

Journal

**Canadian Journal of Plant Pathology** >

Volume 38, 2016 - Issue 4

178 1  
Views CrossRef citations Altmetric

Bacteria and phytoplasmas/Bactéries et phytoplasmes

# Detection and quantification of '*Candidatus Phytoplasma asteris*' and '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' at early and late stages of Huanglongbing disease development

Alda A. Arratia-Castro , María E. Santos-Cervantes, Ángela P. Arce-Leal, Mariela G. Espinoza-Mancillas, Edgar A. Rodríguez Negrete, Jesús Méndez-Lozano, ...[show all](#)

Pages 411-421 | Accepted 27 Sep 2016, Accepted author version posted online: 31 Oct 2016, Published online: 05 Dec 2016

 Download citation  <https://doi.org/10.1080/07060661.2016.1243586>

 Check for updates Seleccionar idioma ▼

Translator disclaimer

 Full Article Figures & data References Citations Metrics Reprints & Permissions

Get access

## Abstract

'*Candidatus Phytoplasma asteris*' (CPa) has been identified along with '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' (CLas) from citrus trees showing Huanglongbing (HLB) symptoms in Mexico. The low titre of CPa and CLas in infected plants is the major constraint to developing an accurate and sensitive method for their detection that would support an effective HLB diagnosis and management programme. This investigation reports the development and validation of a new TaqMan quantitative PCR to detect low titres of CPa in citrus trees with HLB symptoms based on the phytoplasma 16S rRNA gene region. The assay was used to monitor the titre of CPa at early and late stages of disease development in symptomatic and asymptomatic Mexican lime trees in Colima, Mexico. The concentration of CLas was determined by nested-qPCR. Only eight out of 39 sampled branches showed HLB symptoms at the early infection stage. All 39 branches were symptomatic at the late infection stage. The qPCR yielded an increase in the branch incidence and concentration of CLas (49 to 100% and  $5 \times 10^3$  to  $12 \times 10^3$  cells/100 ng of total DNA), while CPa showed a decreased incidence and concentration (72 to 41% and 199 to 19 cells/100 ng of total DNA) throughout the disease development. Results confirm the occurrence of mixed infection of CLas and CPa in HLB-affected citrus trees, although their epidemiological role in co-infecting remains unknown.

## Résumé

'*Candidatus Phytoplasma asteris*' (CPa) a été identifié au Mexique, parallèlement à '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' (CLas), sur des citrus affichant les symptômes du huanglongbing (HLB). Le faible titre du CPa et du CLas chez les plants infectés est la principale entrave au développement d'une méthode précise et sensible permettant leur détection, méthode qui appuierait un programme efficace de diagnostic et de gestion du HLB. Cette enquête traite du développement et de la validation d'une nouvelle PCRq TaqMan pour détecter les faibles titres du CPa chez les citrus affichant des symptômes de HLB, basée sur la région du gène 16S de l'ARNr du phytoplasme. Le biotest a été utilisé pour suivre le titre du CPa aux stades initiaux et terminaux du développement de la maladie chez les limettiers symptomatiques et asymptomatiques de Colima, au Mexique. La concentration du CLas était déterminée par PCRq emboîtée. Seulement 8 des 39 branches échantillonnées ont affiché les symptômes du HLB au stade précoce de l'infection. Les 39 branches étaient symptomatiques au stade tardif. La PCRq a généré une augmentation de l'incidence et de la concentration du CLas durant le développement

échantillonnes ont affiché les symptômes du HLB au stade précoce de l'infection. Les 39 branches étaient symptomatiques au stade tardif. La PCRq a généré une augmentation de l'incidence et de la concentration du CLas durant le développement

de la maladie (de 49 à 100% et de  $5 \times 10^3$  à  $12 \times 10^3$  cellules/100 ng d'ADN total), tandis que le CPa a affiché une réduction de l'incidence et de la concentration (de 72 à 41% et de 199 à 19 cellules/100 ng d'ADN total). Les résultats confirment l'occurrence d'infection mixte causée par CLas et CPa chez les citrus touchés par le HLB, bien que leur rôle épidémiologique quant à la co-infection demeure inconnu.

Keywords: *Candidatus Liberibacter asiaticus*, *Candidatus Phytoplasma asteris*, *Citrus aurantifolia*, Huanglongbing, pathogen detection, Quantitative PCR

Mots clés: *Candidatus Liberibacter asiaticus*, *Candidatus Phytoplasma asteris*, Huanglongbing, *Citrus aurantifolia*, détection des agents pathogènes, PCR quantitative

## Additional information

### Funding

This work has been supported by CONACYT [FINNOVA 173465]; The Instituto Politécnico Nacional [SIP 2016-4813].



### People also read

Article

[Pathogenicity, vegetative compatibility and genetic diversity of \*Verticillium dahliae\* isolates from sugar beet](#) >

Carl A. Strausbaugh et al.

Canadian Journal of Plant Pathology  
Volume 38, 2016 - Issue 4

Published online: 9 Dec 2016

Article

[Use of low-dose UV-C irradiation to control powdery mildew caused by \*Podosphaera aphanis\* on strawberry plants](#) >

Wojciech J. Janisiewicz et al.

Canadian Journal of Plant Pathology  
Volume 38, 2016 - Issue 4

Published online: 13 Dec 2016

Article

[Inhibition of \*Fusarium graminearum\* and other \*Fusarium\* species by \*Cochliobolus sativus\* in culture and on barley plants](#) >

Christof Rampitsch et al.

Canadian Journal of Plant Pathology

Published online: 14 Nov 2016

Note

**Physiologic specialization of *Puccinia triticina*, the causal agent of wheat leaf rust, in Canada in 2010** >

Brent D. McCallum et al.

Canadian Journal of Plant Pathology  
Volume 38, 2016 - Issue 4

Published online: 9 Dec 2016

Article

**An improved simple method for DNA extraction from fungal mycelia** >

Yalong Yang et al.

Canadian Journal of Plant Pathology  
Volume 38, 2016 - Issue 4

Published online: 9 Dec 2016

Article

**Role of fruit surface mycoflora, wounding and storage conditions on post-harvest disease development on greenhouse tomatoes** >

Z.K. Punja et al.

Canadian Journal of Plant Pathology  
Volume 38, 2016 - Issue 4

Published online: 16 Nov 2016

[Information for](#)[Authors](#)[Editors](#)[Librarians](#)[Societies](#)[Open access](#)[Overview](#)[Open journals](#)[Open Select](#)[Cogent OA](#)[Help and info](#)[Help](#)[FAQs](#)[Newsroom](#)[Contact us](#)[Commercial services](#)[Connect with Taylor & Francis](#)[Copyright © 2018 Informa UK Limited](#)   [Privacy policy & cookies](#)   [Terms & conditions](#)   [Accessibility](#)

Registered in England &amp; Wales No. 3099067

5 Howick Place | London | SW1P 1WG