

Identification of species and physiological races of *Xanthomonas* isolated from tomato (*Solanum lycopersicum*) and chili pepper (*Capsicum annuum*) in Sinaloa, Mexico

Identificación de especies y razas fisiológicas de *Xanthomonas* aisladas de jitomate (*Solanum lycopersicum*) y chile (*Capsicum annuum*) en Sinaloa, México

Laura Belén Tapia-de la Barrera, Manuel Alonzo Báez-Sañudo, Raymundo Saúl García-Estrada, Juan Manuel Tovar-Pedraza, José Armando Carrillo-Fasio*. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Coordinación Regional Culiacán, Carretera a ElDorado km 5.5, Culiacán, Sinaloa, CP 80110, México.

*Corresponding autor: acarrillo@ciad.mx

Received: October 29, 2022.

Accepted: May 12, 2023.

Tapia-de la Barrera LB, Báez-Sañudo MA, García-Estrada S, Tovar-Pedraza JM and Carrillo-Fasio JA. 2023. Identification of species and physiological races of *Xanthomonas* isolated from tomato (*Solanum lycopersicum*) and chili pepper (*Capsicum annuum*) in Sinaloa, Mexico. Mexican Journal of Phytopathology 41(3): 326-342.

DOI: <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2210-2>

First DOI publication: June 04, 2023.

Primera publicación DOI: 04 de Junio, 2023.

Abstract. Bacterial spot of tomato and chili pepper, caused by four species of *Xanthomonas* and various races, is one of the diseases with the greatest impact on horticulture worldwide. The aim of this study was to identify the species and physiological races of *Xanthomonas* present in tomato (*Solanum*

Resumen. La mancha bacteriana del jitomate y chile, causada por cuatro especies de *Xanthomonas* y diversas razas, es una de las enfermedades de mayor impacto en la horticultura a nivel mundial. El objetivo de este estudio fue identificar a las especies y razas fisiológicas de *Xanthomonas* spp. presentes en los cultivos de jitomate (*Solanum lycopersicum*) y chile (*Capsicum annuum*) en Sinaloa, México. Para ello, se recolectaron muestras con síntomas de mancha bacteriana en campos comerciales tanto de jitomate como de chile, distribuidos en diferentes municipios de Sinaloa. Noventa y tres bacterias se aislaron en los medios agar nutritivo (AN) y agar levadura-dextrosa-carbonato de calcio (YDC). Un total de 47 aislados bacterianos se identificaron como *Xanthomonas* mediante la combinación de pruebas morfológicas, patogénicas, bioquímicas, fisiológicas y moleculares. Además, para la caracterización de razas fisiológicas de cada una de las

lycopersicum) and chili pepper (*Capsicum annuum*) crops in Sinaloa, Mexico. For this purpose, samples with typical symptoms of bacterial spot were collected in commercial fields of the different municipalities in the state of Sinaloa. Ninety-three bacteria were isolated on semi-selective medium as nutrient agar and yeast extract-dextrose. A total of 47 bacteria were identified as *Xanthomonas* by a combination of morphological, pathogenic, biochemical, physiological, and molecular tests. In addition, to characterize the morphological race of each strain, differential tomato (four) and chili pepper (six) lines were used. Molecular diagnostic using specific primers indicated that 83% corresponded to *X. euvesicatoria*, 10.6% to *X. perforans*, and 6.4% to *X. vesicatoria*. At the physiological race level, races T1, T2, T3, and T5 were detected in tomato; while the *Xanthomonas* races detected in chili pepper were P0, P3, P6, P8 and P10. This information updates previous data on the distribution of races of *Xanthomonas* that infect chili peppers in Sinaloa, since races P6 and P10 are reported for the first time.

Keywords: Bacterial spot, differential lines, hypersensitivity reaction.

The bacterial spot in tomato (*S. lycopersicum*) and chili pepper (*C. annuum*) caused by *Xanthomonas* spp. is one of the most important and destructive diseases for these crops worldwide (Potnis *et al.*, 2015; Sharma and Bhattarai, 2019; Bogatzevska *et al.*, 2021; Rotondo *et al.*, 2022). Despite this disease being found in all the tomato and chili pepper producing regions, it is most severe in subtropical and tropical regions, where the pathogen is favored by high temperatures and constant rains (Koike *et al.*, 2007).

cepas, se utilizaron cuatro líneas diferenciales de jitomate y seis de chile. El análisis realizado mediante iniciadores específicos para su diagnóstico molecular confirmó que, el 83% correspondió a *X. euvesicatoria*, donde se detectaron las razas P0, P3, P6, y P10; el 10.6% a *X. perforans* con las razas fisiológicas T1, T2, T3 y T5, y el 6.4% a *X. vesicatoria*, detectándose las razas T1, T3 y T5. Entretanto, con las líneas diferenciales de jitomate se detectaron a las razas T1, T2, T3 y T5; mientras que con las líneas diferenciales de chile se detectaron las razas P0, P3, P6, P8 y P10. Esta información actualiza los datos previos sobre la distribución de razas de *Xanthomonas* que infectan al chile en Sinaloa, debido a que se reporta por primera vez a las razas P6 y P10.

Palabras clave: mancha bacteriana, líneas diferenciales, reacción de hipersensibilidad.

La mancha bacteriana en jitomate (*S. lycopersicum*) y chile (*C. annuum*) causada por *Xanthomonas* spp. es una de las enfermedades más importantes y destructivas en estos cultivos a nivel mundial (Potnis *et al.*, 2015; Sharma y Bhattarai, 2019; Bogatzevska *et al.*, 2021; Rotondo *et al.*, 2022). Aunque esta enfermedad ocurre en todas las regiones productoras de jitomate y chile, es más severa en regiones subtropicales y tropicales donde el patógeno es favorecido por la alta temperatura y lluvias constantes (Koike *et al.*, 2007).

Los síntomas foliares iniciales causados por *Xanthomonas* spp. consisten en manchas irregulares acuosas que posteriormente se tornan de color marrón oscuro a negro y por lo general miden <5 mm de diámetro. A medida que avanza la enfermedad, las manchas pueden coalescer y dar lugar a áreas necróticas grandes en las hojas. En infecciones avanzadas y severas, las plantas pueden deshojarse,

The initial foliar symptoms caused by *Xanthomonas* spp. consist of irregular aqueous spots that later turn dark maroon to black and generally measure <5 mm in diameter. As the disease progresses, the spots may coalesce and give way to large necrotic areas on the leaves. In advanced and severe infections, plants may lose leaves, particularly in their lower section. Infections of the fruits are irregular, rough, elevated brown scabs that measure 2–5 mm in diameter. The spots on the fruits are grouped near the end of the peduncle (Koike *et al.*, 2007).

Worldwide there are four species of *Xanthomonas* (*X. euvesicatoria*, *X. vesicatoria*, *X. perforans* and *X. gardneri*) commonly associated to the disease known as bacterial spot in tomato and chili pepper (Jones *et al.*, 2004). To date, five *Xanthomonas* spp. races have been reported for tomato: race T1 reported in *X. euvesicatoria*, race T2 in *X. vesicatoria* and *X. gardneri*, races T3 and T4 reported in *X. perforans*, as well as race T5, which was reported as a recombination between races T3 and T4 of *X. perforans* (Adhikari *et al.*, 2020; Jibrin *et al.*, 2022). Meanwhile, in the case of chili pepper, 11 races have been reported (P0, P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8, P9 and P10). The determination of the races in the *Xanthomonas* spp. strains is based on the hypersensitivity reaction in response to the effector proteins mediated through the type III secretion system in the host cells and with recognition from specific resistance proteins in differential tomato and chili pepper plants (Stall *et al.*, 2009).

For tomato, there are earlier studies that determined the diversity of races and/or species of *Xanthomonas* in strains gathered in the U.S.A. (Bouzar *et al.*, 1994; Rotondo *et al.*, 2022), India, Argentina, Spain, New Zealand, France, Hungary (Bouzar *et al.*, 1994), Taiwan (Hartman and Yang, 1990; Bouzar *et al.*, 1994; Lue *et al.*, 2010),

especialmente en la parte inferior. Las infecciones en la fruta se observan de manera irregular como costras ásperas, levantadas, de color marrón, que miden de 2–5 mm de diámetro. Las manchas en los frutos se agrupan cerca del extremo del pedúnculo (Koike *et al.*, 2007).

A nivel mundial existen cuatro especies de *Xanthomonas* (*X. euvesicatoria*, *X. vesicatoria*, *X. perforans* y *X. gardneri*) asociadas comúnmente a la enfermedad conocida como mancha bacteriana en jitomate y chile (Jones *et al.*, 2004). Actualmente, se reportan cinco razas de *Xanthomonas* spp. para jitomate: raza T1 reportada en *X. euvesicatoria*, raza T2 en *X. vesicatoria* y *X. gardneri*, razas T3 y T4 reportadas en *X. perforans*; así como, la raza T5, la cual se reportó como una recombinación entre la raza T3 y T4 de *X. perforans* (Adhikari *et al.*, 2020; Jibrin *et al.*, 2022). Mientras que, en el caso de chile, se han reportado 11 razas (P0, P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8, P9 y P10). La determinación de las razas en las cepas de *Xanthomonas* spp. se basa en la reacción de hipersensibilidad en respuesta a las proteínas efectoras mediadas a través del sistema de secreción tipo III en las células del hospedante y con reconocimiento por proteínas de resistencia específicas en plantas diferenciales de jitomate y chile (Stall *et al.*, 2009).

En jitomate, existen estudios previos donde se determinó la diversidad de razas y/o especies de *Xanthomonas* en cepas colectadas en EE. UU. (Bouzar *et al.*, 1994; Rotondo *et al.*, 2022), India, Argentina, España, Nueva Zelanda, Francia, Hungría (Bouzar *et al.*, 1994), Taiwán (Hartman y Yang, 1990; Bouzar *et al.*, 1994; Lue *et al.*, 2010), México (Bouzar *et al.*, 1994; Bouzar *et al.*, 1996), Islas del Caribe (O'Garro, 1998), Brasil (Bouzar *et al.*, 1994; Quezado-Duval y Camargo, 2004), Canadá (Bouzar *et al.*, 1994; Abbasi *et al.*, 2015), Australia (Bouzar *et al.*, 1994; Roach *et al.*, 2018), Tailandia (Sitthitanasin *et al.*, 2020), Bulgaria (Bogatzevska *et al.*, 2021) y África (Jibrin *et al.*, 2022).

Mexico (Bouzar *et al.*, 1994; Bouzar *et al.*, 1996), Caribbean Islands (O'Garro, 1998), Brazil (Bouzar *et al.*, 1994; Quezado-Duval and Camargo, 2004), Canada (Bouzar *et al.*, 1994; Abbasi *et al.*, 2015), Australia (Bouzar *et al.*, 1994; Roach *et al.*, 2018), Thailand (Sitthitanasin *et al.*, 2020), Bulgaria (Bogatzevska *et al.*, 2021) and Africa (Jibrin *et al.*, 2022).

For chili pepper, *Xanthomonas* races and species have been identified with strains from Argentina, Brazil, Hungary, Senegal, Spain, Tongo (Bouzar *et al.*, 1994), U.S.A. (Bouzar *et al.*, 1994; Kousik and Ritchie 1995; Rotondo *et al.*, 2022), Taiwan (Hartman and Yang, 1990; Bouzar *et al.*, 1994; Lue *et al.*, 2010), Mexico (Bouzar *et al.*, 1994; 1996; Carrillo-Fasio *et al.*, 2001), Caribbean Islands (Bouzar *et al.*, 1994; O'Garro, 1998), Australia (Bouzar *et al.*, 1994; Roach *et al.*, 2018), Thailand (Sitthitanasin *et al.*, 2020), Bulgaria (Bogatzevska *et al.*, 2021) and Africa (Jibrin *et al.*, 2022).

In Sinaloa, the main tomato and chili pepper producing state in Mexico, the bacterial spot is widely distributed and it continuously appears as an epidemic, causing important losses in the production of both crops (Carrillo-Fasio *et al.*, 2001). In this sense, some previous studies of the diversity of *Xanthomonas* races in these crops were based on strains isolated from fields in Sinaloa and Sonora (Bouzar *et al.*, 1994; 1996; Carrillo-Fasio *et al.*, 2001). Nevertheless, the information of the distribution and presence of *Xanthomonas* spp. races in the tomato and chili pepper crops must be updated, based on studies complemented with molecular data. Therefore, the aim of this study was to identify the races and species of *Xanthomonas* that infect tomato and chili pepper crops in the state of Sinaloa, Mexico with the combination of morphological, pathogenic, biochemical, physiological and molecular tests.

Para el cultivo de chile se han identificado razas y/o especies de *Xanthomonas* con cepas provenientes de Argentina, Brasil, Hungría, Senegal, España, Tongo (Bouzar *et al.*, 1994), EE. UU. (Bouzar *et al.*, 1994; Kousik y Ritchie 1995; Rotondo *et al.*, 2022), Taiwán (Hartman y Yang, 1990; Bouzar *et al.*, 1994; Lue *et al.*, 2010), México (Bouzar *et al.*, 1994; 1996; Carrillo-Fasio *et al.*, 2001), Islas del Caribe (Bouzar *et al.*, 1994; O'Garro, 1998), Australia (Bouzar *et al.*, 1994; Roach *et al.*, 2018), Tailandia (Sitthitanasin *et al.*, 2020), Bulgaria (Bogatzevska *et al.*, 2021) y África (Jibrin *et al.*, 2022).

En Sinaloa, principal estado productor de jitomate y chile en México, la mancha bacteriana presenta una amplia distribución y se observa continuamente en forma epidémica, ocasionando pérdidas importantes en la producción de ambos cultivos (Carrillo-Fasio *et al.*, 2001). En este sentido, algunos estudios previos que estudiaron la diversidad de razas de *Xanthomonas* en estos cultivos, se basaron en cepas aisladas de campos de Sinaloa y Sonora (Bouzar *et al.*, 1994; 1996; Carrillo-Fasio *et al.*, 2001). No obstante, la información de la distribución y presencia de razas de *Xanthomonas* spp. en los cultivos de jitomate y chile debe actualizarse con base en estudios complementados con datos moleculares. Por lo que, el objetivo de este estudio fue identificar a las razas y especies de *Xanthomonas* que infectan a los cultivos de jitomate y chile en el estado de Sinaloa, México mediante la combinación de pruebas morfológicas, patogénicas, bioquímicas, fisiológicas y moleculares.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de muestras. Durante octubre de 2016 a marzo de 2017, se recolectaron hojas de jitomate y chile con síntomas típicos de mancha

MATERIALS AND METHODS

Samples collection. Between October, 2016 and March, 2017, leaves were taken from tomato and chili pepper plants with typical symptoms of bacterial spot in 47 commercial fields distributed among the municipal areas of Ahome (8), Guasave (7), Navolato (7), Culiacán (9), Elota (5) and Escuinapa (11), in Sinaloa, Mexico. The crops were found in different stages of development, from the initial stage to the stage of production.

Isolation of bacteria. The leaves gathered were disinfested superficially in 70% alcohol for 30 seconds, cut into small pieces from the edges of the lesions and ground in sterile distilled water. The suspension was planted in grooves on Petri dishes with a nutrient agar (NA) culture and a yeast-dextrose-calcium carbonate (YDC) medium. The dishes were incubated at 28 °C for 48 h in constant darkness, and the round, convex, yellow cultures with a mucous-like consistency were then selected and purified. Pure cultures were kept in tubes with water at 4 °C for short-term storage, and in 20% glycerin at -20 °C for their long-term storage (Schaad *et al.*, 2001).

Hypersensitivity reaction. In order to verify that the isolated strains were pathogenic, a hypersensitivity test was carried out using two-month-old tobacco plants (*Nicotiana tabacum*). A bacterial solution was prepared with a concentration of 3×10^8 UFC mL⁻¹ according to McFarland's scale (Kyrály *et al.*, 1974); using a hypodermic needle, the solution was infiltrated into the reverse side of the leaf, identifying each infiltrated area with the data or the register of the strain. The plants were placed in greenhouse conditions and monitored for the first 48 h (Király *et al.*, 1974). The strains that induced a positive hypersensitivity reaction were chosen for further studies.

bacteriana en 47 campos comerciales distribuidos los municipios de Ahome (8), Guasave (7), Navolato (7), Culiacán (9), Elota (5) y Escuinapa (11), en Sinaloa, México. Los cultivos se encontraban en diversas etapas de desarrollo; desde la etapa inicial hasta la etapa de producción.

Aislamiento de bacterias. Las hojas colectadas se desinfectaron superficialmente en alcohol al 70% por 30 segundos, se cortaron en pequeños trozos a partir de los márgenes de la lesión y se trituraron en agua destilada estéril. La suspensión se sembró por estrías sobre placas Petri con medio de cultivo Agar nutritivo (AN) y medio de levadura-dextrosa-carbonato de calcio (YDC) Las placas se incubaron a 28 °C durante 48 h en oscuridad continua, y posteriormente se seleccionaron y purificaron las colonias redondas, convexas, amarillas y de consistencia mucosa. Los cultivos puros se conservaron en tubos con agua a 4 °C para su almacenamiento a corto plazo y en glicerina al 20% a temperatura de -20 °C para su almacenamiento a largo plazo (Schaad *et al.*, 2001).

Reacción de hipersensibilidad. Con el fin de corroborar que las cepas aisladas fueran patógenas, se realizó la prueba de hipersensibilidad, utilizando plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) de dos meses de edad. Se preparó una solución bacteriana con una concentración de 3×10^8 UFC mL⁻¹ según la escala de McFarland's (Kyrály *et al.*, 1974) y con una jeringa hipodérmica se infiltró la solución en el envés de la hoja, identificando cada área infiltrada con el dato o registro de la cepa. Las plantas se colocaron en condiciones de invernadero y se monitorearon durante las primeras 48 h (Király *et al.*, 1974). Aquellas cepas que indujeron una reacción de hipersensibilidad positiva fueron las que se seleccionaron para continuar con su estudio.

Biochemical and physiological tests. Out of the 93 isolated strains, only 47 (39 for tomato and 8 for chili pepper) displayed the phenotypical characteristics reported for *Xanthomonas* spp., and with these, the biochemical and physiological tests (Gram stain, oxidative/fermentative metabolism of carbohydrates, oxidase and starch) described by Schaad *et al.* (2001) were performed. All tests were carried out three times.

DNA extraction and amplification by PCR.

Bacterial cell lysis was carried out by thermal shock from young cultures, planted for 2 days in YDC medium. To do this, a pure culture was placed in a 1.5 mL microcentrifuge tube with 100 µL of injectable water and the solution was homogenized. It was then placed for 15 min at 95 °C in a thermoblock (Labnet) and immediately transferred to a container with ice for 7 min. Once the time was over, it was centrifuged at 10 000 x g for 15 min, the supernatant was poured and the tablet was resuspended in 50 µL of injectable water.

The PCR amplification was carried out with 5 pairs of primers (Sigma) that flanked the *HrpB2* gene, specified in Table 1 (Obradovic *et al.*, 2004),

Pruebas bioquímicas y fisiológicas. De un total de 93 cepas aisladas, solo 47 (39 de jitomate y 8 de chile) presentaron las características fenotípicas reportadas para *Xanthomonas* spp., y con estas se realizaron las pruebas bioquímicas y fisiológicas (tinción de Gram, metabolismo oxidativo/fermentativo de los carbohidratos, oxidasa y almidón) descritas por Schaad *et al.* (2001). Todas las pruebas se realizaron en tres ocasiones.

Extracción de ADN y amplificación por PCR.

La lisis celular de la bacteria se realizó por medio de choque térmico a partir de colonias jóvenes cultivadas por dos días en medio YDC. Para ello, se colocó una colonia pura en un tubo de microcentrífuga de 1.5 mL, conteniendo 100 µL de agua inyectable y se homogenizó la solución. Posteriormente, se colocó durante 15 min a 95 °C en un termoblock (Labnet) y después se transfirió inmediatamente a un recipiente con hielo durante 7 min. Una vez transcurrido el tiempo, se centrifugó a 10 000 x g por 15 min, se decantó el sobrenadante y se resuspendió la pastilla en 50 µL de agua inyectable.

La amplificación por PCR se llevó a cabo con cinco pares de iniciadores (Sigma) que flanquean al

Table 1. Specific primers for the identification of *Xanthomonas* species in strains obtained from tomato and chili pepper in Sinaloa, Mexico.

Cuadro 1. Iniciadores específicos para la identificación de especies de *Xanthomonas* en cepas obtenidas de jitomate y chile en Sinaloa, México.

Species	Primer name	Gene sequence	Amplicon (pb)
<i>Xanthomonas</i> spp.	RST 65	5'-GTCGTCGTTACGGCAAGGTGGTCG-3'	420
	RST 69	3'-TCGCCCAGCGTCATCAGGCCATC-5'	
<i>X. euvesicatoria</i>	Bs-XeF	5'CATGAAGAACTCGGCGTATCG-3'	173
	Bs-XeR	3'-GTCGGACATAGTGGACACATAC-5'	
<i>X. vesicatoria</i>	Bs-XvF	5'-CCATGTGCCGTTGAAATACTTG-3'	138
	Bs-XvR	3'-ACAAGAGATGTTGCTATGATTTGC-5'	
<i>X. perforans</i>	Bs-XpF	5'-GTC GTG TTG ATG GAG CGT TC-3'	197
	Bs-XpR	3'-GTGCGAGTCAATTATCAGAATGTGG-5'	
<i>X. gardneri</i>	Bs-XgF	5'-TCAGTGCTTAGTTCCTCATTGTC-3'	154
	Bs-XgR	3'-TGACCGATAAAGACTGCGAAAG-5'	

and a reaction mixture shown in Table 2. The reagents were from the kit GoTaq[®] PCR Core System I. The amplification conditions were: an initial denaturalization at 95 °C for 5 min, 35 cycles at 94 °C for 1 min, 56 °C for 1 min, 75 °C for 1 min; and a final extension at 75 °C for 10 min. The reactions took place in a Proflex PCR system thermocycler (Applied Biosystem).

Amplicons were observed via electrophoresis in 1% agarose gel using an electrophoresis chamber

gen *HrpB2*, especificados en el Cuadro 1 (Obradovic *et al.*, 2004), y una mezcla de reacción indicada en el Cuadro 2. Los reactivos pertenecen al kit GoTaq[®] PCR Core System I. Las condiciones de amplificación fueron: una desnaturalización inicial a 95 °C por 5 min, 35 ciclos de 94 °C por 1 min, 56 °C por 1 min, 75 °C por 1 min; y una extensión final a 75 °C por 10 min. Las reacciones se llevaron a cabo en un termociclador Proflex PCR system (Applied Biosystem).

Table 2. Reaction mixture for PCR for the identification of *Xanthomonas* species.
Cuadro 2. Mezcla de reacción para la PCR para la identificación de especies de *Xanthomonas*.

Reactive (Initial concentration)	Final Volume (µL)	Final Concentration
Buffer (10X)	2.5	1 X
MgCl ₂ (50mm)	1.2	2.5 mM
Taq Pol (5 u/mL)	0.125	0.25 U
Primer RST65 (10 mM)	1.25	0.5 mM
Primer RST 69 (10 mM)	1.25	0.5 mM
Primer Bs-XeF (10 mM)	0.5	0.2 mM
Primer Bs-XeR (10 mM)	0.5	0.2 mM
Primer Bs-XvF (10 mM)	1.0	0.4 mM
Primer Bs-XvR (10 mM)	1.0	0.4 mM
Primer Bs-XpF (10 mM)	0.75	0.3 mM
Primer Bs-XpR (10 mM)	0.75	0.3 mM
Bs-XgF (10 mM)	0.75	0.3 mM
Bs-XgR (10 mM)	0.75	0.3 mM
DNTP's (10 mM)	0.5	0.2 mM
DNA	1	
H ₂ O cbp	Gauge to 25	

MgCl₂: Magnesium chloride, Taq Pol: polymerase DNA, dNTPs: deoxynucleotide triphosphate, Sense primer for genus *Xanthomonas*: RST65, antisense primer for genus *Xanthomonas*: RST 69, sense primer for *X. euvesicatoria*: Bs-XeF, antisense primer for *X. euvesicatoria*: Bs-XvR, sense primer for *X. vesicatoria*: Bs-XeF, antisense primer for *X. euvesicatoria*: Bs-XeR, sense primer for *X. perforans*: Bs-XpF, antisense primer for *X. perforans*: Bs-XpR; sense primer for *X. gardneri*: Bs-XgF, antisense primer for *X. gardneri*: Bs-XgR. / MgCl₂: Cloruro de Magnesio, Taq Pol: ADN polimerasa, dNTPs: deoxinucleótidos trifosfato, Iniciador sentido para género *Xanthomonas*: RST65, iniciador antisentido para género *Xanthomonas*: RST 69, iniciador sentido para *X. euvesicatoria*: Bs-XeF, iniciador antisentido para *X. euvesicatoria*: Bs-XvR, iniciador sentido para *X. vesicatoria*: Bs-XeF, iniciador antisentido para *X. euvesicatoria*: Bs-XeR, iniciador sentido para *X. perforans*: Bs-XpF, iniciador antisentido para *X. perforans*: Bs-XpR; iniciador sentido para *X. gardneri*: Bs-XgF, iniciador antisentido para *X. gardneri*: Bs-XgR.

(BioRad) and 60 V were run through them for 50 min. Later, the gels were viewed in a transilluminator (Benchtop) with UV light.

Physiological races of *Xanthomonas* in chili pepper. The physiological races of *Xanthomonas* spp. were determined using the chili pepper material cv. Early California Wonder (susceptible) and a set of isogenic lines derived from Early California wonder (ECW), including ECW-10R, ECW-20R, ECW-30R, PT235047 and ECWPLUS. Lines ECW-10R, ECW-20R, ECW-30R contain resistance genes 10R, 20R and 30R from *Capsicum pubescens*, respectively; whereas line ECWPLUS contains genes 10R, 20R, 30R, 50R and 60R (Table 3).

The plants were cultivated in a greenhouse under conditions of controlled relative humidity (60–70%) and temperature (25 °C) for 60 days. Next came infiltration, which was carried out with a 3×10^8 UFC mL⁻¹ bacterial solution, using a 5 mL syringe without a needle, taking care that the infiltration covered a great part of the area of the

Los amplicones se visualizaron mediante electroforesis en gel de agarosa a 1% usando una cámara de electroforesis (BioRad) y se sometieron a 60 V durante 50 min. Posteriormente, los geles se visualizaron en un transiluminador (Benchtop) con luz UV.

Razas fisiológicas de *Xanthomonas* en Chile. Las razas fisiológicas de *Xanthomonas* spp. se determinaron utilizando el material de Chile cv. Early California Wonder (susceptible) y un conjunto de líneas isogénicas derivadas de Early California wonder (ECW), incluyendo a ECW-10R, ECW-20R, ECW-30R, PT235047 y ECWPLUS. Las líneas ECW-10R, ECW-20R, ECW-30R contienen los genes de resistencia 10R, 20R y 30R de *Capsicum pubescens*, respectivamente; mientras que la línea ECWPLUS tiene los genes 10R, 20R, 30R, 50R y 60R (Cuadro 3).

Las plantas se cultivaron en invernadero bajo condiciones de humedad relativa (60–70%) y temperatura (25 °C) controladas durante 60 días. Posteriormente, se llevó a cabo la infiltración, la cual

Table 3. Classification of *Xanthomonas* spp. races in chili pepper (*Capsicum annuum*) by susceptibility and hypersensitivity reactions.

Cuadro 3. Clasificación de razas de *Xanthomonas* spp. en Chile (*Capsicum annuum*) por reacciones de susceptibilidad e hipersensibilidad.

ECW	ECW10	ECW20	ECW30	CP	ECW-12356	RACE
S	HR	HR	HR	HR	HR	0
S	S	HR	HR	HR	HR	1
S	HR	HR	S	S	HR	2
S	S	HR	S	HR	HR	3
S	S	S	HR	HR	HR	4
S	HR	S	S	S	HR	5
S	S	S	S	HR	R	6
S	S	HR	HR	S	HR	7
S	S	HR	S	S	HR	8
S	S	S	HR	S	HR	9
S	S	S	S	S	R	10

S= Susceptible.; HR= Hypersensitivity reaction. / S= Susceptible.; HR= Reacción de hipersensibilidad.

leaf. A group of differential plants, inoculated with distilled water, served as a control. The plants were evaluated after 48 h and after a week after inoculation to determine the reactions of hypersensitivity (RH) and susceptibility (S). The test considered RH when dark brown spots were observed. In the exclusive case of line ECWPLUS, an RH was considered as a dry yellowish spot, whereas an S reaction was considered when the leaf displayed flaccidity and wateriness. The results were checked against the information presented in Table 3 (Stall *et al.*, 2009).

Physiological races of *Xanthomonas* in tomato.

To identify the physiological races of *Xanthomonas* spp. strains in tomato, differential lines Hawaii7998, Hawaii7891, PI114490 and LA716 (Table 4) were used, with the same methodology mentioned earlier for chili pepper. The plants were evaluated after 48 h and one week after inoculation, the reactions of hypersensitivity (RH) and susceptibility (S) were recorded. The test was considered as RH when dry and dark brown spots appeared, whereas a reaction was considered S when the leaf displayed flaccidity and wateriness. The results were checked against the information presented in Table 4 (Stall *et al.*, 2009).

se realizó con una solución bacteriana de 3×10^8 UFC mL⁻¹ usando una jeringa de 5 mL sin aguja, teniendo cuidado que la infiltración abarcara gran parte del área de la hoja. Un grupo de plantas diferenciales inoculadas con agua destilada, sirvieron como control. Las plantas se evaluaron a las 48 h y a la semana después de inoculación para determinar las reacciones de hipersensibilidad (RH) y de susceptibilidad (S). En la prueba se consideró RH cuando se observaron manchas color café oscuro. En el caso exclusivo de la línea ECWPLUS, una RH se consideró como una mancha amarillenta seca; mientras que, se consideró una reacción S cuando en la hoja se observó flacidez y acuosidad. Los resultados se cotejaron con la información del Cuadro 3 (Stall *et al.*, 2009).

Razas fisiológicas de *Xanthomonas* en jitomate.

Para la identificación de razas fisiológicas de las cepas de *Xanthomonas* spp. en jitomate, se utilizaron las líneas diferenciales Hawaii7998, Hawaii7891, PI114490 y LA716 (Cuadro 4). Utilizando la misma metodología mencionada anteriormente para chile. Las plantas se evaluaron a las 48 h y a la semana después de inoculación se registraron las reacciones de hipersensibilidad (RH) y de susceptibilidad (S). La prueba se consideró como RH al ob-

Table 4. Classification of physiological *Xanthomonas* races in tomato by susceptibility and hypersensitivity reactions.

Cuadro 4. Clasificación de razas fisiológicas de *Xanthomonas* en jitomate por reacciones de susceptibilidad e hipersensibilidad.

Race	Hawaii 7998	Hawaii7981	LA716	PI114490
T1	HR	S	S	R
T2	S	S	S	R
T3	S	HR	HR	R
T4	S	S	HR	R
T5	S	S	S	S

RESULTS AND DISCUSSION

The symptoms of bacterial spot were observed in the leaves of chili pepper and tomato plants when gathering the plant material in all the sites visited. The incidence of the disease was 5–10% and 15–25% in commercial fields with chili pepper and tomato, respectively.

The tests performed showed that, out of the 93 isolated strains, only 47 displayed the morphological characteristics of round, convex, yellow cultures with a mucous-like texture in a YDC medium, along with the fact that they were Gram and negative oxidase. These morphological and biochemical characteristics coincided with those reported by Schaad *et al.* (2001) for the case of *Xanthomonas* spp. It is worth pointing out that 32 out of the 47 strains registered negative amylase.

Likewise, out of the 93 isolated strains, only 47 induced RH in tobacco plants 24 h after inoculation, and based on the biochemical, physiological and pathogenicity tests, the 47 were confirmed to belong to the genus *Xanthomonas*.

The identification of three *Xanthomonas* spp. related to chili pepper and tomato was possible using the specific primers for each species (Table 5). All the endpoint PCR products were viewed in agarose gel, as in the example shown in Figure 1.

The molecular analysis in which specific primers were used confirmed that 83% of the *Xanthomonas* strains obtained from tomato and chili pepper plantations in Sinaloa (Table 5), corresponded to *X. euvesicatoria*; 10.6%, to *X. perforans* and 6.3%, to *X. vesicatoria*. Similarly, Lue *et al.* (2010) reported these three *Xanthomonas* species associated to tomato and chili pepper in Taiwan, who didn't find *X. gardneri* neither.

Earlier studies in Mexico reported *X. vesicatoria* as the predominant species in tomato and chili pepper fields in the states of Sinaloa (Bouzar *et*

servar manchas color café oscuro y secas, mientras que se consideró una reacción S cuando en la hoja se observó flacidez y acuosidad. Los resultados se cotejaron con la información del Cuadro 4 (Stall *et al.*, 2009).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los síntomas de mancha bacteriana se observaron en las hojas de chile y jitomate al momento de recolección del material vegetal en todos los sitios que se visitaron. La incidencia de la enfermedad fue de 5–10% y de 15–25% en campos comerciales con chile y jitomate, respectivamente.

Las pruebas realizadas mostraron que, de las 93 cepas aisladas, solo 47, presentaron las características morfológicas de colonias redondas, convexas, amarillas y mucoides en medio YDC; además, de que fueron Gram y oxidasa negativas. Estas características morfológicas y bioquímicas coincidieron con las reportadas por Schaad *et al.* (2001) para el caso de *Xanthomonas* spp. Cabe resaltar que, 32 de las 47 cepas, registraron amilasa negativa.

Igualmente, de las 93 cepas aisladas, solo 47 indujeron RH en plantas de tabaco a las 24 h después de la inoculación y con base en las pruebas bioquímicas, fisiológicas y de patogenicidad, se confirmó que las 47 cepas bacterianas pertenecieron al género *Xanthomonas*.

Fue posible realizar la identificación de tres especies de *Xanthomonas* spp. relacionadas con chile y jitomate utilizando los iniciadores específicos para cada especie (Cuadro 5). Todos los productos de PCR punto final se visualizaron en un gel de agarosa como el ejemplo que se muestra en la Figura 1.

El análisis molecular donde se utilizaron iniciadores específicos confirmó que, el 83% de las 47 cepas de *Xanthomonas* obtenidas de campos de

Table 5. Species and races of *Xanthomonas* isolated from chili pepper and tomato from Sinaloa from November, 2016 to March, 2017.

Cuadro 5. Especies y razas de *Xanthomonas* aisladas de chile y jitomate en el estado de Sinaloa durante noviembre de 2016 a Marzo de 2017.

Strain	Municipality	Crop	HA	PCR	REA	Race P	Race T
1	Ahome	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	P0	T3
2	Culiacán	Jitomate	-	<i>X. v</i>	B	-	T3
3	Elota	Chile	-	<i>X. e</i>	A	P8	T1
4	Guasave	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	-	T1
5	Escuinapa	Jitomate	+	<i>X. p</i>	C	-	T1
6	Navolato	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	-	T1
7	Culiacán	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	-	T1
8	Ahome	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	-	T1
9	Guasave	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	-	T1
10	Guasave	Jitomate	-	<i>X. e</i>	A	-	T1
11	Escuinapa	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	-	T1
12	Escuinapa	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	-	T1
13	Culiacán	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	-	T1
14	Ahome	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	-	T1
15	Escuinapa	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	-	T1
16	Navolato	Jitomate	-	<i>X. e</i>	A	-	T1
17	Ahome	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	-	T1
18	Escuinapa	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	-	T1
19	Culiacán	Jitomate	-	<i>X. v</i>	B	-	T1
20	Escuinapa	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	-	T1
21	Guasave	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	-	T1
22	Escuinapa	Chile	+	<i>X. e</i>	A	-	T1
23	Ahome	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	-	T1
24	Navolato	Jitomate	+	<i>X. p</i>	C	-	T1
25	Elota	Jitomate	-	<i>X. e</i>	A	-	T1
26	Escuinapa	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	-	T1
27	Navolato	Chile	+	<i>X. e</i>	A	P0	-
28	Escuinapa	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	P8	T3
29	Culiacán	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	-	T2
30	Escuinapa	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	-	T1
31	Guasave	Jitomate	-	<i>X. e</i>	A	-	T1
32	Culiacán	Chile	+	<i>X. p</i>	C	P0	-
33	Elota	Chile	+	<i>X. p</i>	C	P3	T1
34	Ahome	Chile	+	<i>X. e</i>	A	P6	T1
35	Guasave	Chile	+	<i>X. p</i>	C	P10	T3
36	Navolato	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	-	T3
37	Culiacán	Jitomate	-	<i>X. e</i>	A	-	T3
38	Guasave	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	P8	T1
39	Navolato	Jitomate	-	<i>X. e</i>	A	P8	T1
40	Elota	Jitomate	-	<i>X. e</i>	A	P8	T1
41	Culiacán	Chile	-	<i>X. e</i>	A	-	-
42	Ahome	Jitomate	-	<i>X. e</i>	A	-	T1
43	Navolato	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	P8	T3
44	Escuinapa	Jitomate	-	<i>X. e</i>	A	-	T5
45	Ahome	Jitomate	-	<i>X. e</i>	A	-	T5
46	Elota	Jitomate	+	<i>X. e</i>	A	-	T5
47	Culiacán	Jitomate	-	<i>X. v</i>	B	-	T5

HA= Starch hydrolysis; **Raza P**= Chili pepper race; **Raza T**= Tomato race; *X. e.* = *Xanthomonas euvesicatoria*, *X. v.* = *Xanthomonas vesicatoria*, *X. p.* = *Xanthomonas perforans*. / **HA**= Hidrólisis de Almidón; **Raza P**= Raza en Chile; **Raza T**= Raza en jitomate; *X. e.* = *Xanthomonas euvesicatoria*, *X. v.* = *Xanthomonas vesicatoria*, *X. p.* = *Xanthomonas perforans*.

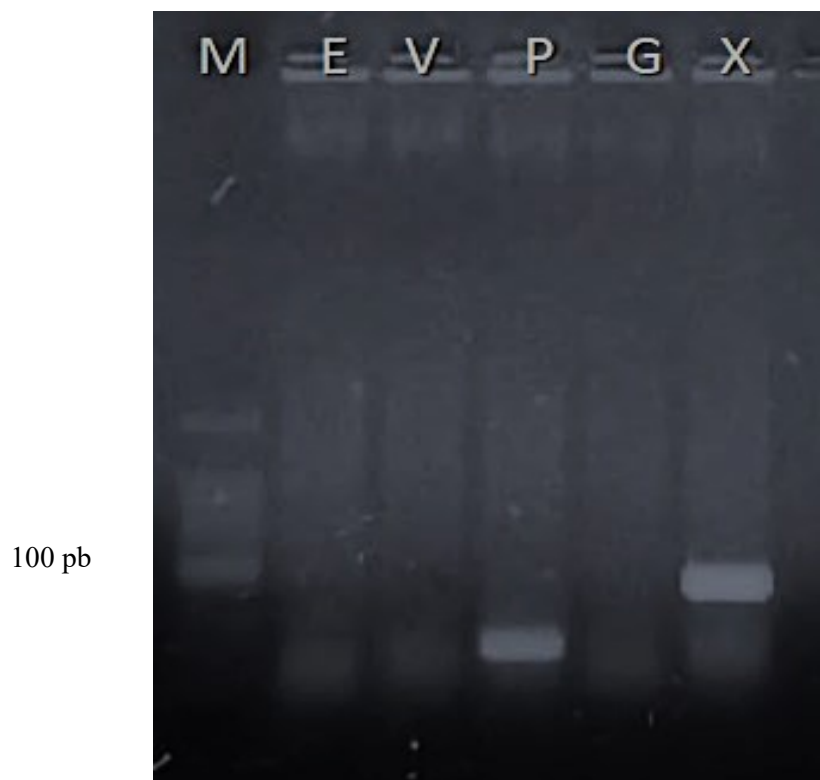


Figure 1. Agarose gel to detect *Xanthomonas* spp. species. In the first lane (M) 100 pb marker; in the second lane, primers for *X. euvesicatoria* (E); third, *X. vesicatoria* (V), fourth lane with a specific stripe for *X. perforans* (P); fifth, *X. gardneri* (G) and sixth lane with universal primers for *Xanthomonas* spp. (X).

Figura 1. Gel de agarosa para detección de especies de *Xanthomonas* spp. En el primer carril (M) marcador de 100 pb, segundo, iniciadores para *X. euvesicatoria* (E), tercero, *X. vesicatoria* (V), cuarto carril con banda específica para *X. perforans* (P), el quinto *X. gardneri* (G) y en sexto carril con iniciadores universales para *Xanthomonas* spp. (X).

al., 1996; Carrillo-Fasio *et al.*, 2001) and Sonora (Bouzar *et al.*, 1996). This contrasted with our study, in which *X. euvesicatoria* was the most frequent species in fields in Sinaloa; whereas *X. perforans* and *X. vesicatoria* were the least frequent (Table 5). This variation can be explained by the continuous movement of contaminated seeds between countries (Abbasi *et al.*, 2015; Jibrin *et al.*, 2022).

For the case of the eight strains obtained from chili pepper plants in the state of Sinaloa, 62.5% corresponded to *X. euvesicatoria*. This coincided with studies carried out in Australia (Roach *et al.*, 2018), Thailand (Sitthithanasin *et al.*, 2020)

jitomate y chile en Sinaloa (Cuadro 5), correspondió a *X. euvesicatoria*, el 10.6% a *X. perforans* y el 6.3% a *X. vesicatoria*. De manera similar, Lue *et al.* (2010) reportaron a estas tres especies de *Xanthomonas* asociadas a jitomate y chile en Taiwán, y tampoco detectaron a *X. gardneri*.

En estudios previos en México, se reportó a *X. vesicatoria* como la especie predominante en campos con jitomate y chile en los estados de Sinaloa (Bouzar *et al.*, 1996; Carrillo-Fasio *et al.*, 2001) y Sonora (Bouzar *et al.*, 1996). Esto contrastó con nuestro estudio en el cual, *X. euvesicatoria* fue la especie más frecuente en campos de Sinaloa; mientras que, *X. perforans* y *X. vesicatoria* fueron las

and Bulgaria (Bogatzevska *et al.*, 2021), where *X. euvesicatoria* was the predominant species in the chili pepper crop.

In this study, *X. euvesicatoria* was the most frequent species (87.1%) in the 39 strains analyzed from tomato fields in Sinaloa. Similarly, this species has been reported in tomato fields in Taiwan (Lue *et al.*, 2010), Canada (Abbasi *et al.*, 2015), Nigeria (Jibrin *et al.*, 2018), Bulgaria (Bogatzevska *et al.*, 2021) and the U.S. Midwest (Rotondo *et al.*, 2022).

Xanthomonas perforans was the second most common species in this study, with a frequency of 10.6% in tomato and chili pepper fields in Sinaloa. This species was previously found in tomato fields in Taiwan (Lue *et al.*, 2010), Canada (Abbasi *et al.*, 2015), Australia (Roach *et al.*, 2018), Thailand (Sitthitanasin *et al.*, 2020) and the U.S. Midwest (Rotondo *et al.*, 2022),

Xanthomonas vesicatoria was the least frequent species (6.4%) out of the strains isolated from tomato and chili pepper fields in Sinaloa, broadly coinciding with the study by Lue *et al.* (2010), who found this species less frequently and less distributed in tomato fields in Taiwan in comparison with *X. euvesicatoria* and *X. perforans*. On the other hand, Bogatzevska *et al.* (2021) pointed out that *X. vesicatoria* was the most frequent and widely distributed in the same crop in Bulgaria.

Out of the *X. euvesicatoria* strains isolated from chili pepper fields in Sinaloa, races P0, P3, P6, P8 and P10 were identified. Similarly, these races were also found in chili pepper fields in Bulgaria (Bogatzevska *et al.*, 2021), whereas for the strains isolated from tomato, six were found to be able to attack chili pepper plants, being races P0 and P8.

Comparing the earlier results obtained by Carrillo-Fasio *et al.* (2001), the study of *Xanthomonas* spp. races in Sinaloa showed that after more than 15 years, races P1 and P2 were not found in this study, probably due to their not being present in the sampled production areas, or that the

species menos frecuentes (Cuadro 5). Esta variación puede explicarse por el continuo movimiento de semilla contaminada entre países (Abbasi *et al.*, 2015; Jibrin *et al.*, 2022).

Para el caso de las ocho cepas obtenidas de plantas de chile en campos de Sinaloa, el 62.5% correspondió a *X. euvesicatoria*. Esto coincidió con estudios realizados en Australia (Roach *et al.*, 2018), Tailandia (Sitthitanasin *et al.*, 2020) y Bulgaria (Bogatzevska *et al.*, 2021), donde *X. euvesicatoria* fue la especie predominante en el cultivo de chile.

En este estudio, *X. euvesicatoria* fue la especie más frecuente (87.1%) en las 39 cepas analizadas de campos de jitomate en Sinaloa. Similarmente, esta especie se ha reportado en campos con jitomate en Taiwán (Lue *et al.*, 2010), Canadá (Abbasi *et al.*, 2015), Nigeria (Jibrin *et al.*, 2018), Bulgaria (Bogatzevska *et al.*, 2021) y medio oeste de los EE. UU. (Rotondo *et al.*, 2022).

Xanthomonas perforans fue la segunda especie más común en nuestro estudio con un 10.6% de frecuencia en campos con jitomate y chile en Sinaloa. Esta especie se detectó previamente en campos con jitomate en Taiwán (Lue *et al.*, 2010), Canadá (Abbasi *et al.*, 2015), Australia (Roach *et al.*, 2018), Tailandia (Sitthitanasin *et al.*, 2020) y medio oeste de los EE. UU. (Rotondo *et al.*, 2022),

Xanthomonas vesicatoria fue la especie menos frecuente (6.4%) de las cepas aisladas de campos con jitomate y chile en Sinaloa, coincidiendo ampliamente con el estudio de Lue *et al.* (2010), quienes encontraron a esta especie en menor frecuencia y menos distribuida en campos de jitomate en Taiwán en comparación con *X. euvesicatoria* y *X. perforans*. Por el contrario, Bogatzevska *et al.* (2021) señalaron que *X. vesicatoria* fue la especie más frecuente y ampliamente distribuida en el mismo cultivo, en Bulgaria.

De las cepas de *X. euvesicatoria* que se aislaron de campos con chile en Sinaloa, se identificaron las

sampling date did not coincide with the presence of the pathogen. Meanwhile, races P6 and P10 were detected for the first time, whereas races P0 and P3 continue in the population of *Xanthomonas* spp. The predominant races in Sinaloa were P0, P6 and P8, unlike the year 2001, in which the predominant race was P3.

In the tomato crop in the fields of Sinaloa, races T1, T2, T3 and T5 of *Xanthomonas* were detected. Based on strain distribution and frequency data, in northern Sinaloa (Ahome and Guasave) races T1 and T3 are found; in the center of the state (Culiacán, Navolato and Elota), races T1, T2 and T3 were found, and in the south (Escuinapa), races T1, T2, T3 and T5, being races T1 and T3 the most predominant in the entire state (Figure 2). In the

razas P0, P3, P6, P8 y P10. De manera similar, estas razas también se han detectado en campos con chile en Bulgaria (Bogatzevska *et al.*, 2021). Mientras que, de las cepas aisladas de jitomate, se encontraron que seis fueron capaces de atacar a plantas de chile siendo las razas P0 y P8.

Comparando con los resultados previos obtenidos por Carrillo-Fasio *et al.* (2001), en el estudio de razas de *Xanthomonas* spp. en Sinaloa, se observó que después de más de 15 años; las razas P1 y P2 no se encontraron en este estudio debido a probablemente a que no están presentes en las zonas de producción muestreadas o que la fecha de muestreo no coincidió con la presencia del patógeno. Entretanto, las razas P6 y P10 se detectaron por primera vez; mientras que, las razas P0 y P3 continúan en

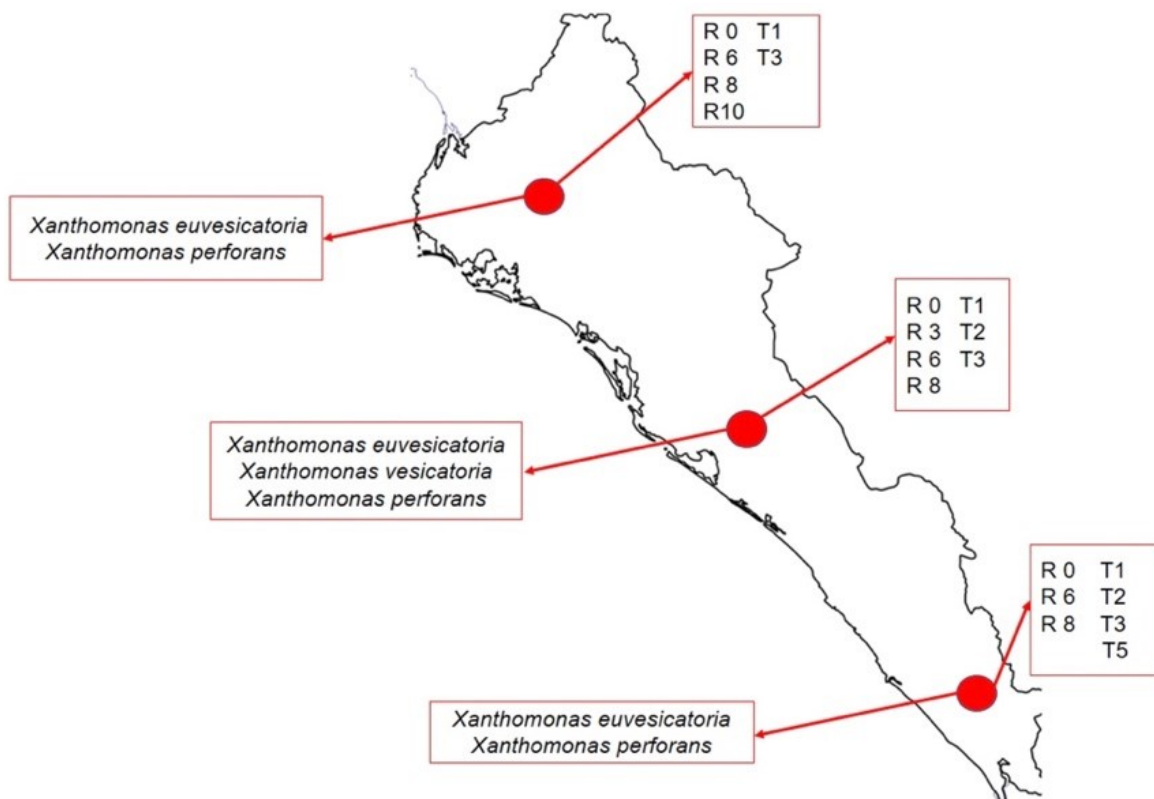


Figure 2. Distribution of species and races of *Xanthomonas* isolated from tomato and chili pepper in fields distributed throughout the state of Sinaloa, Mexico, during the 2016–2017 cycle.

Figura 2. Distribución de especies y razas de *Xanthomonas* aisladas de jitomate y chile en campos distribuidos en el estado de Sinaloa, México durante el ciclo 2016–2017.

case of chili pepper, the *Xanthomonas* spp. races were distributed as follows: in the north (Ahome and Guasave), the races found were P0, P6, P8 and P10; in the center (Culiacán, Navolato and Elota) P0, P3, P6 and P8; south (Escuinapa), P0, P6 and P8, with races P0, P6 and P8 being predominant in the entire country (Figure 2).

Along with the identification of *Xanthomonas* spp. using specific primers, there are studies that have analyzed DNA sequences and have carried out multilocus phylogenetic analyses to distinguish the various *Xanthomonas* species that infect tomato and chili peppers in several countries (Abbasi *et al.*, 2015; Schwartz *et al.*, 2015; Timilsina *et al.*, 2015; Roach *et al.*, 2018). Therefore, further phylogenetic studies with the sequencing of *Xanthomonas* spp. DNA to obtain more information on their origin and diversity in the state of Sinaloa and in other tomato and chili pepper producing states in Mexico.

CONCLUSIONS

The information produced in this study confirms that the species *X. euvesicatoria*, *X. perforans* and *X. vesicatoria* are found in tomato fields in the state of Sinaloa. Meanwhile, in chili pepper fields, *X. euvesicatoria* and *X. perforans* were found. In addition, the presence of races T1, T2, T3 and T5 was found in tomato, along with races P0, P3, P6, P8 and P10 in chili pepper. This is the first report of the presence of *X. perforans* in Mexico. Therefore, further studies are required to deposit representative sequences of each *Xanthomonas* species in the GenBank, understand the sensitivity of these strains to bactericides, as well as to generate data on epidemiology and the management of these phytopathogenic bacteria in Mexico. Likewise, it is important to point out that the presence of *X. gardneri* was not found.

la población de *Xanthomonas* spp. Las razas que predominaron en Sinaloa fueron P0, P6 y P8, a diferencia del año 2001, en el cual la raza predominante fue la P3.

En el cultivo de jitomate en campos de Sinaloa, se detectaron las razas T1, T2, T3 y T5 de *Xanthomonas*. Con base en datos de distribución y frecuencia de las cepas, al norte del estado de Sinaloa (Ahome y Guasave) se encuentran las razas T1 y T3; en el centro (Culiacán, Navolato y Elota) las razas T1, T2 y T3; al sur (Escuinapa) las razas T1, T2, T3 y T5, siendo las razas T1 y T3, las predominantes en todo el estado (Figura 2). En el caso de chile, las razas de *Xanthomonas* spp. se distribuyeron de la siguiente manera: al norte (Ahome y Guasave) se encontraron las razas P0, P6, P8 y P10; en el centro (Culiacán, Navolato y Elota) las razas P0, P3, P6 y P8; al sur (Escuinapa) las razas P0, P6 y P8; siendo las razas P0, P6 y P8 las predominantes en todo el estado (Figura 2).

Además de la identificación de *Xanthomonas* spp. mediante iniciadores específicos, existen algunos estudios que han analizado secuencias de ADN y realizado análisis filogenéticos multilocus para la distinción de las diversas especies de *Xanthomonas* que infectan a jitomate y chile en diversos países (Abbasi *et al.*, 2015; Schwartz *et al.*, 2015; Timilsina *et al.*, 2015; Roach *et al.*, 2018). Por lo que, se sugiere realizar posteriores estudios filogenéticos con secuencias de ADN de *Xanthomonas* spp. para obtener mayor información sobre su origen y diversidad genética en el estado de Sinaloa y en otros estados productores de jitomate y chile en México.

CONCLUSIONES

La información generada en este estudio confirmó que en campos con jitomate en el estado de Sinaloa se encuentran las especies *X. euvesicatoria*,

LITERATURE CITED

- Abbasi PA, Khabbaz SE, Weselowski B and Zhang L. 2015. Occurrence of copper-resistant strains and a shift in *Xanthomonas* spp. causing tomato bacterial spot in Ontario. *Canadian Journal of Microbiology* 61: 1–9. <https://doi.org/10.1139/cjm-2015-0228>
- Adhikari P, Adhikari TB, Louws FJ and Panthee DR. 2020. Advances and challenges in bacterial spot resistance raceing in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *International Journal of Molecular Sciences* 21: 1734. <https://doi.org/10.3390/ijms21051734>
- Bogatzevska N, Vancheva-Ebben T, Vasileva K, Kizheva Y and Moncheva P. 2021. An overview of the diversity of pathogens causing bacterial spot on tomato and chili pepper in Bulgaria. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 27(1): 137–146. <https://agrojournal.org/27/01-19.pdf>
- Bouzar H, Jones JB, Stall RE, Hodge NC, Minsavage GV, Benedict AA and Alvarez AM. 1994. Physiological, chemical, serological, and pathogenic analyses of worldwide collection of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* strains. *Phytopathology* 31: 753–755. <https://doi.org/10.1094/Phyto-84-663>
- Bouzar H, Jones JB, Somodi GC, Stall RE, Daouzli N, Lambe RC, Felix-Gastelum R and Trinidad-Correa R. 1996. Diversity of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in tomato and chili pepper fields of Mexico. *Canadian Journal of Plant Pathology* 18: 75–77. <http://dx.doi.org/10.1080/07060669609500659>
- Carrillo-Fasio JA, Sánchez-Bautista L, García-Estrada RS, Allende-Molar R y Márquez-Zequera I. 2001. Razas de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye. presentes en el estado de Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 19: 248–250. <https://www.redalyc.org/pdf/612/61219219.pdf>
- Hartman GL and Yang CH. 1990. Occurrence of three races of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* on chili pepper and tomato in Taiwan. *Plant Disease* 74: 252.
- Jibrin MO, Potnis N, Timilsina S, Minsavage GV, Vallad GE, Roberts PD, Jones GB and Goss EM. 2018. Genomic inference of recombination-mediated evolution in *Xanthomonas euvesicatoria* and *X. perforans*. *Applied and Environmental Microbiology* 84: e136–e118. <https://doi.org/10.1128/AEM.00136-18>
- Jibrin MO, Timilsina S, Minsavage GV, Vallad GE, Roberts PD, Goss EM and Jones JB. 2022. Bacterial spot of tomato and chili pepper in Africa: diversity, emergence of T5 race, and management. *Frontiers in Microbiology* 13:835647. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.835647>
- Jones JB, Lacy GH, Bouzar H, Stall RE and Schaad NW. 2004. Reclassification of *Xanthomonads* associated with bacterial spot disease of tomato and chili pepper. *Systematic and Applied Microbiology* 27: 755–762. <https://doi.org/10.1078/0723202042369884>
- X. perforans* y *X. vesicatoria*. Mientras que, en campos con chile se detectó a *X. euvesicatoria* y *X. perforans*. Además, se registró la presencia de las razas T1, T2, T3 y T5 para jitomate; así como, las razas P0, P3, P6, P8 y P10 para chile. Este es el primer reporte de la presencia de *X. perforans* en México. Por lo que se requiere de estudios posteriores para depositar secuencias representativas de cada especie de *Xanthomonas* en el GenBank, conocer la sensibilidad de estas cepas a bactericidas; además de, generar datos sobre epidemiología y manejo de estas bacterias fitopatógenas en México. Asimismo, es importante resaltar que no se detectó la presencia de *X. gardneri*.

~~~~~ Fin de la versión en Español ~~~~~

- Király Z, Kelman Z, Solymosy L and Voros J. 1974. *Methods in Plant Pathology*. With special reference to raceing for disease resistance. Elsevier Scientific Publishing Company. New York. pp. 153-166.
- Koike ST, Gladders P and Paulus AO. 2007. *Vegetable Diseases: A colour Handbook*. Manson Publishing, London, UK. 448 p.
- Kousik CS and Ritchie DF. 1995. Isolation of chili pepper races 4 and 5 of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* from diseased chili peppers in Southeastern U.S. fields. *Plant Disease* 79: 540.
- Lue YS, Deng WL, Wu YF, Cheng AS, Hsu ST and Tzeng KC. 2010. Characterization of *Xanthomonas* associated with bacterial spot of tomato and chili pepper in Taiwan. *Plant Pathology Bulletin* 19: 181–190.
- Obradovic A, Mavridis A, Rudolph K, Janse JD, Arsenijevic M, Jones JB, Minsavage GV and Wang JF. 2004. Characterization and PCR-based typing of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* from chili peppers and tomatoes in Serbia. *European Journal of Plant Pathology* 110: 285–292. <https://doi.org/10.1023/B:EJPP.0000019797.27952.1d>
- O'Garro LW. 1998. Bacterial spot of tomato and chili pepper on four East Caribbean islands: Races, their abundance, distribution, aggressiveness, and prospects for control. *Plant Disease* 82: 864–870.
- Potnis N, Timilsina S, Strayer A, Shantharaj D, Barak JD, Paret ML, Vallad GE, and Jones JB. 2015. Bacterial spot of tomato and chili pepper: diverse *Xanthomonas* species with a wide variety of virulence factors posing a worldwide challenge. *Molecular Plant Pathology* 16(9): 907–920. <https://doi.org/10.1111/mpp.12244>



- Quezado-Duval AM e Camargo LEA. 2004. Raças de *Xanthomonas* spp. associadas à mancha-bacteriana em tomate para processamento industrial no Brasil. *Horticultura Brasileira* 22(1):80–86.
- Roach R, Mann R, Gambley CG, Shivas RG and Rodoni B. 2018. Identification of *Xanthomonas* species associated with bacterial leaf spot of tomato, capsicum and chilli crops in eastern Australia. *European Journal of Plant Pathology* 150: 595–608. <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1303-9>
- Rotondo F, Bernal E, Ma X, Lewis Ivey ML, Sahin F, Francis DM and Miller SA. 2022. Shifts in *Xanthomonas* spp. causing bacterial spot in processing tomato in the Midwest of the United States. *Canadian Journal of Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1080/07060661.2022.2047788>
- Schaad NW, Jones JB and Chun W. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. American Phytopathological Society. St. Paul. Minnesota, USA.
- Schwartz AR, Potnis N, Timilsina S, Wilson M, Patané J, Martins JJr, Minsavage GV, Dahlbeck D, Akhunova A, Almeida N, Vallad GE, Barak JD, White FF, Miller SA, Ritchie D, Goss E, Bart RS, Setubal JC, Jones JB and Staskawicz BJ. 2015. Phylogenomics of *Xanthomonas* field strains infecting chili pepper and tomato reveals diversity in effector repertoires and identifies determinants of host specificity. *Frontiers in Microbiology* 6:535. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00535>
- Sharma S and Bhattarai K. 2019. Progress in developing bacterial spot resistance in tomato. *Agronomy* 9: 26. <https://doi.org/10.3390/agronomy9010026>
- Stall RE, Jones JB and Minsavage GV. 2009. Durability of resistance in tomato and chili pepper to xanthomonads causing bacterial spot. *Annual Review of Phytopathology* 47: 265–284. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081752>
- Sitthitanasin S, Korakngam C, Kanhayart T, Kositcharoenkul N, Patarapuwadol S, Kosiratana W and Watcharachaiyakup J. 2020. Characterization of *Xanthomonas* causing of bacterial leaf spot of tomato and chili pepper in Thailand. *Thai Agricultural Research Journal* 38(1): 80–89. <https://doi.org/10.14456/thaidoa-agres.2020.7>
- Timilsina S, Jibrin MO, Potnis N, Minsavage GV, Kebede M, Schwartz A, Bart R, Staskawicz B, Boyer C, Vallad GE, Pruvost O, Jones JB and Goss EM. 2015. Multilocus sequence analysis of xanthomonads causing bacterial spot of tomato and chili pepper plants reveals strains generated by recombination among species and recent global spread of *Xanthomonas gardneri*. *Appl Environmental Microbiology* 81:1520–1529. <https://doi.org/10.1128/AEM.03000-14>