



Revisión: Genómica de las interacciones entre fitoplasmas, hospederos vegetales e insectos vectores

Review: Genomics of interactions between phytoplasmas, host plants and vector insects

Lamilla Monje.J.R; Franco Lara.L

Universidad Militar Nueva Granada, laboratorio de Biotecnología Vegetal, Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas. Kilometro 3 via Cajicá-Zipacquirá.julianlamillamonje@gmail.com.liliana.franco@unimilitar.edu.co

Resumen

Los fitoplasmas son bacterias de la clase Mollicutes sin pared celular, que se caracterizan por tener un genoma reducido (600-900 Kb) comparado con el de otras bacterias fitopatógenas. Tienen un genoma plástico que les permite multiplicarse exitosamente en dos tipos de hospederos biológicamente distantes, como insectos vectores y plantas. Actualmente se han secuenciado seis genomas completos de fitoplasmas y hay 15 más en proceso de anotación, lo que ha permitido el estudio de los mecanismos de interacción de los fitoplasmas con sus hospederos insectos y plantas. Estas interacciones están gobernadas por proteínas inmunodominantes de membrana de los fitoplasmas como Imp, Amp y Vmp1, que están implicadas en el reconocimiento de moléculas como las cadenas de actina, miosina y la ATP sintasa del intestino y glándulas salivales de los insectos vectores, y con las cadenas de actina de las células de las plantas. También se ha demostrado que los fitoplasmas afectan la idoneidad biológica de los insectos vectores, aumentando o disminuyendo su longevidad y tiempos de oviposición. Por otra parte, las proteínas efectoras como SAP11, SAP54 y TENGU codificadas por los genomas de los fitoplasmas, se encuentran codificadas principalmente en unidades repetitivas del genoma denominadas Unidades Potencialmente Móviles (PMUs), interfieren en las rutas de síntesis de ácido jasmónico y auxinas, lo que afecta la fisiología y arquitectura de las plantas, causando síntomas asociados a fitoplasmas como virescencia y proliferación de brotes vegetativos, entre otros.

Palabras Clave: efectores, interacciones moleculares

Abstract

Phytoplasmas are bacteria of the class Mollicutes without cell walls, that have reduced genomes (600-900 Kb) compared with other phytopatogenic bacteria. They have plastic genomes that allows them to reproduce successfully in two types of biologically distant hosts,

144

such as insect vectors and plants. Presently, the genomes of six complete genomes have been sequenced and there are 15 in the process of anotation, which has allowed the the study of the interation mechanisms of phytoplasmas with their plant and insect hosts. These interactions are governed by inmunodominant phytoplasma membrane proteins such as Imp, Amp y Vmp1, which are implied in the recogntion of molecules such as actin, miosin and ATP synthase chains from the gut and salivary glands of insect vectors, and with the actin chains of the plant cells. It has been demonstrated that phytoplasmas affect the biologic fitness of the insect vectors, increasing or decreasing their lifespan and oviposition times. Effector proteins such as SAP11, SAP54 and TENGU coded by phytoplasma genomes, are coded mainly in genome repetitive units called Potentially Mobile Units (PMUs), that interfiere the synthesis pathways of jasmonic acid and auxins, affecting plant physiology and architecture, causing symptoms associated to phytoplamas such as virescence and shoot proliferation, among others.

Keywords: effectors, molecular interactions

Introducción

Los fitoplasmas son bacterias fitopatógenas, sin pared celular, de la clase Mollicutes, que colonizan el floema de plantas y tejidos de algunos insectos hemipteros, y que se caracterizan por ser parásitos intracelulares obligados (Lee et al., 2000; Bertaccini & Duduk, 2009). Los fitoplasmas tienen una particularidad biológica importante, pues para su supervivencia deben multiplicarse intracelularmente dentro de sus hospederos vegetales e insectos vectores (Rashid et al., 2018). Además, los fitoplasmas son sensibles al antibiótico de amplio espectro tetraciclina (Ishii et al., 1967; Asuyama & Take, 1973).

Al ser parásitos obligados del floema, los fitoplasmas se consideraban no cultivables,

pero Contaldo et al., (2012) realizó la primera aproximación para su cultivo a partir de plantas de *Catharanthus roseus* infectadas, en medio PivL (“medio líquido *in vitro* con rojo fenol para fitoplasmas”), pero dado que la composición de este medio está protegida por una patente comercial, no ha sido usado ampliamente. Posteriormente, Contaldo et al., (2016), prepararon diferentes medios de cultivo enriquecidos con el fin de aislar fitoplasmas a partir de plantas de vid infectadas con fitoplasmas “flavescence dorée”, “bois noir” y “aster yellows”. Aunque p se evidenció el crecimiento de colonias de fitoplasmas, estas técnicas no parecen haber sido implementadas por otros grupos de investigación y el cultivo de fitoplasmas no es una técnica rutinaria para su estudio.



145

La mayoría de fitoplasmas tienen un amplio rango de hospederos vegetales, el cual depende en parte del rango de alimentación de los insectos vectores, y de la susceptibilidad de las plantas hospederas a los fitoplasmas (Hogenhout et al., 2008). Los fitoplasmas se asocian a enfermedades en más de 400 especies de plantas a nivel mundial, incluyendo frutales, productos hortícolas, ornamentales, arbóreas y de cultivos de interés comercial (Bertaccini, 2007; Rashid et al., 2018). Frecuentemente, aislados del mismo fitoplasma se encuentran infectando especies vegetales distintas, pertenecientes a familias botánicas diferentes, que comparten el mismo hábitat y seguramente son hospederos de insectos vectores capaces de transmitir los fitoplasmas a muchas plantas distintas, como se ha evidenciado en el arbolado urbano de Bogotá, Colombia (Perilla-Henao et al., 2012; Perilla-Henao & Franco-Lara, 2013; Franco-Lara & Perilla-Henao, 2014).

El objetivo de esta revisión es analizar la información disponible sobre las características genómicas de los fitoplasmas y cómo algunos factores proteicos conocidos permiten la interacción con sus insectos vectores y plantas hospederas, en las cuales causan diferentes alteraciones fisiológicas y morfológicas. Estos factores proteicos “manipulan” el comportamiento de los

hospederos vegetales y de los insectos vectores, promoviendo condiciones que benefician a estos exitosos patógenos vegetales.

Generalidades de los fitoplasmas

Hasta finales de 1960 se creía que las enfermedades en plantas de tipo “amarillamiento”, eran causadas por virus debido a su forma de propagación, sintomatología y su transmisión por insectos. La primera demostración que algunas de estas enfermedades estaban asociadas a procariontes sin pared celular, restringidas exclusivamente al floema de las plantas afectadas, y no a virus, fue presentada por Doi et al. (1967). El término Mycoplasma-Like Organisms (MLOs), actualmente reemplazado por el de fitoplasmas, se empleó para describir a estos organismos por su similitud morfológica y ultra-estructural con los micoplasmas que infectan los animales (Doi et al., 1967). Los fitoplasmas se clasifican dentro del dominio Bacteria, componen un grupo monofilético perteneciente a la clase Mollicutes y al orden Acholeplasmatales (Gundersen et al., 1994). Dentro de esta clase se incluyen los Mycoplasmas, Acholeplasma y Spiroplasma, los cuales están estrechamente relacionados con bacterias como *Bacillus*, *Clostridium* y *Streptococcus* (Hodgetts et al., 2009). Posteriormente, con el fin de acogerse a la taxonomía existente para bacterias se decidió utilizar el término ‘*Candidatus*



146

Phytoplasma', como género dentro de la familia Acholeplasmataceae (IRCPM, 2004).

Los fitoplasmas se limitan al floema de las plantas infectadas, lo que se ha demostrado empleando diferentes técnicas como microscopia de fluorescencia, tinción con DAPI, hibridación *in situ* y microscopia electrónica (Thomas & Balasanduran, 1998; Bulgari et al., 2011; Andrade & Arismendi, 2013; Kanatiwela-de Silva et al., 2015). Además, se sugiere que los fitoplasmas se mueven sistémicamente a través del floema, como en el caso de *Arabidopsis* e *Hydrangea* sp., plantas en las que se detectaron fitoplasmas en puntos distantes del punto de inoculación empleando insectos vectores. También se detectaron fitoplasmas en rebrotes de plantas sanas en las cuales se injertaron brotes de plantas infectadas, lo que sugiere el movimiento del patógeno dentro de la planta (Arashida et al., 2008; Hoshi et al., 2009; Hodgetts et al., 2013).

Los síntomas en plantas infectadas por fitoplasmas, se pueden clasificar en dos categorías. Por un lado, el amarillamiento que es posiblemente causado por el taponamiento mecánico del floema por los fitoplasmas, cambios en el influjo de Ca^{++} en el floema y por otro lado, alteraciones en los reguladores de crecimiento de las plantas (Musetti & Favali, 2004; Musetti et

al., 2012). En este último grupo aparecen síntomas como, filodia que es el desarrollo de crecimientos similares a hojas en lugar de las partes florales normales, la virescencia en la cual el color normal de las flores cambia a verde o presenta decoloración, la rebrotación excesiva de ramas o brotes que puede llevar a la formación de ramas en copo o escobas de bruja, mayor o menor elongación de los entrenudos de los tallos y ramas, aparición de brotes en lugares inusuales, la aparición de una mezcla de hojas de tamaño normal y de tamaño reducido en la misma rama, entre otros (Lee et al., 2000; Pracros et al., 2006; Hogenhout et al., 2009; Bertaccini & Duduk, 2009; Azadvar & Baranwal, 2010; Cettul & Firrao, 2011).

Existen dos sistemas de clasificación para los fitoplasmas, ambos basados en la secuencia de una región del gen 16SrRNA, amplificada por PCR anidada con iniciadores considerados universales (Deng & Hiruki, 1991; Ahrens & Seemüller, 1992; Lee et al., 1993; Gundersen & Lee, 1996). En el primer sistema, los amplicones obtenidos de aproximadamente 1250 pb son analizados por RFLPs ("Restriction Fragment Length Polymorphism") con 17 enzimas de restricción, para generar fragmentos de distintos tamaños que separados por electroforesis producen patrones característicos para cada grupo (Lee et al., 1998). Los patrones de RFLP permiten clasificar los fitoplasmas en grupos



147

o subgrupos que se enumeran con números romanos y los subgrupos son designados con una letra mayúscula; actualmente hay reconocidos 34 grupos (Marcone et al., 2004; Bertaccini et al., 2014; Pérez-López et al., 2016). Para reconocer un nuevo grupo 16Sr, es necesario que el patrón de RFLP colectivo tenga un coeficiente de similitud de 0,85 o menor respecto a los patrones de subgrupos de todos los grupos conocidos, y este nuevo grupo debe tener por lo menos una nueva especie de 'Ca. Phytoplasma' (Zhao et al., 2009). En el caso de proponer la existencia de un nuevo subgrupo, el patrón de RFLP debe presentar un coeficiente de similitud calculado con la herramienta virtual iPhyClassifier (Zhao et al., 2009), igual o menor a 97% con respecto a los subgrupos descritos anteriormente, dentro de un grupo determinado (Lee et al., 1998; Wei et al., 2008).

El segundo sistema, utiliza el taxón '*Candidatus*' que sirve para nombrar especies de bacterias no cultivables descritas de forma incompleta (Firrao et al., 2004). Se basa en el secuenciamiento de amplicones de la misma región del gen 16SrRNA obtenidos con los mismos iniciadores descritos anteriormente. Las nuevas secuencias, que comparadas con secuencias del gen 16SrRNA previamente reportadas, que arrojen una similitud menor a 97,5%, darían lugar a una nueva especie

de "*Candidatus* Phytoplasma" (IRCPM, 2004). El taxón, "*Candidatus* Phytoplasma" se considera un género, dentro del cual hay muchas especies.

Adicionalmente, teniendo en cuenta la poca variabilidad del gen 16SrRNA, se emplean otros genes no ribosomales para obtener una mayor resolución taxonómica a nivel inferior a subgrupos. Entre ellos se incluyen el gen del factor de elongación *tufB* (Marcone et al., 2000; Malembic-Maher et al., 2011), proteínas ribosomales *rp* (Martini et al., 2007), el chaperon molecular *groE* (Mitrović et al., 2011a), la proteína de la maquinaria de secreción *secY* (Lee et al., 2006) y el gen *secA* (Hodgetts et al., 2008; Bekele et al., 2011), entre otros. Por lo general, las relaciones filogenéticas que se predicen con otros genes son similares a las estimadas con 16SrRNA (Mitrović 2011a, b; Lee et al., 2004, Martini et al 2007, Hodgetts et al., 2008) y la variabilidad de otros genes suele ser suficiente para distinguir entre cepas estrechamente relacionadas (Arnaud et al., 2017; Hodgetts et al., 2008; Davis et al., 2015, Davis et al., 2018).

Transmisión de los fitoplasmas

La transmisión de los fitoplasmas a plantas hospederas se puede dar por medio de la conexión de haces vasculares entre plantas enfermas y sanas, por injertos de material vegetal infectado o mediante plantas parásitas como *Cuscuta* spp., que puede establecer conexiones directas entre los



148

floemas de plantas infectadas y sanas, y mediante propagación vegetativa (Weintraub & Beanland, 2006). Adicionalmente, se ha sugerido que puede haber transmisión por semilla como en embriones de coco (Cordova et al., 2003; Nipah et al., 2007; Oropeza et al., 2017), semillas de alfalfa (Khan et al., 2002), y en semillas de canola y colza (Olivier et al., 2010).

La principal forma de transmisión de los fitoplasmas es a través de insectos del orden Hemiptera, que se alimentan usando partes bucales que perforan o chupan el floema. Los vectores conocidos de fitoplasmas se encuentran principalmente en el suborden Auchenorrhyncha dentro de las familias Cicadellidae, Cixidae, Delphacidae y Derbidae, y en el suborden Sternorrhyncha, en dos géneros pertenecientes a la familia Psyllidae (Weintraub & Beanland, 2006).

Una característica de los insectos vectores de fitoplasmas, es que tanto las ninfas como los adultos pueden ser transmisores de fitoplasmas. Así mismo, su alimentación no es destructivo, es específico del floema y no activa respuestas de defensa de la planta (Hogenhout et al., 2008). Para poder transmitir a plantas sanas, el proceso inicia cuando los insectos adquieren los fitoplasmas durante su alimentación y estos llegan al intestino (periodo de acceso y

adquisición, AAP), del lumen del intestino se mueven a la hemolinfa, infectando posteriormente diferentes tejidos, hasta infectar las glándulas salivales (periodo de acceso a latencia, LAP o periodo de latencia, LP) y finalmente, secretar los fitoplasmas en el floema de la planta huésped al alimentarse de esta (periodo de acceso a la inoculación, IAP), (Weintraub & Beanland, 2006; Sugio et al., 2011; Alma et al., 2015).

La eficiencia de la adquisición de los fitoplasmas por insectos vectores depende de la fuente del inóculo. Por ejemplo, en plantas de vid infectadas, las variedades más susceptibles tienen una mayor concentración de fitoplasmas, lo cual aumenta la eficiencia de la adquisición por parte de los insectos vectores (Bressan et al., 2005; Galetto et al., 2016; 2014). Adicionalmente, para que la transmisión tenga lugar, deben existir relaciones moleculares específicas entre proteínas del insecto y del fitoplasma (Rashidi et al., 2014)

Características de los genomas de fitoplasmas

Los fitoplasmas tienen un tamaño del genoma reducido comparado con otras bacterias patógenas de plantas y tienen restricciones en sus capacidades metabólicas (Rashid et al., 2018). Actualmente, se encuentran completamente secuenciados seis



genomas de fitoplasmas y hay 15 procesos de secuenciación en estado de construcción o anotación (Tabla 1). “Ca. P. Asteris” u Onion Yellows Phytoplasma line M (OY-M), del subgrupo 16Srl-B, fue el primer fitoplasma cuyo genoma fue secuenciado (Oshima et al., 2004). Posteriormente, se secuenció el genoma de “Ca. P. Asteris” Aster Yellows Witches Broom Phytoplasma (AY-WB) del subgrupo 16Srl-A (Bai et al., 2006). Por último, fueron secuenciados los genomas de “Ca. P. australiense” (P. australiense Australian isolate PAa), (Tran-Nguyen et al., 2008); “Ca. P. mali” (AT, apple proliferation) (Kube et al., 2008); “Ca. P. australiense” (SLY, strawberry lethal yellows), (Andersen et al., 2013) y Maize bushy stunt phytoplasma (MBS, strain M3 chromosome), (Orlovskis et al., 2016).

Los genomas completos de los fitoplasmas que se tienen hasta ahora se han secuenciado mediante el método tradicional de construcción de librerías genómicas. Aunque se tienen genomas de fitoplasmas y se cuenta con nuevas técnicas de secuenciación, el completar y ensamblar los genomas de los fitoplasmas es difícil debido a la cantidad de regiones repetitivas como las PMUs (Kakizawa & Yoneda, 2015). Posiblemente por esto, se cuenta con un número limitado de genomas completos.

Los genomas de estos fitoplasmas están organizados en cromosomas únicos

circulares o lineales. Algunos, como es el caso de “Ca. P. asteris” (Tran-Nguyen & Gibb, 2006) contienen elementos extra cromosomales, también llamados plásmidos, que pueden integrar su material genético dentro del cromosoma del fitoplasma (Bai et al., 2006). El tamaño de los cromosomas está entre 600-900 Kb aproximadamente, codifican entre 481 y 776 proteínas y se caracterizan por tener un bajo contenido de G+C (21-28%) (Kube et al., 2012).

Una característica notable del genoma de los fitoplasmas el número reducido de secuencias codificantes comparado con otras bacterias patógenas de plantas, es decir, la pérdida de genes que se pensaba que eran indispensables para la vida en todas las células, bacterias parásitas y Mollicutes. Por ejemplo, en los fitoplasmas no se han identificado genes para las rutas biosintéticas del ciclo del ácido tricarboxílico, la biosíntesis de ácidos grasos, la síntesis de nucleótidos *de novo*, genes involucrados en procesos de reparación, recombinación y replicación del DNA (*mutL*, *mutS*, *mutSB*, *recF*, *recN* y *recO*), lo que contribuye a la alta tasa de mutación de sus genomas (Chen et al., 2012; Oshima et al., 2004). También se observa pérdida de genes de rutas metabólicas implicadas en la biosíntesis de la mayoría de los aminoácidos (arginina, histidina, lisina, prolina, aminoácidos

150

aromáticos), la vía de las pentosas fosfato (*pgcA*, *rpe*, *tkl*, *prs* y *deoC*) y la ATP sintasa tipo F1F0 (*atpA*, *atpD* y *atpG*) (Oshima et al., 2004; Bai et al., 2006; Kube et al., 2008; Oshima et al., 2013).

Por otro lado, los fitoplasmas tienen múltiples copias de genes relacionados con proteínas transportadoras, lo que sugiere que son altamente dependientes de los compuestos metabólicos del hospedero (Oshima et al., 2004).

Por otra parte, en los genomas de los fitoplasmas se han reportado “clusters” de secuencias AT repetidas, organizadas dentro de unidades que pueden superar los 20 Kb (Lee et al., 2006). Estas unidades han sido denominadas mosaicos variables SVMs (por sus iniciales en inglés), (Wei et al., 2008), unidades potencialmente móviles PMUs, (por sus iniciales en inglés), (Bai et al., 2006) o unidades de genes móviles MUGs (por sus iniciales en inglés), (Wei et al., 2008). Las PMUs se pueden encontrar en los cromosomas de los fitoplasmas o en los plásmidos, y pueden contener genes que codifican proteínas implicadas en los procesos de recombinación como *tra5*, *ssb*, *himA* y de replicación como *dnaG* y *dnaB*, lo

que sugiere que se trata de transposones replicativos compuestos. La pérdida de genes implicados en rutas metabólicas básicas y la presencia de las PMUs en los genomas de los fitoplasmas sugieren que son características importantes para la identidad biológica de los fitoplasmas, la flexibilidad del genoma y su capacidad de adaptación para sobrevivir (Oshima et al., 2004; Bai et al., 2006; Arashida et al., 2008).

Adicionalmente, las PMUs pueden codificar para una proteína con un péptido señal de secreción N-terminal y proteínas que se localizan en la membrana, indicando la importancia de las PMUs en la virulencia y patogenicidad de los fitoplasmas (Bai et al., 2006; Rashid et al., 2018). Las PMUs codifican la mayoría de los efectores que intervienen en los cambios fisiológicos de las plantas, y que se asocian con síntomas. Por ejemplo, las repeticiones más grandes en el genoma de AY-WB contienen secuencias similares a islas de patogenicidad donde se codifican efectores como SAP11 (Bai et al., 2006, 2009; Toruño et al., 2010).

Tabla 1. Genomas reportados de los fitoplasmas a la fecha

Especie	Grupo 16SrRNA	Estado del genoma	Longitud (pb)	Cromosoma	Plásmidos	Referencia
“Ca. <i>P. asteris</i> ” The Onion Yellows <i>Phytoplasma</i> line M (OY-M)	16SrI-B	Completo	853092	Circular	-	(Oshima et al., 2004)



"Ca. P. asteris" (Aster Yellows Witches Broom Phytoplasma, AY-WB)	16Srl-A	Completo	706569	Circular	4	(Bai <i>et al.</i> , 2006)
"Ca. P. australiense" (PAa, P. australiense Australian isolate)	16SrXII-B	Completo	879959	Circular	-	(Tran-Nguyen <i>et al.</i> , 2008)
"Ca. P. mali" (AT, apple proliferation)	16SrX-A	Completo	601943	Linear	-	(Kube <i>et al.</i> , 2008)
"Ca. P. australiense" (SLY, strawberry lethal yellows)	16SrXII	Completo	959779	Circular	-	(Andersen & Liefing, 2013)
MBS, Maize bushy stunt phytoplasma strain M3 chromosome	16Srl-B	Completo	576118	Circular	-	(Orlovskis <i>et al.</i> , 2017)
"Ca. P. asteris" (Brasica napus phytoplasma strain TW1)	16Srl-B	Borrador	743598	Linear	-	(Town <i>et al.</i> , 2018)
"Ca. P. pruni" (MW1, milkweed yellows) X-disease group	16SrIII-F	Borrador	583806	Linear	-	(Saccardo <i>et al.</i> , 2012)
"Ca. P. pruni" (PoiBI, JR1, poinsettia Branch- inducing, JR1) X-disease group	16SrIII-H	Borrador	631440	Linear	-	(Saccardo <i>et al.</i> , 2012)
"Ca. P. pruni" (ICP, MA1, Italian clover phyllody, strain MA) X-disease group	16SrIII-B	Borrador	597245	Linear	-	(Saccardo <i>et al.</i> , 2012)
"Ca. P. pruni" (VAC, vaccinium witches broom) X-disease group	16SrIII-F	Borrador	647754	Linear	-	(Saccardo <i>et al.</i> , 2012)
"Ca. P. aurantifolia" (PnWB, peanut witches' broom)	16SrII	Borrador	566694	Circular	-	(Chung <i>et al.</i> , 2013)
"Ca. P. solani" (STOL, stolbur strain 231/09)	16SrXII-A	Borrador	545458	Linear	-	(Mitrović <i>et al.</i> , 2014)
"Ca. P. solani" (STOL, stolbur strain 284/09)	16SrXII-A	Borrador	570238	Linear	-	(Mitrović <i>et al.</i> , 2014)
"Ca. P. asteris" (WBD, wheat blue dwarf)	16Srl-B	Borrador	611462	Linear	-	(Chen <i>et al.</i> , 2014)
"Ca. P. asteris" (CY, chrysanthemum yellows)	16Srl	Borrador	659699	Linear	-	(Pacífico <i>et al.</i> , 2015)
"Ca. P. asteris" (OY-V, onion yellows line V)	16Srl-B	Borrador	739592	Linear	-	(Kakizawa <i>et al.</i> , 2014)

Especie	Grupo 16SrRNA	Estado del genoma	Longitud (pb)	Cromosoma	plásmidos adicionales	Referencia
"Ca. P. australiense" (purple coneflower witches' broom)	16SrII-A	Borrador	545427	Linear	-	(Chang et al., 2015)
X-disease group	16SrIII-J	Borrador	724754	Linear	-	(Zamorano & Fiore, 2016)
"Ca. P. oryzae" (rice yellow dwarf, strain Mbita1)	16SrXI-A	Borrador	533195	Linear	-	(Fischer et al., 2016)
"Ca. P. oryzae" (rice yellow dwarf, strain ngs-s10)	16SrXI-A	Borrador	484488	Linear	-	(Kawicha et al., 2018)
"Ca. P. asteris" (New Jersey aster yellows phytoplasma strain NJAY)	16SrI-A	Borrador	652092	Linear	-	(Sparks et al., 2018)
"Ca. P. aurantifolia" (Strain WBDL)	16SrII	Borrador	474669	Linear	-	(Foissac & Carle, 2017)
"Ca. P. asteris" (ROLP, rice orange leaf phytoplasma strain LD1)	16SrI	Borrador	599264	Linear	-	(Zhu et al., 2017)
"Ca. P. pruni" (Strain CX)	16SrIII-A	Borrador	598508	Linear	-	(Lee et al., 2015)
"Ca. P. Phoenicium" (almond witches broom disease, strain SA213)	16SrIX-B	Borrador	345965	Linear	-	(Quaglino et al., 2015)
"Ca. P. Phoenicium" (strain ChiP, Pigeon pea witches'-broom group)	16SrIX	Borrador	541091	Linear	-	(Polano et al., 2018)

Sistemas de secreción

Las proteínas secretadas por los fitoplasmas juegan un papel importante en la interacción de estos con las plantas e insectos, y esto cobra mayor importancia debido a que los fitoplasmas no tienen pared celular y sus membranas quedan directamente en contacto con el citoplasma

de las células de sus hospederos (Oshima et al., 2013). En los genomas de los fitoplasmas no se han encontrado genes homólogos de los sistemas de secreción Tipo III y Tipo IV, importantes para las bacterias patógenas Gram-negativas pues permiten la inserción de efectores en las células del hospedero, como parte de los mecanismos de infección de plantas, 152

(Zhou & Chai, 2008). Los genomas de los fitoplasmas codifican proteínas implicadas en dos sistemas de secreción; el primero de ellos es el sistema YidC el cual se encuentra implicado en la integración de proteínas nuevas en la membrana de los fitoplasmas. El segundo sistema llamado Sec, está involucrado en la secreción e integración de proteínas, como los efectores fitoplasmáticos en las células del hospedero. Hasta donde se sabe, el sistema de secreción Sec es común para todos los fitoplasmas (Kakizawa et al., 2004; Oshima et al., 2004, 2013; Bai et al., 2006 Hogenhout et al., 2009). En los genomas de los fitoplasmas, se han identificado genes homólogos de *SecA*, *SecY* y *SecE* que codifican para proteínas pertenecientes al sistema de secreción Sec (Bai et al., 2006; Kube et al., 2008; Fischer et al., 2016; Al-Ghaithi et al., 2018).

Reconocimiento entre fitoplasmas e insectos vectores y plantas hospederas

Las relaciones entre los fitoplasmas y sus insectos vectores no son accidentales, lo que implica que en los diferentes estados del proceso de adquisición, latencia e inoculación existan proteínas específicas que permiten la interacción entre los dos organismos. Por ejemplo, se ha demostrado que los fitoplasmas 'Ca. *P. asteris*' OY son reconocidos por los insectos vectores *Macrostelus quadripunctulatus* (Hemiptera: Cicadellidae) y *E. variegatus* (Hemiptera:

Cicadellidae), mediante la interacción de la proteína antigénica de membrana (Amp) presente en los fitoplasmas, con las cadenas de actina, miosina y ATP sintasa del intestino y glándulas salivales de los insectos vectores. Estos complejos fueron observados por microscopía de inmunofluorescencia, en tejidos del intestino y glándulas salivales (Suzuki et al., 2006; Galetto et al., 2008; Rashidi et al., 2014; Rashidi et al., 2015) demuestran el reconocimiento específico de los insectos vectores y los fitoplasmas, que debe ser un requisito previo para la multiplicación dentro de los insectos, y su posterior proceso de dispersión.

El estudio de la secuencia del gen *vmp1* de 'Candidatus *P. solani*' permitió predecir que codifica para la proteína variable de membrana (Vmp1), proteína en la que se ha identificado un péptido señal putativo con un dominio transmembranal c-terminal. Basados en la predicción la estructura tridimensional de la proteína, se cree que Vmp1 está implicada en la interacción con moléculas de las células de los insectos vectores (Cimerman et al., 2009). La proteína VmpA es similar a Vmp1; es una proteína variable de membrana que se ubica en la superficie de la membrana de los fitoplasmas asociados con la enfermedad de la vid *flavescence doree* (FD). Se demostró que está implicada en la adhesión de los fitoplasmas a las células del intestino

154

y otros tejidos del insecto *E. variegatus* (Arricau- Bouvery et al., 2018). Dentro de estos procesos de reconocimiento entre los fitoplasmas y sus hospederos, se ha estudiado como influyen los fitoplasmas en la longevidad y fecundidad en insectos que se han reportado como vectores. Estudios realizados en *Macrosteles quadrilenatus* infectados con el fitoplasma 'aster yellows', mostraron un aumento en la longevidad promedio del insecto estimada en 19 días en insectos no infectados, en comparación a 26 - 28 días en insectos infectados, así como un aumento en la tasa de ovoposición de las hembras de *M. quadrilenatus* (Beanland et al., 2000). Contrario a esto, *Euscelidius variegatus* transmisor de fitoplasmas flavescence dorée y *Amplicephalus curtulus* transmisor de 'Candidatus Phytoplasma ulmi' presentaron una disminución en su longevidad y tasa de ovoposición en los insectos alimentados en plantas infectadas con cada uno de estos fitoplasmas. También se ha reportado la disminución en el peso promedio de las hembras de *A. curtulus* infectadas con 'Candidatus Phytoplasma ulmi' (Bressan et al., 2005; Arismendi & Carrillo, 2015).

En cuanto al reconocimiento de los fitoplasmas por células de las plantas huésped, empleando pruebas de expresión de la proteína de membrana inmunodominante (Imp) de 'Ca. P. mali' en plantas transgénicas de *Nicotiana*

benthamiana, y empleando pruebas de ELISA y microscopia de fluorescencia con GFP ('Green Fluorescent Protein'), se demostró que Imp se une a moléculas de actina de las células vegetales, lo que llevó a plantear que juega un papel importante en el movimiento de los fitoplasmas hacia el interior de las células hospederas, pero no causa cambios en la fisiología de las plantas (Kakizawa et al., 2006; Boonrod et al., 2012).

Adicionalmente, se ha identificado en el genoma de Onion Yellow Phytoplasma en una proteína llamada P38, un motivo conservado de adhesión de Mollicutes (MAM), que es importante para la adhesión de sus hospederos. P38 se demostró que interactúa fuertemente en los extractos crudos de insectos y débilmente en extractos de plantas (Neriya et al., 2014).

Moléculas efectoras en plantas

Aunque los fitoplasmas se encuentran limitados únicamente al floema de las plantas infectadas, se pueden encontrar proteínas que se denominan efectoras en otros tejidos diferentes al floema (Rashid et al., 2018). En los genomas de los fitoplasmas secuenciados, se han identificado entre 13 y 56 genes candidatos a efectores (Zhang et al., 2004; Bai et al., 2009). Se cree que las moléculas efectoras o potenciales factores de virulencia, manipulan procesos de desarrollo de la planta haciendo que el



hospedero beneficie al patógeno (Beanland et al., 2000). Por ejemplo, en plantas infectadas, las proteínas SAP11 y TENGU afectan la arquitectura floral al interferir con la regulación que ejercen de fitohormonas en el desarrollo de las flores, incrementando la generación de material vegetativo joven, el cual se supone que atrae con mayor facilidad los insectos vectores (Hogenhout et al., 2009; Rashid et al., 2018).

TENGU fue el primer efector peptídico de origen fitoplasmático descrito, el cual actúa como inductor de esterilidad en plantas (Hoshi et al., 2009). Se demostró que por un lado, en plantas de *A. thaliana* y *N. bentamiana* que sobreexpresaban TENGU se alteraban las rutas metabólicas de defensa, mediante la disminución de los niveles de ácido jasmónico (JA). EL JA es una molécula de señalización importante en la ruta de defensa de las plantas. Por otro lado, TENGU estaba relacionado con la disminución de los niveles de auxinas, lo que también afecta la maduración de las flores (Minato et al., 2014). TENGU ha sido identificado en células del parénquima de yemas del meristemo apical y en brotes axilares de plantas infectadas con fitoplasmas OY (Hoshi et al., 2009). Las plantas en las cuales se expresa TENGU presentan una regulación negativa de genes de respuesta a auxinas y genes transportadores de esta fitohormona, mediada por la supresión de la expresión de

los factores de respuesta a auxinas ARF6 y ARF8 (Minato et al., 2014). La supresión de los genes descritos anteriormente interfiere directamente en la ruta de biosíntesis y señalización de auxinas, lo que por ejemplo produce, cambios en los patrones de brotación de las plantas. También se ha planteado que TENGU altera morfológicamente las plantas infectadas manipulando otras vías metabólicas, y que la alteración fisiológica por auxinas se puede dar de manera indirecta y no por la alteración directa de la ruta biosintética de esta fitohormona (Hoshi et al., 2009).

Otras proteínas efectoras conocidas son SAP11 y SAP54, las cuales interfieren en el desarrollo normal de las plantas infectadas flores, mediante la alteración en la expresión de los genes del modelo ABCE (MacLean et al., 2014). Según el modelo ABCE, genes homeoóticos determinan la causando cambios en la morfología de las identidad de cada uno de los órganos florales, dependiendo de la combinación de expresión entre ellos (Honma & Goto, 2001). Las proteínas efectoras SAP11 y SAP54, interactúan con miembros de la familia de los factores de transcripción MADS (MTF) mediando su degradación, lo que genera plantas estériles (Maejima et al., 2014; MacLean et al., 2014). SAP11 presenta una señal de localización nuclear requerida para su movimiento al núcleo de la célula hospedera y ha sido localizada en el núcleo de células de los tricomas y el



156

mesófilo en plantas infectadas con fitoplasmas AY-WB (Bai et al., 2009).

En general, los efectores SAP11 interactúan con la familia de los factores de transcripción TCP como TEOSINTE BRANCHED 1, CYCLOIDEA, PCF1 que están implicados en los procesos de proliferación, maduración y desarrollo celular, induciendo cambios en el fenotipo de las plantas infectadas (Tomkins et al., 2018). Adicionalmente, SAP11 genera una sobreproducción de tejido vegetativo en plantas en las cuales se expresa, mediante la desestabilización de los factores de transcripción de la clase II TPC (CIN y CYC/TB1) (Rashid et al., 2018). Otro ejemplo de la influencia que tienen los efectores de los fitoplasmas sobre sus plantas hospederas, se ha visto en plantas herbáceas que mueren al terminar su fase reproductiva, pero cuando están infectadas con fitoplasmas pueden revertir el desarrollo floral prolongando la fase vegetativa de crecimiento de la planta y retrasar su muerte, permitiendo que la planta hospedera sobreviva por más tiempo (Sugio et al., 2011).

CONCLUSIONES

Los fitoplasmas tienen unos de los genomas más pequeños conocidos en bacterias patógenas de plantas y en general entre los seres vivos, y sin embargo la plasticidad de sus genomas les permite adaptarse y

multiplicarse exitosamente en dos tipos de hospederos biológicamente distantes, como lo son los insectos vectores y plantas hospederas.

Durante la evolución, los fitoplasmas han adoptado una estrategia de reducción del número de genes dentro de sus genomas, en comparación con los genomas de otros patógenos vegetales. Esto se evidencia con pérdida de muchos genes implicados en rutas biosintéticas de aminoácidos que se consideraban esenciales para la vida, convirtiéndolos en parásitos vegetales obligados.

Los fitoplasmas presentan una serie de adaptaciones que les permiten la interacción con sus hospederos, mediante la producción de efectores como SAP54, SAP 11, TENGU y PHYL1 y otros que no han sido totalmente descritos, que afectan los procesos fisiológicos y morfológicos de las plantas infectadas mediante la represión o sobre expresión de genes implicados en rutas biosintéticas y hormonales. Como resultado, los fitoplasmas manipulan las plantas para hacer que sobrevivan por más tiempo, generen más tejidos vegetativos en lugar de reproductivos y las hacen más apetecibles para los insectos vectores, mejorando la eficiencia de transmisión de plantas infectadas a sanas.

Dentro de las estrategias que han generado los fitoplasmas para garantizar su dispersión, se encuentra la codificación de



157

proteínas de adhesión y reconocimiento de los fitoplasmas con sus insectos vectores, a través de la interacción de proteínas de membrana (ej. Amp) con moléculas ubicuas como las cadenas de actina, miosina o la ATP sintasa, de las células intestinales y de otros tejidos de los insectos, más no por moléculas específicas y únicas de los insectos presentes en los vectores. Los fitoplasmas alteran fisiológicamente las plantas hospederas y las hacen más atractivas para los insectos, al aumentar su fase vegetativa, lo que se cree que permite que estas sean visitadas en mayor proporción por estos y al alimentarse realicen la dispersión de los fitoplasmas a plantas sanas.

Es necesario realizar nuevos abordajes en el estudio de la interacción de los fitoplasmas buscando la disminución de poblaciones bacterianas en plantas infectadas comparadas con las plantas sanas y en la determinación de las posibles asociaciones de los fitoplasmas con bacterias parásitas obligadas de insectos. Esto con el fin de plantear posibles estrategias para el control de las enfermedades asociadas a fitoplasmas

Agradecimientos

Agradecemos a los miembros del grupo Fitoplasmas y Virus por su apoyo durante la realización de este trabajo y a la Universidad Militar Nueva Granada por la financiación del proyecto IMP-CIAS-2295,

el cual generó las condiciones para la preparación de este manuscrito.

Referencias Bibliográficas

Ahrens, U., & Seemüller, E. (1992). Detection of DNA of plant pathogenic mycoplasma like organisms by Polymerase Chain Reaction that amplifies a sequence of the 16S rRNA gene. *The American Phytopathological Society*, 82, 828-832. <https://doi.org/10.1094/Phyto-82-828>

Al-Ghaithi, A. G., Al-Subhi, A. M., Al-Mahmooli, I. H., & Al-Sadi, A. M. (2018). Genetic analysis of '*Candidatus* Phytoplasma aurantifolia' associated with witches' broom on acid lime trees. *PeerJ*, 6, e4480. <https://doi.org/10.7717/peerj.4480>

Alma, A., Tedeschi, R., Lessio, F., Picciau, L., Gonella, E., & Ferracini, C. (2015). Insect vectors of plant pathogenic Mollicutes in the Euro-Mediterranean region. *Phytopathogenic Mollicutes*, 5(2), 53. <https://doi.org/10.5958/2249-4677.2015.00063.8>

Andersen, M., & Liefing, L. (2013). Comparison of the complete genome sequence of two closely related isolates of '*Candidatus* Phytoplasma australiense reveals genome plasticity. *BMC Genomics* 14, 529-544. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-529>

Arashida, R., Kakizawa, S., Hoshi, A., Ishii, Y., Jung, H.-Y., Kagiwada, S., Yamaji, Y., Oshima, K., & Namba, S. (2008). Heterogeneous dynamics of the structures of multiple gene clusters in two pathogenetically different lines originating from the same phytoplasma. *DNA and Cell Biology*, 27(4), 209-217. <https://doi.org/10.1089/dna.2007.0654>

Arnaud, G., Malembic-Maher, S., Salar, P., Bonnet, P., Maixner, M., Marcone, C., Boudon-Padiou, E., & Foissac, X. (2007). Multilocus sequence typing confirms the close genetic interrelatedness of three distinct flavescence dorée phytoplasma strain clusters and group 16SrV phytoplasmas infecting grapevine and alder in Europe. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(12), 4001-4010. <https://doi.org/10.118/AEM.02323-06>



Andrade, N., & Arismendi, N. (2013). DAPI Staining and Fluorescence Microscopy Techniques for Phytoplasmas. In: Dickinson M., Hodgetts J. (eds) *Phytoplasma. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)*, vol 938. Humana Press, Totowa, NJ

Arismendi, N. L., & Carrillo, R. (2015). Survival, fecundity, and body mass of *Amplicephalus curtulus* influenced by “*Candidatus Phytoplasma ulmi*” (16SrV-A) infection. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 155(3), 176–183. <https://doi.org/10.1111/eea.12303>

Arricau-Bouvery, N., Duret, S., Dubrana, M. P., Batailler, B., Desqué, D., Béven, L., Danet, J., Monticone, M., Bosco, D., Malembic-Maher, S., & Foissac, X. (2018). Variable membrane protein A of flavescence dorée phytoplasma binds the midgut perimicrovillar membrane of *Euscelidius variegatus* and promotes adhesion to its epithelial cells. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(8), e02487-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.02487-17>

Asuyama, H., & Take, T. (1973). Effects of tetracycline compounds on plant diseases caused by mycoplasma-like agents. *Annals of the New York Academy of Sciences* 225(1), 509 – 521. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1973.tb45674.x>

Azadvar, M., & Baranwal, V. K. (2010). Molecular characterization and phylogeny of a phytoplasma associated with phyllody disease of toria (*Brassica rapa* L. subsp. *dichotoma* (Roxb.)) in India. *Indian Journal of Virology*, 21(2), 133–139. <https://doi.org/10.1007/s13337-011-0023-6>

Bai, X., Correa, V. R., Toruño, T. Y., Ammar, E.-D., Kamoun, S., & Hogenhout, S. A. (2009). AY-WB Phytoplasma secretes a protein that targets plant cell nuclei. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 22(1), 18–30. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-1-0018>

Bai, X., Zhang, J., Ewing, A., Miller, S. A., Radek, A. J., Shevchenko, D. V., Tsukerman, k., Walunas, T., Lapidus, A., Campbell, J., & Hogenhout, S. A. (2006). Living with genome instability: The adaptation of phytoplasmas to diverse environments of their insect and plant hosts. *Journal of Bacteriology*, 188(10),

3682–3696. <https://doi.org/10.1128/JB.188.10.3682-3696.2006>

Beanland, L., Hoy, C. W., Miller, S. A., & Nault, L. R. (2000). Influence of Aster Yellows Phytoplasma on the fitness of aster leafhopper (Homoptera: Cicadellidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 93(2), 271–276. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2000\)093\[0271:IOAYPO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2000)093[0271:IOAYPO]2.0.CO;2)

Bekele, B., Abeysinghe, S., Hoat, T. X., Hodgetts, J., & Dickinson, M. (2011). Development of specific secA-based diagnostics for the 16SrXI and 16SrXIV phytoplasmas of the gramineae. *Bulletin of Insectology*, 64(SUPPL. 1), 15–16.

Bertaccini, A. (2007). Phytoplasmas: diversity, taxonomy, and epidemiology. *Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library*, 12, 673–689.

Bertaccini, A., & Duduk, B. (2009). Phytoplasma and phytoplasma diseases: a review of recent research. *Phytopathologia Mediterranea*, 48(3), 355–378. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-3300

Bertaccini, A., Duduk, B., Paltrinieri, S., & Contaldo, N. (2014). Phytoplasmas and phytoplasma diseases: a severe threat to agriculture. *American Journal of Plant Sciences*, 05(12), 1763–1788. <https://doi.org/10.4236/ajps.2014.512191>

Boonrod, K., Munteanu, B., Jarausch, B., Jarausch, W., & Krczal, G. (2012). An immunodominant membrane protein (Imp) of ‘*Candidatus Phytoplasma mali*’ binds to plant actin. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 25(7), 889–895. <https://doi.org/10.1094/MPMI-11-11-0303>

Bressan, A., Spiazzi, S., Girolami, V., & Boudon-Padieu, E. (2005). Acquisition efficiency of Flavescence dorée phytoplasma by *Scaphoideus titanus* Ball from infected tolerant or susceptible grapevine cultivars or experimental host plants. *Vitis - Journal of Grapevine Research*, 44(3), 143–146.

Bulgari, D., Casati, P., & Faoro, F. (2011). Fluorescence *in situ* hybridization for phytoplasma and endophytic bacteria localization in plant tissues. *Journal of Microbiological Methods*, 87, 220-223. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2011.08.001>



159

Cettul, E., & Firrao, G. (2011). Development of phytoplasma-induced flower symptoms in *Arabidopsis thaliana*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 76(3–4), 204–211. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2011.09.001>

Chang, S.-H., Cho, S.-T., Chen, C.-L., Yang, J.-Y., & Kuo, C.-H. (2015). Draft Genome Sequence of a 16SrII-A Subgroup phytoplasma associated with Purple Coneflower (*Echinacea purpurea*) witches' broom disease in Taiwan. *Genome Announcements*, 3(6), e01398-15. <https://doi.org/10.1128/genomeA.01398-15>

Chen, L. L., Chung, W. C., Lin, C. P., & Kuo, C. H. (2012). Comparative analysis of gene content evolution in phytoplasmas and mycoplasmas. *PLoS ONE*, 7(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034407>

Chen, W., Li, Y., Wang, Q., Wang, N., & Wu, Y. (2014). Comparative genome analysis of Wheat Blue Dwarf Phytoplasma, an obligate pathogen that causes wheat blue dwarf disease in China. *PLoS ONE*, 9(5), e96436. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096436>

Chung, W. C., Chen, L. L., Lo, W. S., Lin, C. P., & Kuo, C. H. (2013). Comparative analysis of the Peanut Witches'-Broom Phytoplasma genome reveals horizontal transfer of potential mobile units and effectors. *PLoS ONE*, 8(4), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062770>

Cimerman, A., Pacifico, D., Salar, P., Marzachi, C., & Foissac, X. (2009). Striking diversity of vmp1, a variable gene encoding a putative membrane protein of the stolbur phytoplasma. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(9), 2951–2957. <https://doi.org/10.1128/AEM.02613-08>

Contaldo, N., Bertaccini, A., Paltrinieri, S., Windsor, H. M., & Windsor, G. D. (2012). Axenic culture of a plant pathogenic Phytoplasma. *Phytopathologia Mediterranea*, 244, 607–117.

Contaldo, N., Satta, E., Zambon, Y., Paltrinieri, S., & Bertaccini, A. (2016). Development and evaluation of different complex media for phytoplasma isolation and growth. *Journal of Microbiological Methods*, 127,

105–110.

<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.05.031>

Cordova, I., Jones, P., Harrison, N., & Oropeza, C. (2003). *In situ* PCR detection of phytoplasma DNA in embryos from coconut palms with lethal yellowing disease. *Molecular Plant Pathology*, 4, 99–108. <https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2003.00152.x>

Davis, RE., Dally, EL., Zhao, Y., Lee, I-M., Wei, W., Wolf, TK., Beanland, L., LeDoux, DG., Johnson, DA., Fiola, JA., Walter-Peterson, H., Dami, I., & Chien, M. (2015). Unraveling the etiology of North American Grapevine Yellows (NAGY): Novel NAGY phytoplasma sequevars related to 'Candidatus Phytoplasma pruni.' *Plant Disease*, 99(8), 1087-1097. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-14-1185-RE>

Davis, RE., Dally, EL., Zhao, Y., & Wolf, TK. (2018). Genotyping points to divergent evolution of 158

'Candidatus Phytoplasma asteris' strains causing North American Grapevine Yellows and strains causing Aster Yellows. *Plant Disease*, 102(9), 1696-1702. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-17-1690-RE>

Deng, S., & Hiruki, C. (1991). Amplification of 16S rRNA genes from culturable and unculturable Mollicutes. *Journal of Microbiological Methods*, 14, 53–61. [https://doi.org/10.1016/0167-7012\(91\)90007-D](https://doi.org/10.1016/0167-7012(91)90007-D)

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. *Japanese Journal of Phytopathology*, 33, 259–266. <https://doi.org/10.3186/jjphytopath.33.259>

Firrao, G. (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(4), 1243–1255. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02854-0>

Fischer, A., Santana-Cruz, I., Wambua, L., Olds, C., Midega, C., Dickinson, M., Kawicha, P., Khan, Z., Masiga, D., Jores, J., & Schneider, B. (2016). Draft genome sequence of "Candidatus Phytoplasma



160

oryzae” strain mbita1, the causative agent of Napier Grass Stunt Disease in Kenya. Genome Announcements, 4(2), e00297-16. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00297-16>

Franco-Lara L, Perilla-Henao LM. Phytoplasma diseases in trees of Bogotá, Colombia: a serious risk for urban trees and Crops. In A. Bertaccini (ed.): Phytoplasmas and phytoplasma disease management: how to reduce their economic impact, Bologna, Italy;481 2014; pp. 90-100.

Foissac, X., & P. Carle. 2017. A draft genome of ‘Candidatus Phytoplasma aurantifolia’ the agent of the witches-broom disease of lime. NCBI, USA. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NZ_MWKN01000002.1 (accessed Jul. 2017).

Galetto, L., Fletcher, J., Bosco, D., Turina, M., Wayadande, A., & Marzachi, C. (2008). Characterization of putative membrane protein genes of the ‘Candidatus Phytoplasma asteris’, Chrysanthemum yellows isolate. Canadian Journal of Microbiology, 54(5), 341–351. <https://doi.org/10.1139/W08-010>

Galetto, L., Miliordos, D. E., Pegoraro, M., Sacco, D., Veratti, F., Marzachi, C., & Bosco, D. (2016). Acquisition of flavescence dorée phytoplasma by *Scaphoideus titanus* ball from different grapevine varieties. International Journal of Molecular Sciences, 17(9), 1563-1574. <https://doi.org/10.3390/ijms17091563>

Galetto, L., Miliordos, D., Roggia, C., Rashidi, M., Sacco, D., Marzachi, C., & Bosco, D. (2014). Acquisition capability of the grapevine Flavescence dorée by the leafhopper vector *Scaphoideus titanus* Ball correlates with phytoplasma titre in the source plant. Journal of Pest Science, 87(4), 671–679. <https://doi.org/10.1007/s10340-014-0593-3>

Gundersen, D. E., Lee, I. M., Rehner, S. A., Davis, R. E., & Kingsbury, D. T. (1994). Phylogeny of mycoplasma-like organisms (phytoplasmas): A basis for their classification. Journal of Bacteriology, 176(17), 5244–5254. <https://doi.org/10.1128/jb.176.17.5244-5254.1994>

Gundersen, D.E., & Lee, I.M. 1996. Ultrasensitive detection of phytoplasmas by nested-PCR assays

using two universal initiator pairs. Phytopathologia Mediterranea, 35, 144-151.

Hodgetts J., Crossley D., Dickinson M. (2013) Techniques for the Maintenance and Propagation of Phytoplasmas in Glasshouse Collections of *Catharanthus roseus*. In: Dickinson M., Hodgetts J. (eds) Phytoplasma. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols), vol 938. Humana Press, Totowa, NJ

Hodgetts, J., Boonham, N., Mumford, R., & Dickinson, M. (2009). Panel of 23S rRNA gene-based real-time PCR assays for improved universal and group-specific detection of phytoplasmas. Applied and Environmental Microbiology, 75(9), 2945–2950. <https://doi.org/10.1128/AEM.02610-08>

Hodgetts, J., Boonham, N., Mumford, R., Harrison, N., & Dickinson, M. (2008). Phytoplasma phylogenetics based on analysis of secA and 23S rRNA gene sequences for improved resolution of candidate species of “Candidatus Phytoplasma.” International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 58(8), 1826–1837. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65668-0>

Hogenhout, S. A., Oshima, K., Ammar, E. D., Kakizawa, S., Kingdom, H. N., & Namba, S. (2008). Phytoplasmas: Bacteria that manipulate plants and insects. Molecular Plant Pathology, 9(4), 403–423. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2008.00472.x>

Hogenhout, S. A., Van der Hoorn, R. A. L., Terauchi, R., & Kamoun, S. (2009). Emerging concepts in effector biology of plant-associated organisms. Molecular Plant-Microbe Interactions, 22(2), 115–122. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-2-0115>

Honma, T., & Goto, K. (2001). Complexes of MADS-box proteins are sufficient to convert leaves into floral organs. Nature, 409, 525–529. <https://doi.org/10.1038/35054083>

Hoshi, A., Oshima, K., Kakizawa, S., Ishii, Y., Ozeki, J., Hashimoto, M., Komatsu, K., Kagiwada, S., Yamaji, Y., & Namba, S. (2009). A unique virulence factor for proliferation and dwarfism in plants identified from a phytopathogenic bacterium. Proceedings of the National Academy of Sciences, 106(15), 6416–6421. <https://doi.org/10.1073/pnas.0813038106>



161

IRCPM. (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(4), 1243–1255. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02854-0>

Ishie, T., Doi, Y., Yora, K., & Asuyam, H. (1967). suppressive effects of antibiotics of tetracycline group on symptom development of Mulberry Dwarf Disease. *Japanese Journal of Phytopathology*, 33(4), 267–275. <https://doi.org/10.3186/jjphytopath.33.267>

Kakizawa, S., Makino, A., Ishii, Y., Tamaki, H., & Kamagata, Y. (2014). Draft genome sequence of "*Candidatus* Phytoplasma asteris" strain, 2(5), 9–10. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00944-14>.

Kakizawa, S., Oshima, K., Jung, H., Suzuki, S., Nishigawa, H., Arashida, R., Miyata, S., Ugaki, M., Kishino, H., & Namba, S. (2006). Positive selection acting on a surface membrane protein of the plant-pathogenic phytoplasmas positive selection acting on a surface membrane protein of the plant-pathogenic phytoplasmas, *Journal of Bacteriology*, 188(9), 3424–3428. <https://doi.org/10.1128/JB.188.9.3424-3428.2006>

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(1), 135–142. <https://doi.org/10.1099/mic.0.26521-0>

Kakizawa, S., & Yoneda, Y. (2015). The role of genome sequencing in phytoplasma research. *Phytopathogenic Mollicutes*, 5(1), 19. <https://doi.org/10.5958/2249-4677.2015.00058.4>

Kanatiwela, C., Damayanthi, M., de Silva, R., Dickinson, M. de Silva, N., & Udagama, P. (2015). Molecular and scanning electron microscopic proof of phytoplasma associated with Areca Palm Yellow Leaf Disease in Sri Lanka. *Plant Disease*, 99(11), 1641. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-15-0072-PDN>

Kawicha, P., Dickinson, M., & Hodgetts, J. Genome study of napier grass stunt phytoplasma. NCBI, USA. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NZ_JHUK000000001 (accessed Jun. 2018).

Khan, a J., Botti, S., Al-Subhi, a M., Gundersen-Rindal, D. E., & Bertaccini, a F. (2002). Molecular identification of a new phytoplasma associated with alfalfa witches'-broom in oman. *Phytopathology*, 92(10), 1038–1047. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2002.92.10.1038>

Kube, M., Mitrovic, J., Duduk, B., Rabus, R., & Seemüller, E. (2012). Current view on phytoplasma genomes and encoded metabolism. *The Scientific World Journal*, 185942), 1–25. <https://doi.org/10.1100/2012/185942>

Kube, M., Schneider, B., Kuhl, H., Dandekar, T., Heitmann, K., Migdoll, A. M., Reinhardt, R., & Seemüller, E. (2008). The linear chromosome of the plant-pathogenic mycoplasma "*Candidatus* Phytoplasma mali." *BMC Genomics*, 9, 1–14. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-306>

Lee, I.-M., Davis, R. E., & Gundersen-Rindal, D. E. (2000). Phytoplasma: Phytopathogenic Mollicutes. *Annual Review of Microbiology*, 54(1), 221–255. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.54.1.221>

Lee, I.-M., Gundersen-Rindal, D. E., Davis, R. E., & Bartoszyk, I. M. (1998). Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analyses of 16S rRNA and ribosomal protein gene sequences. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 48, 1153–1169. <https://doi.org/10.1099/00207713-48-4-1153>

Lee, I.-M., Hammond, R. W., Davis, R. E., & Gundersen, D. E. (1993). Universal amplification and analysis of pathogen 16S rDNA for classification and identification of Mycoplasma-like Organisms. *Molecular Plant Pathology*, 83, 834–842. <https://doi.org/10.1094/Phyto-83-834>

Lee, I.-M., Gundersen-Rindal, DE., Davis, R. E., Bottner, K. D., Marcone, C., & Seemüller, E. (2004). "*Candidatus* Phytoplasma asteris", a novel phytoplasma taxon associated with aster yellows and related diseases. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54, 1037-1048. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02843-0>



162

Lee, I.-M., Shao, J., Bottner-Parker, K. D., Gundersen-Rindal, D. E., Zhao, Y., & Davis, R. E. (2015). Draft genome sequence of “*Candidatus Phytoplasma pruni*” strain CX, a plant-pathogenic bacterium. *Genome Announcements*, 1(3), e01117-15. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00356-13>.

Lee, I. M., Zhao, Y., & Bottner, K. D. (2006). SecY gene sequence analysis for finer differentiation of diverse strains in the aster yellows phytoplasma group. *Molecular and Cellular Probes*, 20(2), 87–91. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2005.10.001>

MacLean, A. M., Orlovskis, Z., Kowitwanich, K., Zdziarska, A. M., Angenent, G. C., Immink, R. G. H., & Hogenhout, S. A. (2014). Phytoplasma effector SAP54 hijacks plant reproduction by degrading MADS-box proteins and promotes insect colonization in a RAD23-dependent manner. *PLoS Biology*, 12(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001835>

Maejima, K., Iwai, R., Himeno, M., Komatsu, K., Kitazawa, Y., Fujita, N., Ishikawa, K., Fukuoka, M., Minato, N., Yamaji, Y., Oshima, K., & Namba, S. (2014). Recognition of floral homeotic MADS domain transcription factors by a phytoplasmal effector, phyllogen, induces phyllody. *Plant Journal*, 78(4), 541–554. <https://doi.org/10.1111/tpj.12495>

Malembic-Maher, S., Salar, P., Filippin, L., Carle, P., Angelini, E., & Foissac, X. (2011). Genetic diversity of European phytoplasmas of the 16SrV taxonomic group and proposal of “*Candidatus phytoplasma rubi*.” *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61(9), 2129–2134. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.025411-0>

Marcone, C., Gibb, K. S., Streten, C., & Schneider, B. (2004). “*Candidatus Phytoplasma spartii*”, “*Candidatus Phytoplasma rhamni*” and “*Candidatus Phytoplasma allocasuarinae*”, respectively associated with spartium witches'-broom, buckthorn witches'-broom and allocasuarina yellows diseases. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(4), 1025–1029. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02838-0>

Marcone, C., Lee, I. M., Davis, R. E., Ragozzino, A., & Seemuller, E. (2000). Classification of aster yellows-group phytoplasmas based on combined

analyses of rRNA and tuf gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50(5), 1703–1713. <https://doi.org/10.1099/00207713-50-5-1703>

Martini, M., Lee, I. M., Bottner, K. D., Zhao, Y., Botti, S., Bertaccini, A., Harrison, N., Carrato, L., Marcone, C., Khan, A., & Osler, R. (2007). Ribosomal protein gene-based phylogeny for finer differentiation and classification of phytoplasmas. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(9), 2037–2051. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65013-0>

Minato, N., Himeno, M., Hoshi, A., Maejima, K., Komatsu, K., Takebayashi, Y., Kasahara, H., Yusa, A., Yamaji, Y., Oshima, K., Kamiya, Y., & Namba, S. (2014). The phytoplasmal virulence factor TENGU causes plant sterility by downregulating of the jasmonic acid and auxin pathways. *Scientific Reports*, 4, 1-7. <https://doi.org/10.1038/srep07399>

Mitrović, J., Kakizawa, S., Duduk, B., Oshima, K., Namba, S., & Bertaccini, A. (2011a). The groEL gene as an additional marker for finer differentiation of ‘*Candidatus Phytoplasma asteris*’-related strains. *Annals of Applied Biology*, 159(1), 41–48. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2011.00472.x>

Mitrović, J., Contaldo, N., Paltrinieri, S., Mejia, JF., Mori, N., Bertaccini, A., & Duduk, B. (2011b). The use of groEL gene for characterisation of aster yellows phytoplasmas in field collected samples. *Bulletin of Insectology*, 64: S17-S18. <https://doi.org/10.1094 / PDIS-12-12-1182-RE>

Mitrović, J., Siewert, C., Duduk, B., Hecht, J., Mölling, K., Broecker, F., Beyerlein, P., Bütther, C., Bertaccini, & Kube, M. (2014). Generation and analysis of draft sequences of “stolbur” phytoplasma from multiple displacement amplification templates. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 24(1), 1–11. <https://doi.org/10.1159/000353904>

Musetti, R., & Favali, M. (2004). Microscopy techniques applied to the study of phytoplasma diseases: traditional and innovative methods. *Current Issues on Multidisciplinary Microcopy Research and Education*, 72-80

Musetti, R., Buxa, S., De Marco, F., Loschi, A., Polizzotto, R., Kogel, K., & Van Bel, A. (2012).



163

Phytoplasma-triggered Ca²⁺ influx is involved in sieve-tube blockage. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 26(4), 379-366. <https://doi.org/10.1094/MPMI-08-12-0207-R>

Neriya, Y., Maejima, K., Nijo, T., Tomomitsu, T., Yusa, A., Himeno, M., Netsu, O. Hamamoto, H., Oshima, K., & Namba, S. (2014). Onion yellow phytoplasma P38 protein plays a role in adhesion to the hosts. *FEMS Microbiology Letters*. 36(12) 115–122. <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12620>

Nipah, J. O., Jones, P., & Dickinson, M. J. (2007). Detection of lethal yellowing phytoplasma in embryos from coconut palms infected with Cape St Paul wilt disease in Ghana. *Plant Pathology*, 56(5), 777–784. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01623.x>

Olivier, C. Y., Galka, B., & Séguin-Swartz, G. (2010). Detection of aster yellows phytoplasma DNA in seed and seedlings of canola (*Brassica napus* and *B. rapa*) and AY strain identification. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 32(3), 298–305. <https://doi.org/10.1080/07060661.2010.508616>

Orlovskis, Z., Canale, M. C., Haryono, M., Lopes, J. R. S., Kuo, C. H., & Hogenhout, S. A. (2017). A few sequence polymorphisms among isolates of Maize bushy stunt phytoplasma associate with organ proliferation symptoms of infected maize plants. *Annals of Botany*, 119(5), 869–884. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw213>

Orlovskis, Z., & Hogenhout, S. A. (2016). a bacterial parasite effector mediates insect vector attraction in host plants independently of developmental changes. *Frontiers in Plant Science*, 7(June), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00885>

Oropeza, C., Cordova, I., Puch-Hau, C., Castillo, R., Chan, J. L., & Sáenz, L. (2017). Detection of lethal yellowing phytoplasma in coconut plantlets obtained through *in vitro* germination of zygotic embryos from the seeds of infected palms. *Annals of Applied Biology*, 171(1), 28–36. <https://doi.org/10.1111/aab.12351>

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(1), 27–29. <https://doi.org/10.1038/ng1277>

Oshima, K., Maejima, K., & Namba, S. (2013). Genomic and evolutionary aspects of phytoplasmas. *Frontiers in Microbiology*, 4, 1–8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00230>

Pacifico, D., Galetto, L., Rashidi, M., Abbà, S., Palmano, S., Firrao, G., Bosco, C., & Marzachi, C. (2015). Decreasing global transcript levels over time suggest that phytoplasma cells enter stationary phase during plant and insect colonization. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(7), 2591–2602. <https://doi.org/10.1128/AEM.03096-14>

Pérez-López, E., Luna-Rodríguez, M., Olivier, C. Y., & Dumonceaux, T. J. (2016). The underestimated diversity of phytoplasmas in Latin America. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(1), 492–513. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000726>

Perilla, LM., Dickinson, M., & Franco-Lara, L. (2012) First report of 'Candidatus Phytoplasma asteris' affecting woody hosts (*Fraxinus uhdei*, *Populus nigra*, *Pittosporum undulatum* and *Croton* spp.) in Colombia. *Plant Disease* 2012 96: 1372. doi: 10.1094/PDIS-03-12-0290-PDN

Perilla-Henao, L., & Franco-Lara, L. (2013). Especies arbóreas de las familias euphorbiaceae, pittosporaceae y salicaceae son infectadas por 'Ca. phytoplasma fraxini' y 'Ca. phytoplasma asteris' en infecciones mixtas en Bogotá, Colombia. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 9, 248–265. <https://doi.org/10.18359/rfcb.386>

Polano, C., Moruzzi, S., Ermacora, P., Ferrini, F., Martini, M., & Firrao, G. (2018). Metagenomics reveals mixed infection of spiroplasma and phytoplasma in chicory. NCBI, USA. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/PUUG000000.1/> (accessed Jun. 2018).

Pracros, P., Renaudin, J., Eveillard, S., Mouras, A., & Hernould, M. (2006). Tomato flower abnormalities induced by Stolbur Phytoplasma infection are associated with changes of expression of floral development genes. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 19(1), 62–68. <https://doi.org/10.1094/MPMI-19-0062>



164

Quaglino, F., Kube, M., Jawhari, M., Abou-Jawdah, Y., Siewert, C., Choueiri, E., ... Bianco, P. A. (2015). "Candidatus Phytoplasma phoenicium" associated with almond witches'- broom disease: From draft genome to genetic diversity among strain populations Microbial genetics, genomics and proteomics. BMC Microbiology, 15(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s12866-015-0487-4>

Rashid, U., Bilal, S., Bhat, K. A., Shah, T. A., Wani, T. A., Bhat, F. A., ... Nazir, N. (2018). Phytoplasma effectors and their role in plant-insect interaction. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 7(2), 1136–1148. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.702.141>

Rashidi, M., D'Amelio, R., Galetto, L., Marzachi, C., & Bosco, D. (2014). Interactive transmission of two phytoplasmas by the vector insect. Annals of Applied Biology, 165(3), 404–413. <https://doi.org/10.1111/aab.12146>

Rashidi, M., Galetto, L., Bosco, D., Bulgarelli, A., Vallino, M., Veratti, F., & Marzachi, C. (2015). Role of the major antigenic membrane protein in phytoplasma transmission by two insect vector species. BMC Microbiology, 15(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12866-015-0522-5>

Saccardo, F., Martini, M., Palmano, S., Ermacora, P., Scortichini, M., Loi, N., & Firrao, G. (2012). Genome drafts of four phytoplasma strains of the ribosomal group 16SrIII. Microbiology, 158 (11), 2805–2814. <https://doi.org/10.1099/mic.0.061432-0>

Sparks, M. E., Bottner-Parker, K. D., Gundersen-Rindal, D. E., & Lee, I. M. (2018). Draft genome sequence of the New Jersey aster yellows strain of 'Candidatus Phytoplasma asteris.' PLoS ONE, 13(2), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192379>

Sugio, A., Kingdom, H. N., MacLean, A. M., Grieve, V. M., & Hogenhout, S. A. (2011). Phytoplasma protein effector SAP11 enhances insect vector reproduction by manipulating plant development and defense hormone biosynthesis. Proceedings of the National Academy of Sciences, 108(48), E1254–E1263. <https://doi.org/10.1073/pnas.1105664108>

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(1), 175–195. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-072910-095323>

Suzuki, S., Oshima, K., Kakizawa, S., Arashida, R., Jung, H.-Y., Yamaji, Y., Nishigawa, H., Uqaki, M., & Namba, S. (2006). Interaction between the membrane protein of a pathogen and insect microfilament complex determines insect-vector specificity. Proceedings of the National Academy of Sciences, 103(11), 4252–4257. <https://doi.org/10.1073/pnas.0508668103>

Thomas, S. & Balasundaran, M. (1998). In situ detection of phytoplasma in spike-disease-affected sandal using DAPI stain. Current Science 74:989–993.

Tomkins, M., Kliot, A., Marée, A. F., & Hogenhout, S. A. (2018). A multi-layered mechanistic modelling approach to understand how effector genes extend beyond phytoplasma to modulate plant hosts, insect vectors and the environment. Current Opinion in Plant Biology, 44, 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2018.02.002>

Toruño, T. Y., Seruga Musić, M., Simi, S., Nicolaisen, M., & Hogenhout, S. A. (2010). Phytoplasma PMU1 exists as linear chromosomal and circular extrachromosomal elements and has enhanced expression in insect vectors compared with plant hosts. Molecular Microbiology, 77(6), 1406–1415. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2010.07296.x>

Town, JR., Wist, T., Perez-Lopez, E., Olivier, CY., Dumonceaux, TJ. 2018. Genome sequence of a plant-pathogenic bacterium, "Candidatus Phytoplasma asteris" strain TW1. Microbiology Resource Announcements 7:e01109-18. <https://doi.org/10.1128/MRA.01109-18>.

Tran-Nguyen, L. T. T., & Gibb, K. S. (2006). Extrachromosomal DNA isolated from tomato big bud and 'Candidatus Phytoplasma australiense' phytoplasma strains. Plasmid, 56(3), 153–166. <https://doi.org/10.1016/j.plasmid.2006.05.009>



165

Tran-Nguyen, L. T. T., Kube, M., Schneider, B., Reinhardt, R., & Gibb, K. S. (2008). Comparative genome analysis of “*Candidatus Phytoplasma australiense*” (subgroup tuf- Australia I; rp-A) and “*Ca. phytoplasma asteris*” strains OY-M and AY-WB. *Journal of Bacteriology*, 190(11), 3979–3991. <https://doi.org/10.1128/JB.01301-07>

Wei, W., Davis, R. E., Jomantiene, R., & Zhao, Y. (2008). 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*, 105(33), 11827–11832. <https://doi.org/10.1073/pnas.0805237105>

Wei, W., Lee, I. M., Davis, R. E., Suo, X., & Zhao, Y. (2008). 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(10), 2368–2377. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65868-0>

Weintraub, P. G., & Beanland, L. (2006). Insect vectors of phytoplasmas. *Annual Review of Entomology*, 51(1), 91–111. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.51.110104.151039>

Zamorano, A., & Fiore, N. (2016). Draft genome sequence of 16SrIII-J phytoplasma, a plant pathogenic bacterium with a broad spectrum of hosts. *Genome Announcements*, 4(3), e00602-16. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00602-16>

Zhang, J., Hogenhout, S. A., Nault, L. R., Hoy, C. W., & Miller, S. A. (2004). Molecular and symptom analyses of phytoplasma strains from lettuce reveal a diverse population. *Phytopathology*, 94(8), 842–849. <https://doi.org/10.1094/PHTO.2004.94.8.842>

Zhao, Y., Wei, W., Lee, I. M., Shao, J., Suo, X., & Davis, R. E. (2009). Construction of an interactive online phytoplasma classification tool, iPhyClassifier, and its application in analysis of the peach X-disease phytoplasma group (16SrIII). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(10), 2582–2593. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.010249-0>

Zhou, J. M., & Chai, J. (2008). Plant pathogenic bacterial type III effectors subdue host responses. *Current Opinion in Microbiology*, 11(2), 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2008.02.004>

Zhu, Y., He, Y., Zheng, Z., Chen, J., Wang, Z., & Zhou, G. (2017). Cross draft genome sequence of Rice Orange Leaf Phytoplasma from Guangdong, China. *Genome Announcements*, 5(14), 4–6. <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/genomeA.00504-17>

*Para citar este artículo: Lamilla Monje.J.R; Franco Lara.L.. Review: Genomics of interactions between phytoplasmas, host plants and vector insects..Revista Bistua.2019.17(3):143-165.

+ Autor para el envío de correspondencia y la solicitud de las separatas: Franco Lara.L. Universidad Militar Nueva Granada, laboratorio de Biotecnología Vegetal, Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas. Email:liliana.franco@unimilitar.edu.co

Recibido: Noviembre 05 de 2018

Aceptado: Febrero 08 de 2019