

FITOPLASMAS: OTROS AGENTES FITOPATÓGENOS

Luis Roberto Reveles-Torres
Rodolfo Velásquez-Valle
Jorge Armando Mauricio-Castillo



SECRETARIA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACIÓN

LIC. ENRIQUE MARTÍNEZ Y MARTÍNEZ

Secretario

LIC. JESÚS AGUILAR PADILLA

Subsecretario de Agricultura

PROF. ARTURO OSORNIO SÁNCHEZ

Subsecretario de Desarrollo Rural

M.C. RICARDO AGUILAR CASTILLO

Subsecretario de Alimentación y Competitividad

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES, AGRÍCOLAS Y PECUARIAS

DR. PEDRO BRAJCICH GALLEGOS

Director General

DR. MANUEL RAFAEL VILLA ISSA

Coordinación de Investigación, Innovación y Vinculación

MSc. ARTURO CRUZ VÁZQUEZ

Coordinador de Planeación y Desarrollo

MTR. EDUARDO FRANCISCO BERTERAME BARQUÍN

Coordinador de Administración y Sistemas del INIFAP

CENTRO DE INVESTIGACIÓN REGIONAL NORTE CENTRO

DR. HOMERO SALINAS GONZÁLEZ

Director Regional

DR. URIEL FIGUEROA VIRAMONTES

Director de Investigación

DR. HÉCTOR MARIO QUIROGA GARZA

Director de Planeación y Desarrollo

ING. HÉCTOR MANUEL LOPEZ PONCE

Director de Administración

DR. FRANCISCO ECHAVARRÍA CHÁIREZ

Director de Coordinación y Vinculación en Zacatecas

FITOPLASMAS: OTROS AGENTES FITOPATÓGENOS

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y
Pecuarias
Progreso No. 5, Barrio de Santa Catarina
Delegación Coyoacán
México, D.F.
C.P. 04010 México, D.F.
Teléfono (55) 3871-8700

ISBN: 978-607-37-0306-2

Primera Edición: Octubre 2014

No está permitida la reproducción total o parcial de esta publicación, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, fotocopia o por registro u otros métodos, sin el permiso previo y por escrito a la institución.

Cita correcta:

Reveles-Torres L.R., Velásquez-Valle, R., y Mauricio-Castillo, J.A. 2014. Fitoplasmas: Otros agentes fitopatógenos. Folleto Técnico Núm 56. Campo Experimental Zacatecas. CIRNOC – INIFAP, 41 páginas.

CONTENIDO

Introducción	1
Historia de los fitoplasmas	2
Importancia de los fitoplasmas	3
Características de los fitoplasmas	5
Clasificación de los fitoplasmas	7
Los fitoplasmas son patógenos intracelulares de plantas e insectos	13
Diseminación sistémica de fitoplasmas en las plantas...	14
Fitoplasmas microorganismos invasores de insectos	15
La infección por fitoplasmas altera los procesos de desarrollo vegetal	18
Sintomatologías en especies hortícolas	21
Distribución	23
Especificidad de fitoplasmas en los hospedantes	25
Nuevos Fitoplasmas	26
Control de Enfermedades	29
Importancia de la maleza como reservorios de fitoplasmas y refugio de vectores	30
Literatura citada	33

FITOPLASMAS: OTROS AGENTES FITOPATÓGENOS

*Luis Roberto Reveles-Torres¹
Rodolfo Velásquez-Valle¹
Armando Mauricio-Castillo²*

INTRODUCCIÓN

Desde hace muchos años se habían observado enfermedades en diversas plantas, caracterizadas por la manifestación de un conjunto de síntomas entre los que destacan el amarillamiento foliar, el reverdecimiento de las estructuras florales que tomaban el aspecto de hojas, la proliferación exagerada de brotes y el raquitismo o enanismo de la planta.

Sin evidencias concretas, en un principio se pensó que los causantes de estos síntomas eran virus fitopatógenos. Los experimentos dirigidos a esclarecer la identidad del agente causal fallaron hasta 1967, en esta fecha un grupo de investigadores japoneses observaron, mediante microscopía electrónica cortes ultra finos de tejido del floema de plantas que manifestaban amarillamiento, organismos amorfos no helicoidales y carentes de pared celular, que fueron llamados en un principio “Organismos Parecidos a los Micoplasmas” (Mycoplasma like-organisms o MLO’s) (Doi *et al.*, 1967). Esta denominación se mantuvo hasta 1994 cuando fue propuesto el término actual de Fitoplasmas para designar a estos fitopatógenos que diferían sustancialmente de otros

¹ Investigadores de los Programas de Biología Molecular y Fitopatología del Campo Experimental Zacatecas, respectivamente. ² Investigador de la “Unidad Académica de Agronomía” de la Universidad Autónoma de Zacatecas.

grupos dentro de la clase "Mollicutes", que reúne a los procariotas sin pared celular.

Es común pensar que entre los fitoparásitos microscópicos se encuentran los virus, las bacterias y los hongos. Sin embargo aunque los fitoplasmas en realidad son bacterias por ser organismos procarióticos, difieren en gran medida de ellas por no poseer una pared celular, ser de un tamaño mucho menor, por ser imposibles de aislar y cultivarse en medios artificiales, habitar de forma intracelular como patógeno al igual que los virus, y entre otras características no compartidas lo que hacen que se genere la atención implícita de que estos micro organismos, sean considerados como un grupo distintivo más de agentes causantes de enfermedades vegetales.

HISTORIA DE LOS FITOPLASMAS

Las enfermedades denominadas como amarillamientos se conocen desde principios de 1900. Una de esas enfermedades, el "amarillamiento del aster", fue reportada por primera vez en 1902 (Kunkel, 1926). Antes de 1967, los fitopatólogos creían que era de origen viral, ya que no se podía cultivar en medios artificiales y pasaban por un filtro, característica peculiar de los virus. Sin embargo, en este año (Doi *et al.*) se descubrió que las partículas en cortes ultrafinos del floema de las plantas afectadas por amarillamientos, incluyendo el "amarillamiento del aster" se parecían a los micoplasmas de animales y humanos. Estos agentes asociados con los amarillamientos vegetales eran pleomórficos, con un tamaño similar a los de micoplasmas; carecían de paredes celulares rígidas, estaban rodeados por una membrana de una sola unidad, y eran sensibles a los antibióticos como la tetraciclina.

Los hallazgos de Doi y sus colaboradores (1967) fueron consistentes con la naturaleza de los agentes bacterianos que carecen de paredes celulares, y ello dio lugar a un cambio drástico en la percepción de la etiología de muchas enfermedades por amarillamientos. De 1967 a 1994, se utilizó el término "organismos parecidos a los micoplasmas" ó MLOs para referirse a los presuntos agentes causales de muchas de estas enfermedades (Lee y Davis, 1992). En 1994, el nombre vulgar de "fitoplasma" fue adoptado por el Equipo de Trabajo de fitoplasma en el *10° Congreso de la Organización Internacional de Micoplasmología*, sustituyendo el término anterior.

IMPORTANCIA DE LOS FITOPLASMAS

Cientos de especies de vegetales son afectadas por los fitoplasmas. El impacto económico de su infección sobre diversos cultivos se extiende a diversas áreas geográficas; en Australia se reportan pérdidas en el rendimiento entre un 13 y 54 % en viñedos severamente afectados por fitoplasmas, Europa reporta incidencias de estas enfermedades en el cultivo de la papa de un 86 % con considerables pérdidas en el rendimiento agrícola; particularmente en Francia se reportaron en ciertas parcelas afectaciones entre el 30 y el 90 % de las plantas de tabaco en ciertas parcelas, durante los años de mayor incidencia (Costanzo, 2012).

Entre las enfermedades económicamente más importantes causadas por fitoplasmas se encuentran las del tipo de "amarillamiento del áster" que se producen en una amplia gama de cultivos, tales como papa, zanahoria, maíz, tomate, cebolla, chile, y flores de todo el mundo. En frutales, se encuentran las enfermedades del durazno de los Estados Unidos, las enfermedades de declinamiento de la manzana, enanismo

amarillo de la pera y las enfermedades de la vid que se producen en todo el mundo. Las enfermedades de la caña de azúcar y gramíneas como el arroz enano amarillo, hoja blanca de la caña de azúcar y pasto elefante que se producen en el este de África y Asia. La escoba de bruja de la papa y maíz, y las enfermedades del enanismo arbustivo son frecuentes en América Central y Sudamérica; el amarillamiento letal del cocotero y otras enfermedades parecidas, se producen en el Caribe, América Central, ya lo largo de regiones crecientes de África (Dickinson y Hodgetts, 2012).

Durante la última década, las investigaciones han arrojado nuevos conocimientos sobre la interacción entre las plantas y los insectos vectores de patógenos como los fitoplasmas. También se han establecido las distribuciones geográficas de éstos y las relaciones filogenéticas entre diferentes fitoplasmas. En gran parte, este progreso es el resultado del desarrollo y uso de métodos moleculares para detectar, identificar y clasificar a estos patógenos. Si bien estos avances siguen, las investigaciones sobre el genoma de los fitoplasmas recientemente han comenzado. ¿Cómo los fitoplasmas causan la enfermedad?, ¿Cómo utilizan a sus vectores?, ¿Existen diferentes cepas o especies causantes de diferentes enfermedades de las plantas? y ¿Cuáles son los fenómenos moleculares / genéticos que subyacen en el desarrollo de los síntomas en las plantas? han sido las principales preguntas de las que se han obtenido respuestas. Estos y otros avances recientes están sentando las bases para futuros progresos en la comprensión de los mecanismos de patogenicidad del fitoplasma, la organización de su genoma, la evolución de nuevas cepas de fitoplasmas y la aparición de nuevas enfermedades, las bases de la transmisibilidad a través de insectos y la especificidad de la transmisión,

y la expresión de genes de plantas en respuesta a la infección por los fitoplasmas, así como el diseño de nuevos enfoques para lograr el manejo eficaz de las enfermedades causadas por estos microorganismos.

CARACTERÍSTICAS DE LOS FITOPLASMAS

Los fitoplasmas son microorganismos pleomórficos, es decir, sin ninguna forma bien definida (Figura 1). Se diferencian de las bacterias en que no tienen pared celular verdadera y disponen sólo de una simple membrana como cubierta (Bertaccini *et al.*, 2005). Su diámetro varía ampliamente; cuerpos que miden desde 50 hasta más de 1,000 nm se han hallado en la mayoría de las enfermedades de este tipo (Lee y Davis, 1992; Lee *et al.*, 2000) (Figura 2). Los fitoplasmas están limitados al hábitat intracelular. En las plantas se localizan en el floema donde tienen la capacidad de pasar a través de los poros de las células cribosas y colonizar lentamente toda la planta (Whitcomb y Tully, 1989). Los fitoplasmas son los procariontes más pequeños capaces de replicación autónoma (Figura 2); estos organismos aparentemente se propagan por fisión binaria, gemación o fragmentación. Los cuerpos de los fitoplasmas contienen un enrejado fibrilar de hebras, que se supone son ADN, y áreas con gránulos semejantes a ribosomas (Doi *et al.*, 1967). Se alojan y multiplican en los tubos cribosos del floema; dado que los fitoplasmas no tienen la capacidad genética de sintetizar todos los nutrientes necesarios para su metabolismo, éstos los adquieren de estas células vegetales los cuales, al obturarse, provocan diversos desarreglos en la planta infectada como son amarillamientos, clorosis, marchitez, enanismo, proliferación de yemas etc. (Weintraub y Jones, 2010). Los fitoplasmas son muy específicos y, normalmente afectan a

una sola especie vegetal o a unas pocas, existiendo más de 100 tipos reportados en todo el mundo (Hogenhout *et al.*, 2008).

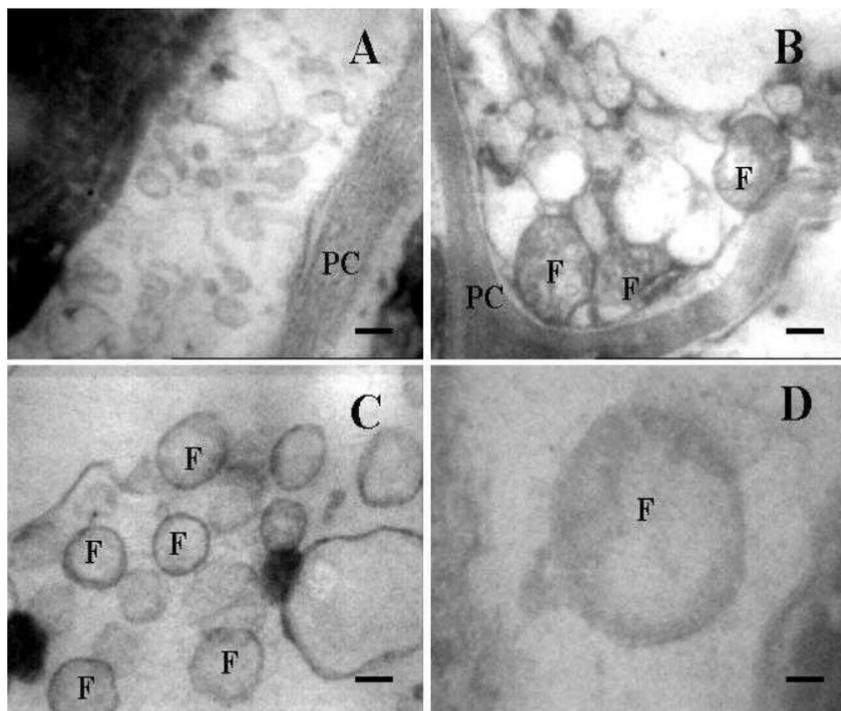


Figura 1. Los Fitoplasmas son fitopatógenos que difieren sustancialmente de otros grupos dentro de la clase "Mollicutes", que reúne a los procariontes sin pared celular. A. Sección de citoplasma de célula de tejido conductor mostrando cuerpos ovoidales y elongados. B. Sección de citoplasma de célula de tejido conductor en proceso de desintegración producto de la presencia de fitoplasmas. C. Numerosos cuerpos ovoidales presentes en el citoplasma. D. Detalle de fitoplasma encontrado en el citoplasma de tejido conductor. Barra 80 nm. PC: pared celular; F: fitoplasma. (Fotografía tomada de (Herrera y Madariaga, 2003).

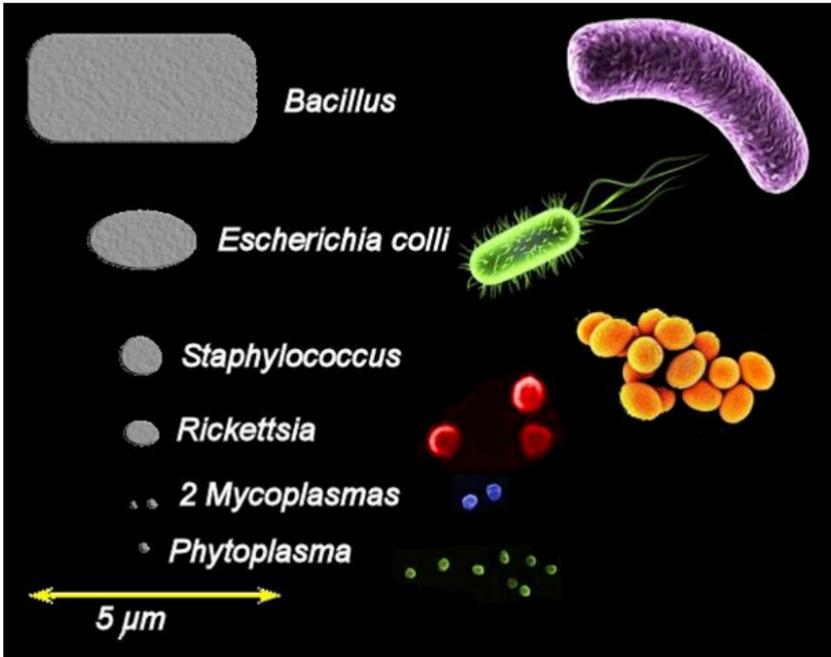


Figura 2. Tamaño relativo de los fitoplasmas comparado contra otros micoplasmas y bacterias con pared celular como los bacilos, los estafilococos y *Escherichia coli*.

CLASIFICACIÓN DE FITOPLASMAS

Dado que los fitoplasmas no se pueden aislar y ser cultivados en medios artificiales, se ha creado en ellos una condición especial en la cual los taxónomos le dan una categoría de "Candidatus". Esta clasificación científica es un término formal que se coloca antes del género y la especie de una bacteria que no puede mantenerse en una "Colección de Cultivo Bacteriológico"; es decir, el estatus de "Candidatus" se usa cuando una especie o género está bien caracterizado pero no es cultivable. Por este hecho, a partir del 2004 el nombre científico para

referirse a los fitoplasmas es establecido como *Candidatus Phytoplasma* (Firrao *et al.*, 2004).

Más de 20 especies de *Candidatus Phytoplasma* han sido identificadas con el género, basado en que las especies comparten por lo menos un 97.5% de la identidad de la secuencia del gen 16S RNAr. Además de las especies confirmadas como *Candidatus*, hay un número de "especies" propuestas que aún no han sido oficialmente autorizadas, y que se ejecutan en paralelo con el sistema de clasificación de especies más ampliamente utilizado, que es el Sistema de Clasificación 16SR. Este sistema está basado en los perfiles de enzimas de restricción de la región del gen ribosomal 16S (16S DNAr) (Wei *et al.*, 2007a).

Lee y colaboradores (1998) fueron los primeros en proponer la utilización de los perfiles de polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLPs) para ser aplicados en el gen ribosomal 16S de fitoplasmas. La generación de un patrón de polimorfismo por los patrones de restricción se utiliza como un sistema de clasificación; así los patrones resultantes se comparan, siendo las distinciones, utilizadas para diferenciar a los fitoplasmas en grupos y subgrupos. Como los fitoplasmas no pueden ser mantenidos en cultivos axénicos, ha sido posible mantener ciertas cepas de éstos en plantas hospederas tales como Teresitas ó Periwinkle de Madagascar (*Catharanthus roseus* (L.) Don) tanto en invernadero como en micropropagación (Hodgetts *et al.*, 2013); dichas colecciones han ayudado a un número de instituciones en todo el mundo a tener reservorios de cepas de fitoplasmas para su estudio. Sin embargo, muchos otros fitoplasmas no se han podido establecer en estos medios, por lo que su información en su secuencia genómica y en la descripción de sus síntomas solo se encuentra disponible en bases de datos de bancos de genes. Como resultado, Wei

y colaboradores (2008a; 2007a; 2007b; 2008b) han propuesto un sistema de clasificación para los fitoplasmas, utilizando las secuencias depositadas en el Centro Nacional para la Información Biotecnológica (National Center for Biotechnology Information's -NCBI-) y haciendo análisis de RFLPs, con los cuales los perfiles de enzimas de restricción son pronosticados por una batería de 17 enzimas usando métodos *in silico*. Coeficientes de similitud para los fragmentos de restricción son calculados por fórmulas definidas (Lee *et al.*, 1998; Nei y Li, 1979; Wei *et al.*, 2008b) que reflejan el número de fragmentos, tanto compartidos como no compartidos entre cualquier cepa dada; con fundamento en este sistema, ahora se tienen más de 28 grupos de fitoplasmas (Tabla 1).

Tabla 1. Grupos taxonómicos de Fitoplasmas

Grupo 16Sr	Especies Candidatas	Tipo de cepa	Número de acceso del Banco de Genes	Distribución geográfica del grupo
I-A	<i>Ca. Phytoplasma asteris</i>	Aster yellows witches broom	NC_007716	Norte América, Europa
I-B	<i>Ca. Phytoplasma asteris</i>	Onion yellows	NC_005303	Todo el mundo
I-C	<i>Ca. Phytoplasma asteris</i>	Clover phyllody	AF222065	Norte América, Europa
I-D	<i>Ca. Phytoplasma asteris</i>	Patilownia witches broom	AY65206	Asia
I-E	<i>Ca. Phytoplasma asteris</i>	Blueberry stunt	AY265213	Norte América
I-F	<i>Ca. Phytoplasma asteris</i>	Apricot chlorotic leaf roll	AY265211	España
II-A		Peanut witches broom	L33765	Asia
(continua)				

Grupo 16Sr	Especies Candidatas	Tipo de cepa	Número de acceso del Banco de Genes	Distribución geográfica del grupo
II-B	<i>Ca. Phytoplasma aurantifolia</i>	Lime	U15442	Península Árabe
II-C		Cactus witches broom	AJ293216	Asia, África
II-D	<i>Ca. Phytoplasma australasiae</i>	Papaya yellow crinkle	Y10097	Australia
III-A	<i>Ca. Phytoplasma prumi</i>	Western Xdisease	L04682	Norte América
III-B		Clover yellow edge	AF189288	América, Asia, Europa
IV-A	<i>Ca. Phytoplasma palme</i>	Coconut lethal yellowing	AF498307	Florida, Caribe
IV-B	<i>Ca. Phytoplasma palme</i>	Phytoplasma sp. LfY5 (PE65)-Oaxaca	AF500334	México
IV-D	<i>Ca. Phytoplasma palme</i>	Carludovica palmata leaf yellowing	AF237615	México
V-A	<i>Ca. Phytoplasma ulmi</i>	El yellows	AY197655	Norte América, Europa
V-B	<i>Ca. Phytoplasma ziziohi</i>	Jujube witches broom	AB052876	Asia
V-C	<i>Ca. Phytoplasma vitis</i>	Alder yellows	AY197642	Europa
V-G		Jujube witches broom related	AB052879	Asia
VI-A	<i>Ca. Phytoplasma trifolii</i>	Clover proliferation	AY390261	Norte América, Asia
VII-A	<i>Ca. Phytoplasma fraxini</i>	Ash yellows	AF092209	Norte América
VIII-A	<i>Ca. Phytoplasma luffae</i>	Loofah witches broom	AF353090	Taiwán
IX-A		Pigeon-pea witches broom	AF248957	América
(continua)				

Grupo 16Sr	Especies Candidatas	Tipo de cepa	Número de acceso del Banco de Genes	Distribución geográfica del grupo
IX-D	<i>Ca. Phytoplasma phoenicium</i>	Almond witches broom	AF515636	Medio Oriente
X-A	<i>Ca. Phytoplasma mali</i>	Apple proliferation	AJ542541	Europa
X-C	<i>Ca. Phytoplasma pyri</i>	Pear decline	AJ542543	Europa
X-D	<i>Ca. Phytoplasma spartii</i>	Spartium witches broom	X92869	Europa
X-F	<i>Ca. Phytoplasma prunorum</i>	European Stone fruit yellowRice yellow dwarfs	AJ542544	Europa
XI-A	<i>Ca. Phytoplasma oryzae</i>	Rice yellows dwarf	AB052873	Asia, África, Europa
XII-A	<i>Ca. Phytoplasma solani</i>	Stolbur	AJ964960	Europa
XII-B	<i>Ca. Phytoplasma australiense</i>	Australian grapevine yellows	L76865	Australasia
XII-C		Strawberry lethal yellows	AJ243045	Australia
XII-D	<i>Ca. Phytoplasma japonicum</i>	Japanese hydrangea phyllody	AB010425	Japón
XII-E	<i>Ca. Phytoplasma fragariac</i>	Strawberry yellows	DQ086423	Europa
XIII-A		Mexican periwinkle virescence	AF248960	México, Florida
XIV-A	<i>Ca. Phytoplasma cynodontis</i>	Bermudagrass whittleaf	AJ550984	Asia, África
XV-A	<i>Ca. Phytoplasma brasiliense</i>	Hibiscus witches broom	AF147708	Brasil
XVI-A	<i>Ca. Phytoplasma graminis</i>	Sugar cane yellows leaf	AY725228	Cuba

(continua)

Grupo 16Sr	Especies Candidatas	Tipo de cepa	Número de acceso del Banco de Genes	Distribución geográfica del grupo
XVII-A	<i>Ca. Phytoplasma caricae</i>	Papaya bunchy top	AT725234	Cuba
XVIII-A	<i>Ca. Phytoplasma americanum</i>	Potato purple top wilt	DQ174122	Norte América
XIX-A	<i>Ca. Phytoplasma castanae</i>	Chesnut witches broom	AB054986	Japón
XX-A	<i>Ca. Phytoplasma rhamni</i>	Buckthorn witches broom	X76431	Alemania
XXI-A	<i>Ca. Phytoplasma pini</i>	Pine shoer proliferation	AJ632155	España
XXII-A	<i>Ca. Phytoplasma cocosnigeriae</i>	Coconut lethal decline	Y14175	Oeste de África, Mozambique
XXIV-A		Sorghum bunchy shoot	AF509322	Australia
XXV-A		Weeping tea witches broom	AF521672	Australia
XXVI-A		Sugar cane phytoplasma D3T1	AJ539179	Mauritania
XXVII-A		Sugar cane phytoplasma D3T2	AJ539180	Mauritania
XXVIII-A		Derbil phytoplasma	AT744945	Cuba
XXIX-A	<i>Ca. Phytoplasma allocasuarinae</i>	Allocasuarina mulleriana phytoplasma	AY135523	Australia
XXX-A	<i>Ca. Phytoplasma cocosnigeriae</i>	Tanzania lechal decline	X80117	Tanzania

LOS FITOPLASMAS SON PATÓGENOS INTRACELULARES DE PLANTAS E INSECTOS

Una característica evidente de los fitoplasmas es que tienen un ciclo de vida inusual comparado con cualquier otro patógeno vegetal, y el descubrir este hecho, fue el objetivo inicial de todas las investigaciones moleculares referentes a estos micro organismo. En efecto, otros patógenos como las bacterias y los hongos utilizan ciertos mecanismos celulares para poder penetrar a las plantas e invadir espacios entre las células de estas (Block *et al.*, 2008). En contraste, los fitoplasmas habitan en el citoplasma de las células de la planta, es decir, viven dentro de las células vegetales. Como estos organismos residen intracelularmente, no necesitan de los mecanismos celulares de los que se valen las bacterias y los hongos (Hogenhout *et al.*, 2008), sino que utilizan otros más complejos en base a proteínas llamados “efectores”, los cuales modifican la permeabilidad de las células para invadirlas (Kakizawa *et al.*, 2004).

Otro aspecto peculiar de los fitoplasmas es que su rango de hospederos incluye organismos de dos reinos taxonómicos distintos, pues infecta a plantas (Reino Plantae) y a insectos (Reino Animalia), cualidad que como patógeno es única, lo que implica la capacidad de éxito para propagarse. Otra característica de los fitoplasmas, es que son capaces de invadir y acumularse en diferentes células y tejidos de los insectos (Bai, 2004).

Los fitoplasmas pueden pasar el invierno en vectores infectados, así como en las plantas perennes que les sirven como reservorios desde donde se propagan en la primavera siguiente. La habilidad de los fitoplasmas para invadir y colonizar exitosamente dos ambientes hospederos tan diferentes, y reproducirse intracelularmente en ambos,

es notable e implica el reconocimiento sobre la evolución de mecanismos que permiten a estos microorganismos modificar y controlar los procesos celulares tanto en plantas como en insectos.

DISEMINACIÓN SISTÉMICA DE FITOPLASMAS EN LAS PLANTAS

En las plantas, los fitoplasmas están restringidos en el citoplasma de las células cribosas del floema (Figura 3). Estas células no poseen núcleo y contienen sólo orgánulos limitados, como los ribosomas, vacuolas pequeñas y grandes plasmodesmos (Turgeon y Wolf, 2009). Con estos últimos, se establecen comunicaciones citoplasmáticas que atraviesan la pared celular entre células contiguas, formando así una red vascular en toda la planta (Samanani *et al.*, 2006). De la misma manera, los plasmodesmos se conectan con otras células acompañantes que nutren el tamiz celular, en las cuales, éstas poseen placas que tienen poros pequeños para permitir el transporte sistémico de azúcares y otros nutrientes en la planta (Lough y Lucas, 2006). Los fitoplasmas que sistémicamente infectan a la planta, se mueven a través de los poros de las placas de tamiz, extendiéndose de ese modo a todo lo largo el sistema vascular de la planta (Sugio y Hogenhout, 2012), es decir, que por esta vía, estos microorganismos invaden cualquier tejido vegetal como raíces, hojas, tallos, ramas, brotes, frutos y parece ser con datos aún no confirmados, que llegan incluso a infectar también a las semillas (Olivares-Mercado, 2013).

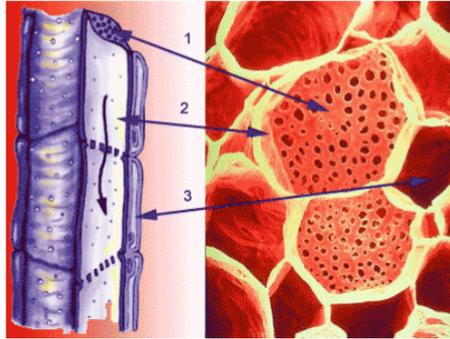


Figura 3. Diagrama del tejido vascular y corte transversal del floema. 1. Células cribosas del floema, 2. Flujo de los nutrientes por los conductos cribosos, 3. Células de la red vascular.

Los fitoplasmas también se pueden propagar por medios vegetativos, es decir, mediante esquejes, tubérculos y rizomas. Los fitoplasmas que causan muchas enfermedades de los árboles ornamentales y frutales, aparentemente se diseminan por la propagación vegetativa. Los fitoplasmas se pueden transmitir a través de injertos; sin embargo no pueden, transmitirse mecánicamente mediante la inoculación con savia infectada.

FITOPLASMAS MICROORGANISMOS INVASORES DE INSECTOS

Los insectos fitófagos llegan a ser infectados por fitoplasmas en un proceso llamado “*adquisición por alimentación*” (Nault, 1997). Estos insectos vectores se alimentan del contenido citoplasmático de las células de tamiz ricas en nutrientes, donde además, residen los fitoplasmas. El insecto al introducir su aparato chupador en el tejido vegetal, vierte enzimas digestivas en las células cribosa del floema de donde absorbe los nutrientes junto con fitoplasmas que allí se encuentran; los cuales llegan al lumen intestinal donde se anidan para

reproducirse en las células epiteliales intestinales y en las células musculares adyacentes, ambos tipos celulares conforman la ruta hacia el sitio de la hemolinfa (Ammar y Hogenhout, 2006). Es así como los fitoplasmas son liberados en la hemolinfa utilizando esta vía para colonizar otros órganos y tejidos del insecto incluyendo las glándulas salivales (Figura 4).

Las glándulas salivales tienen vacuolas grandes que resguardan proteínas, tales como las enzimas que utilizan los insectos durante su alimentación (Wayadande *et al.*, 1997). Se ha encontrado que los fitoplasmas se encuentran acumulados en estas vacuolas (Kwon *et al.*, 1999), desde las cuales pueden tener acceso a las células cribosas del floema durante el proceso de alimentación referido (Nault, 1997). El tiempo requerido entre la adquisición del fitoplasma y la capacidad para realizar su inoculación, es llamado “periodo de latencia” el cuál es aproximadamente de 10 días, pero puede ser mucho más largo (hasta 12 semanas) dependiendo de la especie de insecto, del fitoplasma y de la temperatura (Murrall *et al.*, 1996).

Los insectos vectores de fitoplasmas pertenecen a grupos filogenéticos que se caracterizan por alimentarse del floema de las plantas; como son las conocidas “chicharritas” y “salta hojas”, éstos grupos están dentro del orden hemiptera (Weintraub y Beanland, 2006). Otros grupos filogenética-mente distintos que también se alimentan del floema vegetal y son hemípteros, son los “áfidos”, pero de éstos no se tienen reportes como vectores de fitoplasmas, lo que indica que existe una especificidad en la adquisición y transmisión de estos microorganismos por ciertos insectos.

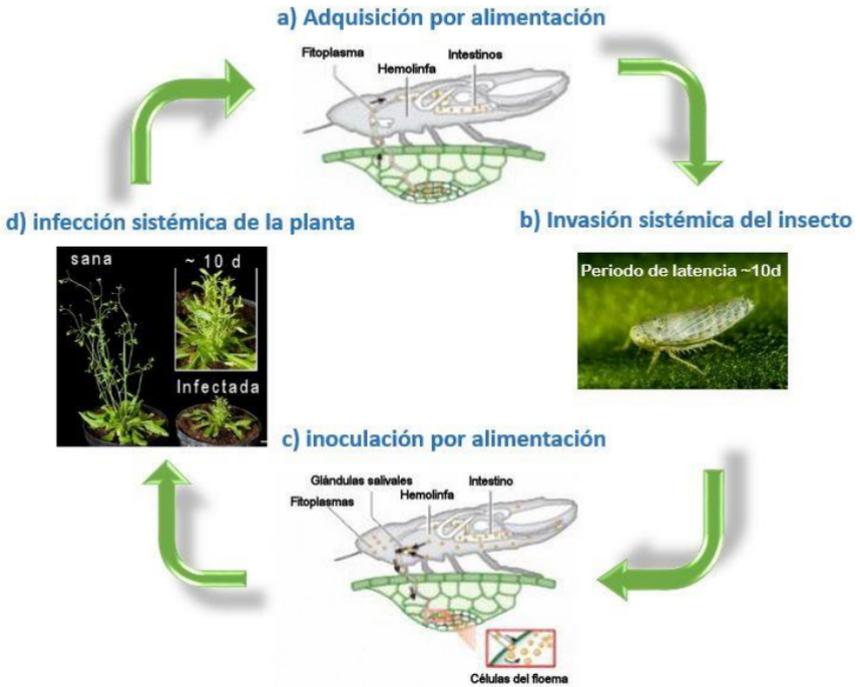


Figura 4. Mecanismo de transmisión de fitoplasmas por un insecto vector como las chicharritas. a) Adquisición por alimentación, b) Invasión sistémica del insecto, c) inoculación por alimentación, d) infección sistémica de la planta.

Por otro lado, la infección por fitoplasmas puede modificar la “aptitud” (medido como el rango de sobrevivencia y fecundidad) del insecto hospedero, teniendo un efecto neutral, negativo, o en varios casos exhibir un efecto positivo en esas características (Ammar y Hogenhout, 2006; Beanland *et al.*, 2000; Hogenhout *et al.*, 2008) La probabilidad de una interacción positiva (una que beneficia al insecto), frente a una interacción negativa (una que deteriora la aptitud del insecto), frecuentemente refleja la evolución en el tiempo de la interacción dada entre insecto-microbio: cuanto más tiempo los dos organismos han

coexistido y coevolucionado, más probable es que el insecto vector sea beneficiado con la interacción (Nault, 1990). Esta aptitud adquirida del vector cobra importancia, ya que al tener una relativa habilidad para sobrevivir y transmitir sus genes a la siguiente generación, le da ventajas favorables al insecto vector de fitoplasmas. La presencia de poblaciones de vectores con características mejoradas representa una desventaja para establecer una estrategia de manejo del vector, como la principal medida estratégica para manejar las enfermedades causadas por fitoplasmas.

LA INFECCIÓN POR FITOPLASMAS ALTERA LOS PROCESOS DE DESARROLLO VEGETAL

Como los fitoplasmas habitan en las células cribosas del floema, su infección produce profundos disturbios en el balance de fitohormonas y en reguladores de crecimiento, provocando con ello diferentes sintomatologías. La mayoría induce enanismos, amarillamientos, proliferación de yemas, ramas y hojas (sintomatología conocida como “escoba de bruja”), virescencia (pétalos florales verdes), y filodia (conversión de flores a hojas) (Bertaccini, 2007), (Figuras 5, 6 y 7).

Otro grupo de síntomas provocados por fitoplasmas incluye elongación de hojas, esterilidad de flores, elongación anormal de internodos, brotes delgados, y encucharamiento de hojas. Estos síntomas reflejan la acción de proteínas efectoras producidas por los fitoplasmas que modulan los procesos celulares en el desarrollo vegetal y probablemente también están involucrados en la defensa de la planta (Hogenhout y Loria, 2008). En los últimos años, evidencias experimentales de la existencia de tales efectores se ha acumulado. La identificación y caracterización funcional de estos efectores, no se facilitará hasta tener información de la

secuencia de sus genomas y del análisis de la sintomatología causada por los fitoplasmas en modelos vegetales tales como *Arabidopsis thaliana* Heynh. y *C. roseus*, y del desarrollo de nuevas y funcionales herramientas genómicas (Hogenhout y Segura, 2010).



Figura 5. Sintomatología de “escoba de bruja” causada por fitoplasmas en plantas de Chile.



Figura 6. Sintomatología de “virescencia” causada por fitoplasmas, provocando el cambio de color normal del pétalo a un color verde.



Figura 7. Sintomatología de “filodia” causada por fitoplasmas, provocando la transformación de los órganos florales en estructuras foliares.

SINTOMATOLOGÍAS EN ESPECIES HORTÍCOLAS

Se ha observado que las flores muestran un alargamiento y fusión de los sépalos; el resto de los órganos florales puede caer o permanece dentro de la estructura creada por los sépalos (denominada “faroles chinos”) pero no se desarrolla el fruto (Figura 8). Esta malformación puede afectar solo una flor en una rama de la planta o varias de ellas en una sola rama o en toda la planta (Figura 9) (Aredondo-Pérez *et al.*, 2013; Velásquez-Valle *et al.*, 2011). Este síntoma se ha reportado con el nombre de brote grande (*Big Bud* en Inglés) afectando chile y jitomate en distintas áreas productoras en el mundo.



Figura 8. Sintomatología de “farol chino” causada por fitoplasmas, en plantas de chile (*Capsicum annum* L.).



Figura 9. Rama de una planta de chile mostrando todas las flores sustituidas por “faroles Chinos”.

Los síntomas inducidos en plantas enfermas varían con el fitoplasma y con la etapa de la infección. Internamente, las infecciones pueden provocar graves necrosis del floema y, a menudo, exceso de formación de tejido de floema, lo que resulta en la formación de venas hinchadas. En general, los síntomas inducidos por la infección fitoplasmática tienen un efecto claramente perjudicial sobre las plantas.

Las pérdidas económicas causadas por infecciones fitoplásmicas van desde una reducción parcial en el rendimiento y calidad de la cosecha, hasta la pérdida casi total de la misma. En casos raros, la infección por fitoplasmas en plantas de Noche Buena (*Euphorbia pulcherrima*) produce síntomas que son benéficos para los productores (Lee *et al.*, 1997); ya que la forma de crecimiento arbustivo y enanismo de estas es un rasgo deseable que es esencial para la producción de plantas en macetas con flores vistosas.

DISTRIBUCIÓN

En los últimos años, se habían reportado numerosas enfermedades hasta entonces de etiologías desconocidas; actuales diagnósticos han demostrado que son causadas por fitoplasmas. Con las técnicas moleculares en la actualidad se ha llegado incluso a determinar que hay varios grupos de fitoplasmas, por lo que evidentemente, algunos síntomas similares pueden ser inducidos por diferentes tipos de dichos microorganismos; mientras que diferentes tipos de síntomas pueden ser inducidos por fitoplasmas estrechamente relacionados (Davis y Sinclair, 1998). Los resultados recientes han revelado que los fitoplasmas son más diversos de lo que se pensaba y que no se distribuyen de manera uniforme en todos los continentes (Seemüller *et al.*, 1998).

Los fitoplasmas han estado asociados con enfermedades de varios cientos de especies de plantas pertenecientes a 98 familias y con numerosos vectores de insectos homópteros, que pertenecen principalmente a la familia Cicadellidea (Chicharritas y Saltahojas). Aunque estos vectores se distribuyen en ambientes tropicales y semitropicales, podemos afirmar que geográficamente, la presencia de fitoplasmas es a nivel mundial, pues han sido reportados en al menos 85 países (Costanzo, 2012).

Sin embargo, la distribución varía de acuerdo al grupo o tipo de fitoplasma, ya que muchos parecen estar restringidos a un continente o a una región geográfica específica. El aislamiento geográfico de algunos fitoplasmas, parece estar relacionado con la distribución de sus plantas hospederas y los insectos vectores que son nativos de una región en particular. Por ejemplo, el grupo de fitoplasmas de los *amarillos del fresno* (16SrVII), el grupo de la *proliferación del trébol* (16SrVI), y la mayor parte del grupo de la *enfermedad X del Oeste* (16SrIII) parecen

estar distribuidos en la parte occidental del Continente Americano. Por otro lado, los fitoplasmas del grupo de la *escoba de bruja de la nuez* (16SrII), y el grupo del *enanismo amarillo del arroz* (16SrXI) se limitan a la región del Sudeste Asiático. Por otro lado, el grupo de la *proliferación del manzano* (16SrX) y subgrupo *stolbur* (16SrXII-A) se confinan al continente Europeo (Bisognin *et al.*, 2008). Otro agrupamiento geográfico es el fitoplasma del *enanismo arbustivo del maíz* [16SrI-B(rp-L)], se limita a América Central y del Sur y parte de Norteamérica; estas regiones corresponden con el área de distribución geográfica de los insectos vectores *Dalbulus madis* y *D. elimatus* (Costanzo, 2012).

Se tiene que considerar que la particularidad de la vegetación y de las especies de insectos en un continente o en una región geográfica determinada, tiende a disminuir cuando las actividades transcontinentales o interregionales aumentan. Los micro y macro ecosistemas de cada continente pueden cambiar debido a la falta de conservación de germoplasma, o por medio de la introducción de germoplasma extranjero (por ejemplo maleza y cultivos) y / o insectos. Así, el fitoplasma asociado a un huésped vegetal original puede dispersarse y ser redistribuido en todas las regiones geográficas o continentes. Al parecer muchos fitoplasmas se han extendido mucho más allá de las regiones donde se originaron, especialmente si existen hospederos e insectos vectores similares en los nuevos nichos ecológicos. Algunos fitoplasmas (por ejemplo, el del *aster amarillo* subgrupo 16SrI-B) han llegado a dispersarse por todo el mundo, mientras que otros se han quedado aislados en nuevos nichos ecológicos y han evolucionado de forma independiente a partir de cepas parentales (Lee *et al.*, 2003).

Por primera vez, en los últimos años se ha avanzado mucho en el diagnóstico de las enfermedades causadas por fitoplasmas, por lo que su identidad está asociada con una amplia gama de vectores de insectos y enfermedades de las plantas que han sido reportados en el pasado, ahora se pueden determinar con precisión, gracias al desarrollo de sondas moleculares específicas para fitoplasmas, los análisis de PCR más sensibles, y los esquemas completos de clasificación.

ESPECIFICIDAD DE FITOPLASMAS EN LOS HOSPEDANTES

Los tipos de hospedantes naturales tanto de plantas como de insectos vectores, varían con la cepa del fitoplasma (Music y Skoric, 2013). Experimentalmente, algunos fitoplasmas pueden ser transmitidos por un vector polífago para una amplia gama de plantas huésped. Por ejemplo, los fitoplasmas del *aster amarillo* (16Srl -A,- B), se transmiten de forma experimental por la chicharrita *Macrosteles fascifrons* y otros vectores polípagos a 191 especies de plantas pertenecientes a 42 familias (McCoy *et al.*, 1989). Sin embargo, parece que la gama de especies de plantas que pueden ser infectadas por un fitoplasma dado en la naturaleza, está determinada en gran medida por el número de especies de insectos vectores que son capaces de transmitir el fitoplasma y por los comportamientos de alimentación de estos vectores (monófagos, oligófagos, y polípagos)(Bosco y Tedeschi, 2013).

Los Fitoplasmas tales como los que transmiten virescencia de la remolacha (BLTV, subgrupo 16SrVI-A), son transferidos por la chicharrita polífaga *Circulifer tenellus*. Los fitoplasmas causantes de los *amarillos aster de California* (AY, subgrupo 16Srl-B), que se transmiten por numerosos insectos vectores polípagos, son capaces de causar enfermedades en una amplia variedad de especies de plantas; mientras

que los fitoplasmas *amarillos del olmo americano* (subgrupo 16SrV-A), se transmite por el vector *Scaphoideus luteolus* que puede ser monofago u oligófago, el cual provoca enfermedades en sólo unas pocas especies de plantas, sobre todo en el género *Ulmus* (Lee *et al.*, 2004).

NUEVOS FITOPLASMAS

Potencialmente, cualquier planta puede experimentalmente ser infectada por más de un tipo de fitoplasma. Como se ha mencionado, el modelo biológico vegetal para inocular fitoplasmas es la teresita (*C. roseus*), ya que entre otras cosas, esta planta puede hospedar más de dos tipos diferentes de estos patógenos; sin embargo, en la naturaleza, la facultad de cualquier planta para hospedar uno o más tipos de fitoplasmas, depende no solo de la susceptibilidad a la infección, sino también al resultado de la interacción vector-fitoplasma-planta (Sugio *et al.*, 2011). En esta interacción tripartita, el insecto vector parece tener un papel esencial; su comportamiento alimenticio y su preferencia por ciertas especies vegetales, es en la mayoría de los casos, el factor primordial que determina en última instancia el nicho final de cada fitoplasma (Christensen *et al.*, 2005; Weintraub y Beanland, 2006).

Los fitoplasmas con un amplio rango de plantas e insectos hospederos pueden tener múltiples nichos ecológicos. Cuando diferentes fitoplasmas comparten vectores y / o las plantas hospedantes comunes, la población fitoplásmica de esta fuente común, puede fluctuar de un hospedero a otro (ya sea planta o insecto vector), debido a la susceptibilidad diferencial de varias especies de plantas y de insectos vectores para cada fitoplasma. Como resultado la cepa del fitoplasma predominante varía con la diferente planta hospedera e insecto vector,

algunas cepas que están presentes en cantidades extremadamente bajas en un nicho (hospedero) pueden proliferar en otro nicho ecológico (Nejat *et al.*, 2013).

Las oportunidades de interacción entre diferentes fitoplasmas dentro de los mismos hospederos, pueden a final de instancias, intercambiar información genética y contribuir con esto a la evolución o formación de nuevas cepas (Oshima *et al.*, 2004). Es así como pueden evolucionar dentro de un grupo de fitoplasmas determinado y llegar a aislarse en nuevos hábitats cada uno con su propia planta hospedera e insecto vector, los cuales raramente comparten con otros miembros del grupo. Evidentemente muchos subgrupos (ejemplo 16SrI-D, 16SrI-E, 16SrIII-C, 16SrIII-E, 16SrIII-G) llegan asociarse con nichos ecológicos MUY específicos; es decir, con ciertas plantas hospederas e insectos vectores (Marques *et al.*, 2012). Además, frecuentes interacciones entre poblaciones de fitoplasmas, conforman una fuente común (hospedante vegetal) y al ser aislados de nuevos hábitats, pueden predisponer la formación de un diverso y amplio grupo de fitoplasmas que comprenden nuevas cepas en muchos subgrupos distintos.

Los fitoplasmas *Amarillos del aster* (16SrI) y los de la *enfermedad X* (16SrXII) son ejemplos de dos de los más diversos grupos de fitoplasmas conocidos hasta la fecha (Wei *et al.*, 2007a). El grupo de los *amarillos del aster*, se compone de al menos nueve diferentes subgrupos (generados por RFLPs de ADNr) con numerosas cepas que se distribuyen en todo el mundo. Mientras que el grupo de la *enfermedad X* se compone de ocho subgrupos; algunos de los cuales están distribuidos en tres continentes. Los fitoplasmas pertenecientes al grupo de los *amarillos del aster* se pueden transmitir por más de 30 vectores presumiblemente polípagos en más de 200 especies de plantas

pertenecientes a 45 familias; mientras que los miembros del grupo de la *enfermedad X* pueden ser transmitidas por más de 14 vectores en más de 60 especies de plantas pertenecientes a 13 familias (McCoy *et al.*, 1989). Muchos insectos vectores y plantas hospederas son compartidos por las cepas de fitoplasmas pertenecientes al mismo grupo o por cepas de los dos grupos.

Tanto una especie vegetal o un insecto vector, pueden potencialmente albergar dos o más tipos distintos de fitoplasmas. Por lo que las infecciones mixtas de fitoplasmas en una sola planta son comunes en la naturaleza (Bertaccini *et al.*, 2000; Lee *et al.*, 1995; Leyva-López *et al.*, 2002; Staniulis *et al.*, 2000). La presencia de fitoplasmas dobles o múltiples en una sola planta, ha sido verificada de forma convincente por ensayos de PCR anidada con un par de cebadores universales, seguido por pares de cebadores específicos para el grupo de fitoplasmas (Alma *et al.*, 1996). Tales estudios han revelado que una sola planta es a menudo infectada por un fitoplasma predominante y por uno o más de otros fitoplasmas que están presentes en títulos más bajos. Así, las interacciones frecuentes entre los fitoplasmas pertenecientes al mismo grupo o entre grupos, pueden haber ocurrido a lo largo del tiempo; hechos que son capaces de dar lugar a nuevas cepas de fitoplasmas. No obstante, el intercambio horizontal de información genética que realmente ocurre entre las cepas de fitoplasmas que comparten anfitriones comunes de las plantas y los insectos vectores, no está claro. Sin embargo, los patrones de RFLPs de ADN genómico entre algunos subgrupos (por ejemplo 16Srl-A, 16Srl-B, 16Srl-C, y 16SrlIII-A), indican que pueden existir cepas intermedias que comparten secuencias de ADN en dos subgrupos (Arnaud *et al.*, 2007). La transferencia horizontal de genes entre las cepas de algunos

subgrupos (por ejemplo 16SrI-D, 16SrI-F, 16SrIII-C, 16SrIII-E), puede ser poco probable o muy limitada debido a sus rangos estrechos de huéspedes vegetales e insectos vectores (Botti y Bertaccini, 2007).

En la actualidad existe un gran vacío en el conocimiento de la ecología de los fitoplasma por la falta de información acerca de los insectos vectores. Se puede establecer que los insectos vectores son desconocidos para la mayoría de los fitoplasmas, por lo que surge la pregunta ¿los nuevos nichos ecológicos y la evolución de nuevos fitoplasmas es consecuencia de la interacción vector-fitoplasma-planta?

CONTROL DE ENFERMEDADES

Hoy en día, el control de las enfermedades fitoplasmáticas, considera la prevención en lugar del tratamiento, como la principal estrategia de manejo. Las enfermedades asociadas a fitoplasmas han sido manejadas mediante el establecimiento de plantas libres de la enfermedad, o con variedades que se presume que tienen resistencia a estas enfermedades. Un mecanismo común y estratégico ha sido a través del control de los insectos vectores, y mediante la aplicación de determinadas prácticas de cultivo para eliminar las fuentes de fitoplasmas. Entre estas estrategias de manejo de la enfermedad, la formación de variedades resistentes a las enfermedades, puede proporcionar una manera más directa y eficaz para combatir muchas enfermedades fitoplásmicas devastadoras (Chiesa *et al.*, 2007). Sin embargo, la introducción de genes de resistencia a enfermedades de los cultivos a través de la reproducción tradicional es muy lenta, y ha sido difícil identificar los genes de resistencia en las plantas de cultivo o en la de sus parientes cercanos. Los recientes avances en la producción de plantas genéticamente modificadas a través de vectores de genes

de transferencia, permiten la aceleración de estos procesos de reproducción. La introducción de genes foráneos o la regulación de los genes internos en estas plantas transgénicas, podría dar lugar a la alteración de la expresión genética que puede interferir con el crecimiento de fitoplasmas y / o modificar la respuesta del huésped a las infecciones fitoplásmicas. Como resultado, los síntomas de la enfermedad pueden ser atenuados. La expresión de anticuerpos de ingeniería en plantas ha mostrado cierta promesa en el control de una enfermedad fitoplásmicas (Loi *et al.*, 2002).

Por otro lado, varios experimentos que se han llevado a cabo en diferentes especies de plantas infectadas con fitoplasmas, han mostrado que la recuperación puede ser inducida artificialmente con estrés abiótico, tratamiento con inductores de resistencia o con moléculas antimicrobianas, y la aplicación de micorrizas y rizobacterias. Estos y otros hallazgos recientes han indicado la importancia de los hongos endófitos y bacterias en el fenómeno de la recuperación (Romanazzi *et al.*, 2009).

IMPORTANCIA DE LA MALEZA COMO RESERVORIOS DE FITOPLASMAS Y REFUGIO DE VECTORES

Por otro lado dentro de la comunidad vegetal, cobran gran importancia las plantas no cultivables dentro de la dinámica poblacional de los fitoplasmas. Estas poblaciones vegetales llamadas “malas hierbas” o “malezas” también representan un riesgo debido a su capacidad de albergar patógenos como virus y fitoplasmas, además de sus vectores. A nivel mundial existen reportes de maleza infectada por diferentes fitoplasmas; en Argentina, Meneguzzi *et al.* (2008) informan que las malas hierbas *Artemisia annua* L. y *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist

que mostraban síntomas como escoba de bruja se encontraban infectadas por fitoplasmas del grupo 16SrVII-B. En la República Checa se ha reportado la presencia de plantas de *Chenopodium album* L. infectadas con fitoplasmas pertenecientes a los grupos 16SrIII aunque también se había encontrado al grupo 16SrXII (Safarova *et al.*, 2011); en Italia, Marcone *et al* (1997) consignaron la presencia de fitoplasmas pertenecientes al grupo de la hoja blanca de la caña de azúcar en malas hierbas como *Crepis setosa* Hall., *Knautia arvensis* (L.) J.M. Coult, *Convolvulus arvensis* L., *Picris echioides* L., *Echium vulgare* L. y *Calendula officinalis* L. En Zacatecas, Mercado-Arteaga *et al.* (2013) señalaron la presencia de fitoplasmas en plantas de *Chenopodium* spp.

A fin de obtener información sobre el papel potencial de la maleza como reservorio de fitoplasmas, el Campo Experimental Zacatecas realizó un estudio en los estados de Aguascalientes y Zacatecas durante la temporada invernal y a principios de primavera. En total se tomaron muestras de 24 especies de maleza en ambos Estados; las más frecuentes resultaron la mostacilla (*Sisymbrium irio*), malva (*Malva parviflora*) y gualda (*Reseda luteola*). Las plantas colectadas pertenecían a 12 familias botánicas; cuatro de ellas resultaron positivas a la presencia de fitoplasmas. En la mayoría de los casos las plantas colectadas no mostraban síntomas potenciales de la infección por fitoplasmas, sin embargo, se detectaron fitoplasmas en seis de las 24 especies: *Reseda luteola* (L.), *Amaranthus palmeri* (S. Wats), *Sisymbrium irio* (L.), *Brassica campestris* (L.), *Eruca sativa* (Mill.) y *Chenopodium álbum* (L.).

En general se detectaron fitoplasmas en todos los órganos analizados (raíz, tallo y hojas), sin embargo, el órgano vegetal donde se realizó la

detección de esos patógenos con mayor frecuencia, independientemente de la especie, resultaron las hojas (75% de las muestras positivas) seguida por el tallo (33%) mientras que en la raíz solamente en un caso se detectaron fitoplasmas.

Literatura Citada

- Alma, A., Davis, R., Vibio, M., Danielli, A., Bosco, D., Arzone, A., Bertaccini, A., 1996. Mixed infection of grapevines in northern Italy by phytoplasmas including 16S rRNA RFLP subgroup 16SrI-B strains previously unreported in this host. *Plant disease* 80, 418-421.
- Ammar, E., Hogenhout, S., 2006. Mollicutes associated with arthropods and plants, in: Miller, K.B.a.T.A. (Ed.), *Insect Symbiosis*, Volume 2. CRC Press, pp. 97-118.
- Aredondo-Pérez, A., Reveles-Torres, L.R., Velásquez-Valle, R., 2013. Presencia de fitoplasmas asociados al síntoma de “yema grande” en Chile para secado en Zacatecas, México. *Agrofaz* 13, 61-69.
- Arnaud, G., Malembic-Maher, S., Salar, P., Bonnet, P., Maixner, M., Marcone, C., Boudon-Padiéu, E., Foissac, X., 2007. Multilocus sequence typing confirms the close genetic interrelatedness of three distinct flavescence doree phytoplasma strain clusters and group 16SrV phytoplasmas infecting grapevine and alder in Europe. *Applied and environmental microbiology* 73, 4001-4010.
- Bai, x., 2004. Insect transmitted plant pathogenic mollicutes, *Spiroplasma kunkelii* and aster yellows witches'-broom phytoplasma: from structural genomics to functional genomics. The Ohio State University, p. 232.
- Beanland, L., Hoy, C., Miller, S., Nault, L., 2000. Influence of aster yellows phytoplasma on the fitness of aster leafhopper (Homoptera: Cicadellidae). *Annals of the Entomological Society of America* 93, 271-276.
- Bertaccini, A., 2007. Phytoplasmas: diversity, taxonomy, and epidemiology. *Frontiers in Bioscience* 12, 673-689.

- Bertaccini, A., Botti, S., Martini, M., Kaminska, M., 2000. Molecular evidence for mixed phytoplasma infection in lily plants, X International Symposium on Virus Diseases of Ornamental Plants 568, pp. 35-41.
- Bertaccini, A., Fránová, J., Botti, S., Tabanelli, D., 2005. Molecular characterization of phytoplasmas in lilies with fasciation in the Czech Republic. FEMS microbiology letters 249, 79-85.
- Bisognin, C., Schneider, B., Salm, H., Grando, M.S., Jarausch, W., Moll, E., Seemuller, E., 2008. Apple proliferation resistance in apomictic rootstocks and its relationship to phytoplasma concentration and simple sequence repeat genotypes. Phytopathology 98, 153-158.
- Block, A., Li, G., Fu, Z.Q., Alfano, J.R., 2008. Phytopathogen type III effector weaponry and their plant targets. Current opinion in plant biology 11, 396-403.
- Bosco, D., Tedeschi, R., 2013. Insect vector transmission assays, Phytoplasma. Springer, pp. 73-85.
- Botti, S., Bertaccini, A., 2007. Grapevine yellows in Northern Italy: molecular identification of Flavescence doree phytoplasma strains and of Bois Noir phytoplasmas. Journal of applied microbiology 103, 2325-2330.
- Costanzo, S., 2012. New Pest Response Guidelines, in: Robert E. Davis (Ed.), Selected 'Candidatus Phytoplasma spp.' of Apple, Grape and Peach The U.S. Department of Agriculture, pp. 1-210.
- Chiesa, S., Prati, S., Assante, G., Maffi, D., Bianco, P.A., 2007. Activity of synthetic and natural compounds for phytoplasma control. Bulletin of insectology 60, 313-314.
- Christensen, N.M., Axelsen, K.B., Nicolaisen, M., Schulz, A., 2005. Phytoplasmas and their interactions with hosts. Trends in Plant Science 10, 526-535.

- Davis, R.E., Sinclair, W.A., 1998. Phytoplasma identity and disease etiology. *Phytopathology* 88, 1372-1376.
- Dickinson, M., Hodgetts, J., 2012. *Phytoplasma: Methods and Protocols*. Humana Press.
- Doi, Y., Teranaka, M., Yora, K., Asuyama, H., 1967. Mycoplasma-or PLT group-like microorganisms found in the phloem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches' broom, aster yellows, or paulownia witches' broom. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn* 33, 259-266.
- Firrao, G., Andersen, M., Bertaccini, A., Boudon, E., Bove, J., Daire, X., Davis, R., Fletcher, J., Garnier, M., Gibb, K., 2004. Candidatus *Phytoplasma*, a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonize plant phloem and insects. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54, 1243-1255.
- Herrera, M., Madariaga, V., 2003. Evidencias inmunológicas, microscópicas y moleculares de la presencia de fitoplasmas en vides. *Agricultura Técnica* 63, 15-22.
- Hodgetts, J., Crossley, D., Dickinson, M., 2013. Techniques for the Maintenance and Propagation of Phytoplasmas in Glasshouse Collections of *Catharanthus roseus*, *Phytoplasma*. Springer, pp. 15-32.
- Hogenhout, S.A., Loria, R., 2008. Virulence mechanisms of Gram-positive plant pathogenic bacteria. *Current opinion in plant biology* 11, 449-456.
- Hogenhout, S.A., Oshima, K., Ammar, E.D., Kakizawa, S., Namba, S., 2008. Phytoplasmas: bacteria that manipulate plants and insects. *Molecular plant pathology* 9, 403-423.

- Hogenhout, S.A., Segura, M., 2010. Phytoplasma genomics, from sequencing to comparative and functional genomics-what have we learnt. *Phytoplasmas: genomes, plant hosts and vectors*, 19-36.
- Kakizawa, S., Oshima, K., Nishigawa, H., Jung, H.Y., Wei, W., Suzuki, S., Tanaka, M., Miyata, S., Ugaki, M., Namba, S., 2004. Secretion of immunodominant membrane protein from onion yellows phytoplasma through the Sec protein-translocation system in *Escherichia coli*. *Microbiology* 150, 135-142.
- Kunkel, L., 1926. Studies on aster yellows. *American Journal Botany* 23, 646-705.
- Kwon, M.O., Wayadande, A.C., Fletcher, J., 1999. *Spiroplasma citri* movement into the intestines and salivary glands of its leafhopper vector, *Circulifer tenellus*. *Phytopathology* 89, 1144-1151.
- Lee, I.-M., Davis, R., 1992. Mycoplasmas which infect plants and insects. *American society for microbiology, washington, dc(usa)*. 379-390.
- Lee, I.-M., Davis, R.E., Gundersen-Rindal, D.E., 2000. Phytoplasma: Phytopathogenic Mollicutes. *Annual Reviews in Microbiology* 54, 221-255.
- Lee, I.-M., Martini, M., Bottner, K., Dane, R., Black, M., Troxclair, N., 2003. Ecological implications from a molecular analysis of phytoplasmas involved in an aster yellows epidemic in various crops in Texas. *Phytopathology* 93, 1368-1377.
- Lee, I., Bertaccini, A., Vibio, M., Gundersen, D., 1995. Detection of multiple phytoplasmas in perennial fruit trees with decline symptoms in Italy. *Phytopathology* 85, 728-735.
- Lee, I.M., Gundersen-Rindal, D.E., Bertaccini, A., 1998. Phytoplasma: ecology and genomic diversity. *Phytopathology* 88, 1359-1366.

- Lee, I.M., Klopmeier, M., Bartoszyk, I.M., Gundersen-Rindal, D.E., Chou, T.S., Thomson, K.L., Eisenreich, R., 1997. Phytoplasma induced free-branching in commercial poinsettia cultivars. *Nature biotechnology* 15, 178-182.
- Lee, I.M., Martini, M., Marccone, C., Zhu, S.F., 2004. Classification of phytoplasma strains in the elm yellows group (16SrV) and proposal of 'Candidatus Phytoplasma ulmi' for the phytoplasma associated with elm yellows. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 54, 337-347.
- Leyva-López, N.E., Ochoa-Sánchez, J.C., Leal-Klevezas, D.S., Martínez-Soriano, J.P., 2002. Multiple phytoplasmas associated with potato diseases in Mexico. *Canadian journal of microbiology* 48, 1062-1068.
- Loi, N., Ermacora, P., Carraro, L., Osler, R., Chen, T.A., 2002. Production of monoclonal antibodies against apple proliferation phytoplasma and their use in serological detection. *European Journal of Plant Pathology* 108, 81-86.
- Lough, T.J., Lucas, W.J., 2006. Integrative plant biology: role of phloem long-distance macromolecular trafficking. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57, 203-232.
- Marccone, C., Ragozzino, A., Seemüller, E., 1997. Detection and identification of phytoplasmas in yellows-diseased weeds in Italy. *Plant pathology* 46, 530-537.
- Marques, R.N., Teixeira, D.C., Yamamoto, P.T., Lopes, J.R., 2012. Weedy hosts and prevalence of potential leafhopper vectors (Hemiptera: Cicadellidae) of a phytoplasma (16SrIX group) associated with Huanglongbing symptoms in citrus groves. *J Econ Entomol* 105, 329-337.
- McCoy, R., Caudwell, A., Chang, C., Chen, T.-A., Chiykowski, L., 1989. Plant diseases associated with mycoplasma-like organisms, in:

- Tully, J. (Ed.), *The Mycoplasmas*. Academic, New York, pp. 545–560.
- Meneguzzi, N., Torres, L., Galdeano, E., Guzmán, F., Nome, S.F., Conci, L.R., 2008. Molecular characterization of a phytoplasma of the ash yellows group (16Sr VII-B) occurring in *Artemisia annua* and *Conyza bonariensis* weeds. *Agriscientia* 25.
- Mercado-Arteaga, N.V., Velásquez-Valle, R., Reveles-Torres, L.R., 2013. Presencia de fitoplasmas en adultos de *Aceratagallia* spp. y plantas de *Chenopodium* spp. en Zacatecas y Chihuahua, México. *Agrofaz* 13, 125-128.
- Murrall, D.J., Nault, L.R., C.W., H., Madden, L.V., Miller, S.A., 1996. Effects of temperature and vector age on transmission of two Ohio strains of Aster Yellows phytoplasma by the aster leafhopper (Homoptera: Cicadellidae). *Journal of Economic Entomology* 89, 1223-1232.
- Music, M.S., Skoric, D., 2013. Single-strand conformation polymorphism analysis for differentiating phytoplasma strains. *Methods in molecular biology* 938, 217-222.
- Nault, L., 1990. Evolution of an insect pest: maize and the corn leafhopper, a case study. *Maydica* 35, 165-175.
- Nault, L., 1997. Arthropod transmission of plant viruses: a new synthesis. *Annals of the Entomological Society of America* 90, 521-541.
- Nei, M., Li, W.-H., 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 76, 5269-5273.
- Nejat, N., Vadamalai, G., Davis, R.E., Harrison, N.A., Sijam, K., Dickinson, M., Abdullah, S.N., Zhao, Y., 2013. 'Candidatus Phytoplasma malaysianum', a novel taxon associated with virescence and phyllody of Madagascar periwinkle (*Catharanthus*

roseus). International journal of systematic and evolutionary microbiology 63, 540-548.

- Olivares-Mercado, P.X., 2013. Identificación filogenética de *Candidatus Liberibacter solanacearum* y su efecto en la calidad fisiológica de la semilla de chile jalapeño, Recursos Genéticos y Productividad Producción de Semillas. Colegio de Postgraduados, Montecillos.
- Oshima, K., Kakizawa, S., Nishigawa, H., Jung, H.Y., Wei, W., Suzuki, S., Arashida, R., Nakata, D., Miyata, S., Ugaki, M., Namba, S., 2004. Reductive evolution suggested from the complete genome sequence of a plant-pathogenic phytoplasma. *Nature genetics* 36, 27-29.
- Romanazzi, G., Musetti, R., Marzachi, C., Casati, P., 2009. Induction of resistance in the control of phytoplasma diseases. *Petria* 19, 113-129.
- Safarova, D., Valova, P., Flidr, P., Navratil, M., 2011. Molecular identification of a 16SrIII and 16SrII phytoplasma groups in *Chenopodium album* in Czech Republic. *Bulletin of Insectology* 64 64, S85-S86.
- Samanani, N., Alcantara, J., Bourgault, R., Zulak, K.G., Facchini, P.J., 2006. The role of phloem sieve elements and laticifers in the biosynthesis and accumulation of alkaloids in opium poppy†. *The Plant Journal* 47, 547-563.
- Seemüller, E., Marcone, C., Lauer, U., Ragozzino, A., Göschl, M., 1998. Current status of molecular classification of the phytoplasmas. *Plant Pathology* 80, 3-26.
- Staniulis, J.B., Davis, R.E., Jomantiene, R., Kalvelyte, A., Dally, E.L., 2000. Single and mixed phytoplasma infections in phyllody-and dwarf-diseased clover plants in Lithuania. *Plant disease* 84, 1061-1066.

- Sugio, A., Hogenhout, S.A., 2012. The genome biology of phytoplasma: modulators of plants and insects. *Current opinion in microbiology* 15, 247-254.
- Sugio, A., MacLean, A.M., Kingdom, H.N., Grieve, V.M., Manimekalai, R., Hogenhout, S.A., 2011. Diverse targets of phytoplasma effectors: from plant development to defense against insects. *Annual review of phytopathology* 49, 175-195.
- Turgeon, R., Wolf, S., 2009. Phloem transport: cellular pathways and molecular trafficking. *Annual review of plant biology* 60, 207-221.
- Velásquez-Valle, R., Mena-Covarrubias, J., Reveles-Torres, L.R., 2011. Amarillamientos del chile para secado en el norte-centro de México, in: INIFAP (Ed.), *Campo Experimental Zacatecas*. CIRNOC-INIFAP, Calera de V.R., Zacatecas, México, p. 40.
- Wayadande, A., Baker, G.R., Fletcher, J., 1997. Comparative ultrastructure of the salivary glands of two phytopathogen vectors, the beet leafhopper, *Circulifer tenellus* Baker, and the corn leafhopper, *Dalbulus maidis* De Long and Wolcott (Homoptera: Cicadellidae). *Int. J. Insect Morphol. Embryol* 26, 113-120.
- Wei, W., Davis, R.E., Jomantiene, R., Zhao, Y., 2008a. Ancient, recurrent phage attacks and recombination shaped dynamic sequence-variable mosaics at the root of phytoplasma genome evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105, 11827-11832.
- Wei, W., Davis, R.E., Lee, I.M., Zhao, Y., 2007a. Computer-simulated RFLP analysis of 16S rRNA genes: identification of ten new phytoplasma groups. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 57, 1855-1867.
- Wei, W., Lee, I., Davis, R.E., Suo, X., Zhao, Y., 2007b. Virtual RFLP analysis of 16S rDNA sequences identifies new subgroups in the clover proliferation phytoplasma group. *Bulletin of Insectology* 60, 349.

- Wei, W., Lee, I.M., Davis, R.E., Suo, X., Zhao, Y., 2008b. Automated RFLP pattern comparison and similarity coefficient calculation for rapid delineation of new and distinct phytoplasma 16Sr subgroup lineages. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 58, 2368-2377.
- Weintraub, P.G., Beanland, L., 2006. Insect vectors of phytoplasmas. *Annu. Rev. Entomol.* 51, 91-111.
- Weintraub, P.G., Jones, P., 2010. *Phytoplasmas: Genomes, Plant Hosts and Vectors*. Wallingford, UK:, CABI
- Whitcomb, R., Tully, E., 1989. *The Mycoplasmas Vol. V*. San Diego: Academic Press, Inc.

AGRADECIMIENTOS

Este folleto se publicó con el apoyo económico de fondos fiscales del INIFAP dentro del proyecto “*Susceptibilidad del germoplasma de Chile al amarillamiento, etiología y diversidad genética de los agentes causales*”. Se agradece ampliamente a esta institución por los apoyos otorgados para realizar la investigación que sirvió como base para elaborar esta publicación.

REVISIÓN TÉCNICA Y EDICIÓN

Dr. Guillermo Medina García

MC. Mayra Denise Herrera

INIFAP Zacatecas

DISEÑO DE PORTADA

Dr. Luis Roberto Reveles Torres

Grupo Colegiado del CEZAC

Presidente: Dr. Jaime Mena Covarrubias

Secretario: Dr. Francisco G. Echavarría Cháirez

Comisión Editorial y Vocal: Dr. Alfonso Serna Pérez

Vocal: Dr. Guillermo Medina García

Vocal: Ing. Manuel Reveles Hernández

Vocal: Dr. Luis Roberto Reveles Torres

Vocal: Dr. Jorge A. Zegbe Domínguez

La presente publicación se terminó de imprimir en el mes de
Octubre de 2014 en la Imprenta Mejía, Calle Luis Moya No. 622,
C. P. 98500, Calera de V. R., Zacatecas, México.

Tel. (478) 98 5 22 13

Su tiraje constó de 500 ejemplares

CAMPO EXPERIMENTAL ZACATECAS

DIRECTORIO

Dr. Francisco Gpe. Echavarría Cháirez **Director de Coordinación y Vinculación**

Dr.	Guillermo Medina García	Agrometeorología y Modelaje
MC.	Nadiezhdá Y. Ramírez Cabral*	Agrometeorología y Modelaje
Dr.	Manuel de Jesús Flores Nájera	Carne de Rumiantes
Dr.	Alfonso Serna Pérez	Fertilidad de suelos y nutrición vegetal
Ing.	Miguel Servin Palestina *	Fertilidad de suelos y nutrición vegetal
Ing.	José Ángel Cid Ríos	Fríjol y Garbanzo
Dr.	Jorge A. Zegbe Domínguez	Frutales
MC	Valentín Meler Meraz	Frutales
Ing.	Manuel Reveles Hernández	Hortalizas
Dra.	Raquel Cruz Bravo	Inocuidad de Alimentos
MC	Mayra Denise Herrera	Inocuidad de Alimentos
IIA.	Juan José Figueroa González	Inocuidad de Alimentos
MC	Enrique Medina Martínez	Maíz
MC.	Francisco A. Rubio Aguirre	Pastizales y Cultivos Forrajeros
Dr.	Ramón Gutiérrez Luna	Pastizales y Cultivos Forrajeros
Ing.	Ricardo A. Sánchez Gutiérrez *	Pastizales y Cultivos Forrajeros
Dr.	Luis Roberto Reveles Torres	Recursos Genéticos: Forestales, Agrícolas, Pecuarios y Microbianos
Dr.	Jaime Mena Covarrubias	Sanidad Forestal y Agrícola
Dr.	Rodolfo Velásquez Valle	Sanidad Forestal y Agrícola
MC.	Blanca I. Sánchez Toledano *	Socioeconomía

* Becarios

WWW.INIFAP.GOB.MX