del gen de la nucleocápside del mismo virus.

Figure 2. Detection of the *Iris yellow spot virus* (IYSV) by PCR in real time. A. Amplification of a fragment of the gene of the nucleocapsid of the virus, from damages in onion leaves. B. Specific dissociation curve of the amplification of the gene of the nucleocapsid of the same virus.

niéndose una amplificación específica (Figura 2A). El análisis de disociación mostró un solo pico correspondiente a la amplificación de un fragmento del gen de la nucleocápside del virus (Figura 2B), lo cual demuestra que la amplificación fue específica para esta prueba.

La secuencia del gen de la nucleocápside del IYSV detectado en las plantas de cebolla, fue registrada en GenBank con el número de acceso JX946658. Mediante el análisis de homología se confirmó 99 % de identidad con secuencias previamente reportadas del gen de la nucleoproteína de IYSV. El análisis filogenético mostró que el aislamiento del virus en Tepalcingo, Morelos (JX946658) tiene mayor similitud con los reportados en Europa y Asia. El análisis muestra que no existe una asociación entre la secuencia del virus y su origen geográfico lo que limita su rastreabilidad (Figura 3). De manera natural los genomas virales de RNA presentan alta tasa de mutación durante el proceso de replicación (Elena *et al.*, 2008). Sin embargo, hasta ahora el análisis global de IYSV muestra un flujo de genes restringido debido al confinamiento geográfico dando como resultado dos genotipos, IYSV-NL e IYSV-BR, siendo el primero hasta ahora el único presente en América, mientras que el segundo se encuentra principalmente en aislamientos asiáticos (Iftikhar *et al.*, 2014).

De acuerdo con Pappu *et al.* (2008), se ha comprobado que la técnica de RT-PCR en tiempo real es una técnica rápida y altamente confiable para detectar la presencia de IYSV en cebolla.

CONCLUSIONES

Se comprobó la presencia de IYSV en plantas de cebolla cultivadas en Tepalcingo, Morelos mediante RT-PCR en tiempo real.

Agradecimientos

A los productores de cebolla de Morelos, México y al proyecto apoyado por FOMIX MOR-2010-01 clave 148902.
VOLUMEN 34, NÚMERO 3, 2016

2008). However, the global IYSV analysis has so far shown a restricted gene flow due to the geographic confinement, giving two genotypes as a result: IYSV-NL and IYSV-BR, the former being, up to now, the only one present in the American continent, whereas the latter is found mainly in Asian isolations (Iftikhar *et al.*, 2014).

According to Pappu *et al.* (2008), the RT-PCR technique in real time has been proven to be quick and highly efficient to detect the presence of IYSV in onions.

CONCLUSIONES

The presence of IYSV was verified in onion plants grown in Tepalcingo, Morelos by RT-PCR in real time.

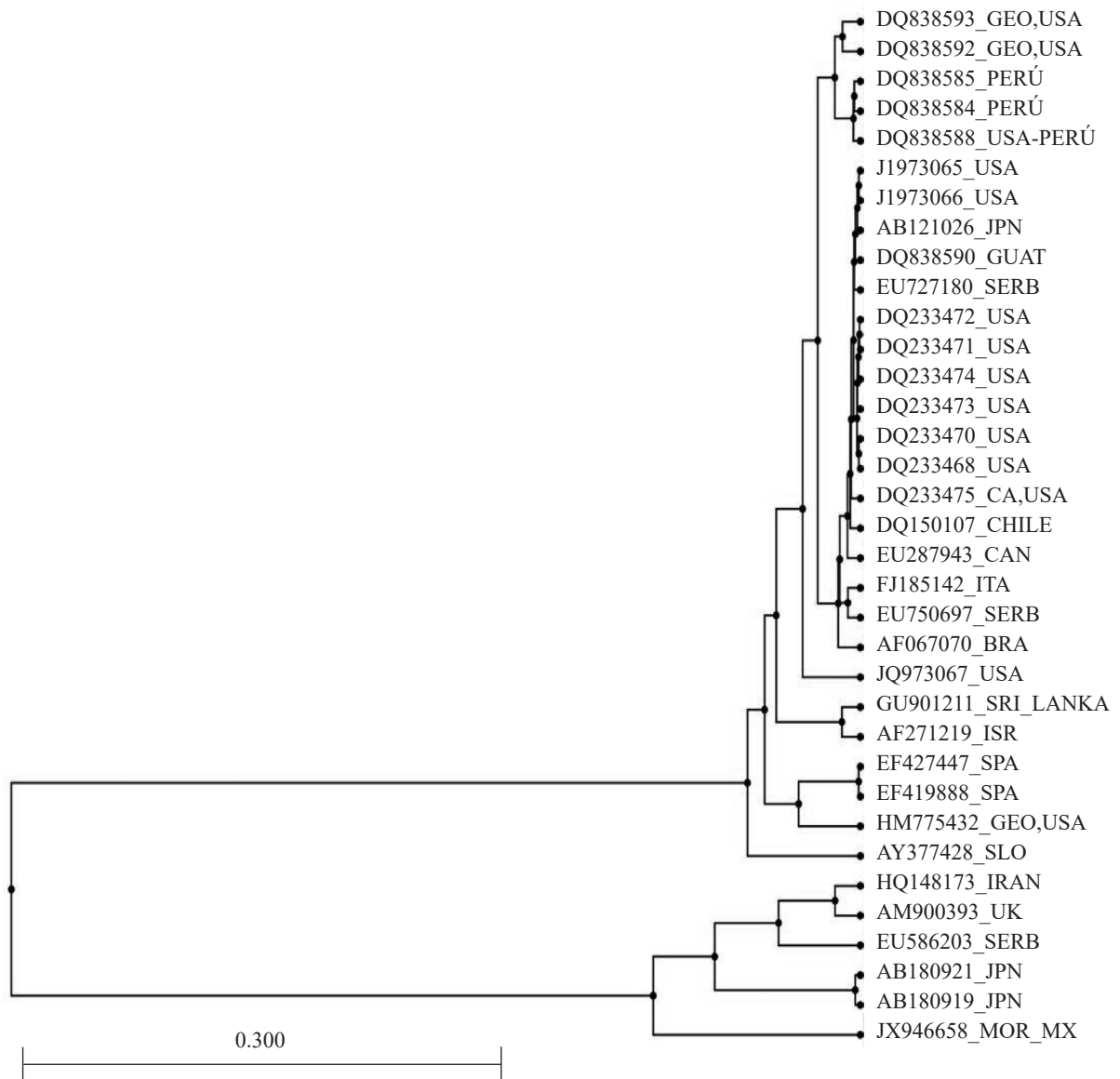
ACKNOWLEDGEMENT

To the onion farmers in Morelos, Mexico and the project supported by FOMIX MOR-2010-01 code 148902.

~~~~~ End of the English version ~~~~~

## LITERATURA CITADA

- Bulajić, A., Djekić, I., Jović, J., Krnjajić, S., Vučurović, A., and Krstić, B. 2009. Incidence and distribution of *Iris yellow spot virus* on onion in Serbia. *Plant Dis.* 93:976-982. <http://dx.doi.org/10.1094/pdis-93-10-0976>
- Córdoba, S.; L. Martínez P.; R. M. Muñoz G.; M. L. Lerma T.; C. J. G. 2005. *Iris yellow spot virus* (IYSV): A new virus disease in the spanish onions. *Bol. San. Veg. Plagas*, 31: 425-430. <http://dx.doi.org/10.1094/pd-89-1243a>
- Cortés, I., Livieratos, I. C., Derks, A., Peters, D., and Kormelink, R. 1998. Molecular and serological characterization of iris yellow spot virus, a new and distinct *tospovirus* species. *Phytopathology* 88:1276-1282. <http://dx.doi.org/10.1094/phyto.1998.88.12.1276>
- Du Toit, L. J., Pappu, H. R., Druffel, K. L., Pelter, G. Q. 2004. Iris yellow spot virus in onion bulb and seed crops in Washington. *Plant Dis.* 88:222. <http://dx.doi.org/10.1094/pdis.2004.88.2.222a>



**Figura 3.** Relaciones filogenéticas de las secuencias registradas de *Iris yellow spot virus* en el GeneBank de diferentes partes del mundo, con respecto a la secuencia obtenida en plantas de cebolla de Morelos, México (JX946658\_IYSV\_MEX).

**Figure 3.** Phylogenetic relations of the *Iris yellow spot virus* sequences registered in the GeneBank of different parts of the world, in regard to the sequence obtained in onion plants from Morelos, Mexico (JX946658\_IYSV\_MEX).

Elena, S. F., Agudelo R. P., Carrasco P., Codoner F. M., Martin S., Torres B. C., and Sanjuán R. (2008). Experimental evolution of plant RNA viruses. *Heredity*, 100(5), 478-483. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.hdy.6801088>

Fichtner, S. M., Gent, D. H., Schwartz, H. F., Cranshaw, W. S., Mahaffey, L., and Khosla, R. 2004. Geospatial relationships of *Iris yellow spot virus* and thrips to onion production in Colorado. Pages 149-151 in: *Proc. Natl. Allium Res.*

Conf., Grand Junction, CO. Colorado State University, Fort Collins. <http://dx.doi.org/10.1094/php-2010-0820-01-rs>

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), FAOSTAT consultado en el año 2011. Disponible en línea: <http://faostat.fao.org/>

Gent, D. H., Du Toit, L. J., Fichtner, S. F., Krishna Mohan, S.,

- Pappu, H. R. and Schwartz, H. F. 2006. *Iris yellow spot virus*: an emerging threat to onion bulb and seed production. *Plant Dis.* 90:1468–1480. <http://dx.doi.org/10.1094/pd-90-1468>
- Gent, D. H., Schwartz, H. F., and 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. <http://dx.doi.org/10.1094/pdis.2004.88.5.446>
- Gera, A., Cohen, J., Salomon, R. and Racciah, B. 2004. *Iris Yellow Spot Tospovirus* detected in Onion (*Allium cepa*) in Israel. *Plant Dis.* 82:127. <http://dx.doi.org/10.1094/pdis.1998.82.1.127b>
- Hammon, R. 2004. Managing Thrips in western Colorado onions. Page 107 in: Proc. 2004 Natl. *Allium* Res. Conf., Grand Junction, CO. Colorado State University, Fort Collins. Disponible en línea: <http://www.colostate.edu/Orgs/VegNet/Resources/2009%20Straw%20Mulch.pdf>
- Iftikhar, R., Ramesh S. V., Bag S., Ashfaq M., and Pappu, H. R. 2014. Global analysis of population structure, spatial and temporal dynamics of genetic diversity, and evolutionary lineages of *Iris yellow spot virus* (Tospovirus: Bunyaviridae). *Gene*, 547(1), 111-118. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2014.06.036>
- Kritzman, A., Lampel, M., Racaah, B., and Gera, A. 2001. Distribution and transmission of *Iris yellow spot virus*. *Plant Dis.* 85:838-842. <http://dx.doi.org/10.1094/pdis.2001.85.8.838>
- Nischwitz, C., Pappu, H. R., Mullis, S. W., Sparks A. N., Langston, D. R., Csinos A. S. and Gitaiti, R. D. 2007. Phylogenetic Analysis of *Iris yellow spot virus* Isolates from Onion (*Allium cepa*) in Georgia (USA) and Peru. *J. Phytopathology* 155, 531–535. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0434.2007.01272.x>
- Osuna C. F.J. y Ramírez R. S. 2013. Manual para cultivar cebolla con fertirriego y riego por gravedad en el estado de Morelos. SAGARPA. INIFAP. CIRPAS. Campo Experimental Zacatepec. Libro Técnico No. 12. 155 p. Disponible en línea: [https://www.researchgate.net/profile/Felipe\\_Osuna3/publication/279852442\\_Manual\\_para\\_cultivar\\_cebolla\\_con\\_fertirriego\\_y\\_riego\\_por\\_gravedad\\_en\\_el\\_estado\\_de\\_Morelos/links/559c166208ae898ed650fe32.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Felipe_Osuna3/publication/279852442_Manual_para_cultivar_cebolla_con_fertirriego_y_riego_por_gravedad_en_el_estado_de_Morelos/links/559c166208ae898ed650fe32.pdf)
- Pappu, H. R., Rosales, I. M., and Druffel, K. L. 2008. Serological and molecular assays for rapid and sensitive detection of *Iris yellow spot virus* infection of bulb and seed onion crops. *Plant Dis.* 92:588-594. <http://dx.doi.org/10.1094/pdis-92-4-0588>
- Pozzer, L., Bezerra, I. C., Kormelink, R., Prins, M., Peters, D., Resende, R. de O., and de Ávila, A. C. 1999. Characterization of a *tospovirus* isolate of *Iris yellow spot virus* associated with a disease in onion fields in Brazil. *Plant Dis.* 83:345-350. <http://dx.doi.org/10.1094/pdis.1999.83.4.345>
- Riley, D. G., Joseph, S. V., Srinivasan, R., and Diffie, S. (2011). Thrips vectors of tospoviruses. *Journal of Integrated Pest Management*, 2(1), 1-10. <http://dx.doi.org/10.1603/ipmap10020>
- Robène, S. I., Hostachy B, Roux, C. M., Minatchy, J., Hédont, M., Pallas, R., Couteau, A., Cassam, N., Wuster, G., 2006. First report of *Iris yellow spot virus* in onion bulb and seed production fields in Reunion Island. *Plant Pathology* 55, 288. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3059.2005.01262.x>
- Schwartz, H. F., Brown, W. M., Blunt, T., Gent, D. H. 2002. *Iris yellow spot virus* on onion in Colorado. *Plant Dis.* 86:560. <http://dx.doi.org/10.1094/pdis.2002.86.5.560d>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Cierre de la producción agrícola por cultivo. consultado en el año 2012. Disponible en línea: [http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com\\_wrapper&view=wrapper&Itemid=350](http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=350)
- Smith, T. N., Wylie, S. J., Coutts, B. A., and Jones, R. A. C. 2006. Localized distribution of *Iris yellow spot virus* within leeks and its reliable large-scale detection. *Plant Dis.* 90:729-733. <http://dx.doi.org/10.1094/pd-90-0729>
- Velásquez V. R. y Reveles H. M., 2011. Detección del *Iris yellow spot virus* en el cultivo de cebolla en Zacatecas, México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 2(6), 971-978. Disponible en línea: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-09342011000600013&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-09342011000600013&script=sci_arttext)
- Velásquez V. R., Reveles T. L. R., Salas M. S., Mauricio C. J. A., and Pappu, H. R. 2016. First Confirmed Report of *Iris yellow spot virus* in Onion Nurseries in Zacatecas, México. *Plant Dis.* <http://dx.doi.org/10.1094/pdis-01-16-0061-pdn>