

# DETECCIÓN DE FITOPLASMAS EN POBLACIONES DE *Dalbulus*, *Empoasca*, *Graminella* y *Aceratagallia* PRESENTES EN EL ESTADO DE ZACATECAS, MÉXICO

Detection of phytoplasma in populations of *Dalbulus*, *Empoasca*, *Graminella* y *Aceratagallia* from the state of Zacatecas, Mexico

**Fabiola Dávila-Berúmen<sup>1</sup>; Rodolfo Velásquez-Valle<sup>1</sup>; Luis Roberto Reveles-Torres<sup>1</sup>; Jorge Armando Mauricio-Castillo<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Campo Experimental Zacatecas – INIFAP, Km. 24.5 Carr. Zacatecas – Fresnillo, Calera de V. R., Zacatecas, México, CP 98500. <sup>2</sup> Unidad Académica de Agronomía – Universidad Autónoma de Zacatecas. e-mail: fabidabe@live.com.mx

## RESUMEN

Entre los insectos vectores de patógenos, las chicharritas (Cicadélidos) tienen la capacidad de transmitir virus y fitoplasmas a un amplio rango de plantas huéspedes, haciendo a este grupo de insectos uno de los más importantes, ya que provocan epifitias de interés económico relevante. La especie más habitual es *Circulifer tenellus*, la cual está reportada como vector de fitoplasmas. Sin embargo no hay información de otros géneros de Cicadélidos como vectores potenciales en el estado de Zacatecas, lo que hace necesario la detección de las especies de chicharritas portadoras de estos patógenos. Durante los meses de Octubre de 2013 a Septiembre de 2014 se capturaron chicharritas por trapeo en cultivos agrícolas, para determinar otros géneros de Cicadélidos presentes en el estado aparte de *C. tenellus*. Se encontró a *Empoasca spp.* como el más abundante con 1,268 individuos; *Aceratagallia spp.* con 368; *Graminella spp.* con 311 y *Dalbulus spp.* con solo 108 individuos. Estos grupos fueron analizados para detectar fitoplasmas por técnicas de PCR anidada; para ello, se capturaron por redeo 130 insectos (55 del género *Aceratagallia spp.*, 31 de *Empoasca spp.*, 30 de *Graminella spp.* y 14 de *Dalbulus spp.*) encontrándose presencia de fitoplasmas en cinco individuos de *Graminella spp.*; dos individuos de *Empoasca spp.* y un individuo de *Dalbulus spp.* Estos datos abren la posibilidad de considerar a los géneros *Graminella spp.* y *Empoasca spp.* como vectores potenciales.

**Palabras Clave:** Cicadélidos, Vectores Potenciales, Diagnóstico, Fitoplasmosis.

## SUMMARY

Among insect vectors, leafhoppers (Cicadellidae) have the ability to transmit pathogens to a wide range of host plants, making this group of insects one of the most important, as they cause epidemics relevant economic interest.

The most common species is *Circulifer tenellus*, which is reported as phytoplasma vector. However there is no information from other genera of leafhoppers as potential vectors in the state of Zacatecas, making it necessary to detect the species of leafhoppers carriers of these pathogens. During the months of October 2013 to September 2014, leafhoppers were captured by trapping on agricultural crops to determine other genera of leafhoppers present in Zacatecas besides *C. tenellus*. It was found *Empoasca spp.* as the most abundant with 1,268 individuals; *Aceratagallia spp.* 368; *Graminella spp.* 311 and *Dalbulus spp.* just 108 individuals. These groups were tested for phytoplasmas by nested PCR techniques. Through enmeshing 130 insect were collected (55 *Aceratagallia spp.*; 31 *Empoasca spp.*; 30 *Graminella spp.* and 14 *Dalbulus spp.*); founding the presence of phytoplasmas in five of *Graminella spp.* two individuals of *Empoasca spp.*, one of *Dalbulus spp.* These data raise the possibility of considering to *Graminella spp.* and *Empoasca spp.* as potential vectors.

**Keywords:** Cicadellids, Potential vectors, Diagnosis, Phytoplasmas.

## INTRODUCCION

En Zacatecas, las regiones productoras agrícolas de cultivos de importancia económica se ven afectadas por problemas fitosanitarios, en particular por insectos vectores de patógenos. Estos acarrear bacterias, virus y fitoplasmas (Weintraub y Beanland, 2006), causando enfermedades que ocasionan una reducción en el rendimiento y una pérdida del valor comercial de la cosecha.

Para los fitoplasmas, los insectos son necesarios para su transmisión, dispersión y multiplicación (Arismendi *et al.*,

2010a). Insectos fitófagos pertenecientes al orden Hemiptera son reconocidos como vectores de fitoplasmas, y los de la familia Cicadellidae presentan un distintivo aparato bucal succinador-picador, que les ha conferido un relevante efecto en su extensa radiación adaptativa (Goodchild, 1966). Esta familia es considerada la más diversa dentro de este orden, con aproximadamente 22,000 especies distribuidas en todas las regiones zoogeográficas del mundo. Son severos los efectos que provocan durante la alimentación particularmente por la toxicidad de la saliva, y por su intervención en la transmisión, dispersión y reservorio de patógenos como virus, espiroplasmas, bacterias y principalmente fitoplasmas (Nault y Ammar, 1989).

Estos fitopatógenos están rodeados por una membrana trilaminar, de unos 10 nm de grosor, compuesta de proteínas y lípidos (Davis *et al.*, 1998; Nakashima, 1995; Nishigawa *et al.*, 2001). Su genoma es pequeño de 530 a 1350 Kb y presentan bajo contenido de G-C en su DNA. Los fitoplasmas se localizan en las células del floema de sus plantas hospederas, la transmisión persistente y propagativa de estos patógenos les permite sobrevivir en forma prolongada dentro de sus hospederos.

En el grupo de las bacterias mollicutes, la obtención de cultivos puros en condiciones *in vitro* no ha sido posible, lo cual ha conllevado el desarrollo de una serie de técnicas para su detección, identificación y caracterización (Arismendi *et al.*, 2010b).

La capacidad que tienen los Cicadélidos para transmitir patógenos a un amplio rango de plantas huéspedes, hace a este grupo de insectos uno de los más importantes ya que provocan epifitias de interés económico relevante. Los trabajos sobre biología, ecología y transmisión de estos patógenos se han incrementado exponencialmente en los últimos 20 años, pero aún se carece de información de las interacciones y sus efectos en quienes los transmiten. La especie más habitual es *Circulifer tenellus*, la cual esta reportada como vector de fitoplasmas. Sin embargo no hay información de otros géneros de Cicadélidos como vectores potenciales en el estado de Zacatecas, lo que hace necesario la detección de las especies de chicharritas portadoras de estos patógenos. Los fitoplasmas son bacterias sin pared celular, miembros de la Clase Mollicutes, que causan enfermedades como amarillamientos en numerosas especies de plantas (McCoy *et al.*, 1989; Weintraub y Jones, 2010). Su detección se hace por técnicas basadas en ácidos nucleicos, principalmente PCR. Es poca la información acerca de la presencia de fitoplasmas en los insectos vectores presentes en Zacatecas, que hace necesaria la realización de pruebas de laboratorio para detectar la presencia de fitoplasmas en los géneros más comunes de chicharritas presentes en la región.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Conteo poblacional

Se realizaron colectas de chicharritas de los géneros *Dalbulus spp.*, *Empoasca spp.*, *Graminella spp.* y *Aceratagallia*

*spp.*, mediante trampas de agua (vasijas de plástico con un diámetro de 10cm y de 8cm de alto con agua a la mitad) colocadas al azar, dentro del Campo Experimental Zacatecas del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), durante los meses de Octubre de 2013 a Septiembre de 2014 para realizar una contabilización poblacional-temporal.

Para la clasificación taxonómica a nivel de género se utilizaron claves taxonómicas (Dietrich, 2005). Para ello, necesario seccionar el último segmento del abdomen con la ayuda de agujas histológicas y aclarar esta con una solución de (KOH) al 10%, calentada durante 20 minutos, y después sumergirlas en una gota de glicerina sobre un portaobjeto para disecar estructuras genitales. Estas estructuras fueron examinadas para ayudar a la identificación del género del insecto.

### Detección de fitoplasmas en insectos

Se colectaron chicharritas mediante redeo con 100 golpes, en cultivos agrícolas establecidos en el Campo Experimental; los organismos fueron identificados y separados por machos y hembras de los géneros de interés para el diagnóstico de fitoplasmas. Para esto se extrajo el DNA total por insecto siguiendo el protocolo propuesto por Ceñís y colaboradores (1993), con modificaciones para hacer extracción por organismo de forma individual. Posteriormente a la extracción de los diferentes géneros de insectos se llevó a cabo la amplificación de las secuencias genómicas mediante la técnica de PCR anidada utilizando los pares de *primers* universales, P1/Tint y R16F2n/R16R2 (Almeyda, 1997; Deng y Hiruki, 1991; Gundersen y Lee, 1996; Lee *et al.*, 1993; Lee *et al.*, 1998; Martínez *et al.*, 1997; Smart *et al.*, 1996b). Las reacciones de la PCR se llevaron a cabo en un termociclador (Applied Biosystems) bajo condiciones específicas. Para la PCR directa con los *primers* P1/Tint, las condiciones fueron las siguientes: 1 ciclo de desnaturalización del DNA a 95°C por 2 minutos y 30 ciclos adicionales con el siguiente programa: desnaturalización a 94°C por 1 minuto, 1 minuto de alineación a 56°C, la elongación a 72°C por 2 minutos y una extensión final a 72°C por 5 minutos. Las condiciones determinadas con las que se realizó la PCR anidada, utilizando el par de cebadores R16F2n/R2, fueron las siguientes: desnaturalización del DNA a 94°C por 2 minutos, y 30 ciclos adicionales de: desnaturalización a 94°C por 1 minuto, alineación de los cebadores a 55°C por 2 minutos, y la polimerización a 72°C por 2 minutos con una extensión final a 72°C por 5 minutos.

Los productos de PCR se fraccionaron mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio y se visualizaron bajo luz ultravioleta (Smart *et al.*, 1996a). La presencia de una banda, con una amplificación de 1,200 pb fue interpretada como un resultado positivo a presencia de fitoplasmas.

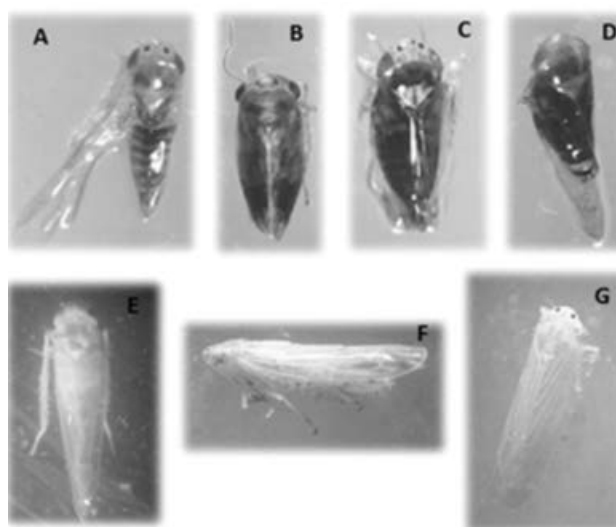
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Conteo poblacional

Durante el tiempo de estudio (Octubre 2013-Septiembre 2014) se colectaron un total de 2055 chicharritas de los géneros estudiados (Figura 1). De estos, 1334 fueron machos y 721 hembras. El número de individuos colectados fue variable durante los meses de muestreo, la población general de chicharritas fue mayor en los meses de Enero y Marzo de 2014 donde se capturaron 410 y 397 individuos respectivamente; y la población más baja se registró en los meses de Julio y Septiembre de 2014 con 15 y 27 individuos (Cuadro 1). En el mes de Agosto no se registró ningún individuo colectado en las trampas de agua, probablemente debido a que se presentaron lluvias in-

tensas que sacudían las trampas de agua tirando el contenido.

El género más abundante y presente en todos los meses de muestreo con 1,268 de especímenes fue *Empoasca spp.*, con más de la mitad del número registrado. En los 4 géneros colectados, la población de machos fue más relevante que la de las hembras capturadas. En el caso de *Graminella spp.* se presentó con un número más alto en el mes de Enero tanto machos como hembras, *Aceratagallia spp.* apareció con mayor frecuencia en el mes de Mayo para el caso de los machos, y en Abril para el caso de las hembras, para *Dalbulus spp.* se capturo un mayor número de individuos en Enero para machos y hembras, y en el caso de *Empoasca spp.* se registró mayor captura de individuos en el mes de Marzo tanto en machos como hembras.



**Figura 1. Géneros de chicharritas. A) *Dalbulus maidis*; B) *Aceratagallia sp.*; C) *Graminella sp.*; D) *Circulifer tenellus*; E) *Empoasca sp.*; F) *Dalbulus elimatus*, vista lateral; G) *Dalbulus elimatus*, vista frontal.**

### Detección de fitoplasmas en insectos

Se colectó por redeo un total de 133 insectos en el periodo Febrero-Agosto 2014. Cincuenta y cinco fueron del género *Aceratagallia spp.*, 31 de *Empoasca spp.*, 30 de *Graminella spp.* y 14 de *Dalbulus spp.* Del total de insectos analizados se encontró presencia de fitoplasmas en cinco individuos de *Graminella spp.*; dos individuos de *Empoasca spp.* y un individuo de *Dalbulus spp.* La mayoría de las muestras positivas se obtuvieron en el mes de junio. Por otro lado, dado que el análisis de detección de fitoplasmas fue a nivel de individuo, se pudo hacer la distinción por sexo, encontrándose que dentro de todos los Cicadélidos analizados, seis muestras positivas fueron en hembras y dos en machos (Cuadro 2).

*minella spp.*; dos individuos de *Empoasca spp.* y un individuo de *Dalbulus spp.* La mayoría de las muestras positivas se obtuvieron en el mes de junio. Por otro lado, dado que el análisis de detección de fitoplasmas fue a nivel de individuo, se pudo hacer la distinción por sexo, encontrándose que dentro de todos los Cicadélidos analizados, seis muestras positivas fueron en hembras y dos en machos (Cuadro 2).

**Cuadro 1. Géneros de chicharritas capturadas mediante trampas de agua durante Octubre 2013-Septiembre 2014 (INIFAP) Campo Experimental Zacatecas.**

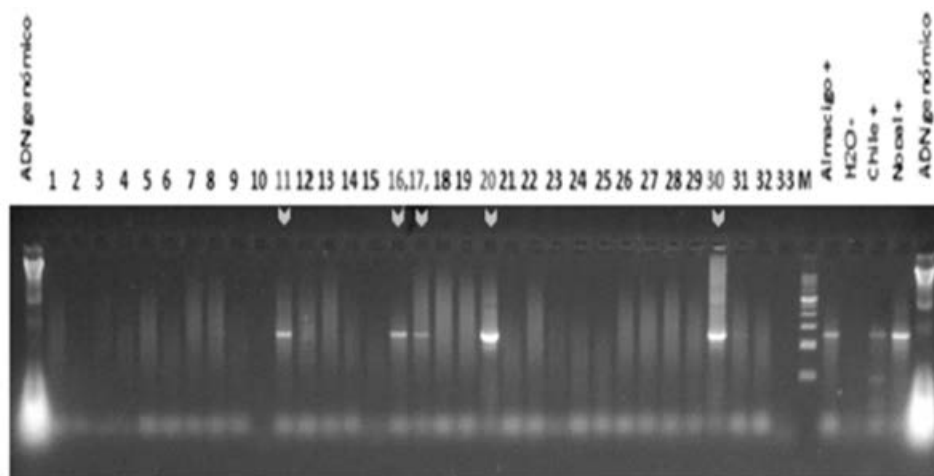
| Mes/año de colecta  | <i>Graminella</i> |     | <i>Aceratagallia</i> |     | <i>Dalbulus</i> |    | <i>Empoasca</i> |     | Total |
|---------------------|-------------------|-----|----------------------|-----|-----------------|----|-----------------|-----|-------|
|                     | ♂                 | ♀   | ♂                    | ♀   | ♂               | ♀  | ♂               | ♀   |       |
| Octubre del 2013    | 31                | 12  | 7                    | 11  | 8               | 6  | 78              | 37  | 190   |
| Noviembre del 2013  | 30                | 7   | 1                    | 0   | 5               | 0  | 73              | 24  | 140   |
| Diciembre del 2013  | 0                 | 0   | 2                    | 4   | 0               | 0  | 49              | 0   | 55    |
| Enero del 2014      | 58                | 38  | 53                   | 32  | 26              | 17 | 105             | 81  | 410   |
| Febrero del 2014    | 46                | 16  | 2                    | 12  | 25              | 4  | 144             | 49  | 298   |
| Marzo del 2014      | 16                | 30  | 22                   | 9   | 6               | 11 | 200             | 103 | 397   |
| Abril del 2014      | 20                | 6   | 34                   | 39  | 0               | 0  | 147             | 95  | 341   |
| Mayo del 2014       | 0                 | 0   | 60                   | 24  | 0               | 0  | 43              | 20  | 147   |
| Junio del 2014      | 1                 | 0   | 11                   | 10  | 0               | 0  | 4               | 9   | 35    |
| Julio del 2014      | 0                 | 0   | 5                    | 7   | 0               | 0  | 2               | 1   | 15    |
| Agosto del 2014     | 0                 | 0   | 0                    | 0   | 0               | 0  | 0               | 0   | 0     |
| Septiembre del 2014 | 0                 | 0   | 17                   | 6   | 0               | 0  | 3               | 1   | 27    |
| Total               | 202               | 109 | 214                  | 154 | 70              | 38 | 848             | 420 | 2055  |
| Total por género    | 311               |     | 368                  |     | 108             |    | 1268            |     |       |

**Cuadro 2. Análisis de PCR anidada para la detección de fitoplasmas en géneros de chicharritas capturadas mediante red entomológica en el año 2014.**

| Género                    | Fecha de | No. de     | No. de muestras | Sexo  |
|---------------------------|----------|------------|-----------------|-------|
| <i>Aceratagallia spp.</i> | Febrero  | 1          | 0               |       |
|                           | Marzo    | 2          | 0               |       |
|                           | Abril    | 9          | 0               |       |
|                           | Mayo     | 4          | 0               |       |
|                           | Junio    | 12         | 0               |       |
|                           | Julio    | 16         | 0               |       |
|                           | Agosto   | 12         | 0               |       |
| <i>Graminella spp.</i>    | Febrero  | 2          | 0               |       |
|                           | Marzo    | 2          | 0               |       |
|                           | Abril    | 1          | 0               |       |
|                           | Mayo     | 5          | 1               | ♂     |
|                           | Junio    | 15         | 3               | ♀ ♂ ♀ |
|                           | Julio    | 0          | 0               |       |
|                           | Agosto   | 6          | 1               | ♂     |
| <i>Empoasca spp.</i>      | Febrero  | 2          | 0               |       |
|                           | Marzo    | 2          | 0               |       |
|                           | Abril    | 3          | 0               |       |
|                           | Mayo     | 5          | 1               | ♀     |
|                           | Junio    | 18         | 1               | ♀     |
|                           | Julio    | 0          | 0               |       |
|                           | Agosto   | 2          | 0               |       |
| <i>Dalbulus spp.</i>      | Febrero  | 0          | 0               |       |
|                           | Marzo    | 2          | 0               |       |
|                           | Abril    | 3          | 0               |       |
|                           | Mayo     | 1          | 0               |       |
|                           | Junio    | 6          | 1               | ♀     |
|                           | Julio    | 2          | 0               |       |
|                           | Agosto   | 0          | 0               |       |
| <b>Total</b>              |          | <b>133</b> | <b>8</b>        |       |

Del análisis por PCR anidada en la Figura 2, se señalan los resultados obtenidos de 33 muestras de chicharritas, donde los carriles 11, 16, 17, 20 y 30 reflejaron presencia de fitoplasmas. El primer y último carril se cargó con DNA genómico de Chile,

esto para delimitar las muestras en el gel, se utilizaron 3 controles positivos y H<sub>2</sub>O como control negativo, amplificando los 3 controles positivos.



**Figura 2. Gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio, muestra amplificaciones de banda de tamaño esperado. Carril 1-6=*Empoasca spp.*, macho; carril 7-11=*Empoasca spp.*, hembra; carril 12-14=*Graminella spp.*, macho; carril 15-20=*Graminella spp.*, hembra; carril 21-25=*Aceratagallia spp.*, hembra; carril 26-27=*Aceratagallia spp.*, macho; carril 28-33=*Dalbulus spp.*, hembra.**

Es interesante que dentro de los géneros analizados (*Aceratagallia spp.*, *Empoasca spp.*, *Graminella spp.* y *Dalbulus spp.*), tres de ellos fueron positivos como vectores de fitoplasmas. Por consecuencia, en la estrategia del manejo de las enfermedades causadas por estos patógenos en el Estado, se debe considerar a las especies de chicharritas *Empoasca spp.* y *Graminella spp.*, como vectores potenciales.

Por otra parte, se entiende que es difícil separar el efecto directo de las plantas hospederas del efecto de los fitoplasmas sobre el insecto vector, lo cual podría enmascarar el resultado real de esta interacción. Las plantas infectadas se ven alteradas de tal forma, que las hace más susceptibles para la infestación de los insectos (Sugio *et al.*, 2011), por ejemplo, hay una reducción en las defensas químicas, las cuales podrían estar involucradas en repelencia de otros insectos herbívoros o en la reducción del potencial biológico de éstos. Por ejemplo, la infección fitoplasmática en plantas puede incrementar la concentración de nutrientes de fácil digestión, tales como aminoácidos libres y azúcares que podrían ser utilizados por los insectos vectores (Weintraub y Beanland, 2006).

Además, plantas infectadas pueden incrementar la atracción de insectos, sobre todo cicadélidos, ya que se ha demostrado que los colores amarillos son más atractivos para estos insectos; cuya coloración se da con los tejidos cloróticos de las plantas afectadas por fitoplasmas (Todd *et al.*, 1990). De un inicio se ha propuesto, que los efectos negativos o positivos en un vector pueden estar asociados a las relaciones e interacciones o los mecanismos que participan entre el patógeno y su vector (Kakizawa *et al.*, 2006).

También se puede manejar que la infección por estos fitoplasmas en los insectos vectores tiene implicaciones en la incidencia y la dispersión de enfermedades. Mientras mayor tiempo de sobrevivencia tenga el vector, tiene una mayor oportunidad de infectar más plantas y de generar un mayor número de individuos en la progenie. También se puede concluir que la infección por estos patógenos en los insectos vectores tiene implicaciones en la incidencia y la dispersión de enfermedades. Por lo que en la práctica, la incidencia y dispersión de estos patógenos no sólo depende de un factor, sino que es una interacción cuádrupla de diferentes niveles entre insecto vector- patógeno - planta hospedera y el ambiente en donde se presenten.

## CONCLUSIONES

A excepción de *Circulifer tenellus*, otros géneros de Cicadélidos como *Dalbulus spp.*, *Empoasca spp.*, y *Graminella spp.* fungen también como vectores potenciales de fitoplasmas, siendo los dos últimos los más importantes.

Los meses de mayor abundancia de los géneros *Empoasca spp.*, y *Graminella spp.* son enero y febrero.

Existe evidencia para considerar a los géneros *Empoasca*

*spp.*, y *Graminella spp.* como vectores potenciales dentro de la implementación de técnicas en el manejo de cultivo contra fitoplasmas.

## LITERATURA CITADA

- Almeyda, L.I.H. 1997. Detección molecular de fitoplasmas y su uso en el diagnóstico del amarillamiento letal del cocotero. Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolas de los Garza, N.L., México, p. 88.
- Arismendi, N.; Carrillo LL. R.; Andrade, N. 2010a. Mollicutes fitopatógenos transmitidos por insectos: Interacciones y efectos en sus vectores. *Agro sur* 38:55-67.
- Arismendi, N.; Carrillo, LL. R.; Andrade, S.N. 2010b. Phytopathogen mollicutes transmitted by insects: interactions and effects on their vectors. *Agro Sur* 38:55-67.
- Ceñís, J.L.; Pérez, P.; Fereres, A. 1993. Identification of various aphid (Homoptera: Aphididae) species and clones by random amplified polymorphic DNA (RAPD-PCR). *Annals of the Entomological Society of America* 86:545-550.
- Davis, R.; Jomantiene, R.; Dally, E.; Wolf, T. 1998. Phytoplasmas associated with grapevine yellows in Virginia belong to group 16Srl, subgroup A (tomato big bud phytoplasma subgroup), and group 16SrIII, new subgroup I. *Vitis* 37:131-137.
- Deng, S.; Hiruki, C. 1991. Amplification of 16S rRNA genes from culturable and nonculturable mollicutes. *Journal of Microbiological Methods* 14:53-61.
- Dietrich, C. 2005. Keys to the families of Cicadomorpha and subfamilies and tribes of Cicadellidae (Hemiptera: Auchenorrhyncha). *Florida Entomologist* 88:502-517.
- Goodchild, A. 1966. Evolution of the alimentary canal in the Hemiptera. *Biological Reviews* 41:97-139.
- Gundersen, D.; Lee, I. 1996. Ultrasensitive detection of phytoplasmas by nested-PCR assays using two universal primer pairs. *Phytopathologia Mediterranea* 35:144-151.
- Kakizawa, S.; Oshima, K.; Namba, S. 2006. Diversity and functional importance of phytoplasma membrane proteins. *Trends in Microbiology* 14:254-256.
- Lee, M.; Hammond, R.; Davis, R.; Gundersen, D. 1993. Universal amplification and analysis of pathogen 16S rDNA for classification and identification of mycoplasma-like organisms. *Phytopathology* 83:834-842.
- Lee, M.; Gundersen, D.; Bertaccini, A. 1998. Phytoplasma: Ecology and Genomic Diversity. *Phytopathology* 88:1359-1366.
- Martínez, J.P.; Ríos, M.; Zavala, Robles, C.; Almeyda, L.I.H. 1997. Detección de organismos tipo micoplasma, Congreso Nacional de Productores de Papa, Chihuahua, México., pp. 17-19.

- McCoy, R.; Caudwell, A.; Chang, C.; Chen, T.; Chykowski, L.; Cousin, M.; Dale, J.; de Leeuw, J.; Golino, D.; Hackett, K.; Kirkpatrick, B.; Marwitz, R.; Petzold, H.; Sinha, R.; Sugiyara, M.; Whitcomb, R.; Yang, Y.; Zhu, B.; Seemüller, E. 1989. Plant diseases associated with mycoplasma-like organisms. The Mycoplasmas. Academic Press New York.
- Nakashima, K. 1995. Multiplication and distribution of rice yellow dwarf phytoplasma in infected tissues of rice and green rice leafhopper *Nephotettix cincticeps*. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn 61:451-455.
- Nault, L.R.; Ammar, E.D. 1989. Leafhopper and Planthopper Transmission of Plant Viruses. Annual Review of Entomology 34:503-529.
- Nishigawa, H.; Miyata, S.-I.; Oshima, K.; Sawayanagi, T.; Komoto, A.; Kuboyama, T.; Matsuda, I.; Tsuchizaki, T.; Namba, S. 2001. In plant expression of a protein encoded by the extrachromosomal DNA of a phytoplasma and related to geminivirus replication proteins. Microbiology 147:507-513.
- Todd, J.L.; Harris, M.O.; Nault, L.R. 1990. Importance of color stimuli in host-finding by *Dalbulus* leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae). Entomologia Experimentalis et Applicata 54: 245-255.
- Smart, C.; Schneider, B.; Blomquist, C.; Guerra, L.; Harrison, N.; Ahrens, U.; Lorenz, K.; Seemüller, E.; Kirkpatrick, B. 1996a. Phytoplasma-specific PCR primers based on sequences of the 16S-23S rRNA spacer region. Applied and Environmental Microbiology 62:2988-2993.
- Smart, C.D.; Schneider, B.; Blomquist, C.L.; Guerra, L.J.; Harrison, N.A.; Ahrens, U.; Lorenz, K.H.; Seemüller, E.; Kirkpatrick B. C. 1996b. Phytoplasma-Specific PCR Primers Based on Sequences of the 16S-23S rRNA Spacer Region. Applied and Environmental Microbiology 62:2988-2993.
- Sugio, A.; MacLean, A.; Kingdom, H.; Grieve, V.; Manimekalai, R.; Hogenhout, S. 2011. Diverse Targets of Phytoplasma Effectors: From Plant Development to Defense Against Insects. Annual Review of Phytopathology 49:175-195.
- Weintraub, P.G.; Beanland, L. 2006. Insect vectors of phytoplasmas. Annual Review of Entomology 51:91-111.
- Weintraub, P.G.; Jones, P. 2010. Phytoplasmas: Genomes, Plant Hosts and Vectors. Wallingford, UK:, CABI.