Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano

Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria

Ingeniería Agronómica

Proyecto Especial de Graduación

Características generales y relación hospedero-patógeno del género *Xanthomonas* spp.: Revisión de Literatura

Estudiante

Cristina Soledad Ortiz Montesdeoca

Asesores

Carolina Avellaneda, Ph. D.

Raphael Colbert, Ph. D.

Honduras, junio 2021

Autoridades

TANYA MÜLLER GARCÍA

Rectora

ANA MARGARITA MAIER ACOSTA

Vicepresidenta y Decana Académica

ROGEL CASTILLO

Director Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria

HUGO ZAVALA MEMBREÑO

Secretario General

Contenido

Índice de Cuadros....5

Índice de Figuras....6

Índice de Anexos....7

Resumen....8

Abstract....9

Introducción....10

Metodología....12

Estrategias de Búsqueda....12

Criterios de Inclusión y Exclusión....12

Revisión de Literatura....13

Bacteria Fitopatógena *Xanthomonas* spp....13

Síntomas en Cultivos....15

Mancha Bacteriana en Tomate *y* Chile....17

Podredumbre Negra en Crucíferas....24

Cancro de los Cítricos....26

Ciclo del Patógeno....30

Control....36

Conclusiones....45

Recomendaciones....46

Referencias.....47

Anexos.....54

Índice de Cuadros

Cuadro 1 Sistemas de secreción de proteínas de bacterias Gram-negativas.....35

Índice de Figuras

Figura 1 Especies y patovares de *Xanthomonas* muestran especificidad de tejido y hospedero. 13

Figura 2 *Xanthomonas spp.* en diferentes hospederos 16

Figura 3 Lesiones en hojas y frutos de tomate 17

Figura 4 Síntomas de mancha Bacteriana en chile 18

Figura 5 Distribución Geográfica y síntomas de Tizón bacteriano (BLB) y raya foliar bacteriana (BLS)20

Figura 6 Comparación de patovares de *Xanthomonas oryzae* 22

Figura 7 *X. oryzae* pv. *oryzicola* (BLS): síntomas en hojas de en diferentes estaciones. 23

Figura 8 Síntomas de *Xanthomonas campestris* pv*. campestris*.....25

Figura 9 Sintomas del cancro de los cítricos en hojas, tallos y frutos/ Poteínas efectoras translocadas a través de un sistema de secreción de tipo III (rojo) en las células vegetales. 30

Figura 10 Modelo que ilustra el ciclo de vida del patógeno *Xanthomonas campestris* pv. *campestris (Xcc)* causante de la pudrición negra en crucíferas. 31

Figura 11 Micrografía electrónica de barrido en la superficie de hoja de frijol colonizada por *X. axonopodis* pv. *phaseoli*.....33

Figura 12 Representación esquemática de los sistemas de secreción de *Xanthomonas* spp. 36

Figura 13 Elementos de unión de efectores conocidos en los promotores de genes SWEET.....42

Figura 14 Visión general del desarrollo de líneas con genes SWEET editados genéticamente.....43

Índice de Anexos

Anexo A Filogenia, rango de hospederos, enfermedades y datos genómicos actualmente disponibles para la filogenia de *Xanthomonas* spp.....54

Anexo B Microoorganismos que han sido testeados in vitro y/o en invernadero y/o en campo para el control de *Xanthomonas* 55

Resumen

El género *Xanthomonas* spp. es uno de los más importantes que afectan a cultivos de alto valor comercial en todo el mundo. Esta revisión de literatura tuvo la finalidad de ampliar el conocimiento de los síntomas, comprender las relaciones hospedero – patógeno, y presentar métodos de control en cultivos de relevancia agrícola afectados por *Xanthomonas*. Esta investigación muestra las características generales del género *Xanthomonas*, los síntomas que producen las diferentes especies o patovares en los cultivos de tomate, chile (*Capsicum annuum)*, arroz, crucíferas y cítricos, el ciclo del patógeno, los mecanismos de virulencia, y algunos métodos de control. Los patovares se clasifican dependiendo del rango de hospedero y tejido que afectan de tal forma que cada uno posee distintos mecanismos de virulencia como las proteínas efectoras que liberan a través de los sistemas de secreción. Esto ha representado un desafío al momento de encontrar un método de control eficiente. Sin embargo, el uso de métodos de control cultural, químico, y biológico integrados en un programa de manejo de enfermedades reduce significativamente la población bacteriana. Además, los avances en la edición genética han abierto nuevas oportunidades para desarrollar variedades resistentes, ya que, es la forma más efectiva de controlar las enfermedades relacionadas con *Xanthomonas.*

Palabras clave: Control de *Xanthomonas**,*** genes, interacción hospedero - patógeno, patovar.

Abstract

The genus *Xanthomonas* spp. is one of the most important genera affecting crops of high commercial value worldwide. The purpose of this literature review was to broaden the knowledge of symptoms, understand host-pathogen relationships, and present control methods in crops of agricultural relevance affected by *Xanthomonas*. This research shows the general characteristics of the genus *Xanthomonas*, the symptoms produced by the different species or pathovars in tomato, chili (*Capsicum annuum)*, rice, cruciferous and citrus crops, the pathogen cycle, virulence mechanisms, and some control methods. Pathovars are classified depending on the host range and tissue they affect so that each one has different virulence mechanisms such as the effector proteins they release through their secretion systems. This has posed a challenge in finding an efficient control method. However, cultural, chemical, and biological control methods integrated into a disease management program significantly reduce the bacterial population. In addition, advances in gene editing have opened new opportunities to develop resistant varieties as the most effective way to control Xanthomonas-related diseases.

Keywords: *Xanthomonas* control, genes, host-pathogen interaction, pathovar.

Introducción

Xanthomonas spp. es uno de las más extensos e importantes géneros de bacterias fitopatógenas, su nombre proviene del griego xanthos, que significa "amarillo", y monas, que significa "entidad" (Ryan et al. 2011). Son bacterias de gran importancia económica ya que afectan a un gran número de cultivos a nivel mundial, debido a su variabilidad genética y su alta especificidad de hospederos, motivo por el que han sido estudiadas con énfasis en los últimos años. La mayoría de las especies de este género representan pérdidas importantes en el área del agro, afectando tanto a plantas monocotiledóneas como dicotiledóneas (Büttner y Bonas 2010). Los cultivos comerciales más importantes que son principalmente afectados por esta bacteria son: arroz, cítricos, tomate, chile y crucíferas (Ryan et al. 2011). Incluso, algunas especies se encuentran catalogadas entre las 10 bacterias fitopatógenas más importantes, como *X. oryzae* pv. *oryzae*, de la que se han reportado pérdidas de rendimiento en el cultivo del arroz hasta del 50% en Asia (Ou 1985; Mansfield et al. 2012); y *X. campestris* pv. *campestris* causante de la podredumbre negra en crucíferas, que además, es un microorganismo importante en la industria alimentaria y farmacéutica debido a que produce una sustancia polimérica extracelular (EPS) xantano o goma xantana (Becker et al. 1998).

Una característica que distingue a este género de bacterias fitopatógenas es su amplia variedad de especies y patovares. El término patovar se define como un grupo intraespecífico de cepas similares dentro de una misma especie que son clasificadas dependiendo de la especificidad en el tejido que atacan o el rango de hospedero. Se escribe pv. como una adición ternaria al nombre binomial. Debido a la diversidad de grupos genéticos de *Xanthomonas* spp. y a la aparición de nuevas razas, este género se ha mantenido en reclasificación en los últimos años, por lo que aún es necesarios que se mantenga en estudio nuevas cepas o mutaciones genéticas. La aparición de cepas con diferentes características refleja la plasticidad genética de este género. Por ejemplo, en los últimos años se han identificado cuatro diferentes especies que afectan al cultivo de tomate y chile: *X. euvesicatoria, X.vesicatoria, X. perforans, y X. gardneri* (Strayer-Scherer et al. 2020). Por esta razón es

necesario el empleo de técnicas de diagnóstico molecular que ayuden a la detección específica de especies y patovares con la finalidad de utilizar el mejor método de control.

Con frecuencia, las enfermedades de tipo bacteriano tienden a ser confundidas con daños fisiológicos causados por condiciones ambientales o con otras enfermedades en sus etapas iniciales (Strayer-Scherer et al. 2020). Por lo que, para la detección e identificación se emplean técnicas rápidas o moleculares (PCR). Una de las técnicas en laboratorio para el aislamiento e identificación de *Xanthomonas* spp. son los medios selectivos y semi-selectivos. Para mejorar la detección, también se han complementado las pruebas bioquímicas con pruebas moleculares. Además, se han publicado protocolos PCR basados en 16 rADN, amplificando el ADN de un largo número de especies de *Xanthomonas* (Maes 1993), ya que, el ARN ribosomal 16S, particularmente con procariotas, se volvió estándar en la determinación de relaciones filogénicas, la evaluación de la diversidad en el ambiente, la detección y la cuantificación de poblaciones especificas (Acinas et al. 2004).

Por medio de la edición genética y los avances en biotecnología, se han desarrollado especies resistentes como métodos de control de diversas enfermedades provocadas por *Xanthomonas* spp. (Varshney et al. 2019). Otra alternativa de control que se encuentran en estudio, es el uso de control biológico, el cual es una alternativa sostenible de manejo de enfermedades a comparación con el control químico, y el análisis genético que permita mejorar la comprensión de la evolución y virulencia de este extenso género de bacterias (Marin et al. 2019). Tomando en cuenta los antecedentes mencionados, los objetivos de esta revisión de literatura son describir los síntomas de los principales cultivos afectados por *Xanthomonas,* comprender los mecanismos de virulencia que emplea *Xanthomonas,* y presentar métodos de control para el género *Xanthomonas.*

Metodología

Estrategias de Búsqueda

La investigación descriptiva se realizó en los meses de marzo a junio de 2021, en la que se emplearon bases de datos como “Pub Med”, “Science Direct”, “Research Gate”, “APS press”, “MDPI”, “International Journal of Molecular Science”, “Scopus Science” y “Springer Link”, y se complementó con información de sitios oficiales como NCBI, LPSN y la revista Nature. En esta revisión se recolectó información actual acerca de la importancia de *Xanthomonas* spp, su taxonomía, algunas especies que afectan cultivos agrícolas de importancia económica y métodos de control.

Se usaron palabras clave como *Xanthomonas*, métodos de control, disease, patovar, interacción planta-patógeno, host-pathogen interaction, enfermedades, mecanismos de virulencia y virulence factors.

Criterios de Inclusión y Exclusión

Se incluyeron mayormente artículos científicos de los últimos 20 años, aunque, también fueron incluidos algunos artículos y libros de años anteriores, debido a la relevancia de su información. Los artículos utilizados en esta revisión fueron escritos en inglés y español. Se seleccionaron 61 documentos entre artículos y libros. Se excluyeron de esta revisión los documentos que no estuvieran relacionados con las especies de *Xanthomonas* que afectan los cultivos de tomate, chile, arroz, crucíferas y cítricos.

Revisión de Literatura

Bacteria fitopatógena *Xanthomonas* spp.

Las bacterias del género *Xanthomonas* generalmente poseen una forma de bastón, son gran negativas, aeróbias obligatorias, no esporuladas, tienen metabolismo oxidativo, la mayoría presenta flagelo polar único. Su temperatura óptima de crecimiento se encuentra entre los 25 y 30 °C (Swings y Civerolo 1993). Son positivas a la prueba de catalasa, no producen pigmento fluorescente, producen levano a partir de sacarosa, ácido sulfhídrico a partir de cisteína, y son débiles productores de ácido a partir de carbohidratos. Su contenido de ADN (G + C) es de 63 a 71% mol (Agrios 2005). Por lo general, este género produce un característico polisacárido extracelular (EPS) xanthan y, además, ligado a la membrana, se produce un pigmento carotenoide hidrofóbico de tipo aril polino, llamado xanthomodin (Adriko et al. 2014). Las colonias de la mayoría de las especies y patovares son mucoides, convexas y amarillas cuando crecen en medio de cultivo YDC. El pigmento en las membranas antes mencionado, es el encargado de protegerlas del daño oxidativo y de la luz solar (He et al. 2011). Existen otras cepas que no presentan esta pigmentación característica, como es el caso de *X. axonopodis* pv. *manihotis*, *X. campestris* pv. *mangiferaindicae* y *X. campestris* pv. *viticola* (Timilsina et al. 2019). Según el manual de bacteriología sistemática de Bergey's Saddler y Bradbury (2005) se categoriza de la siguiente manera:

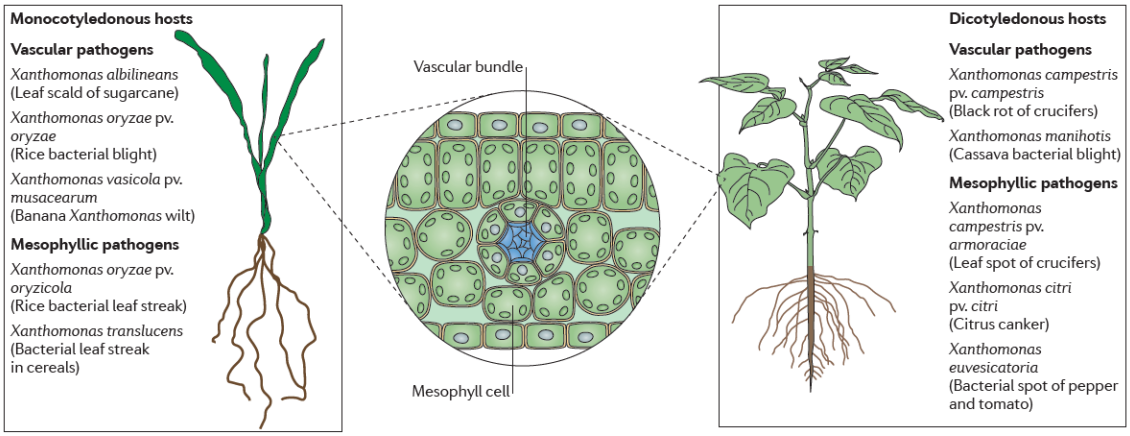
División: Bacteria, **phylum XIV:** Proteobacteria, **clase III:** Gammaproteobacteria, **orden III:** Xanthomonadales, **Familia I:** Xanthomonadaceae

Xanthomonas contiene especies causantes de enfermedades en aproximadamente 400 diferentes hospederos, específicamente en 124 monocotiledóneas y 268 dicotiledóneas según Leyns et al. (1984), debido a que cada especie o patovar puede colonizar hospederos y tejidos específicos. En la actualidad existen alrededor 27 especies según el DSMZ - Colección alemana de microorganismos y cultivos celulares (GmbH). Además, se estima que el género *Xanthomonas* abarca alrededor de 2961

conjuntos de genomas según la NCBI. Esto basado, en estudios que han demostrado la gran extensión y diversidad de genomas que existen entre especies de *Xanthomonas* spp. Este patógeno presenta una gran especificidad en relación con el hospedero. Puede afectar tanto el tejido del xilema, el cual forma parte del sistema vascular (patógeno vascular) o afectar los espacios intercelulares del mesófilo (patógeno mesofílico) del hospedero. En el caso de *Xanthomonas manihotis*, puede atacar ambos tipos de tejidos, el vascular y del mesófilo (Ryan et al. 2011). Algunos ejemplos claros de especificidad de tejido (Figura 1) son el de *X. oryzae* pv. *oryzae,* que ataca el tejido vascular y *X. oryzae* pv. *oryzicola* que afecta el tejido mesofílico en el cultivo de arroz, mientras que otras especies de *Xanthomonas* atacan tejido mesófilo en dicotiledóneas como es el caso de *X. citri* pv. *citri*, causante de la cancrósis bacteriana de los cítricos, y otras que atacan el tejido vascular como sucede con *X. campestris* pv. *campestris* causante de la podredumbre negra de las crucíferas. Además existen algunas especies que a pesar de pertenecer a este género no son fitopatógenas, pero aún no han sido estudiadas a profundidad (Timilsina et al. 2019; Ryan et al. 2011).

Figura 1

Especies y patovares de Xanthomonas muestran especificidad de tejido y hospedero



Nota. Tomado de Ryan *et al*. (2011)

En los últimos estudios comparativos del genoma de este género, se demostró que la especificidad en el tejido se debe a la plasticidad de su genoma. Por lo general este género presenta un solo cromosoma circular cuyo tamaño está en un rango de 4.8 Mb a 5.3 Mb, posee cantidades de GC mayores a 60% y todas las especies tienen un contenido de genes similar. Algunas especies han sufrido pérdidas debido a inversiones, translocaciones e inserciones o deleciones en su genoma. La especie *X. albilineans* ha demostrado que su genoma se ha reducido últimamente, ya que posee un genoma de 3.7 Mb. También *X. fastidiosa* se caracteriza por tener un genoma de ~ 2.7 Mb, relativamente pequeño en comparación con el genoma del resto de especies del género. Curiosamente, ambas especies han demostrado que afectan el xilema de su hospedero, lo que indica que el rango en el que se encuentra el genoma está relacionado con el tejido que afecta en el hospedero. Por otro lado, otras especies como *X. campestris* pv. *campestris* y *X. oryzae* pv. *oryzae* tienen la capacidad de colonizar el xilema, las superficies de semilla y habitar en tejido vegetal en el suelo (Ryan et al. 2011).

Este género ha sido objetivo de estudio debido al amplio rango de especies específicas que ataca, aunque en algunos casos, pueden atacar a una o varias especies de hospederos que se encuentran estrechamente relacionados. A través de estudios realizados se ha descubierto que a partir de la recombinación y la transferencia horizontal de genes, este género de bacterias ha podido incrementar la estructura y diversidad de la población de cepas patógenas en diferentes patosistemas (Timilsina et al. 2019).

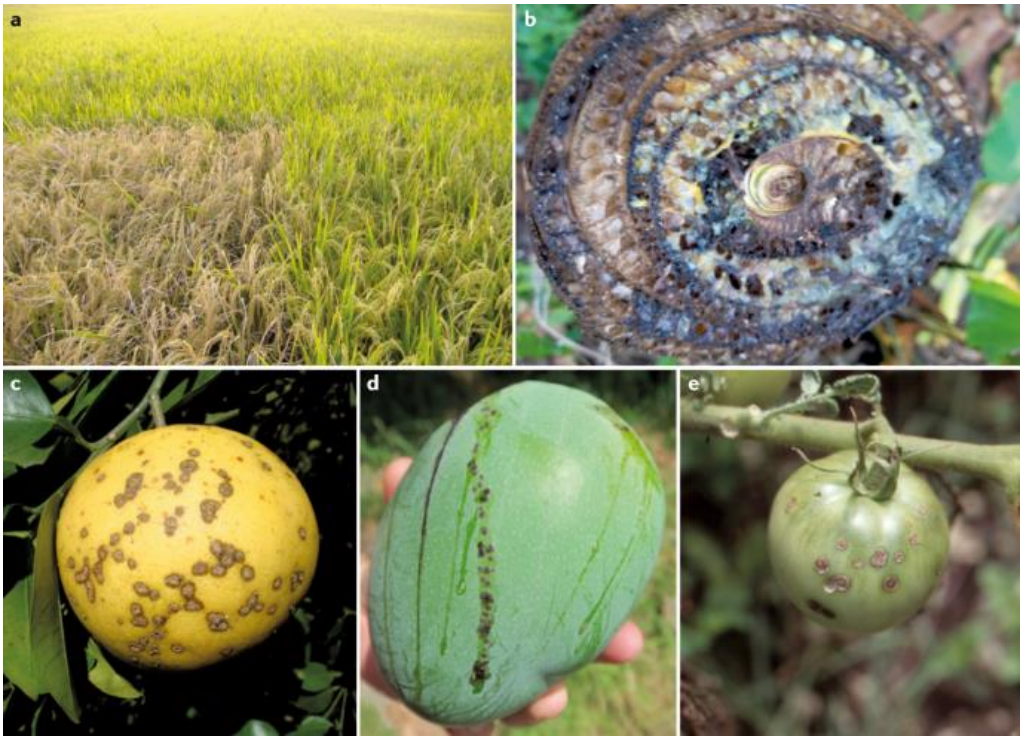
Síntomas en Cultivos

Las especies del género *Xanthomonas* causan una gran variedad de enfermedades en aproximadamente 392 cultivos en todo el mundo (Anexo A) (Leyns et al. 1984). *Xanthomonas* ataca principalmente a los siguientes cultivos: arroz, trigo, cítricos, tomate, chile, repollo, yuca, plátano y frijol (Ryan et al. 2011). En esta revisión de literatura se estudiarán las enfermedades causadas por

Xanthomonas en arroz, cítricos, tomate, chile y crucíferas, debido a su actual importancia y su alta pérdida de rendimiento en campo. En la figura 2 se observan los síntomas que produce *Xanthomonas* en algunos cultivos los cuales son: necrosis o tizones en las hojas (Figura 2, a), cancrosis en frutos (Figura 2, c), gomosis presente en los haces vasculares (Figura 2, b) o afecciones en el tejido parenquimático. Estos síntomas varían dependiendo del patovar y su mecanismo de infección, y pueden presentarse tanto en hojas, tallos y frutos (Figura 2, d y e) del hospedero. En la mayoría de las ocasiones, las pérdidas de rendimiento en campo se deben a las lesiones en frutos y vegetales provocadas por los diversos patovares de *Xanthomonas*, ya que afectan directamente su calidad y comercialización (Swings y Civerolo 1993).

Figura 2

Xanthomonas spp. en diferentes hospederos



Nota. a) *X. oryzae* causa tizón bacteriano en el arroz. Esta especie comprende dos patovares, *oryzae* y *oryzicola*. b) *X. campestris* pv. *musacearum* que causa la marchitez del plátano y provoca exudación. c) *X. citri* que causa pústulas en la superficie de los frutos y en las hojas. d) *X. axonopodis* pv. *mangiferaindicae* causa la enfermedad de la mancha negra del mango. e) Cuatro *Xanthomonas* spp. están

asociados con la enfermedad de las manchas bacterianas en tomate y pimiento: X. *cynarae* pv. *gardneri,* X. *euvesicatoria*, X. *perforans* y X. *vesicatoria***.** Tomado de Timilsina et al. (2019).

Mancha Bacteriana en Tomate y Chile

La mancha bacteriana es una enfermedad grave que afecta al cultivo de tomate y chile. Es causada por cuatro especies de *Xanthomonas* que han sido reclasificadas e identificadas en los últimos años, estas son: *X. euvesicatoria* (raza T1), *X.vesicatoria* (raza T2), *X. perforans* (raza T3 y T4), y *X.gardneri* (Jones et al. 2004). Se sabe que estas especies pueden atacar solo al tomate, solo al chile o a ambos, Sin embargo, actualmente se han reportado la presencia de las 4 especies tanto en chile como en tomate. Se encuentran distribuidas en Canadá, Sur América, África, Europa y Norte América, donde se han reportado varios casos de *X. gardneri* y *X. perforans* (raza T4) (Potnis et al. 2015). Esta enfermedad representa un problema principalmente en regiones tropicales y subtropicales.

Figura 3

Lesiones en hojas y frutos de tomate

A B

Nota. A. Manchas foliares en las hojas del tomate causadas por *X. perforans.* B. Lesiones en frutos de tomate. Tomado de Strayer-Scherer et al. (2020)

Las pérdidas de rendimiento en tomate alcanzan hasta un 66%, y esto puede deberse a la falta de control químico eficiente y cultivares resistentes comerciales (Sharma y Bhattarai 2019). De igual forma, la amplia variedad genética y la aparición de nuevas razas de este patógeno con nuevas adaptaciones que les permiten crecer a diferentes temperaturas y superar los genes de resistencia de

su hospedero, suponen un desafío al momento de establecer un método de control efectivo (Adhikari et al. 2020). Últimamente, también se ha reportado el uso de varias medidas sanitarias y de control químico, sin embargo su uso inadecuado ha generado resistencia en varias especies causantes de la mancha bacteriana lo han representado un desafío al momento de controlar la mancha bacteriana (Potnis et al. 2015). En la Figura 3, se muestran lesiones angulares oscuras en los tallos, hojas y frutos en el tomate. Inicialmente las lesiones son acuosas, y a veces se encuentran rodeadas de halos cloróticos. La mayoría de las lesiones no son mayores a un diámetro de 3 mm, en ocasiones estas lesiones se secan en la parte central y se caen, dando una apariencia de agujeros. Si las condiciones climáticas son propicias para su desarrollo, las manchas pueden crecer rápidamente y formar lesiones extensas. Lo más frecuente es que se presente marchitamiento en el margen de las hojas, en los hidátodos, debido a la alta humedad en el ambiente. En el fruto inicialmente presenta lesiones como ampollas ligeramente elevadas las cuales se vuelven costras de color oscuro con el pasar del tiempo, como se muestra en la Figura 3,B (Strayer-Scherer et al. 2020).

Figura 4

Síntomas de mancha bacteriana en chile

A B

Nota. A. Lesiones necróticas a marchitas en hojas. B. Lesiones con apariencia de costras en frutos. Tomado de Potnis et al. (2015)

En el chile provoca manchas necróticas en las hojas, tallos y frutos. Mientras que las manchas angulares en las hojas pueden ser de cualquier tamaño y forma como se muestra en la Figura 4, A. Las lesiones en el chile dulce son similares presentando manchas angulares inicialmente acuosas que con el paso del tiempo se secan y se vuelve de color oscuro. En la Figura 4, B las lesiones en los tallos y frutos son de forma circular y aproximadamente del mismo tamaño que las manchas en el tomate. Los pedúnculos y sépalos de ambos cultivos son particularmente susceptibles a la mancha bacteriana. Si las bacterias afectan los pedúnculos, esto puede causar deformaciones en el fruto, aborto de flores y de frutos jóvenes. Las lesiones de ambos cultivos pueden diferenciarse fácilmente de hongos fitopatógenos debido a la apariencia húmeda del biofilm que se forma en la parte abaxial de las hojas (Swings y Civerolo 1993).

Tizón Bacteriano y Raya Foliar Bacteriana en Arroz

La especie *Xanthomonas oryzae,* comprende dos patovares: *oryzae (Xoo) y oryzicola (Xoc),* que causan el tizón bacteriano y la raya foliar bacteriana, respectivamente, siendo *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, uno de los patógenos más importantes que afectan a este cultivo, de igual forma, es una de las enfermedades más antiguas reportadas por primera vez en Japón. Ambos patovares se encuentran distribuidos principalmente en el sudeste asiático y en África (Figura 5, a), aunque, también se encuentra en países latinoamericanos, El caribe, USA y Australia (Mansfield et al. 2012). *Xoo* y *Xoc* se caracterizan por infectar las semillas de sus hospederos y usarlas como su principal medio de dispersión. Aunque ambos patovares son muy parecidos a nivel de genotipo, difieren en el tejido que atacan y los síntomas que producen en el mismo hospedero (Büttner y Bonas 2010; Bogdanove et al. 2011).

El tizón bacteriano o bacterial leaf blight (BLB) (Figura 5, e) causado por *X. oryzae* pv. *oryzae (Xoo).* Según Mansfield et al. (2012) este patovar se encuentra en la posición 4 en el top de las 10 bacterias fitopatógenas más importantes en función de su importancia científica y económica. Se sabe

que el tizón bacteriano causa perdidas de cultivo hasta del 75% (Oliva et al. 2019) y que se desarrolla mejor en condiciones climáticas de lluvias y vientos fuertes, característicos de la época de monzones, muy comunes en el sudeste asiático y en ciertas partes de África (Figura 5, a). Debido a este fenómeno climático, ambas zonas son las más afectadas por este patógeno. Otro factor que determina la incidencia del tizón bacteriano es el manejo de plántulas durante el trasplante, ya que si no se realiza de la manera adecuada se producirán heridas que serán las principales vías de acceso de patógenos y las responsables de causar infecciones en plántulas de arroz generando pérdidas económicas y bajo rendimiento (Ou 1985).

Figura 5

Distribución Geográfica y síntomas de Tizón bacteriano (BLB) y raya foliar bacteriana (BLS)

Nota. a) Mapa mundial, las regiones que están resaltadas es donde prevalece BLB y BLS. También ha sido reportada es Sudamérica. BLB fue descubierta en Fukuoka, Japón (estrella blanca) y BLS fue descubierta en Filipinas (estrella amarrilla). En 1918. BLB se distribuye en Zona templadas y tropicales, pero BLS prevalece principalmente en zonas tropicales. b) Parcela de arroz severamente afectada por BLB. c) Plantas

de arroz en fase madura con síntomas de BLB. d) BLB avanzado. e) Acercamiento de los síntomas de BLB. f) Síndrome de la hoja de color amarillo pálido causado por BLB. g) Tizón de plántulas o síndrome de 'kresek' causado por BLB. h) BLS. i) Acercamiento de los síntomas de BLS. Las gotas de exudado crean la apariencia punteada. Tomado de Niño-Liu et al. (2006)

Xoo puede diseminarse por semillas infectadas, rastrojos con la enfermedad o por el agua contaminada con esta bacteria en los arrozales. Es un patógeno persistente que puede sobrevivir en el suelo de 1 a 3 meses, dependiendo de la cantidad de nutrientes y las condiciones del suelo (Ou 1985).

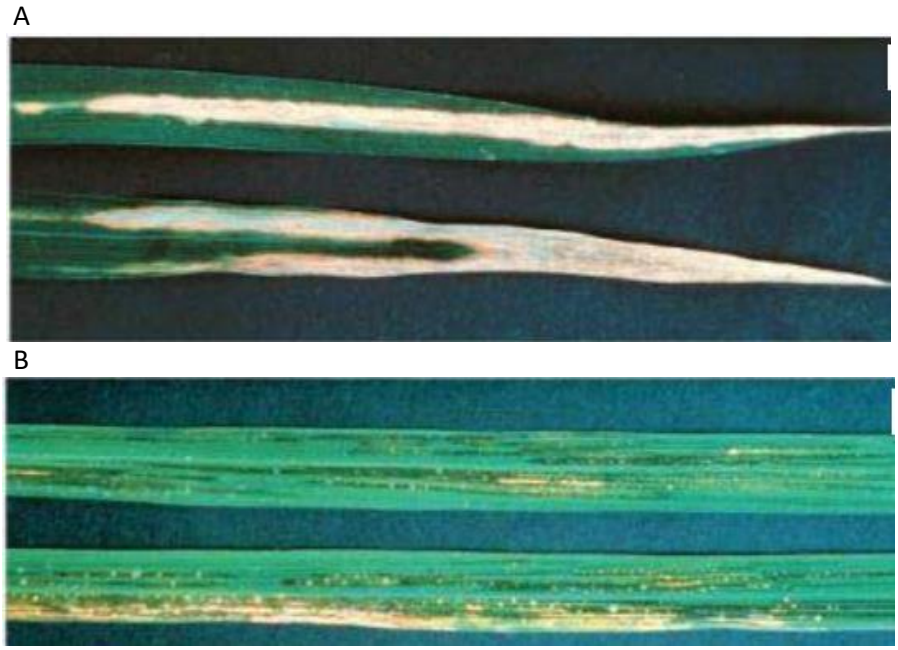
El proceso de infección comienza cuando *Xoo* ingresa por los hidátodos, luego se multiplica en la cavidad debajo de los poros llamada epítema, se mueve al xilema, y finalmente produce una infección sistémica (Swings y Civerolo 1993). La enfermedad de BLB posee dos fases diferentes: la fase del tizón foliar (Figura 5, f) y la fase kresek (Figura 5, g). La fase kresek se presenta 2 a 4 semanas cuando está en su etapa de plántula, síntomas de marchitamiento en todas las hojas de la planta, se presenta un color amarillo pálido, raquitismo y raíces blandas que por lo general provoca que la planta se desprenda del suelo y resulte en una perdida parcial o total de la producción, motivo por el que es considerada la fase más destructiva de todas (Gnanamanickam 2009).

Las condiciones climáticas que favorecen el crecimiento de tizón bacteriano son: temperaturas entre 28 - 34°C y una alta humedad relativa. Debido a que esta fase se presenta en etapas tempranas de la planta, se debe tener precaución al momento del trasplante y evitar que se produzcan lesiones en los bordes de las hojas (Chaudhary et al. 2003). En los granos se presentas lesiones acuosas en las glumas. Después de la floración, esta fase no produce daños significativos y no provoca pérdidas de rendimiento en el grano, ocurre todo lo contrario cuando se presenta en estado de panícula. La pérdida del rendimiento del grano depende de la etapa del cultivo en la que ataque, el grado de susceptibilidad del cultivo, y principalmente las condiciones climáticas que se presenten (Jeger et al. 2018). En el sudeste asiático se presentaron perdidas de cultivos del 10 al 20% en

condiciones climáticas normales pero en condiciones favorables, como en la época de monzones puede alcanzar hasta un 50% (Ou 1985).

Figura 6

Comparación de patovares de Xanthomonas oryzae



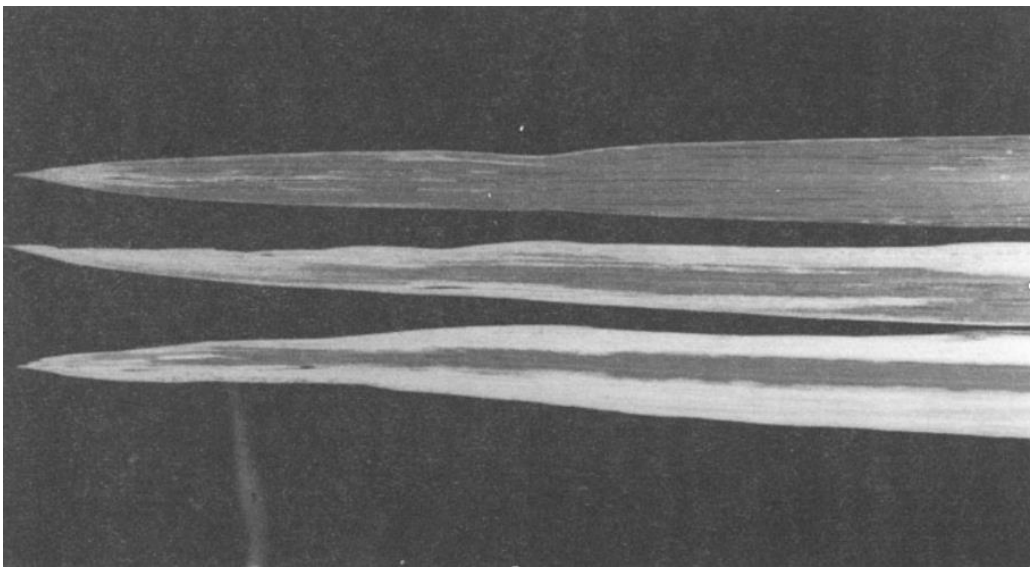
Nota. A. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*: lesiones en el borde o sobre la superficie de las hojas, que se extienden hacia la base. B. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*: rayas sobre la superficie de la hoja, delimitadas por las nervaduras. Tomado de Niño-Liu et al. (2006)

El tizón de la hoja presenta síntomas como rayas acuosas de color verde grisáceo o pequeñas lesiones en los bordes de las hojas, que al desarrollarse más la enfermedad se unen y forman franjas grandes en el borde de la hoja, mismas que pueden cubrir toda la lámina foliar e incluso hasta la vaina de la hoja. La infección también puede afectar a los granos si el grado de infección es elevado y provocar manchas acuosas decoloradas en las glumas. En algunas ocasiones, las hojas jóvenes se tornan de un color amarillo pálido a blanco, al comienzo, pueden aparecer franjas verdes pálido-amarillas. Este síntoma está relacionado con la falta de traslocación de nutrientes provocado por bacterias que bloquean los vasos del xilema (Chaudhary et al. 2003). Uno de los mecanismos de virulencia más importantes de *Xoo*, son los efectores TAL que son secretados por el sistema de

secreción tipo III (T3SS). A su vez, este sistema de secreción posee pilis capaces de ingresar a la célula de su hospedero en busca genes SWEET del arroz, lo que permite que se presenten los síntomas del tizón bacteriano (Timilsina et al. 2019).

Figura 7

X. oryzae pv. oryzicola (BLS): síntomas en hojas de en diferentes estaciones



Nota. Tomado de Swings y Civerolo (1993)

X. *oryzae* pv. *orizicola* o *Xoc* causante de la raya foliar bacteriana o bacterial leaf steak (BLS) (Figura 5, i) provoca pérdidas de rendimiento que oscilan entre 15 o un 20% (Ou 1985). La infección tiene su inicio en lo estomas o heridas en las hojas, por donde ingresa este patógeno, para después multiplicarse en el parénquima donde se presentarán rayas foliares lineales, mismas que pueden tomar una apariencia traslucida (Swings y Civerolo 1993). A partir de aquí, *Xoc* se expande por todo su hospedero. Se diferencia de *Xoo* por el modo de infección y síntomas que presenta como se puede observar en la Figura 6, mientras *Xoo* se moviliza por los vasos del xilema, *Xoc* permanece debajo de la epidermis donde se propaga a lo largo de toda la planta.

Las lesiones de ambos patovares pueden confundirse con facilidad cuando la infección se encuentra en estaciones avanzadas o son muy severas (Figura 7). Además, puede aparecer en la

superficie y en el envés de las hojas un exudado, que, al secarse, deja pequeñas manchas amarillas o anaranjadas. *Xoc* se propaga principalmente por contacto con otras plantas alrededor, por lluvia, viento y animales (Jeger et al. 2018). Una cualidad que comparten estos patovares es que ambos patovares pueden ser aislados de semillas (Swings y Civerolo 1993).

Podredumbre Negra en Crucíferas

Xanthomonas campestris pv. *campestris* causa tizón bacteriano, marchitez, pudrición en el sistema vascular en varios cultivos como: coliflor, repollo, brócoli, coles de Bruselas, kale, lavanda, mostaza, rábano, colinabo, girasol, nabo, arabidopsis y esparrago (Horst 2001).

La podredumbre negra es una de las enfermedades más importantes en las crucíferas. Está distribuida por todo el mundo, debido a la capacidad natural que tiene de trasmitirse por medio de semillas. Solo en EE. UU. ha representado pérdidas del 40 al 50 % de la cosecha total (Horst 2001). Puede llegar a ser muy destructiva en climas tropicales, subtropicales y otras áreas con altas temperatura y humedad, aunque últimamente está enfermedad ha evolucionado y ha podido adaptarse a regiones frías (Koike et al. 2009).

Cuando la infección ocurre en etapas tempranas del cultivo, las plantas suelen morir o tienden a volverse pequeñas con un crecimiento unilateral, mientras que la infección tardía produce tallos alargados y defoliados con solo una hoja en la parte superior. Las pérdidas más graves se producen en sitios de producción de plántulas donde las condiciones son ideales para la infección, propagación y muerte de las plántulas. Las plantas infectadas al final de la temporada se ven menos afectadas que las plantas infectadas en una etapa temprana de crecimiento. La principal vía de acceso de *X. campestris* pv. *campestris* a su hospedero son los hidátodos que son aperturas naturales que se encuentran en el borde de las hojas, que a diferencia de los estomas no pueden regular su apertura, de tal forma que permiten el proceso de gutación (pequeñas gotas en el borde de las hojas) de la planta que ocurre generalmente en las noches como consecuencia a la alta presión en las raíces

(Figura 8, A). El síntoma inicial de la podredumbre de las crucíferas es la presencia de pequeñas manchas foliares empapadas de agua. Después estas se vuelven motas de color café rodeadas de un halo clorótico. Otro síntoma característico son las nervaduras ennegrecidas y las lesiones angulares o en forma de V que se presentan normalmente en el borde de las hojas como se muestra en la Figura 8, C. Al inicio de la infección, el hospedero no presenta síntomas externos y las hojas o inflorescencias tienen una apariencia dura e inolora. A medida que avanza la infección, el hospedero empieza a presentar pudriciones suaves y olorosas. En la Figura 8, B se puede apreciar un corte transversal de la cabeza central del repollo donde se distingue un anillo negro, que es el resultado de la invasión vascular, incluso, en algunas ocasiones se puede visualizar un exudado amarillo.

Figura 8

Síntomas de Xanthomonas campestris pv. campestris

A

B

C

Nota. A. Los hidátodos en el margen de la hoja de la col exudan líquido de evisceración y sirven como puntos de entrada para *Xcc.* B. *Xcc* es un patógeno vascular y puede extenderse a la cabeza del repollo y provocar que el repollo no sea comercializable y propenso a infecciones secundarias. Tomado de Dubrow y Bogdanove (2021). C. Lesión en forma de V. Tomado de An et al. (2020)

La diseminación primaria ocurre cuando la bacteria se encuentra en las semillas o en desechos en el suelo, e ingresa por heridas, lesiones en raíces o por aperturas naturales como hidátodos o estomas. Del mismo modo, se pueden diseminar infectando malezas, rastrojo u hospederos alternos de la misma familia, mientras que el agua de lluvia, viento, riego por aspersión que provienen de fuentes de inóculo a plantas susceptibles, son mecanismos de dispersión secundarios. Los síntomas se presentan una vez que el inoculo haya crecido lo suficiente en la hoja y las condiciones climáticas hayan sido las ideales. Estos varían dependiendo del hospedero, la edad del cultivo, distintas cepas del patógeno, y las condiciones ambientales (Koike et al. 2009; Horst 2001).

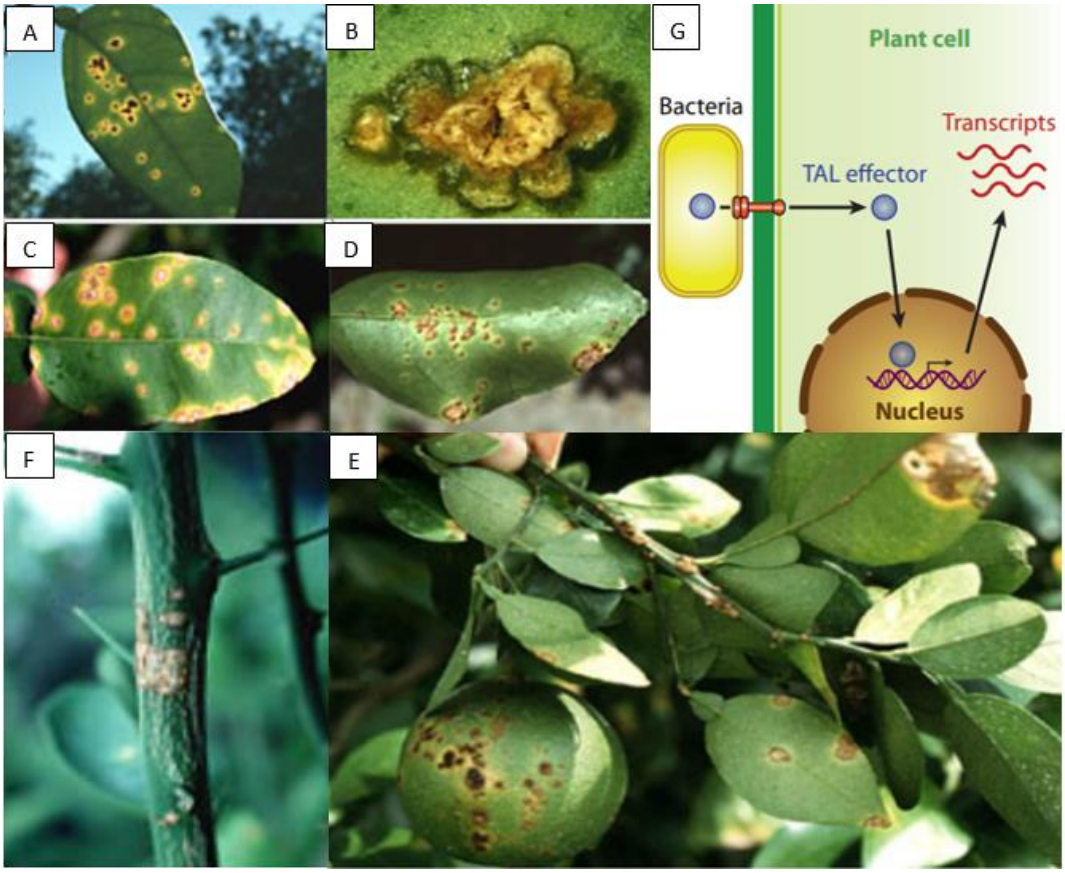
Cancro de los Cítricos

Xanthomonas citri pv. *citri* es el agente causal de esta enfermedad, la cual es una de las más importantes ya que afecta a casi todos los cítricos de interés comercial. Entre los cultivos más susceptible se encuentran la toronja, lima Key y limón, mientras que la naranja dulce y mandarina clementinas o híbridas presentan susceptibilidad moderada y el kumquat o naranja china y calamondina son resistentes (Ference et al. 2018). Se encuentra distribuido en todo el mundo, sin embargo, aún no se encuentra en Europa ni en ningún país de la zona mediterránea. Los países en los que se encuentra el cancro de los cítricos son: América del Sur, Islas Vírgenes Británicas, África, Oriente Medio, India, Asia y las islas del Pacífico Sur. Los principales lugares donde tiene mayor incidencia son EE. UU., Argentina, Brasil, Bolivia, Uruguay, Senegal, Mali, Burkina Faso, Tanzania, Irán, Arabia Saudita, Yemen y Bangladesh. Extendido por todas partes Paraguay, Comoras, China, Japón, Malasia y Vietnam. En Sudáfrica, Australia y Nueva Zelanda ya ha sido erradicado. Es considerada una enfermedad endémica en India, Japón y varios países asiáticos (Marin et al. 2019).

Esta enfermedad es considerada una de las más importantes debido a que afecta a la mayoría de las variedades de cítricos (Figura 9). El manchado de frutos, la defoliación, caída prematura, así como la disminución del crecimiento y vigor de los árboles, son los principales síntomas que reducen la producción y calidad de los frutos. De igual manera, provocan una disminución en el rendimiento, un aumento los costos de producción, y tienen una limitación en el mercado debido a la política de exclusión en zonas libre de cancro de los cítricos, puesto que, es considerada una enfermedad cuarentenaria especialmente en la Unión Europea (Cubero et al. 2015).

Figura 9

Síntomas del cancro de los cítricos en hojas, tallos y frutos/ Proteínas efectoras translocadas a través de un sistema de secreción de tipo III (rojo) en las células vegetales.



Nota. Lesiones provocadas por *X. citri* pv. *citri*. A y B. parte abaxial de la hoja. C y D parte adaxial de la hoja. E. pústulas en el fruto y hojas. F. en el tallo. Tomado de Gottwald et al. (2002). G. Los efectores de tipo activador de transcripción (TAL) se localizan en el núcleo de la célula vegetal, donde inducen la expresión de genes específicos. Tomado de Boch y Bonas (2010)

El cancro de los cítricos se clasifica en tres tipos: A, B y C. El tipo A causado por X. *citri* pv. *citri,* se originó en Asia, posiblemente en el sur de China, Indonesia o India. Produce lesiones de cancro afectando a la mayoría de las especies y cultivares de cítricos comerciales. Es el biotipo más extendido y el más agresivo, causando el mayor daño económico (Patané et al. 2019).

Asimismo se han descrito otros subtipos como el A, A*, y A^w que han sido diferenciados en base a la especificidad del hospedero y la respuesta de defensa activada por el hospedero. El patotipo A infecta un amplio rango de hospederos de las especies de cítricos, mientras que los patotipos A* and A^w tienen un rango de hospederos restringido a la lima Key, alemow o limón macrofila, lima Tahití y limonero, donde A* no produce síntomas en la toronja y A^w provoca una respuesta de hipersensibilidad en la toronja (Jalan et al. 2013); (Sun et al. 2004). El biotipo B o falso cancro se registró en Argentina en 1923, y en la actualidad solo se encuentra en Argentina, Paraguay y Uruguay (Civerolo 1984), mientras que el biotipo C solo se encuentra en Brasil. Ambos biotipos son causados por *X. citri* pv. *aurantifolii* siendo considerados menos agresivos que del tipo A (Patané et al. 2019).

La época de tormentas tropicales promueve el desarrollo de esta enfermedad ya que provee las condiciones favorables para su desarrollo. Cuando la infección es muy severa, se produce muerte regresiva de las ramas, defoliación, y caída prematura de frutos. Los síntomas que se presentan en las hojas, tallos y frutos (Figura 9). Las lesiones del cancro de los cítricos en las hojas, al principio de la infección se presentan como puntos pequeños que con el paso del tiempo alcanzan un tamaño de 2 a 10 mm de diámetro, sin embargo, el tamaño de la lesión final siempre varía dependiendo de la edad del tejido huésped y del hospedero. Se pueden visualizar las lesiones a partir del día 7 a 10 después de la infección. Por lo general, se desarrollan en la parte inferior de las hojas y después aparecen en la superficie. En la parte inferior de las hojas las lesiones son elevadas, con forma de 'pustulosas', y presentan un mayor tamaño que las pústulas de superficie de la hoja (Figura 9 A, B y C, D). Las pústulas eventualmente se vuelven corchosas, presentan un margen elevado y un centro hundido. Las lesiones se caracterizan principalmente por tener un halo clorótico alrededor de las lesiones. Una manera fácil

de identificar esta enfermedad es identificando el margen acuoso que rodea el tejido necrótico. El tamaño de las lesiones en frutos y tallos pueden tener 1 mm de profundidad y son similares a las de las hojas Las lesiones en los frutos varían en su tamaño a causa de que la cáscara es susceptible por más tiempo que las hojas, por lo que puede presentarse más de un ciclo de infección. La infección también provoca una caída de frutos de forma prematura. En el tallo las lesiones tienden a permanecer más tiempo, por lo que favorece la supervivencia a largo plazo de este patógeno (Figura 9, E y F) (Gottwald et al. 2002).

Un factor que favorece la infección o ataque de *X. citri* subsp. *citri* es la presencia de minador de la hoja de los cítricos *Phyllocnistis citrella*, el minador forma galerías de alimentación en hojas tiernas y otros tejidos, desgastando la cutícula de la hoja (Achor et al. 1997). Es considerado un facilitador de las infecciones bacterianas, ya que, sus actividades de alimentación con las que provoca lesiones en la cutícula dejan expuesto el mesófilo a la entrada de patógenos ya sea por salpicaduras de agua de lluvia o por el viento. De igual forma, las lesiones provocadas por este insecto tardan más en curarse que heridas causadas por daño mecánico, por lo que es una vía de acceso por un periodo de tiempo más prolongado, y por último, las larvas de minadores pueden contaminarse con bacterias y transportarse a través de las galerías de alimentación (Junior et al. 2006).

Se han reportado 120 genes relacionados con la patogenicidad en X. *citri* pv. *citri* y se han identificado 18 proteínas efectoras (hpaA, xopAD, xopAK, xopAP, xopE1, xopE2, xopF1, xopF2, xopK, xopL, xopM, xopN, xopQ, xopR, xopS, xopV, xopX, and xopZ1) que favorecen la virulencia de este patovar. Aproximadamente el 7% de los genes están involucrados en patogenicidad, virulencia y adaptación ecológica (Alegria et al. 2005). Los sistemas de secreción (Figura 12) que están presentes en este patovar son el tipo III (T3SS) y el tipo IV (T4SS) (Alegria et al. 2005), cuya función es ayudar a que el patógeno se adhiera y pueda translocar proteínas efectoras y/o ADN a las células de sus hospederos (Figura 9, G). Además de translocar proteínas efectoras, también existen efectores de tipo

activador de la transcripción, (TALE), mismos que son de las familias de efectores más grande que se encuentran principalmente en *Xanthomona*s spp. (Jacques et al. 2016).

Como se observa en la Figura 9, G, los efectores TAL se introducen en su hospedero, específicamente en el citoplasma y luego al núcleo, a través de pilis o sistemas de secreción como el tipo III, permitiéndoles modular la respuesta de la célula huésped, ya que, actúan como activador transcripcional, es decir, reconoce promotores específicos del gen huésped, y activa ciertos genes que le facilitan la infección de su hospedero. Están diseñadas para buscar y cortar secuencias específicas de ADN en el genoma de su hospedero. Estos factores de virulencia son fundamentales, ya que brindan a la bacteria mejor adaptabilidad o plasticidad para atacar a sus hospederos (Boch y Bonas 2010). Pero no todas las especies y patovares poseen la misma cantidad de genes que codifican los efectores TAL, por ejemplo, los TALE no están presentes en todas las cepas de *X. gardneri, X. campestris, X. euvesicatoria* y *X. perforans*, al contrario de *X. oryzae* pv. *oryzicola* BLS256, ya que, posee 27 genes que codifican los efectores TAL, siendo la cepa que más conserva estos genes (Timilsina et al. 2019).

Ciclo del Patógeno

Para entender la presencia de la enfermedad en un determinado cultivo, es necesario comprender el triángulo de la enfermedad, el cual consta de 3 factores que afectan la tasa de incremento de la enfermedad en un hospedero, estos son: un patógeno lo suficientemente virulento, un ambiente adecuado para su desarrollo y un hospedero que sea susceptible, en el mismo periodo de tiempo (Castaño-Zapata 1994). Además, debido a que los patógenos y la plantas tienen su propio ciclo de vida, es fundamental que ambos se sincronicen para el desarrollo de la enfermedad (Moral 2020).

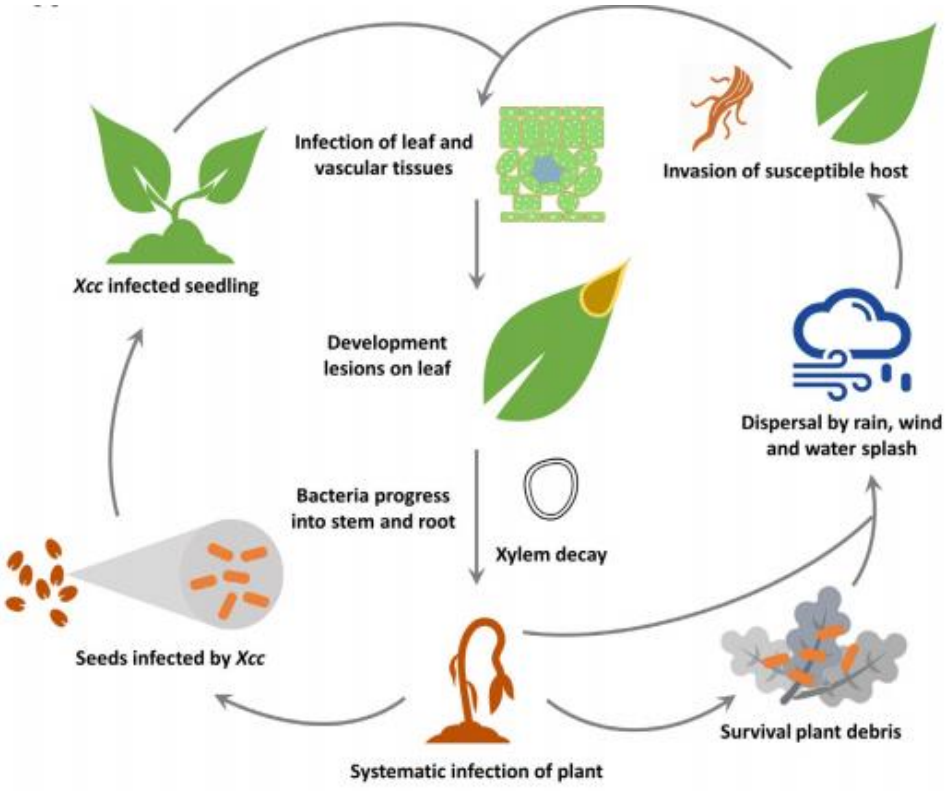
Como ejemplo se usará el ciclo del patógeno de *X. campestris* pv. *campestris* (Figura 10), el cual se detallará a continuación la etapa de inoculación, penetración, infección, invasión o colonización, crecimiento y reproducción, y diseminación. Cabe mencionar que todos los ciclos del

patógeno son diferentes ya que cada patovar posee diferentes mecanismos de virulencia y de igual forma, cada hospedero posee su propio mecanismo de resistencia.

Cuando las condiciones ambientales no son favorables, las *Xanthomonas* que se encuentra en campo tienen la capacidad de sobrevivir en el suelo 2 años si se encuentra en residuos vegetales, o 6 meses si no poseen una fuente vegetal que le sirva de inóculo. Al estar en estado de latencia en el suelo o en residuos vegetales, puede diseminarse por medio de: actividades culturales, herramientas, el agua de riego o de lluvia, el viento, perforaciones de insectos, algunos mamíferos y el hombre. La principal ruta de infección y diseminación de este patógeno es por medio de las semillas de sus hospederos, que al momento de germinar, infectaran al epicótilo y los cotiledones, iniciando un nuevo ciclo de infección. (An et al. 2020; Castaño-Zapata 1994).

Figura 10

Modelo que ilustra el ciclo de vida del patógeno Xanthomonas campestris pv. campestris (Xcc) causante de la pudrición negra en crucíferas.



Nota. Tomado de An et al. (2020)

Cuando las condiciones climáticas son óptimas y presentan altas temperaturas (25 a 30 °C) y alta humedad relativa, el patógeno empieza el nuevo ciclo de infección. Existen dos etapas en la que el patógeno puede infectar o penetrar a su hospedero, la etapa epífita y etapa endofítica (Timilsina et al. 2019). Cabe mencionar que el número de ciclos de enfermedad por estación de muchas de estas enfermedades se relaciona directamente con el número de precipitaciones por estación, y en particular, con precipitaciones que son lo suficientemente extensas como para permitir la producción de nuevas infecciones (Agrios 2005). Al principio, esta bacteria comienza su crecimiento de forma epífita, es decir, en la superficie de la hoja. Posteriormente ingresa al hospedero por medio de heridas o por estructuras naturales como hidátodos para luego movilizarse hacia su sistema vascular, o también puede ingresar por sus estomas y colonizar el parénquima mesófilo (An et al. 2020).

Para mejorar la comprensión del proceso de infección de *Xanthomonas* a sus hospederos, es importante entender que existen genes de avirulencia o virulencia, los mismos que desencadenaran un mecanismo de defensa en un hospedero o provocaran patogenicidad si este es susceptible. Los genes de avirulencia (*avr*) son uno de los responsables de generar una reacción en hospederos que posean genes de resistencia (*R*), esta reacción se denomina respuesta de hipersensibilidad (*HR*), la cual desencadena una muerte celular localizada que se considera como un mecanismo de defensa que la planta utiliza para impedir que la enfermedad se disperse. En el caso de *Xanthomonas* spp, la respuesta de hipersensibilidad generalmente se debe a que plantas que poseen genes de resistencia afines (*R*) reconocen proteínas efectoras que son traslocadas por el sistema de secreción tipo III (T3SS). Aunque los genes *avr* no son suficientes para producir la *HR*, son factores imprescindibles que aumentan la capacidad parasitaria del patógeno, ya que estos genes incrementan la fuga iónica y de esta manera la disponibilidad de nutrientes de un hospedero susceptible (Büttner y Bonas 2010; Swings y Civerolo 1993).

Además, es importante mencionar que *Xanthomonas* spp. posee mecanismos de virulencia, mismos que ayudaran a que la infección ocurra de forma exitosa. Los mecanismos de virulencia que

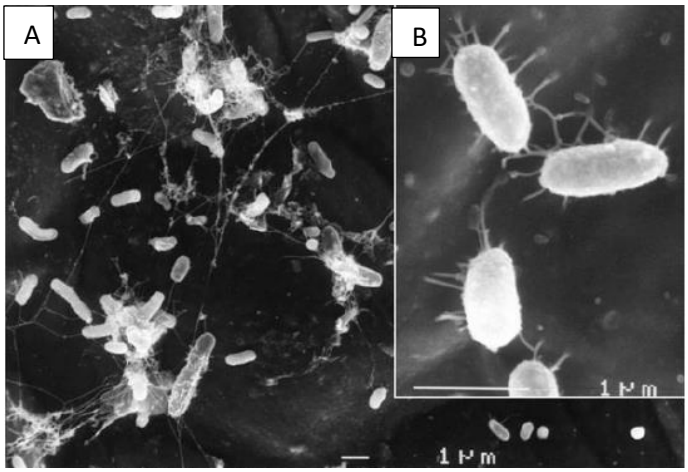
se presentan en la mayoría de *Xanthomonas* spp*.* son las estructuras adhesivas como: lipopolisacáridos (LPS), exopolisacáridos (EPS), pilis y adhesinas (fimbriales y no fimbriales). Entre los mecanismos que se destacan los sistemas de secreción de proteínas, principalmente T3SS, T2SS, T6SS (Mhedbi-Hajri et al. 2011). Pero no todas las especies o patovares tienen los mismos mecanismos de virulencia, debido a que los genes *avr* son altamente mutables, lo que convierte a todas las especies, en inestables genéticamente. Por ejemplo, en algunas se presentará solo uno o varios sistemas de secreción de proteínas, y en el caso de los sistemas de secreción, existe uno que se encuentra en todas las *Xanthomonas* spp, y es el sistema de secreción *xps* tipo II (T2SS) (Swings y Civerolo 1993; Timilsina et al. 2019).

Además, la formación de biopelículas también favorece a su supervivencia en ambientes desfavorables. Esto se puede evidenciar en el caso de X. *citri* pv. *citri*, que posee un mutante del gen *Gum* B, que provoca deficiencia en la producción de EPS y en la formación de biopelículas, también demostró tener un crecimiento y supervivencia menores de forma epífita y una reducción en su virulencia. Los pilis son apéndices formadas por proteínas filamentosas en la superficie celular (Figura 11, B). Existen varios tipos de pili como los pili chaperona / usher (CU), pili tipo IV y pili asociados con varios sistemas de secreción de proteínas (Büttner y Bonas 2010).

También se menciona las adhesinas que son las que le ayudan a este patógeno a reconocer a su hospedero y a adherirse al mismo. Las adhesinas pueden ser fimbriales y no fimbriales. Las no fimbriales contienen proteínas filamentosas como hemaglutininas (*FhaB*) así como otras proteínas (*XadA* y *XadB*) relacionadas con la adhesina autotransportadora YapH de *Yersinia spp*. Las adhesinas fimbriales incluyen al pili tipo IV y proteínas relacionadas como la secretina PilQ. Ambos tipos de adhesinas se complementan de tal forma que las proteínas no fimbriales se encargan de la adhesión y la entrada en el hospedero mientras que las fimbriales se encargarán de la multiplicación y propagación del patógeno una vez colonizado (Das et al. 2009; Mhedbi-Hajri et al. 2011).

Figura 11

Micrografía electrónica de barrido en la superficie de hoja de frijol colonizada por X. axonopodis pv. phaseoli



Nota. Tomado de Mhedbi-Hajri et al. (2011)

A veces para asegurar la infección de su hospedero los patógenos utilizan varios sistemas de secreción. Pueden variar en su funcionamiento pero tienen el mismo objetivo que es infectar a su hospedero. Este patógeno se caracteriza por tener diferentes sistemas de secreción de proteínas, que se activan al estar en contacto con la parte superficial de las hojas de su hospedero. Estos sistemas, como lo indica su nombre, segregan proteínas llamadas proteínas efectoras, que son traslocadas al medio extracelular. Además, tiene la capacidad de inyectar ADN al citoplasma del hospedero (Büttner y Bonas 2010). En el Cuadro 1 y en la Figura 12 se detallan estos sistemas a continuación, donde se describe su tipo de transporte a través de la membrana, características y las proteínas que son secretadas por cada sistema.

Cuadro 1

Sistemas de secreción de proteínas de bacterias Gramnegativas

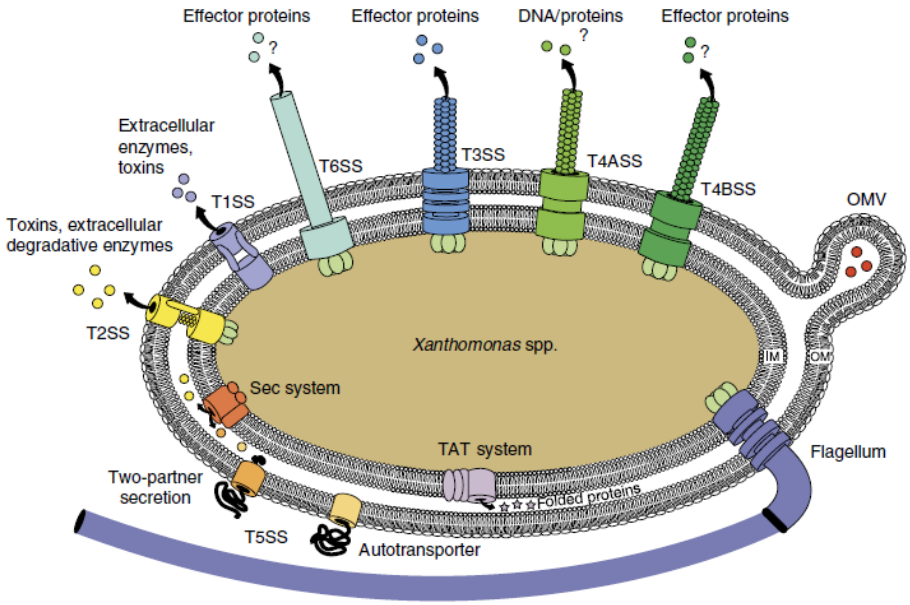
Sistemas de secreción de proteínas	Descripción	Transporte a través de MI	Proteínas secretadas[a]	Referencia
Sistema T1S	Transportador ABC en MI, proteína de fusión de membrana periplásmica, canal de ME	Sec-independiente	Toxinas, enzimas degradativas	Gerlach & Hensel - 2007
Sistema T2S	Al menos 11 componentes en MI, periplasma y ME	Mediada por el sistema Sec o TAT[b]	Toxinas, enzimas degradativas	Sandkvist (2001)
Sistema T3S	Evolutivo relacionado con el flagelo bacteriano; al menos 20 componentes en la MI, periplasma, MO; pilus extracelular	Sec-independiente	Componentes extracelulares del sistema T4S, proteínas efectoras	Ghosh (2004)
Sistema T4S[c]	Evolutivo relacionado con conjugación bacteriana; abarca ambas membranas bacterianas; pilus extracelular	Sec-independiente	Componentes extracelulares del sistema T4S; ADN y/o proteínas	Juhas et al. (2008)
Sistema T5S	Canal de proteínas en la ME; auto transportadores y sistemas de secreción formado por dos componentes.	Sec-dependiente	Por ejemplo, adhesinas	Gerlach & Hensel - 2007
Sistema T6S	Sistema de secreción multicomponente, evolutivamente relacionado con complejos proteicos asociados al flagelo	Presuntamente Sec-independiente	Hcp y VgrG, que contiene el dominio de reticulación de actina C-terminal	Cascales (2008), Leiman et al. (2009), Wu et al. (2008)

Nota. [a]Los sistemas T3S, T4S y T6S trasladan ADN y / o proteínas a células eucariotas. [b]TAT, translocación gemelar de arginina. El sistema TAT transporta proteínas plegadas con una señal de secreción N-terminal específica que consta de dos residuos de arginina. [c]De acuerdo con su organización genética y relaciones evolutivas, los sistemas T4S se clasificaron en sistemas T4AS que se asemejan al sistema VirB / VirD4 de *Agrobacterium tumefaciens*, y sistemas T4BS que se encuentran en bacterias patógenas animales intracelulares. ABC, transportadores dependientes de ATP o transportadores ABC; MI, membrana interna; ME, membrana externa. Adaptado de Büttner y Bonas (2010)

Finalmente, cuando el patógeno a ingresado a su hospedero, este se moviliza por el sistema vascular o el mesofílico, afectando hojas, tallos y frutos de su hospedero. Lo síntomas pueden variar dependiendo del hospedero, pero generalmente presentan necrosis en forma circular rodeado de un halo clorótico. Las lesiones también pueden extenderse a lo largo de los márgenes de la hoja, cuando la infección sucede por lo hidátodos (Strayer-Scherer et al. 2020).

Figura 12

Representación esquemática de los sistemas de secreción de Xanthomonas spp.



Nota. Tomado de Büttner y Bonas (2010)

Control

Xanthomonas spp. representa uno de los patógenos más importantes que afectan el rendimiento de varios cultivos de alto interés comercial en todo el mundo. Por esta razón se han desarrollado diversos métodos de control con el objetivo de reducir las pérdidas económicas y los daños, especialmente en la parte comercializable del cultivo. Para el control de *Xanthomonas* spp. se han desarrollado diversos métodos que varían dependiendo de la especie, ya que, cada una posee una amplia variedad de genes de virulencia que provocan diferentes síntomas. Un factor importante

que limita el desarrollo de mecanismos de resistencia en plantas frente a enfermedades es la alta incidencia de mutaciones genéticas de *Xanthomonas* spp. (Chukwu et al. 2019). En general, el control de las infecciones causadas por las diversas especies de *Xanthomonas* se realiza mediante el uso de variedades menos susceptibles, uso de barreras vivas, desinfección de equipos y herramientas, la adición de químicos a base de cobre y la erradicación de plantas contaminadas (Liu et al. 2016).

El control de la mancha bacteriana ha sido uno de los retos más difíciles para los mejoradores genéticos, puesto que requiere un arduo trabajo desarrollar una variedad que tenga resistencia duradera cuando, debido a la constante evolución y adaptación, aparecen nuevas razas que superan los mecanismos de defensa de las plantas. Además, la variabilidad genética y la alta posibilidad de generar una correlación negativa entre la calidad del fruto y la resistencia a la enfermedad son factores que limitan este proceso (Adhikari et al. 2020).

Se han usado herramientas de edición genética como TALEN (Transcription Activator Like Effector Nucleases) y ZFNs (Zinc Finger Nucleases). Estas técnicas de edición genómica trabajan con nucleasas programables que cortan la doble hebra del ADN en una ubicación específica que facilitan las modificaciones del gen o genoma. El alto costo y la complejidad del diseño de nucleasas convierten a esta técnica en una poco eficiente por lo que no lograron adaptarse a este campo de investigación. Con el descubrimiento de la técnica de edición genética mediante el sistema CRISPR/ Cas9, las técnicas de TALEN y ZFN ya no son tan utilizadas. CRISPR/ Cas9 es un sistema inmunológico que emplean las bacterias para defenderse del ataque de virus. Esta técnica es conocida como tijeras moleculares que cortan y editan, o corrigen el ADN asociado a una enfermedad. Está compuesto por una endonucleasa Cas9 que está asociada a una enzima (CRISPR) que generalmente proviene de *Streptococcus pyogenes*, y un ARN guía único (ARNsg) el cual dirigirá el complejo CRISPR/ Cas9 hacia la secuencia específica de ácidos nucleicos. La especificidad del ARNg depende de la secuencia que se use como guía y el acoplamiento a la proteína, por lo que es más factible diseñar el ARN guía que nucleasas como sucede con TALE y ZFN (Sharma y Bhattarai 2019).

El gen *Bs2* ha demostrado ser eficaz controlando la mancha bacteriana, debido a que confiere resistencia a todas las cepas de X*anthomonas* que atacan al tomate, y demostró un aumento del rendimiento a comparación de líneas no transformadas en Florida (Tai et al. 1999). Sin embargo, el enfoque de edición genética ha cambiado, y ahora está dirigido a la combinación de *Bs2* con varios genes para asegurar una resistencia duradera a la mancha bacteriana. El principal motivo de este cambio se debe a que se ha observado una mutación en el efector *avrBs2* del patógeno que, en el futuro, podría superar la resistencia conferida por el gen *Bs2* (Dangl et al. 2013). Además, se encuentran en estudio dos genes recesivos en pimiento, *Bs5* y *Bs6*, que confieren resistencia a todas las razas de la mancha bacteriana en chile. Siguiendo este ejemplo, los investigadores proponen que la clave para crear variedades resistentes es usar varios genes recesivos y no un solo gen dominante. A pesar de los esfuerzos y los resultados positivos del uso del gen *Bs2*, la variedad transgénica no pudo comercializarse debido a la baja aceptación de las personas a consumir alimentos genéticamente modificados (Adhikari et al. 2020).

Otras estrategias que se pueden usar para el control de la mancha bacteriana consisten en realizar un manejo integrado de enfermedades para obtener mejores resultados. El objetivo más importante de implementar un plan de manejo es reducir el inóculo en campo y la susceptibilidad en las plantas. Por lo que, siempre es recomendable realizar prácticas culturales al finalizar un ciclo del cultivo, por ejemplo, mantener los campos limpios de malezas y de rastrojo de siembras anteriores, ya que minimizan la supervivencia de bacterias y se evita tener fuentes de inóculo. También utilizar plántulas sanas y evitar lesiones en el trasplante garantiza un buen comienzo del ciclo de cultivo (Strayer-Scherer et al. 2020).

Las investigaciones realizadas por Strayer-Scherer et al. (2020) para el control de la mancha bacteriana en Florida, sugieren realizar aplicaciones de una combinación de Actigard®, el cual tiene un modo de acción que estimula la resistencia sistémica adquirida (SAR), y cobre-mancozeb, bactericida de contacto. Se debe aplicar cada 7 días, preferiblemente después del trasplante. Siempre

se debe leer con atención la etiqueta. Otra opción es la combinación de Actigard® que se aplica cada 7 días, y un producto biológico a base de bacteriófagos, AgriPhage™, el cual se aplica 2 veces a la semana en horas de la tarde, antes o inmediatamente después de las lluvias.

Para controlar el cancro de los cítricos, se han empleado técnicas de manejo como el reemplazo de especies de cítricos susceptibles por variedades resistentes, emplear viveros que se encuentren libres de enfermedades, uso de barreras vivas, cercas en las parcelas, y uso controlado de químicos a base de cobre, además aplicaciones de insecticidas para controlar el minador asiático (Balogh et al. 2008). Uno de los métodos de control más usado para el control de *Xanthomonas* según Das (2003) son los compuestos químicos a base de cobre. Sin embargo, el uso de estos productos conlleva problemas ambientales como la contaminación del suelo y el agua, de igual manera el desarrollo de tolerancia en cepas bacterianas (Behlau et al. 2011; Marin et al. 2019). Como consecuencia al uso excesivo de químicos a base de cobre, *X*. *citri* pv. *citri* generó resistencia, lo que redujo la eficacia de este método de control. Este suceso provocó la búsqueda de métodos de control alternativos. El método que se probó para el control de esta enfermedad fue el uso de inductores de resistencia sistémica adquirida o SAR que aunque no obtuvieron resultados positivos para el control de *X. citri* pv. *citri,* si fue efectivo en otros cultivares (Graham y Leite 2004).

También se ha utilizado el control biológico, especialmente, organismos antagonistas de bacterias foliares, bacterias promotoras del crecimiento de las plantas, y bacteriófagos (Marin et al. 2019; Liu et al. 2017). Sin embargo, es un verdadero reto conseguir que los bacteriófagos posean una larga persistencia en la filosfera de la planta, dado que, al tratarse de microorganismos, su persistencia es limitada por lo que es probable que los fagos solo proporcionen un nivel adecuado de protección durante unas horas después de la aplicación, incluso, las poblaciones pueden reducirse a niveles en los que no son detectados (Iriarte et al. 2007; Balogh et al. 2005).

Estudios realizados por Balogh et al. (2005), aseguran que es recomendable aplicar los bacteriófagos antes de que el patógeno colonice e ingrese al hospedero, ya que si se aplican después

el control pierde su efectividad. De igual manera, para mejorar la persistencia realizó formulaciones a base de leche, azúcar y harina, las cuales dieron buenos resultados, demostrando ser efectivas y mejorando el control de la enfermedad en el patosistema de la mancha bacteriana del tomate. Sin embargo, esta formulación puede ayudar a la persistencia del bacteriófago en la filosfera, pero, reducen su eficiencia del bacteriófago al momento de controlar la enfermedad. Además que no pueden usarse en todos los patosistemas.

Según Marin et al. (2019) hay varios microorganismos que tienen la habilidad de combatir a *Xanthomonas* spp. in vivo e in vitro. Se ha demostrado que las rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPR), las bacterias endofíticas y los microorganismos de entornos extremos son eficaces para combatir las *Xanthomonas*. Entre los microorganismos que demostraron un control efectivo fueron *Pseudomonas* y *Bacillus subtilis*. Es una oportunidad para los investigadores de desarrollar productos comerciales para el control de este patógeno, aunque aún hace falta profundizar en los estudios para poder tener resultados exitosos. Uno de los productos comerciales para el control de *Xanthomonas* que ha demostrado ser efectivo es Serenade® OPTI (BAYER) que contiene la cepa (cepa QST 713) que combate la mancha bacteriana en tomate, chile, y otros cultivos de la familia solanácea. El bactericida AgriPhage™ es un producto que contiene bacteriófagos que es utilizado para el control biológico de manchas bacterianas en tomates y pimientos *(X. vesicatoria).* Es una oportunidad para desarrollar nuevos productos comerciales implementando la combinación de varias cepas. Aunque aún es necesario continuar con las investigaciones para mejorar la efectividad del control biológico, y profundizar en el área de la biotecnología y química analítica.

Según Varshney et al. (2019) “el enfoque más sostenible, rentable y seguro para controlar el tizón del arroz es el uso de plantas genéticamente resistentes”. Con respecto al control del Tizón bacteriano en el arroz, el control químico no es tan práctico en países que presentan condiciones climáticas como las del sudeste asiático y África, ya que en época de monzones, las fuertes lluvias y vientos impiden que los productos químicos sean efectivos (Lee et al. 2003).

Según Kalaivani et al. (2021), el uso de salicilato de metilo (MeSA), un compuesto biológico volátil sintetizado a partir del ácido salicílico (SA), una hormona vegetal que ayuda a la planta a defenderse de plagas y enfermedades es efectivo como tratamiento para el control de *Xoo* en arroz. La dosis que recomienda usar es 100 mg L^{-1} de MeSA. El MeSA ayuda a la planta a incrementar la producción de la enzima de defensa peroxidasa (POD), la cual produce un efecto fisiológico que mejora su sistema de defensa.

Por otro lado, en los últimos años se han desarrollado variedades resistentes al tizón bacteriano causado por *X. oryzae* pv. *oryzae (Xoo)*, con la ayuda del método de control mediante edición genética, CRISPR-Cas9. Para comprender mejor este método de control, es fundamental entender el mecanismo de virulencia que *Xoo* usa para atacar al cultivo del arroz. Su principal mecanismo de virulencia son los efectores de tipo activador de transcripción o transcription activator–like effectors (TALE) que son liberadas por sistemas de secreción Tipo III (T3SS) como lo esquematiza la Figura 12. Los efectores TAL entran al hospedero y se unen a elementos de unión de efectores o effertor-binding elements (EBE) específicos (Figura 13), que se encuentran en los genes (SWEET 11, 13 y 14) sugar will eventually be exported transporters o transportadores eventuales del azúcar del cultivo del arroz, los cuales tienen la función de transportar sacarosa a través de la membrana celular y sin su expresión, *Xoo* no podría generar una respuesta de susceptibilidad. La función de los efectores TAL es secuestrar el azúcar de los genes SWEET y así obtener nutrientes para poder diseminarse e infectar a su hospedero. Gracias a la herramienta de edición genética, CRISPR-Cas9 que funciona como unas tijeras cortando los genes SWEET, se han editado los genes que provocan la susceptibilidad a *Xoo*: SWEET 11, SWEET 13 y SWEET 14. Además como herramienta adicional, un equipo de investigadores ha desarrollado un kit que ayuda a identificar la enfermedad y sus alelos de virulencia y resistencia (Varshney et al. 2019).

Figura 13

Elementos de unión de efectores conocidos en los promotores de genes SWEET

Host gene	TALe	EBE sequence
SWEET11	PthXo1	GCATCTCCCCCTACTGTACACCAC
SWEET13	PthXo2(A)	ATAAAAGCACCACAACTCCCTT
	PthXo2(A)	ATATAAGCACCACAACTCCCTT
	PthXo2B	ATAAAGCACCACAACTCCCTTC
	PthXo2C	ATAAAGCACCACAACTCCCTTC
SWEET14	TalC	CATGCATGTCAGCAGCTGGTCAT
	PthXo3	ATATAAACCCCCTCCAACCAGGTGCTAAG
	AvrXa7	ATAAACCCCCTCCAACCAGGTGCTAA
	TalF	AAGCTCATCAAGCCTTCA

Nota. Tomado de Oliva et al. (2019)

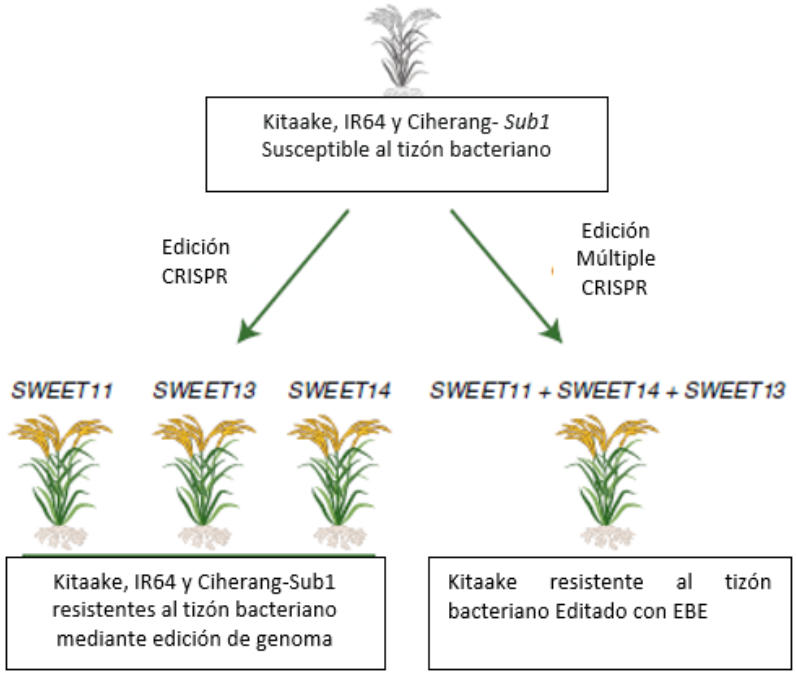
En la actualidad se han desarrollado alrededor de 10 variedades resistentes al tizón bacteriano de la hoja del arroz como Kitaake, IR64 y Ciherang - Sub1 (Figura 14), con la ayuda de varias investigaciones en las que se han determinado 43 genes que confieren resistencia al tizón bacteriano. A continuación se muestran los genes más conocidos y que en su mayoría son dominantes y proveen resistencias a la mayoría de las cepas: Xa4, xa5, xa13, Xa21, Xa33 y Xa38 (Kim y Reinke 2019; Varshney et al. 2019).

La mejor opción para producir especies con resistencia al tizón bacteriano del arroz según Chukwu et al. (2019), es usar un enfoque molecular, debido a la complejidad que conlleva usar el enfoque convencional, ya que se produce el efecto de enmascaramiento de genes, epítasis. Adicionalmente, la selección tradicional necesita más tiempo para que un gen de interés pueda transferirse de un padre, y además es necesario tener una gran superficie de tierra. Aplicando el mejoramiento molecular para la resistencia de BLB, se pueden aplicar multigenes que pueden ser piramidados o apilados en un corto periodo de tiempo. La utilización de ingeniería genética con

enfoque en el mejoramiento molecular para combatir la enfermedad del tizón bacteriano es necesario debido a la demanda de una mayor producción de arroz y al rápido crecimiento poblacional.

Figura 14

Visión general del desarrollo de líneas con genes SWEET editados genéticamente



Nota. Adaptado de Varshney et al. (2019)

Se han evaluado varios métodos de control de la pudrición negra en crucíferas causado por *Xcc*. Entre los que se han usado son el control cultural, físico, químico y biológico. El control cultural que se recomienda utilizar si se presenta este patógeno, consiste en realizar rotaciones con cultivos de otras familias, planificar una rotación de 3 años con cultivos que no pertenezcan a la familia de las crucíferas, tener un buen drenaje en las parcelas y evitar el riego excesivo. Un método de control físico que reduce significativamente la población bacteriana consiste en tratar las semillas con agua a 50 °C por 25 minutos para repollo o 18 minutos para semillas de brócoli, coliflor y col (Horst 2001). El control químico es un método poco eficiente para tratar *Xcc,* ya que los químicos a base de cobre pueden

inhibir la podredumbre negra, pero en la actualidad ya no se usa debido a que presentó resistencia en el año 1972 en una variedad de col japonesa (Liu et al. 2016).

Conclusiones

Los síntomas de *Xanthomonas* en los cultivos se presentan en las hojas, tallos y frutos, varían dependiendo del patovar que los ataque siendo los síntomas más comúnes las lesiones necróticas rodeadas de halos cloróticos en las hojas, y agallas o elevaciones en los frutos.

El reconocer las relación huésped-patógeno y sus mecanismos de virulencia mejora la comprensión del modo de acción del patógeno y es fundamental para el desarrollo de cultivares resistentes afectados por *Xanthomonas* spp.

El desarrollo de cultivares resistentes mediante herramientas de edición genética es una de las técnicas más recientes para controlar las enfermedades relacionadas con *Xanthomonas* siendo un método de control indispensable en el plan de manejo de enfermedades.

Recomendaciones

Mantener en constante estudio el genoma de *Xanthomonas* debido a que se mantiene en constante evolución, y especialmente estudiar los mecanismos de virulencia y de resistencia de cultivares que sean silvestres para asegurar el desarrollo de variedades resistentes que sean persistentes.

Emplear un programa que integre varios métodos de control de enfermedades provocadas por *Xanthomonas,* minimizando las aplicaciones de químicos para evitar residuos en fuentes de agua y suelos. Aplicar las dosis siguiendo las indicaciones del fabricante para evitar que *Xanthomonas* adquieran resistencia a productos químicos.

Comprar semillas certificadas, libres de enfermedades para reducir la incidencia y diseminación de patógenos como *Xanthomonas* spp.

Mantener los campos libres de malezas, y después de cada cosecha retirar cualquier material vegetal que pueda ser fuente de inóculo para *Xanthomonas* spp.

Ampliar la investigación del impacto que tiene *Xanthomonas* en Honduras, los principales cultivos afectados, y la importancia de la bacteria en esta región.

Referencias

Achor DS, Browning H, Albrigo LG. 1997. Anatomical and Histochemical Effects of Feeding by Citrus Leafminer Larvae (*Phyllocnistis citrella Stainton*) in Citrus Leaves. Journal of the American Society for Horticultural Science. 122(6):829–836. doi:10.21273/JASHS.122.6.829.

Acinas SG, Marcelino LA, Klepac-Ceraj V, Polz MF. 2004. Divergence and redundancy of 16S rRNA sequences in genomes with multiple *rrn* operons. J Bacteriol. 186(9):2629–2635. eng. doi:10.1128/JB.186.9.2629–2635.2004.

Adhikari P, Adhikari TB, Louws FJ, Panthee DR. 2020. Advances and Challenges in Bacterial Spot Resistance Breeding in Tomato (*Solanum lycopersicum* L.). Int J Mol Sci. 21(5):1–14. eng. doi:10.3390/ijms21051734.

Adriko J, Mbega ER, Mortensen CN, Wulff EG, Tushemereirwe WK, Kubiriba J, Lund OS. 2014. Improved PCR for identification of members of the genus *Xanthomonas*. European Journal of Plant Pathology. 138(2):293–306. doi:10.1007/s10658-013-0329-x.

Agrios GN. 2005. Plant pathology. 5ª ed. Oxford: Academic Press. ISBN: 0120445654.

Alegria MC, Souza DP, Andrade MO, Docena C, Khater L, Ramos CHI, Da Silva ACR, Farah CS. 2005. Identification of new protein-protein interactions involving the products of the chromosome- and plasmid-encoded type IV secretion loci of the phytopathogen *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. J Bacteriol. 187(7):2315–2325. eng. doi:10.1128/JB.187.7.2315-2325.2005.

An S-Q, Potnis N, Dow M, Vorhölter F-J, He Y-Q, Becker A, Teper D, Li Y, Wang N, Bleris L, et al. 2020. Mechanistic insights into host adaptation, virulence and epidemiology of the phytopathogen *Xanthomonas*. FEMS Microbiol Rev. 44(1):1–32. eng. doi:10.1093/femsre/fuz024.

Balogh B, Canteros BI, Stall RE, Jones JB. 2008. Control of Citrus Canker and Citrus Bacterial Spot with Bacteriophages. Plant Dis. 92(7):1048–1052. eng. doi:10.1094/pdis-92-7-1048.

Balogh B, Jones JB, Momol MT, Olson SM. 2005. Persistence of bacteriophages as biocontrol agents in the tomato canopy. Acta Horticulturae. (695):299–302. doi:10.17660/ActaHortic.2005.695.34.

Becker A, Katzen F, Pühler A, Ielpi L. 1998. Xanthan gum biosynthesis and application: a biochemical/genetic perspective. Appl Microbiol Biotechnol. 50(2):145–152. eng. doi:10.1007/s002530051269.

Behlau F, Canteros BI, Minsavage GV, Jones JB, Graham JH. 2011. Molecular Characterization of Copper Resistance Genes from *Xanthomonas citri* subsp. *citri* and *Xanthomonas alfalfae* subsp. *citrumelonis*. Appl Environ Microbiol. 77(12):4089–4096. eng. doi:10.1128/AEM.03043-10.

Boch J, Bonas U. 2010. *Xanthomonas* AvrBs3 family-type III effectors: discovery and function. Annu Rev Phytopathol. 48:419–436. eng. doi:10.1146/annurev-phyto-080508-081936.

Bogdanove AJ, Koebnik R, Lu H, Furutani A, Angiuoli SV, Patil PB, van Sluys M-A, Ryan RP, Meyer DF, Han S-W, et al. 2011. Two new complete genome sequences offer insight into host and tissue specificity of plant pathogenic *Xanthomonas* spp. J Bacteriol. 193(19):5450–5464. eng. doi:10.1128/JB.05262-11.

Büttner D, Bonas U. 2010. Regulation and secretion of *Xanthomonas* virulence factors. FEMS Microbiol Rev. 34(2):107–133. eng. doi:10.1111/j.1574-6976.2009.00192.x.

Castaño-Zapata J. 1994. Principios básicos de fitopatología. 2ª ed. Honduras: Zamorano Academic Press. 518 p. ISBN: 1-885995-18-0.

Chaudhary RC, Nanda JS, Tran DV. 2003. Guía para identificar las limitaciones de campo en la producción de arroz. Roma: FAO. 79 p. ISBN: 92-5-304684-8.

Chukwu SC, Rafii MY, Ramlee SI, Ismail SI, Hasan MM, Oladosu YA, Magaji UG, Akos I, Olalekan KK. 2019. Bacterial leaf blight resistance in rice: a review of conventional breeding to molecular approach. Mol Biol Rep. 46(1):1519–1532. eng. doi:10.1007/s11033-019-04584-2.

Civerolo EL. 1984. Bacterial canker disease of citrus [*Xanthomonas campestris*]. Journal of The Rio Grande Valley Horticultural Society; [consultado el 26 de jun. de 2021]. 37(0485-2044):127–146. https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US19840110436.

Cubero J, Redondo C, Sabuquillo P, Sena-Vélez M, Garita-Cambronero J, Ferragud E. 2015. *Xanthomonas*, un género de bacterias fitopatógenas con una alta especialización. Sociedad Española de Microbiología (SEM); [consultado el 6 de feb. de 2021]. 60:38–41. https:// www.semicrobiologia.org/revista-semaforo/diciembre-2015.

Dangl JL, Horvath DM, Staskawicz BJ. 2013. Pivoting the Plant Immune System from Dissection to Deployment. Science. 341(6147). eng. doi:10.1126/science.1236011.

Das A, Rangaraj N, Sonti RV. 2009. Multiple adhesin-like functions of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* are involved in promoting leaf attachment, entry, and virulence on rice. Mol Plant Microbe Interact. 22(1):73–85. eng. doi:10.1094/MPMI-22-1-0073.

Das AK. 2003. Citrus canker - a review. Journal of Applied Horticulture. 5(1):52–60. doi:10.37855/jah.2003.v05i01.15.

Dubrow ZE, Bogdanove AJ. 2021. Genomic insights advance the fight against black rot of crucifers. Journal of General Plant Pathology. 87(3):127–136. doi:10.1007/s10327-021-00987-x.

Ference CM, Gochez AM, Behlau F, Wang N, Graham JH, Jones JB. 2018. Recent advances in the understanding of *Xanthomonas citri* ssp. *citri* pathogenesis and citrus canker disease management. Mol Plant Pathol. 19(6):1302–1318. eng. doi:10.1111/mpp.12638.

Gnanamanickam SS. 2009. Biological Control of Rice Diseases. 1ª ed. Dordrecht: Springer Netherlands. ISBN: 978-90-481-2464-0.

Gottwald TR, Graham JH, Schubert TS. 2002. Citrus Canker: The Pathogen and Its Impact. Plant Health Progress. 3(1):15. doi:10.1094/PHP-2002-0812-01-RV.

Graham JH, Leite RP. 2004. Lack of Control of Citrus Canker by Induced Systemic Resistance Compounds. Plant Dis. 88(7):745–750. eng. doi:10.1094/PDIS.2004.88.7.745.

He Y-W, Wu J, Zhou L, Yang F, He Y-Q, Jiang B-L, Bai L, Xu Y, Deng Z, Tang J-L, et al. 2011. *Xanthomonas campestris* diffusible factor is 3-hydroxybenzoic acid and is associated with xanthomonadin

biosynthesis, cell viability, antioxidant activity, and systemic invasion. Mol Plant Microbe Interact. 24(8):948–957. eng. doi:10.1094/MPMI-02-11-0031.

Horst RK. 2001. Westcott's Plant Disease Handbook. Boston, MA: Springer US. ISBN: 978-1-4757-3378-5.

Iriarte FB, Balogh B, Momol MT, Smith LM, Wilson M, Jones JB. 2007. Factors affecting survival of bacteriophage on tomato leaf surfaces. Appl Environ Microbiol. 73(6):1704–1711. eng. doi:10.1128/AEM.02118-06.

Jacques M-A, Arlat M, Boulanger A, Boureau T, Carrère S, Cesbron S, Chen NWG, Cociancich S, Darrasse A, Denancé N, et al. 2016. Using ecology, physiology, and genomics to understand host specificity in *Xanthomonas*. Annu Rev Phytopathol. 54:163–187. eng. doi:10.1146/annurev-phyto-080615-100147.

Jalan N, Kumar D, Yu F, Jones JB, Graham JH, Wang N. 2013. Complete Genome Sequence of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* Strain Aw12879, a Restricted-Host-Range Citrus Canker-Causing Bacterium. Genome Announc. 1(3). eng. doi:10.1128/genomeA.00235-13.

Jeger M, Candresse T, Chatzivassiliou E, Dehnen-Schmutz K, Gilioli G, Grégoire J-C, Jaques Miret JA, MacLeod A, Navajas Navarro M, Niere B, et al. 2018. Pest categorisation of *Xanthomonas oryzae* pathovars *oryzae* and *oryzicola*. EFSA J. 16(1):1-25. eng. doi:10.2903/j.efsa.2018.5109.

Jones JB, Lacy GH, Bouzar H, Stall RE, Schaad NW. 2004. Reclassification of the xanthomonads associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. Syst Appl Microbiol. 27(6):755–762. eng. doi:10.1078/0723202042369884.

Junior J, Waldir C, Belasque Júnior J, Amorim L, Christiano RSC, Parra JRP, Bergamin Filho A. 2006. Injuries caused by citrus leafminer *(Phyllocnistis citrella*) exacerbate citrus canker (*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*) infection. Fitopatologia Brasileira. 31(3):277–283. doi:10.1590/S0100-41582006000300006.

Kalaivani K, Maruthi-Kalaiselvi M, Senthil-Nathan S. 2021. Seed treatment and foliar application of methyl salicylate (MeSA) as a defense mechanism in rice plants against the pathogenic bacterium, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Pestic Biochem Physiol. 171:104718. eng. doi:10.1016/j.pestbp.2020.104718.

Kim S-M, Reinke RF. 2019. A novel resistance gene for bacterial blight in rice, *Xa43(t)* identified by GWAS, confirmed by QTL mapping using a bi-parental population. PLoS One. 14(2):1-13. eng. doi:10.1371/journal.pone.0211775.

Koike ST, Gladders P, Paulus AO. 2009. Vegetable diseases: A color handbook. Burlington MA: Academic Press. 448 p. (Plant protection handbooks series). ISBN: 9780123736758.

Lee KS, Rasabandith S, Angeles ER, Khush GS. 2003. Inheritance of resistance to bacterial blight in 21 cultivars of rice. Phytopathology. 93(2):147–152. eng. doi:10.1094/PHYTO.2003.93.2.147.

Leyns F, Cleene M de, Swings J-G, Ley J de. 1984. The host range of the genus *Xanthomonas*. The Botanical Review. 50(3):308–356. doi:10.1007/bf02862635.

Liu K, Garrett C, Fadamiro H, Kloepper JW. 2016. Antagonism of black rot in cabbage by mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). BioControl. 61(5):605–613. doi:10.1007/s10526-016-9742-3.

Liu K, Newman M, McInroy JA, Hu C-H, Kloepper JW. 2017. Selection and assessment of plant growth-promoting rhizobacteria for biological control of multiple plant diseases. Phytopathology. 107(8):928–936. eng. doi:10.1094/PHYTO-02-17-0051-R.

Maes M. 1993. Fast classification of plant-associated bacteria in the *Xanthomonas* genus. FEMS Microbiology Letters. 113(2):161–165. doi:10.1111/j.1574-6968.1993.tb06508.x.

Mansfield J, Genin S, Magori S, Citovsky V, Sriariyanum M, Ronald P, Dow M, Verdier V, Beer SV, Machado MA, et al. 2012. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. Mol Plant Pathol. 13(6):614–629. eng. doi:10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x.

Marin VR, Ferrarezi JH, Vieira G, Sass DC. 2019. Recent advances in the biocontrol of *Xanthomonas* spp. World J Microbiol Biotechnol. 35(5):72. eng. doi:10.1007/s11274-019-2646-5.

Mhedbi-Hajri N, Jacques M-A, Koebnik R. 2011. Adhesion mechanisms of plant-pathogenic *Xanthomonadaceae*. Adv Exp Med Biol. 715:71–89. eng. doi:10.1007/978-94-007-0940-9_5.

Moral J. 2020. Conectando el ciclo de patogénesis y la epidemiología de las plantas. [Lugar desconocido]: [Editorial desconocida]. 39 p. es.

Niño-Liu DO, Ronald PC, Bogdanove AJ. 2006. *Xanthomonas oryzae* pathovars: model pathogens of a model crop. Mol Plant Pathol. 7(5):303–324. eng. doi:10.1111/j.1364-3703.2006.00344.x.

Oliva R, Ji C, Atienza-Grande G, Huguet-Tapia JC, Perez-Quintero A, Li T, Eom J-S, Li C, Nguyen H, Liu B, et al. 2019. Broad-spectrum resistance to bacterial blight in rice using genome editing. Nat Biotechnol. 37(11):1344–1350. eng. doi:10.1038/s41587-019-0267-z.

Ou SH. 1985. Rice diseases. 2ª ed. Kew: Commonwealth Mycological Institute. ISBN: 0851985459.

Patané JSL, Martins J, Rangel LT, Belasque J, Digiampietri LA, Facincani AP, Ferreira RM, Jaciani FJ, Zhang Y, Varani AM, et al. 2019. Origin and diversification of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* pathotypes revealed by inclusive phylogenomic, dating, and biogeographic analyses. BMC Genomics. 20(1):700. eng. doi:10.1186/s12864-019-6007-4.

Potnis N, Timilsina S, Strayer A, Shantharaj D, Barak JD, Paret ML, Vallad GE, Jones JB. 2015. Bacterial spot of tomato and pepper: diverse Xanthomonas species with a wide variety of virulence factors posing a worldwide challenge. Mol Plant Pathol. 16(9):907–920. eng. doi:10.1111/mpp.12244.

Ryan RP, Vorhölter F-J, Potnis N, Jones JB, van Sluys M-A, Bogdanove AJ, Dow JM. 2011. Pathogenomics of *Xanthomonas*: understanding bacterium-plant interactions. Nat Rev Microbiol. 9(5):344–355. eng. doi:10.1038/nrmicro2558.

Saddler GS, Bradbury JF. 2005. Xanthomonadalesord. nov. En: Brenner D.J. et al., editor. Bergey's Manual®of Systematic Bacteriology. Boston, MA: Springer. p. 63–122.

Sharma S, Bhattarai K. 2019. Progress in developing bacterial spot resistance in tomato. Agronomy. 9(1):26. doi:10.3390/agronomy9010026.

Strayer-Scherer A, Liao Y-Y, Abrahamian P, Timilsina S, Paret M, Momol T, Jones J, Vallad GE. 2020. Integrated management of bacterial spot on tomato in Florida. EDIS. 2019(6):8. doi:10.32473/edis-pp353-2019.

Sun X, Stall RE, Jones JB, Cubero J, Gottwald TR, Graham JH, Dixon WN, Schubert TS, Chaloux PH, Stromberg VK, et al. 2004. Detection and characterization of a new strain of citrus canker bacteria from key/mexican lime and alemow in South Florida. Plant Dis. 88(11):1179–1188. eng. doi:10.1094/PDIS.2004.88.11.1179.

Swings JG, Civerolo EL. 1993. Xanthomonas. Dordrecht: Springer Netherlands. ISBN: 978-94-010-4666-4.

Tai TH, Dahlbeck D, Clark ET, Gajiwala P, Pasion R, Whalen MC, Stall RE, Staskawicz BJ. 1999. Expression of the *Bs2* pepper gene confers resistance to bacterial spot disease in tomato. National Academy of Sciences of the United States of America. 96(24):14153–14158. eng. doi:10.1073/pnas.96.24.14153.

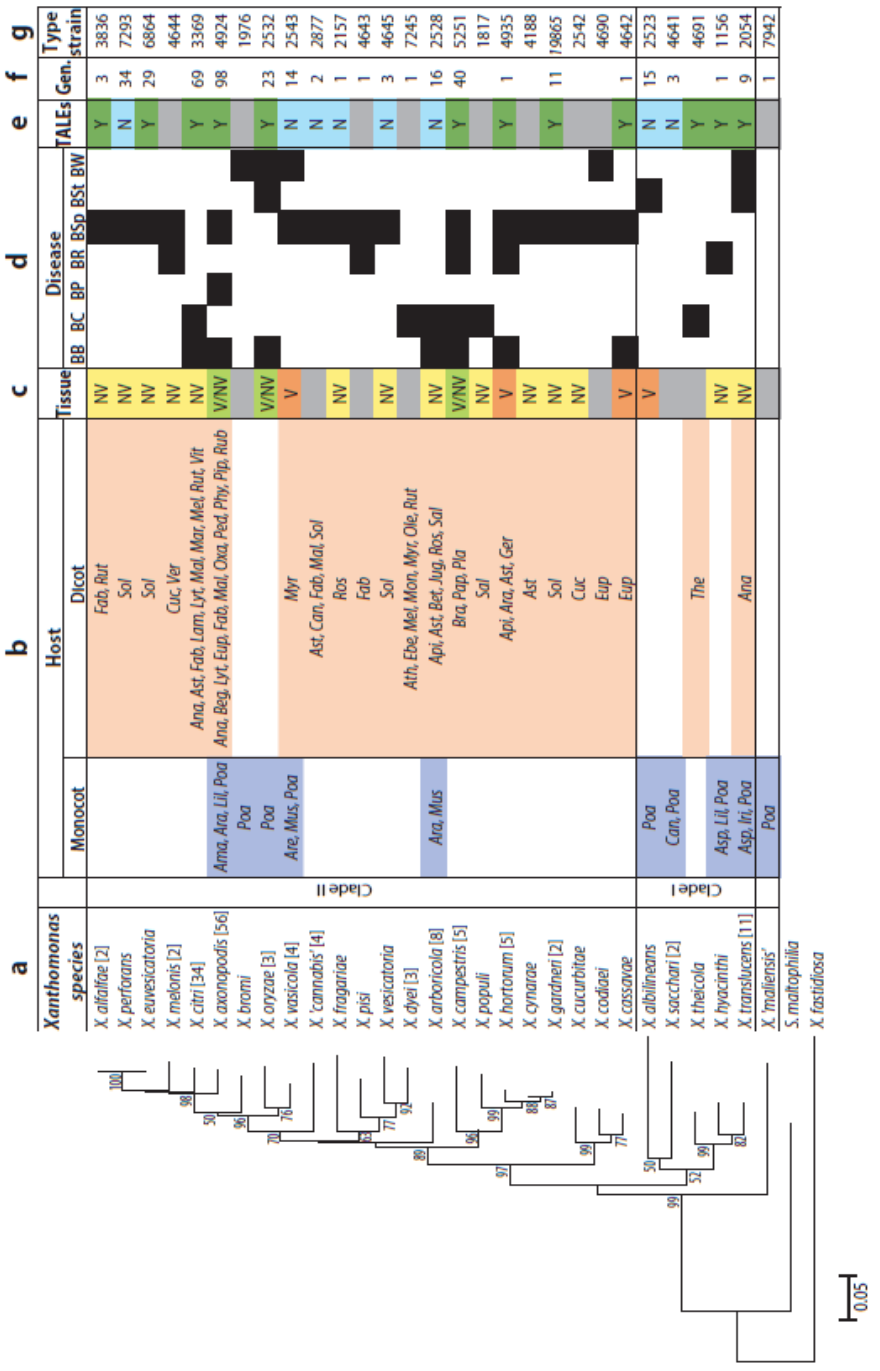
Timilsina S, Pereira-Martin JA, Minsavage GV, Iruegas-Bocardo F, Abrahamian P, Potnis N, Kolaczkowski B, Vallad GE, Goss EM, Jones JB. 2019. Multiple recombination events drive the current genetic structure of *Xanthomonas perforans* in Florida. Front Microbiol. 10:448. eng. doi:10.3389/fmicb.2019.00448.

Varshney RK, Godwin ID, Mohapatra T, Jones JDG, McCouch SR. 2019. A SWEET solution to rice blight. Nat Biotechnol. 37(11):1280–1282. eng. doi:10.1038/s41587-019-0302-0.

Anexos

Anexo A

Filogenia, rango de hospederos, enfermedades y datos genómicos actualmente disponibles para la filogenia de Xanthomonas spp.



Nota. Tomado de Jacques et al. (2016)

(a) Los números entre paréntesis indican el número de subespecies o patovares descritos dentro de las especies. (b) Principales familias de plantas hospedantes naturales. Monocotiledóneas: Ama, Amatyllidaceae; Ara, Araceae; Are, Arecaceae; Asp, Asparagaceae; Can, Cannaceae; Iri, Iridaceae; Lil, Liliaceae; Mus, Musaceae; Poa, Poaceae. Dicotiledóneas: Ana, Anacardiaceae; Api, Apiaceae; Ara, Araliceae; Ast, Asteraceae; Ath, Atherospermataceae; Beg, Begoniaceae; Bet, Betulaceae; Sujetador, Brassicaceae; Can, Cannabaceae; Cuc, Cucurbitaceae; Ebe, Ebenaceae; Eup, Euphorbiaceae; Fab, Fabaceae; Ger, Geraniaceae; Jarra, Juglandaceae; Lam, Lamiaceae; Lyt, Lythraceae; Mal, Malvaceae; Mar, Martyniaceae; Mel, Meliaceae; Mon, Monimiaceae; Myr, Myrtaceae; Ole, Oleaceae; Oxa, Oxalidaceae; Pap, Papaveraceae; Ped, Pedaliaceae; Phy, Phyllanthaceae; Pip, Piperaceae; Pla, Plantaginaceae; Ros, Rosaceae; Rubiaceae; Rut, Rutaceae; Sal, Salicaceae; Sol, solanáceas; The, Theaceae; Ver, Verbenaceae; Vit, Vitaceae. (c) La especificidad del tejido, cuando se conoce, se indica mediante un recuadro de color. Un cuadro gris indica que no hay datos disponibles. Abreviaturas: V, vascular; NV, no vascular. (d) Enfermedades: BB, tizón bacteriano; BC, cancro bacteriano; BP, pústula bacteriana; BR, pudrición bacteriana; BSp, mancha bacteriana; BSt, racha bacteriana; BW: marchitez bacteriana. (e) Presencia de TALE (efectores de tipo activador de la transcripción): Y, sí; N, no. En caso afirmativo: al menos una cepa de la especie porta al menos un TALE. En caso negativo: no se encontró TALE en los datos genómicos disponibles actualmente. f) El número de secuencias genómicas completas y en borrador disponibles en el sitio web del Centro Nacional de Información Biotecnológica (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/). (g) Los números se refieren a códigos de cepas en la Collection Franc¸aise de Bact´eries associ´ees aux Plantes (https://www6.inra.fr/cirm_eng/CFBP-Plant-Associated-Bacteria]

Anexo B

Microoorganismos que han sido testeados in vitro y/o en invernadero y/o en campo para el control de Xanthomonas

Xanthomonas spp.	Disease	Host	Antagonistic microorganism	Source	References
X. citri subsp. citri	Citric canker	Citrus	*B. subtilis* TKS1-1 and *B. amyloliquefaciens* WG6-14	Rhizosphere	Huang et al. (2012)
			B. subtilis (S-12)	Citrud leafs	Das et al. in (2014)
			P. fluorescent and *P. putida*	Citrus trees	Kholakaramian et al. (2008)
			P. aeruginosa	Sick leaf of orange tree	Spago et al. (2014)
			P.aeruginosa LV	Sick leaf of orange tree	De Oliveira et al. (2011, 2016)
			Pseudomonas sp. LN	Infected orange leafs	Murate et al. (2015)
			P. protegens CS1	Lemon leaf	Michavila et al. (2017)
			B. amyloliquefaciens LE109, *B. subtilis* LE24 and *B. tequilensis* PO80)	Leafs of *Citrusaurantifolia* and *Citrus. maxima*	Daungfu et al. (2018)
			Cronobacter and *Enterobacter*	Citrus plant parts healthy or with canker symptoms	Gholami et al. (2015)
			Streptomyces sp.	Rhizospheric soil of healthy asparagus	Wattana-Amorn et al. (2016)
			Pseudogymnoascus, Penicillium, Cadophora, Paracostiothyrium and *Taxicladosporium*	Antartic soil and marine sediments	Vieira et al. (2018)
Xanthomonas campestris pv. *campestris*	Black rot	Cruciferous vegetables	*P. aeruginosa* and *B. turingiensis*	Rhizosphere of *Brassica campestris*	Mishra and Arora (2012)
			B. subtilis and P. fluorescens	Cauliflower	*B. subtilis and P. fluorescens*
			B. pumilus	Plants	Issazadeh et al. (2012)
			Streptomyces plaricolorescens	Tomato plants	De Oliveira et al. (2010)
Xanthomonas campestris pv. *campestris*	Black rot	Cruciferous vegetables	*Bacillus velezensis*	Cucumber and Red pepper	Liu et al. (2016)
			Paenibacillus spp	Brassica hosts or soil	Gharalibiglar et al. (2015a, b, 2016)
X. vesicatoria	Bacterial leaf spot	Tomato and pepper	*Bacillus* spp.	Pepper rhizosphere	Mirik et al. (2008)
			B. pumilus and *Paenibacillus macerans*	Leaves of healthy tomato plants	Lanna Filho et al. (2010)
			B. amyloliquefaciens and *B. pamilus*	Tomato stem	Lanna-Filho et al. (2013)
			Lactobacillus plantarum TC110 and *Leuconostoc mesenteroides* XM360	Tomatoes and custard apple	Trias et al. (2008)
			Lactic acid bacteria	Tomatoes	Shrestha et al. (2014)
			P. fluorescens	Rhizosphere of tomato plants	Abo-Elyousr and El-Hendaw (2008)
			P. fluorescens SF4c	Wheat	Príncipe et al. (2018)
			Bacillus altitudinis AP69, *B. velezensis* (AP197, AP199 and AP298)	Plant-growth-promoting rhizobacteria	Liu et al. (2018)

Nota. Tomado de Marin et al. (2019)