

AVANCES EN LA EPIDEMIOLOGIA DEL “MARCHITAMIENTO DE LA REMOLACHA” EN REGIONES PRODUCTORAS DE REMOLACHA FORRAJERA DE RIO NEGRO Y BUENOS AIRES

Bongiorno, V.^{1,2,3}; Favere, V.⁴; Baffoni, P.⁵; Alessio, F.^{2,3}; Fernández, F.^{2,3}; Catalano, I.⁶; Conci, L.^{2,3,7}

¹Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Departamento de Producción Vegetal. Córdoba. Argentina.

²INTA. Instituto de Patología Vegetal (IPAVE). Córdoba. Argentina.

³Unidad de Fitopatología y Modelización Agrícola (UFyMA; UDD INTA/CONICET)

⁴Agencia de Extensión Rural Valle Medio-INTA. Río Negro. Argentina

⁵EEA Valle Inferior-INTA. Río Negro. Argentina.

⁶UNNOBA-CICBA. Pergamino. Buenos Aires. Argentina.

⁷Universidad Católica de Córdoba. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Córdoba. Argentina.

conci.luis@inta.gob.ar

RESUMEN

En Valle Medio e Inferior de Río Negro y en la región sur de la provincia de Buenos Aires se encuentra en expansión el cultivo de remolacha forrajera (*Beta vulgaris* var. rapacea) debido a que es una alternativa nutricional para la producción de ganado durante los periodos invernales. El éxito del cultivo está condicionado por distintos factores bióticos, siendo la enfermedad causada por un fitoplasma llamada “marchitez de la remolacha”, el más importante. El presente trabajo pretende aportar conocimientos sobre los componentes que integran el patosistema *Beta vulgaris* /fitoplasmas /insectos vectores. Se realizaron muestreos en la zona de producción para analizar la presencia, sintomatología y evolución de la enfermedad. Al ser un patógeno transmitido por hemípteros y con la finalidad de identificar la fauna de insectos potencialmente vectores asociados al complejo *Beta vulgaris* se realizaron redadas en el cultivo y malezas aledañas. Los resultados demuestran la presencia de un único fitoplasma (subgrupo 16SrIII-J, FodderBeet). La sintomatología predominante es el amarillamiento, encontrando también marchitamiento y superbrotamiento. Se continúa este trabajo con la finalidad de establecer las especies vectoras de la enfermedad y su ciclo de vida.

Palabras clave: Fitoplasmas, Vectores, Amarillamientos, Forraje.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de remolacha forrajera (*Beta vulgaris* var. rapacea) ha adquirido importancia en los últimos años en la alimentación de ganado para la producción de carne y leche, en Valle Medio e Inferior de la provincia de Río Negro y en el sur de la provincia de Buenos Aires (**Figura 1**). Esta zona presenta un marcado déficit hídrico y forrajero durante el invierno, siendo la remolacha forrajera una opción para alimentación, ya que se pueden lograr importantes ganancias de peso y calidad balanceada durante dicho periodo. Es un cultivo muy versátil, adaptado a distintos tipos de suelos, presentando alta tolerancia a suelos la salinidad y a la sequía. La siembra se produce en primavera, vegeta durante todo el ciclo estival, estando disponible para el pastoreo desde mayo a principios de septiembre. El animal consume tanto la hoja como la raíz suculenta (**Figura 2**), rica en carbohidratos, durante todo el invierno

(Favere, 2021). La expansión del cultivo se encuentra condicionada por distintos factores bióticos, siendo la más importante una enfermedad conocida como “marchitez de la remolacha”, causada por un fitoplasma. En los primeros años de desarrollo del cultivo, en lotes ubicados en Luis Beltrán (Valle medio - Río Negro) se registraron pérdidas de hasta el 80% del cultivo, debido a la “marchitez de la remolacha” (Favere, 2021). Los fitoplasmas son bacterias carentes de pared celular, de naturaleza parasítica y restringida a dos tipos de hospedantes: plantas e insectos vectores. En plantas infectadas se localizan en el floema y se los ha encontrado en más de 1000 especies de plantas alrededor del mundo siendo responsables de importantes pérdidas en diferentes cultivos (Bertaccini and Lee, 2018). Estos patógenos se propagan en la naturaleza por algunas especies de insectos del orden *Hemiptera*, pertenecientes a las familias *Cicadellidae* (planthoppers), *Cixiidae*, *Derbidae*, *Flatidae*, *Delphacidae* dentro del suborden

Auchenorrhyncha y *Psyllidae* (psílidos) dentro del suborden *Sternorryncha*.



Figura 1. Ganado bovino en pastoreo directo de remolacha forrajera en Pedro Luro, provincia de Buenos Aires.



Figura 2. Remolacha forrajera en el momento de inicio de pastoreo directo en el Valle Medio, provincia de Río Negro.

Los hemípteros son transmisores eficientes de fitoplasmas ya que ninfas y adultos se alimentan de manera similar, ambos pueden adquirir el patógeno y ser transmisores (Weintraub, 2007). La transmisión es de tipo persistente-propagativa, donde luego de la adquisición y el periodo de incubación (latencia), el fitoplasma coloniza las glándulas salivales, dotando al insecto de capacidad

infectiva por toda su vida (Weintraub and Beanland; 2006). No todos los insectos que se alimenten del floema de una planta infectada son capaces de transmitir el patógeno, solo aquellas especies que son vectores de ese fitoplasma en particular, donde el patógeno es capaz de multiplicarse y llegar hasta las glándulas salivares del mismo (Galletto et al., 2011, Rashidi et al., 2015). La

dificultad del cultivo *in vitro* de los fitoplasmas, ha limitado el estudio de sus características biológicas, aspectos de su patogenicidad y obstaculizado su clasificación (Marcone, 2014; Bertaccini and Duduk, 2014). El establecimiento de un esquema de clasificación basado en la secuencia y los perfiles de RFLP del gen 16S rRNA, han proporcionado marcadores moleculares fiables tanto para la detección como para el estudio de su diversidad (Lee et al., 1998; Zhao et al., 2009). Existen descritos en la actualidad al menos 34 grupos 16Sr y más de 120 subgrupos (Wei and Zhao, 2022; Bertaccini et al., 2022; Pérez-López et al., 2016). En Argentina se han detectado más de 30 especies de plantas infectadas por fitoplasmas, algunas de ellas cultivos de gran importancia económica produciendo daños variables en la producción y limitaciones en la exportación (Conci et al., 2014; Fernández et al., 2020b). Los fitoplasmas detectados están incluidos en los grupos 16SrI (Aster Yellows); 16SrIII (X-Disease), 16SrVII (Ash-yellows), 16SrX (Apple proliferation) y 16SrXIII (Mexican periwinkle virescence). El grupo 16SrIII es el de mayor prevalencia en Argentina, afectando a diferentes cultivos (Galdeano et al. 2013). Dentro de este grupo se ha demostrado la presencia de los subgrupos B, J, W y X. El subgrupo J es propio del cono sur americano y es el causante, entre otras enfermedades, de la llamada “tristeza del ajo” (Galdeano et al., 2004) y del “marchitamiento de la remolacha” (Fernández et al. 2020a).

Las enfermedades causadas por patógenos sistémicos son difíciles de controlar y por ello una de las estrategias para disminuir su impacto es a través del control de los insectos vectores, ya que ellos además de ser importantes reservorios del patógeno, intervienen en la dispersión de la enfermedad a otras especies de plantas de las que el insecto se alimenta, además del cultivo. En la actualidad para disminuir el impacto del “marchitamiento de la remolacha” en las zonas de producción se aplican mezclas de potentes insecticidas durante el desarrollo del cultivo, cada 21 días desde la siembra hasta su uso como forraje. Este manejo genera un importante impacto en el ambiente y encarece los costos de producción de la remolacha forrajera. Para disminuir el impacto de esta enfermedad evitando el uso excesivo de insecticidas es menester no solo identificar a los insectos involucrados, sino además conocer las variaciones en su población durante el año en cada región, de que otras especies se alimentan y su ciclo de vida.

El objetivo del trabajo es abordar el estudio del patosistema de manera integral (fitoplasmas 16SrIII-J/insecto vector/*Beta vulgaris*) abordando aspectos de su epidemiología, sintomatología y agente causal. En relación a la presencia del patógeno asociado a la “marchitez” de la remolacha en distintas zonas de producción de nuestro país, se buscó identificar el/los

fitoplasmas presentes, describir la sintomatología y evolución de la enfermedad y su prevalencia. Por otra parte, para iniciar el estudio de insectos vectores, se planteó identificar la fauna de hemípteros en zonas de producción y determinar las especies de cicadélidos que portan fitoplasmas y posiblemente podrían estar actuando como vectores. El establecimiento de la identidad de los insectos vectores, ciclo de vida, preferencias alimenticias y sus características poblacionales permitiría contar con elementos para la generación de herramientas orientadas a un manejo sustentable de esta enfermedad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreos de plantas sintomáticas, insectos y malezas

Se realizaron muestreos en diciembre y marzo en lotes productivos de remolacha forrajera en Río Negro (Valle medio y Valle inferior) y sur de Buenos Aires (Pedro Luro). En cada lote se realizaron 3 transectas al azar de 10 metros lineales cada una, donde se contó el número total de plantas por transecta y se recolectaron muestras que presentaban síntomas sospechosos de infección con fitoplasmas. Se tuvo en cuenta la presencia de amarillamiento, pérdida de turgencia (marchitez), sobretamamiento, disminución del tamaño foliar, entre otros. En las borduras con malezas, se recolectaron al azar muestras de *Bassia scoparia* (L.) Schrader (“morenita” o “yuyo volador”), con la finalidad de establecer si podrían actuar como hospedante alternativo del patógeno y/o del insecto vector. Se prestó atención a esta especie por ser la más abundante y al realizar redadas se observó una alta presencia de hemípteros de interés. Concomitantemente en los lotes de remolachas se realizaron capturas de insectos a través de red de arrastre (100 golpes de red en cada lugar de muestreo).

Detección e identificación molecular del patógeno

Con la finalidad de determinar la presencia del patógeno en las muestras de plantas sintomáticas de remolachas como de malezas con y sin síntomas, se realizó la extracción de ADN total según protocolo Doyle y Doyle (1990). Mediante la técnica PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) y PCR anidado, se amplificó la región del operón del ARN ribosomal de fitoplasmas, utilizando cebadores universales para fitoplasmas P1/P7 y R16F2n/R16R2 respectivamente (Deng and Hiruki, 1991; Gundersen and Lee, 1996). El PCR anidado, es una segunda ronda de PCR que aumenta notablemente la sensibilidad de la técnica, permitiendo detectar cantidades menores del patógeno. Aquellas muestras en las cuales se evidenció la amplificación del tamaño

esperado y con el objetivo de clasificar el fitoplasma presente, se continuó el análisis a través de la técnica RFLP (Polimorfismos en la Longitud de Fragmentos de Restricción) digiriendo el producto de la amplificación por el PCR nested con la enzima *HhaI*. Esta enzima permite discriminar el subgrupo J de fitoplasma, perteneciente al grupo 16SrIII en base al patrón de bandas obtenidos. La calidad y cantidad de ADN obtenido en los procesos de extracción, amplificación por PCR, como el patrón de bandas por RFLP se visualizó por electroforesis, mediante el uso de geles de agarosa y tinción del ADN.

Identificación y clasificación de los insectos recolectados a campo

En relación a los insectos colectados en los sucesivos muestreos se conservaron en etanol al 70% y se clasificaron taxonómicamente en el laboratorio entomológico del CeBio (UNNOBA-CICBA). Se utilizaron para determinar las diversas especies claves y adaptaciones (Deitz and Dietrich, 1993, Linnavuori, 1959, Remes Lenicov ,1982, entre otros). Para arribar a la identificación de especies se realizó disección de la genitalia del macho previamente aclarada con potasa. Con el fin de determinar presencia del patógeno en el insecto se realizaron las técnicas antes descritas para las muestras vegetales (Doyle y Doyle, 1990), con adaptaciones en la extracción de ADN total de insecto. Cada muestra de insectos estuvo constituida por tres individuos de la misma especie recolectados en lotes de remolacha con presencia de síntomas de amarillamiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los muestreos fueron realizados en diciembre 2019; diciembre 2021, marzo 2022 y diciembre 2022 en las localidades de Choele-Choel, Luis Beltrán, Pomona, Valle azul (Valle medio - Río Negro), en Viedma (Valle inferior - Río Negro) y Pedro Luro (sur de Buenos Aires).

En total se evaluaron 1.487 plantas de remolacha forrajera mediante las sucesivas transectas en 9 lotes, de las cuales 114 presentaban síntomas de infección potencial con fitoplasmas (**Figura 3**). Se obtuvieron amplificaciones del tamaño esperado para fitoplasmas en el 83,33% (95) de las muestras sintomáticas (**Tabla 1**). En la totalidad de los sitios de muestreo se colectaron plantas infectadas, lo que indica que la enfermedad tiene una prevalencia del 100%.

Cuando se analiza la incidencia del síntoma se debe tener en cuenta no solo el impacto de los tratamientos químicos sobre el insecto vector, sino también la pérdida de plantas entre cada toma de muestras que no son evaluadas en cada transecta, lo que subestima el verdadero impacto de incidencia de la enfermedad sobre el cultivo. La totalidad de las 95 muestras positivas, presentaron el mismo patrón de bandas al realizar la técnica de RFLP sobre el ADN amplificado, confirmándose que el 100% de las plantas positivamente enfermas estaban infectadas con el fitoplasma del grupo 16SrIII subgrupo J.



Figura 3. Proporción de síntomas asociados a la enfermedad “marchitez de la remolacha forrajera”, causada por fitoplasmas, encontrados a campo en zonas de producción.

Tabla 1. Resumen de las muestras recolectadas a campo y la relación entre el síntoma y la presencia de fitoplasmas.

	Muestras analizadas	Muestras positivas para fitoplasmas	Porcentaje de relación entre síntoma y presencia de fitoplasmas
Amarillamiento	63	58	92,06%
Superbrotamiento	5	5	100%
Marchitamiento	38	25	66%
Total plantas sintomáticas recolectadas	144	95	83,33 %

El síntoma predominante a campo fue el amarillamiento (**Figura 4**), de 63 plantas analizadas con este síntoma el 92,06% (58) arrojaron bandas esperadas para fitoplasmas

al realizar la técnica de PCR (**Tabla 1**). Estos resultados fueron obtenidos mayoritariamente en la primera ronda de PCR utilizando los cebadores P1-P7.



Figura 4. Síntoma denominado “amarillamiento” asociado a la presencia de fitoplasmas en remolacha forrajera.

Una situación similar ocurrió con el síntoma de superbrotamiento (**Figura 5**) donde si bien sólo se encontraron 5 muestras con esta sintomatología, todas

arrojaron banda del tamaño esperado en la primera ronda de PCR para fitoplasmas y de gran intensidad.



Figura 5. Síntoma denominado “superbrotamiento” asociado a la presencia de fitoplasmas en remolacha forrajera.

El segundo síntoma predominante presente a campo, la marchitez (**Figura 6**), estuvo presente en 38 muestras de las cuales el 66% (25) arrojaron resultados positivos para fitoplasmas (**Tabla 1**) luego de la segunda ronda de PCR, utilizando los cebadores internos (R2/F2n). El síntoma de marchitamiento podría estar indicando un menor título del patógeno, requiriendo aumentar la sensibilidad de la

técnica con dos rondas de PCR para lograr constatar la presencia del patógeno. Las diferencias de resultados entre síntomas y amplificación por PCR, podrían estar relacionados con el momento de infección. En próximos ensayos se considera la aplicación de PCR cuantitativo (qPCR) para corroborar este resultado.



Figura 6. Síntoma denominado “marchitez” asociado a la presencia de fitoplasmas en remolacha forrajera.

En el año 2020, la enfermedad que afecta a la remolacha fue denominada "marchitamiento de la remolacha" debido a la asociación sugerida entre este síntoma y la presencia de la enfermedad en las zonas de producción. Este estudio demuestra que el síntoma más representativo e indicativo de la enfermedad es en realidad el amarillamiento. En el presente trabajo se estudió la evolución de los síntomas a lo largo del tiempo. Los resultados revelan una sólida relación entre las plantas que presentan amarillamiento y aquellas positivas para fitoplasmas, los organismos responsables de la enfermedad. Estos avances proporcionan una nueva herramienta no solo para el manejo a campo de la enfermedad y su manifestación en las plantas de remolacha, sino también para continuar profundizando los estudios sobre la misma.

Por otra parte, se analizaron 62 muestras asintomáticas de *Bassia scoparia* (L.) Schrader, “Morenita”, de las cuales no se obtuvieron bandas de tamaño esperado para fitoplasmas al realizar la técnica de PCR y PCR anidado. No se visualizaron a campo plantas de morenita con síntomas sospechosos de infección. Es de suponer que en la maleza los síntomas podrían ser imperceptibles por lo que la posibilidad de identificar al azar plantas naturalmente

infectadas requeriría el análisis de un número muy alto de muestras.

Se logró identificar numerosas especies de insectos pertenecientes a la familia Cicadellidae (**Tabla 2**) algunos de ellos muy promisorios como posibles vectores de fitoplasmas de acuerdo con lo descrito en la bibliografía, tales como: *Paratanus exitiosus* (Beamer) (Deltocephalinae), *Bergallia signata* Oman y *Agalliana ensigera* Oman, (Megophtalminae – previamente denominada: Agalliinae) (**Figura 7**).

Se constituyeron 32 muestras de insectos (29 de *Paratanus exitiosus* (Beamer) y 3 de *Bergallia signata* Oman para la extracción del ADN total. El número de muestras por especie estuvo condicionado por la cantidad de insectos recolectados a campo en las sucesivas redadas. Se logró identificar en 3 de estas muestras, el patrón correspondiente al grupo 16SrIII subgrupo J, al realizar sobre la amplificación por PCR, la técnica de RFLP utilizando la enzima *HhaI*. Se continúan los estudios para determinar si alguna de las especies mencionadas es vectora del patógeno, realizando ensayos de transmisión experimental de la enfermedad a campo y/o laboratorio estableciendo parámetros de cría y transmisión.

Tabla 2. Identificación taxonómica de los insectos encontrados a campo en las zonas de producción de remolacha forrajera.

Infraorden	Superfamilia	Familia	Subfamilia	Tribu	Género	Especie
Cicado-morpha	Membracoidea	Cicadellidae	<i>Deltocephalinae</i>	<i>Euscelini</i>	<i>Paratanus</i>	<i>Paratanus exitiosus</i>
			<i>Megophtalminae</i> (<i>Agalliinae</i>)		<i>Agalliana</i>	<i>Agalliana ensigera</i>
					<i>Bergallia</i>	<i>Bergallia signata</i>
			<i>Cicadellinae</i>			
			<i>Ledrinae</i> (<i>Xerophloeini</i>)		<i>Xerophloea</i>	
		<i>Membracidae</i>	<i>Smiliinae</i>		<i>Ceresa</i>	
<i>Fulgoro-morpha</i>	<i>Fulgoroidea</i>					

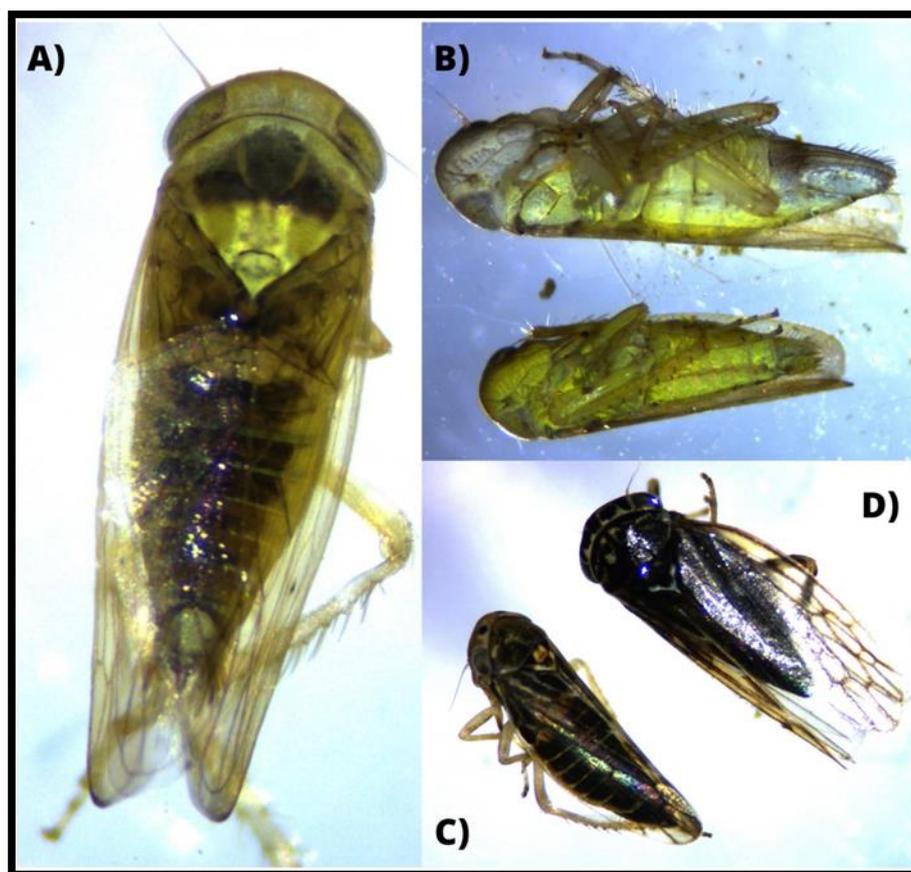


Figura 7. Insectos identificados en zonas de producción. A y B) *Paratanus exitiosus*; C) *Agalliana ensigera*; D) *Bergallia signata*.

CONCLUSIONES

- El fitoplasma causal del “marchitamiento de la remolacha” es el 16SrIII-J en las regiones muestreadas
- La prevalencia de la enfermedad es del 100%, ya que en todos los lotes muestreados se han encontrado plantas infectadas. Lo que permite afirmar que el insecto vector se encuentra presente en todas las regiones bajo estudio. La incidencia fue variable dependiendo de la fecha de muestreo, siendo más elevada luego de la estación cálida de crecimiento.
- El síntoma predominante asociado con la enfermedad es el amarillamiento, seguido por

marchitamiento. El superbrotamiento es el síntoma que menos se visualiza a campo. Aparentemente los diferentes síntomas podrían estar asociados con la evolución de la enfermedad, siendo el inicial el marchitamiento, para continuar con el amarillamiento y luego el sobrebrotamiento. Esta asociación se basa en que todas las muestras con sobrebrotamiento y la mayoría con amarillamiento, dieron positivas y con gran intensidad de banda directamente en la primera ronda de PCR.

- Los síntomas en plantas de remolacha forrajera se visualizan mayormente en el mes de marzo, en contraste la mayor cantidad de insectos que se observan en diciembre. Esto podría estar

relacionado a los tiempos de desarrollo de la enfermedad, es decir, desde que el insecto transmite el fitoplasma, el lapso que debe pasar para que se visualice la enfermedad en la planta podría ser de más de 8 semanas.

BIBLIOGRAFÍA

- Bertaccini A, Duduk B, et al. (2014). Phytoplasmas and Phytoplasma Diseases: A Severe Threat to Agriculture. *American Journal of Plant Sciences* 5, 1763-1788
- Bertaccini, A., Arocha-Rosete, Y., Contaldo, N., Duduk, B., Fiore, N., Montano, H. G., & Zamorano, A. (2022). Revision of the 'Candidatus Phytoplasma' species description guidelines. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 72(4), 005353.
- Bertaccini, A., and Lee, I.-M. (2018). "Phytoplasmas: an update," in *Phytoplasmas: Plant Pathogenic Bacteria - I: Characterization and Epidemiology of Phytoplasma - Associated Diseases*, eds G. P. Rao, A. Bertaccini, N. Fiore, and L. W. Liefting (Singapore: Springer), 1–29. doi: 10.1007/978-981-13-0119-3-1
- Conci, L.; Saavedra Pons, A. et al. (2014) Advances in knowledge about phytoplasma diseases in Argentina. Chapter 2: The phytoplasmas and phytoplasma vectors. In *Phytoplasmas and Phytoplasma Diseases management*. Ed. A. Bertaccini. Bologna, Italia. ISBN 978-88-909922-0-9 pg 288
- Deitz, L. y Dietrich, C. (1993) Superfamily Membracoidea (Homoptera: Auchenorrhyncha). Introduction and revised classification with new family-group taxa. *Systematic Entomology* 18: 287-296.
- Deng, S.J. and Hiruki, C. (1991) Genetic relatedness between two non-culturable mycoplasma-like organisms revealed by nucleic acid hybridization and polymerase chain reaction. *Phytopathology*, 81, 1475-1479. <http://dx.doi.org/10.1094/Phyto-81-1475>
- Doyle J, Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13–15
- Favere, V. M. (2021). Cultivo y uso de la remolacha forrajera para pastoreo directo - Web INTA Digital (INTA) - <http://hdl.handle.net/20.500.12123/13232>
- Fernández, F.; Guzmán, F.; Baffoni, P.; Reinoso, L.; Kiehr, M.; et al. (2020a); Phytoplasmas of subgroup 16SrIII-J associated with *Beta vulgaris* in Argentina; *Sociedade Brasileira de Fitopatologia; Tropical Plant Pathology*; 45; 2; 2-2020; 143-147
- Fernández, F.; Alessio, F.; Bongiorno, V.; Galdeano, E. y Conci L. (2020b) Minireview Enfermedades causadas por Fitoplasmas. Situación en Argentina - *Boletín de la Asociación Argentina de Fitopatólogos* ISSN: 2618-1932 Dic. N°7. <http://aafitopatologos.com.ar/wp/wp-content/uploads/2020/12/Boletin-N-7-AAF.pdf>
- Galdeano E, Guzmán F, Fernández F and Conci L. (2013) Genetic diversity of 16SrIII group phytoplasmas in Argentina. Predominance of subgroups 16SrIII-J and B and two new subgroups 16SrIII-W and X. *European Journal of Plant Pathology*. 137:753-764. DOI: 10.1007/s10658-013-0285-5
- Galdeano, E.; Torres, L.; Meneguzzi, N.; Guzmán, F.; Gomez, G.; Docampo, D. and Conci, L. (2004). Molecular Characterization of 16S ribosomal DNA and phylogenetic analysis of two X-disease group phytoplasmas affecting China-tree (*Melia azedarach* L.) and Garlic (*Allium sativum* L.) in Argentina. *Journal of Phytopathology* 152 (3), 174-181.
- Galetto L, Bosco D, et al. (2011). The Major Antigenic Membrane Protein of "Candidatus Phytoplasma asteris" Selectively Interacts with ATP Synthase and Actin of Leafhopper Vectors. *PLoS ONE*, 6:e22571
- Gundersen, D.E. and Lee, I.M. (1996). Ultrasensitive detection of Phytoplasmas by nested-PCR assays using two universal primer pairs. *Phytopathologia Mediterranea*, 35, 114-151.
- Lee, I.-M., D. E. Gundersen-Rindal et al. (1998). Revised Classification Scheme of Phytoplasmas based on RFLP Analyses of 16S rRNA and Ribosomal Protein Gene Sequences. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 48, 1153-1169.
- Linnavuori, R. (1959). Revision of the Neotropical Deltocephalinae and some related subfamilies (Homoptera). *Annals of Zoological Society, Vanamo* 20: 1-370.
- Marcone, C. (2014). Molecular biology and pathogenicity of phytoplasmas. *Ann Appl Biol* 165 199–221
- Pérez-López, E.; Luna-Rodríguez, M. et al. (2016). The underestimated diversity of phytoplasmas in Latin America. *Int J Syst Evol Microbiol.* 66(1):492-513
- Rashidi, M.; Galetto, L. et al. (2015). Role of the major antigenic membrane protein in phytoplasma transmission by two insect vector specie. *BMC Microbiology* DOI 10.1186/s12866-015-0522-5
- Remes Lenicov, A. (1982) Aportes al conocimiento de los Agalliinae argentinos. (Homoptera-Cicadellidae). *Neotrópica* 28 (80): 125-138.
- Weintraub P. (2007) Insect vectors of phytoplasmas and their control an update. *Bulletin of Insectology*, (2007), 169-173, 60(2)
- Weintraub, P., L. Beanland. (2006). Insect vectors of phytoplasmas. *Ann. Rev. of Entl.*, 51: 91-111
- Wei W, Zhao Y. (2022) Phytoplasma Taxonomy: Nomenclature, Classification, and Identification. *Biology (Basel)*. 2022 Jul. 26; 11(8):1119. doi: 10.3390/biology11081119. PMID: 35892975; PMCID: PMC9394401.