



Artículo de revisión

Aspectos moleculares de la biosíntesis de la faseolotoxina producida por *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*

Alejandra Chacón-López¹, José Luis Hernández-Flores², Efigenia Montalvo-González¹, Selene Aguilera-Aguirre^{1*}, ¹Laboratorio Integral de Investigación en Alimentos/Laboratorio de Microbiología, Departamento de Química y Bioquímica, Instituto Tecnológico de Tepic, Avenida Tecnológico No. 2595, Col. Lagos del Country, Tepic, Nayarit, CP 63175, México. ²Departamento de Ingeniería Genética, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados Unidad Irapuato, km 9.6 Libramiento Norte Carr. Irapuato-León, Irapuato, Gto., CP 36821, México.

*Autor de
correspondencia:

Selene Aguilera Aguirre
saguilera@ittec.edu.mx

Sección:

Edición periódica

Recibido:

29 Agosto, 2024

Aceptado:

10 Diciembre, 2024

Publicado:

30 Diciembre, 2024

Adelantada, 2025

Cita:

Chacón-López A,
Hernández-Flores JL,
Montalvo-González E y
Aguilera-Aguirre S. 2025.
Aspectos moleculares
de la biosíntesis de la
faseolotoxina producida
por *Pseudomonas syringae*
pv. *phaseolicola*.
Revista Mexicana de
Fitopatología 43(1): 47.
[https://doi.org/10.18781/R.
MEX.FIT.2308-2](https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2308-2)



RESUMEN

Antecedentes/Objetivo. La faseolotoxina es producida por uno de los fitopatógenos más importantes y estudiados en el área agrícola: *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. Esta bacteria causa el tizón de halo, una enfermedad que devasta al cultivo del frijol. El éxito de *P. syringae* pv. *phaseolicola* está relacionado con su información genética que le permite sintetizar metabolitos deletéreos para su hospedero, como la faseolotoxina. El objetivo de la presente investigación fue analizar la base molecular del mecanismo de acción, la inmunidad, la genética involucrada en la biosíntesis de la faseolotoxina, las estrategias de diagnóstico molecular y las técnicas moleculares desarrolladas en México, para llevar a cabo el manejo del tizón de halo del frijol.

Materiales y Métodos. Se realizó la búsqueda y el análisis de la información científica más relevante respecto a la biosíntesis de faseolotoxina y los estudios moleculares de los factores de patogenicidad y virulencia de *P. syringae* pv. *phaseolicola* que han contribuido al desarrollo de estrategias moleculares enfocadas en el diagnóstico y manejo del tizón de halo en frijol.

Resultados. *P. syringae* pv. *phaseolicola* produce faseolotoxina, que es la responsable de la formación del halo clorótico característico del tizón de halo, esta toxina es un inhibidor de la OCTasa, una enzima que participa en la ruta de síntesis de arginina en frijol. Las regiones cromosómicas Pht y Pbo contienen genes involucrados en la síntesis e inmunidad de la faseolotoxina, y la expresión de estos genes está regulada por el sistema GacS/GacA y la temperatura. La identificación de

genes involucrados en la síntesis de factores de patogenicidad y virulencia, como la faseolotoxina, ha permitido el desarrollo de estrategias de diagnóstico y manejo de la enfermedad basadas en la amplificación de ADN y el uso de marcadores moleculares que facilitan la identificación de cultivares de frijol resistentes al patógeno.

Conclusión. Los estudios moleculares han contribuido al entendimiento de cómo el patovar *phaseolicola* produce faseolotoxina. Esta información ha sido esencial para entender cómo las bacterias han evolucionado de variantes no patogénicas a patogénicas; además, proporcionan información que permite desarrollar nuevas estrategias para un diagnóstico oportuno y contribuyen en las estrategias para el manejo del tizón de halo.

Palabras clave: Patogenicidad, Virulencia, Fitotoxinas, Transferencia Horizontal, Regulación genética.

INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris*) es un cultivo alimenticio y comercial de suma importancia a nivel mundial. Este cultivo se encuentra ampliamente adaptado a ambientes con temperaturas de crecimiento moderadas y su popularidad se origina porque es fácil de producir (Foyer *et al.*, 2016). Actualmente, la calidad, rendimiento y producción de este cultivo se ve afectado por numerosos problemas fitosanitarios, algunos generados por diversos microorganismos, que limitan la calidad de los productos agrícolas y son responsables de cuantiosas pérdidas económicas; además, representan una amenaza significativa para la seguridad alimentaria mundial (Sundin *et al.*, 2016). Dentro de estos microorganismos se encuentra *Pseudomonas syringae*, uno de los fitopatógenos más importantes para este y otros cultivos como jitomate, kiwi, tabaco, limón, avena, trigo, soya, pepino, arroz, entre otros (Chen *et al.*, 2022). La especie *syringae* incluye 62 patovares, dependiendo del hospedero al que infectan y entre ellos se encuentran la mayoría de los fitopatógenos del género *Pseudomonas* (Bull *et al.*, 2010). El éxito de un fitopatógeno para infectar, colonizar e inducir una serie de síntomas en su hospedero, está directamente relacionado con su información genética. Esta información, representada por los genes, le permite sintetizar y secretar metabolitos deletéreos para la planta (Lamichhane *et al.*, 2015). Los diversos patovares de *P. syringae* son reconocidos por producir un amplio espectro de metabolitos que actúan como factores de patogenicidad y virulencia; entre ellos se encuentran las fitotoxinas, que dañan directamente las células de las plantas e influyen en el desarrollo de la enfermedad. *P. syringae* pv. *phaseolicola*, es el agente causal de la enfermedad del

tizón de halo del frijol, la cual puede ser devastadora, especialmente cuando persisten las condiciones ambientales adversas. La presencia de un halo clorótico que caracteriza a esta enfermedad es justamente ocasionada por la faseolotoxina, una fitotoxina producida por *P. syringae* pv. *phaseolicola* (Arrebola *et al.*, 2011). La genética relacionada con la síntesis de las fitotoxinas ha cobrado notable importancia, ya que los genes que codifican para las enzimas involucradas en el ensamblaje, la maduración e incluso, las necesarias para la secreción, se encuentran agrupados en fragmentos cromosómicos conocidos como islas genómicas. Estas islas contienen todos los elementos necesarios para transferirse de manera horizontal entre los diferentes patovares. Esto es de gran relevancia, dado que a través de estos mecanismos de transferencia genética, las bacterias adquieren nuevas habilidades patogénicas (Melnyk *et al.*, 2019). El avance en el estudio genético de los factores de patogenicidad y virulencia, como son las fitotoxinas, favorece la comprensión de cómo los patógenos adquieren y producen el arsenal molecular necesario para el desarrollo de las enfermedades en los sistemas vegetales (Ichinose *et al.*, 2013).

Considerando que cada patovar de *P. syringae* produce una diversidad de fitotoxinas, esta revisión se enfocará en el análisis uno de esos casos: la genética involucrada en biosíntesis de la faseolotoxina producida por el patovar *phaseolicola* y su participación en el desarrollo del tizón de halo del frijol. Esta información contribuye esencialmente al entendimiento de cómo esta bacteria fitopatógena ha adquirido genes necesarios para sintetizar la faseolotoxina y cómo ha coordinado su sistema de regulación endógeno para este propósito. Adicionalmente, se analiza el potencial que han tenido este tipo de estudios genéticos para el desarrollo de estrategias destinadas al diagnóstico y manejo oportuno de las enfermedades.

P. syringae* pv. *phaseolicola

El tizón de halo es una de las principales enfermedades que afecta al cultivo de frijol y es causada por la bacteria *P. syringae* pv. *phaseolicola*. Esta bacteria persiste en la semilla y se activa después de su germinación; puede sobrevivir como parásito dentro del tejido vegetal y como epífita sobre la superficie de las hojas. La bacteria se ha observado en la mayoría de las regiones productoras de frijol en todo el mundo y se ha convertido en un fitopatógeno altamente destructivo para este cultivo, generando pérdidas que oscilan entre el 50 y 100 % de la producción (Arnold *et al.*, 2011; Lépiz-Ildefonso *et al.*, 2015). La bacteria se puede presentar en los diferentes estados fenológicos afectando hojas, tallo, vainas y semillas. En hojas, se observa la aparición pequeñas lesiones acuosas que posteriormente se vuelven necróticas; aproximadamente una semana después de la infección, una o más lesiones son rodeadas por un halo clorótico (Figura 1A y B). También en las vainas se desarrollan lesiones acuosas y hundidas de color marrón rojizo (Figura 1

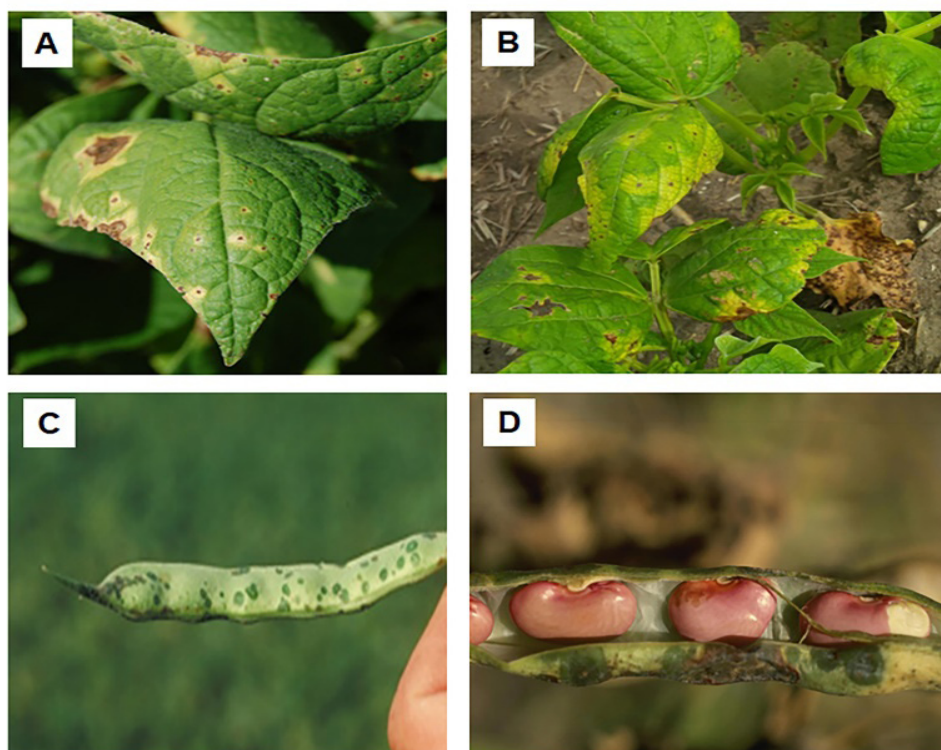


Figura 1. Síntomas producidos por *P. syringae* pv. *phaseolicola* en el frijol. A y B, Síntomas en las hojas. C y D, Síntomas en las vainas. Fuente: Adaptada de Schwartz, 2008; Harveson, 2009.

C y D). Las infecciones de las vainas pueden transferirse a las semillas, causando que se contraigan, decoloren o sean más pequeñas de lo normal. La bacteria se desarrolla en un rango de 28-30 °C con una humedad relativa mayor al 80 %; sin embargo, a temperaturas que oscilan entre los 18 y 20 °C se presentan síntomas más severos. El descenso de la temperatura induce la producción de faseolotoxina, que es la responsable de la formación del halo clorótico y del amarillamiento característico que se observa durante el desarrollo de la enfermedad (Arnold *et al.*, 2011; Xin *et al.*, 2018).

La faseolotoxina y su mecanismo de acción

Desde el punto de vista químico, la estructura de la faseolotoxina es inusual y tiene dos componentes distintos: un residuo inorgánico, N^δ- (N'-Sulfodiaminofosfinil) y un tripéptido, L-ornitil-alanil-homoarginina (Figura 2) (Arrebola *et al.*, 2011). Esta toxina actúa como un inhibidor reversible de la enzima ornitina carbamoiltransferasa (OCTasa EC 2.1.3.3.), codificada por el gen *argF*. La OCTasa cataliza la conversión de ornitina y carbamoilfosfato a citrulina en la ruta de la síntesis

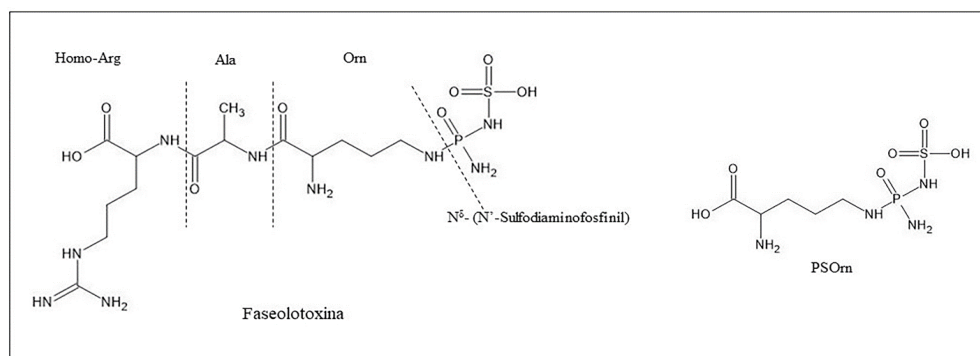


Figura 2. Estructura de la faseolotoxina y PSOrn, producto de la degradación de la faseolotoxina por peptidasas de la planta.

de arginina. Dentro de la célula vegetal, la faseolotoxina se hidroliza por la acción de peptidasas para producir N^δ-(N^ε-sulfodiaminofosfinil)-L-ornitina (denominada octidina o PSOrn), que es un inhibidor irreversible de la OCTasa y que es la forma predominante en la que se encuentra la toxina en plantas de frijol infectadas (Sawada *et al.*, 2002). Esta inhibición provoca una acumulación de ornitina y una deficiencia de arginina. A medida que la toxina se difunde a través del tejido foliar, altera la síntesis de la clorofila, causando clorosis e inhibición del crecimiento en tejidos vegetales y finalmente, ocasiona la muerte de las células del huésped. Adicionalmente, la invasión sistémica de la planta se ve facilitada por el efecto de la faseolotoxina, de manera que contribuye significativamente a la virulencia del patógeno (Arnold *et al.*, 2011).

Originalmente, la faseolotoxina se consideró restringida a *P. syringae* pv. *phaseolicola*; sin embargo, también es producida por el patovar *actinidiae* que infecta al kiwi (*Actinidia chinensis*) (Fujikawa y Sawada, 2019), y por una cepa del patovar *syringae*, aislada de *Vicia sativa* (Tourte y Manceau, 1995). Diversos aislamientos pertenecientes al patovar *phaseolicola* sintetizan faseolotoxina cuando se cultivan a 18-20 °C, aunque su grado de producción puede variar entre aislamientos. Por otro lado, también se han identificado cepas pertenecientes al patovar *phaseolicola* que son incapaces de producirla, ya que carecen de todos o parte de los genes necesarios para su síntesis (Gonzalez *et al.*, 2003).

Inmunidad a la faseolotoxina

Inicialmente, fue un misterio determinar cómo *P. syringae* pv. *phaseolicola* era inmune a su propia toxina. El efecto tóxico de la faseolotoxina era evidente ya que no solo inhibe a la OCTasa del frijol, sino a una gran variedad de OCTasas vegetales y bacterianas e incluso de mamíferos (Bender *et al.*, 1999). En estos organismos

causa un fenotipo de auxotrofia a arginina, que es aliviado añadiendo arginina o citrulina al medio de cultivo. En contraste, cepas de *P. syringae* pv. *phaseolicola* productoras de faseolotoxina, son insensibles a su toxina y no requieren de suplementos de arginina o citrulina. Todo se esclareció cuando se identificó y caracterizó el gen *argK*, que codifica para una OCTasa resistente a la faseolotoxina (Mosqueda *et al.*, 1990). De esta manera, se observó que *P. syringae* pv. *phaseolicola* presenta dos actividades de OCTasa, una sensible a la toxina que se produce a 28 °C y, la actividad de la OCTasa resistente, que garantiza el suministro óptimo de la arginina requerida para el crecimiento bacteriano, bajo las condiciones de síntesis de faseolotoxina (Lopez-Lopez *et al.*, 2004). El conocimiento acerca de la resistencia bacteriana al efecto de sus toxinas se ha utilizado en varias estrategias para desarrollar plantas resistentes. Para el caso de la faseolotoxina, *argK* ha sido utilizado como transgen en plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) y ha tenido éxito en el desarrollo de plantas resistentes al efecto de la faseolotoxina (De la Fuente-Martinez *et al.*, 1992). Estudios como estos pueden extrapolarse a otros cultivos de interés agronómico, permitiendo generar cultivares resistentes al ataque de los patógenos.

La genética detrás de la biosíntesis de faseolotoxina

Diversos estudios se han enfocado en la química de la faseolotoxina, el modo de acción y su contribución a la patogenicidad, pero se sabe poco sobre su biosíntesis. A través de los análisis genéticos, se ha aportado información relevante para dilucidar cómo se sintetiza esta toxina. El primer indicio de los genes involucrados en la síntesis fue la identificación y caracterización de *amtA* y *desI*, estos genes codifican para una amidinotransferasa y una desaturasa de ácidos grasos, respectivamente (Hernandez-Guzman y Alvarez-Morales, 2001; Zhang y Patil, 1997). Actualmente, se cuenta con la descripción y el análisis de una región de 30,245 pb del cromosoma de *P. syringae* pv. *phaseolicola* NPS3121, denominada Región Pht (Figura 3A), la cual contiene 23 genes necesarios para la síntesis de faseolotoxina, incluyendo los genes *argK*, *amtA* y *desI* (Aguilera *et al.*, 2007). La Región Pht está delimitada por secuencias de inserción y transposasas, sugiriendo que este fragmento constituye una isla genómica que pudo ser adquirida a través de eventos de transferencia horizontal (Murillo *et al.*, 2011). La función precisa de los genes codificados dentro de la región Pht permanece incierta y solamente algunos de estos genes han sido estudiados más a fondo (Aguilera *et al.*, 2012; Arai y Kino, 2008; Chen *et al.*, 2015; Gonzalez-Villanueva *et al.*, 2014). De esta manera, ha sido posible asignarles una función en el proceso de síntesis y regulación de la faseolotoxina (Cuadro 1).

La faseolotoxina se compone de un tripéptido y se ha propuesto que su síntesis es a través de un mecanismo denominado síntesis no ribosómica de péptidos. En este proceso participan complejos enzimáticos como las péptido sintetetas no ribosomales (NRPS; por sus siglas en inglés, *Non-ribosomal Peptide Synthetases*) y/o las

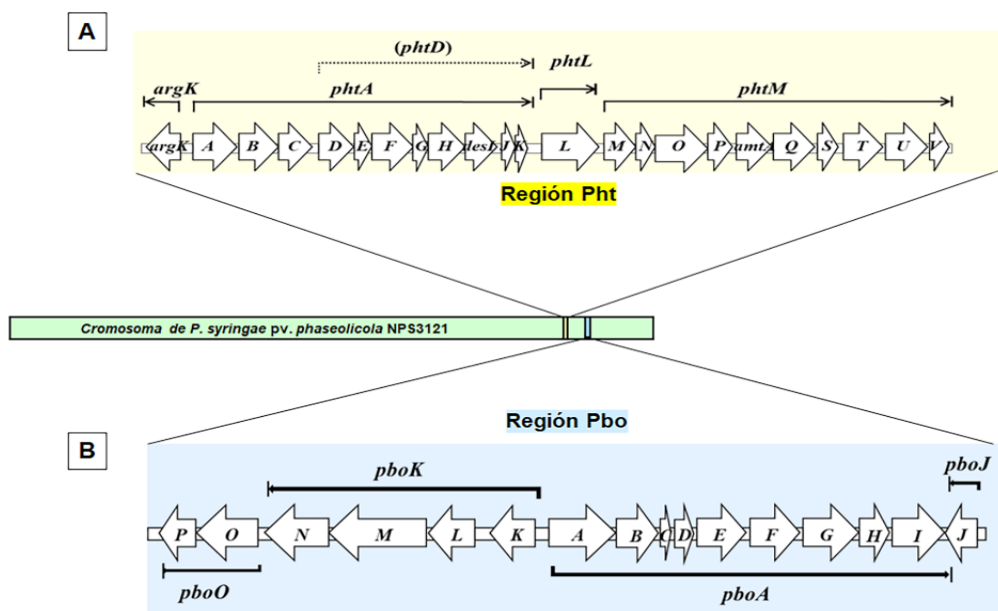


Figura 3. Representación gráfica de las Regiones Pht y Pbo en el cromosoma de *P. syringae* pv. *phaseolicola*. A, Operones de la Región Pht. B, Operones de la Región Pbo. Cada flecha representa cada gen, la dirección de la flecha indica la dirección de la transcripción.

Cuadro 1. Función de genes *pht* involucrados en la síntesis de faseolotoxina.

Gen	Proteína codificada	Función	Referencia
<i>argK</i>	Ornitina carbamoil transferasa	Catalizar la reacción entre el carbamoil fosfato y la ornitina para formar citrulina bajo condiciones de síntesis de faseolotoxina.	Lopez-Lopez <i>et al.</i> , 2004
<i>amtA</i>	Amidino transferasa	Catalizar la reacción de transferencia reversible de grupos amidino para sintetizar L-homoarginina.	Hernandez-Guzman y Alvarez-Morales, 2001
<i>desI</i>	Desaturasa de ácidos grasos	Deshidrogenar ácidos grasos, creando dobles enlaces entre carbono-carbono; percepción de la temperatura.	Zhang y Patil, 1997
<i>phtU</i>	L-aminoácido ligasa	Catalizar la condensación de aminoácidos.	Arai y Kino, 2008
<i>phtQ</i>	Péptido ligasa	Catalizar la formación de enlaces peptídicos.	Chen <i>et al.</i> , 2015
<i>phtL</i>	Piruvato fosfato dicinasa	Transferir grupos fosfato del pirofosfato y del fosfoenolpiruvato a una molécula de AMP para sintetizar ATP, fosfato y piruvato.	Gonzalez-Villanueva <i>et al.</i> , 2014
<i>phtA</i>	Nucleósido trifosfato hidrolasa	Hidrolizar el enlace beta-gamma fosfato de un nucleósido trifosfato.	Aguilera <i>et al.</i> , 2012

policétido sintetasa (PKS, por sus siglas en inglés, *Polyketide Synthases*). El gen PSPPH_4550, identificado como una NRPS, participa en la síntesis de faseolotoxina (De la Torre-Zavala *et al.*, 2011). De manera interesante, el gen PSPPH_4550 se encuentra codificado fuera de la Región Pht y es parte de otra isla genómica,

denominada Región Pbo. Este fragmento contiene 16 genes (Figura 3B) y algunos de ellos, codifican para NRPS o PKS (Cuadro 2), sugiriendo su participación en la síntesis del tripéptido (Guardado-Valdivia *et al.*, 2021).

Cuadro 2. Predicción de la función de genes *pbo* involucrados en la síntesis de faseolotoxina.

Gen	Proteína codificada	Función	Referencia
<i>pboO</i>	Sintetasa c	Formar enlaces amida en el proceso de síntesis de péptidos no ribosomales.	Guardado-Valdivia <i>et al.</i> , 2021
<i>pboM</i>	Cetoacil transferasa	Catalizar las elongaciones de ácidos grasos en la síntesis de policétidos.	Guardado-Valdivia <i>et al.</i> , 2021
<i>pboA</i>	Enzima de unión a AMP	Condensar y adenilar en el proceso de síntesis de péptidos no ribosomales.	De la Torre-Zavala <i>et al.</i> , 2011
<i>pboB</i>	Cetoacil sintasa	Catalizar la condensación de Claisen descarboxiladora de ácidos grasos en la síntesis de policétidos.	Guardado-Valdivia <i>et al.</i> , 2021
<i>pboC</i>	Dominio de unión de fosfopanteína	Unir aminoácidos y ácidos grasos activados en la síntesis de péptidos no ribosomales.	Guardado-Valdivia <i>et al.</i> , 2021

A la fecha, múltiples genes involucrados en la síntesis de faseolotoxina han sido identificados (Cuadro 1 y 2), y se han asignado funciones a algunos de ellos; sin embargo, aún queda mucho trabajo para dilucidar la función del resto de los genes y especialmente, cuáles son los genes involucrados en sintetizar el componente inorgánico de dicha toxina.

Regulación de la síntesis de faseolotoxina

Es evidente que los fitopatógenos requieren de mecanismos genéticos que les concedan la habilidad de adaptarse en respuesta a las condiciones en las que se encuentran. En bacterias fitopatógenas, los sistemas de regulación de dos componentes permiten la adaptación a diferentes condiciones en respuesta a las señales ambientales, transfiriendo la señal a factores de transcripción, los cuales activan la expresión de genes (Sultan *et al.*, 2021). *P. syringae* pv. *phaseolicola* posee diversos sistemas de dos componentes; sin embargo, el sistema GacS/GacA es de gran importancia por su papel en el control de determinantes de virulencia y patogenicidad, adecuación ecológica, sistemas de *Quorum sensing* (*Qs*), y la síntesis de diversos metabolitos secundarios (Latour, 2020). El sistema GacS/GacA, controla a todos los genes conocidos hasta ahora, involucrados en la síntesis y regulación de la faseolotoxina en *P. syringae* pv. *phaseolicola* NPS3121 (De la Torre-Zavala *et al.*, 2011; Ramirez-Zapata *et al.*, 2020). Otros reguladores globales, como el factor transcripcional IHF, también participa en este proceso. La función de IHF como

regulador de la expresión de factores virulencia ha sido extensamente reportado (Arvizu-Gomez *et al.*, 2011; Reverchon *et al.*, 2021). Estos hallazgos revelan que algunos genes que se adquieren a través de eventos de transferencia horizontal, pueden ser integrados a los sistemas de regulación global preexistentes (Redondo-Salvo *et al.*, 2020). En este sentido, los genes involucrados en la biosíntesis de la faseolotoxina no fueron la excepción.

Para *P. syringae* pv. *phaseolicola* NPS3121, el descenso de la temperatura también es un factor determinante en la producción de la faseolotoxina. Este cambio controla la transcripción de los genes *pht* y *pbo* (Aguilera *et al.*, 2007; Guardado-Valdivia *et al.*, 2021). La información recopilada hasta el momento, permite proponer un modelo de señalización y regulación de la biosíntesis de la faseolotoxina en *P. syringae* pv. *phaseolicola* NPS3121 (Figura 4), en el cual se representa de manera esquemática el estímulo y la cascada de señalización responsable de desencadenar la síntesis de faseolotoxina.

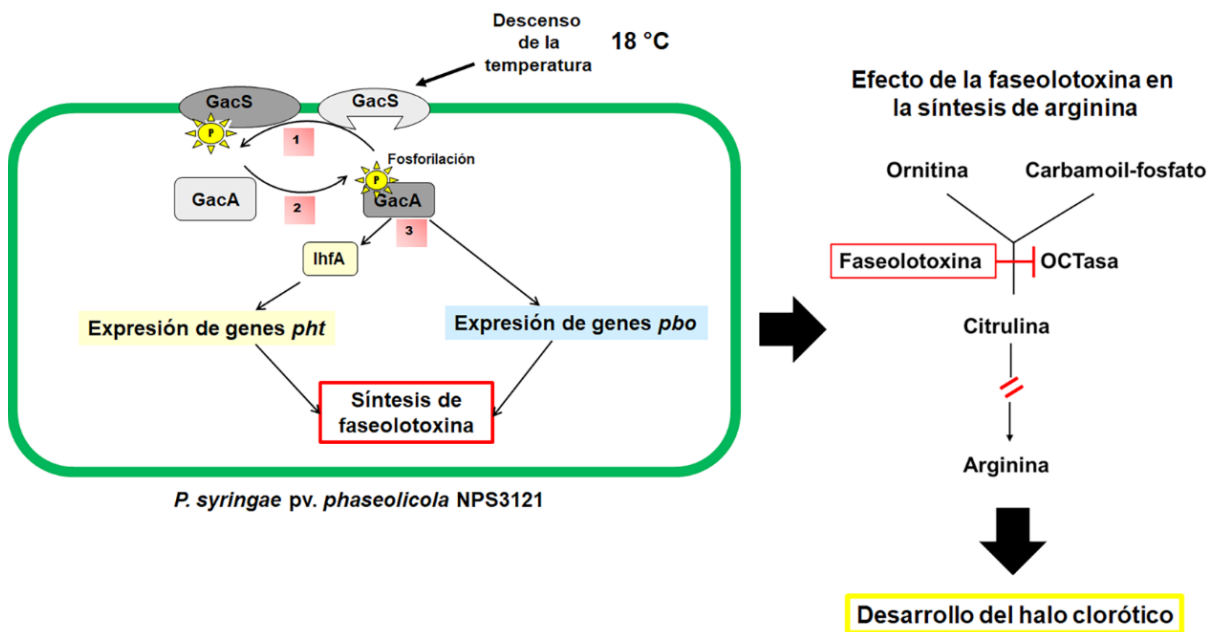


Figura 4. Modelo de señalización, regulación y efecto de la biosíntesis de la faseolotoxina producida por *P. syringae* pv. *phaseolicola* NPS3121. La temperatura se percibe por el sensor membranal GacS, que como consecuencia se autofosforila (1). GacS fosforilado transfiere el fosfato al regulador de respuesta GacA (2). GacA controla la expresión de los genes *pht*, mediada por el regulador IHF. GacA también controla la transcripción de los genes *pbo* (3). Finalmente, se sintetiza la faseolotoxina, que inhibe a la OCTasa del frijol, impidiendo la síntesis de arginina. Consecuentemente, se desarrolla el halo clorótico.

Transferencia de las Regiones Pht y Pbo entre patovares

En bacterias, la transferencia horizontal de genes a través de elementos genéticos accesorios como plásmidos, transposones, profagos o islas genómicas les permite adquirir y expresar genes provenientes de una amplia gama de especies (Carraro *et al.*, 2017). Se ha sugerido que Región Pht constituye una isla genómica que *P. syringae* adquirió mediante mecanismos de transferencia horizontal. Esto se ha sustentado dada la similitud de la organización y la secuencia de las diferentes versiones de la Región Pht identificadas en los patovares *phaseolicola* y *actinidae*, que denotan claramente un origen común y una funcionalidad conservada (Murillo *et al.*, 2011). Adicionalmente, el hallazgo de cepas de *P. syringae* pv. *phaseolicola* carentes de la Región Pht, ha dado sustento a esta propuesta (Gonzalez *et al.*, 2003). En lo referente a la Región Pbo, también comprende otra isla genómica. A pesar de que ambas islas participan en la síntesis de la faseolotoxina, no existe una correlación entre la posesión de la Región Pbo y la Región Pht, sugiriendo que su adquisición se llevó a cabo de manera independiente y una vez que fueron adquiridas, se incorporaron en el cromosoma de *P. syringae* pv. *phaseolicola*, quedando bajo control de los sistemas de regulación global preexistentes (De la Torre-Zavala *et al.*, 2011; Guardado-Valdivia *et al.*, 2021). Las bacterias patogénicas han evolucionado a partir de organismos relacionados no patogénicos, debido a la adquisición de material genético que codifica para múltiples factores de patogenicidad y virulencia. En lo que se refiere a los patovares de *P. syringae*, es importante comprender cómo los mecanismos de movilidad genética han contribuido a su patogenicidad y virulencia, porque finalmente, esto es lo que ha convertido a esta especie, en una de las 10 bacterias fitopatógenas más importantes a nivel mundial (Mansfield *et al.*, 2012). En lo que se refiere al patovar *phaseolicola*, los estudios sobre la genética molecular de su interacción con el frijol y la evolución de su patogenicidad y virulencia, han contribuido con importantes descubrimientos en el campo de las interacciones planta-microorganismo, por lo que actualmente *P. syringae* pv. *phaseolicola* es considerada un modelo de estudio de la interacción molecular planta-patógeno (Arnold *et al.*, 2011).

Estrategias de detección molecular de *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*

Uno de los requerimientos más importantes para manejar las enfermedades en las plantas es la identificación oportuna del agente causal. Actualmente, existen técnicas biotecnológicas que aceleran la obtención de resultados y han permitido la identificación oportuna de bacterias fitopatógenas. Adicionalmente, han complementado los procesos tradicionales de diagnóstico como la examinación visual, cultivo del patógeno, la microscopía y las pruebas de patogenicidad.

En lo que se refiere a la detección e identificación de *P. syringae* pv. *phaseolicola*, se han desarrollado diversas estrategias moleculares, con la finalidad de llevar a cabo una detección precisa y oportuna. Dentro de las primeras estrategias reportadas, se encuentran los ensayos de inmunoadsorción ligado a enzima (ELISA, por sus siglas en inglés, *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). Los antisueros obtenidos reconocieron de manera específica al patovar *phaseolicola*, sin mostrar reacción cruzada con otros patovares de *P. syringae* (Wyatt *et al.*, 1989). En esa misma época, se desarrolló una estrategia basada en la hibridación de sondas de ADN que portaban genes involucrados en la síntesis de la faseolotoxina. Esta técnica permitió la detección e identificación del patovar *phaseolicola* a partir de semillas y de muestras maceradas de tejidos con lesiones (Schaad *et al.*, 1989).

Con el desarrollo de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés, *Polymerase Chain Reaction*), se implementaron estrategias para detectar e identificar múltiples fitopatógenos y *P. syringae* pv. *phaseolicola* no fue la excepción. Para esto, se diseñaron oligonucleótidos específicos a partir de las secuencias disponibles de genes involucrados en la biosíntesis de faseolotoxina (Mosqueda-Cano y Herrera-Estrella, 1997; Schaad *et al.*, 1995; Schaad *et al.*, 2007). En el Cuadro 3 se describen algunos de los oligonucleótidos empleados para la identificación y las regiones que amplifican.

Cuadro 3. Oligonucleótidos usados para identificar cepas de *P. syringae* pv. *phaseolicola* productoras de faseolotoxina.

Nombre	Secuencia	Blanco	Referencia
BRL519 BRL520	TTCATTCAAACCTCGCCCGTGTG TGAAAGGAGCCGCCGAAACTATTG	<i>amtA</i>	Aguilera <i>et al.</i> , 2007
PA5.1 PA3.1	AGCTTCTCCTCAAAACACCTGC TGTTGCCAGAGGCAGTCATG	<i>desI</i>	Schaad <i>et al.</i> , 1995
62a 63a	CAATGAAGATTACAAGCCTG GCTAGCTATCAGGGGACGAC	<i>argK</i>	Mosqueda-Cano y Herrera-Estrella, 1997
P3004L P3004R	CTGTCTGGCAGCCACTACAAAG GGCTGCAAATTGTGGGATTT	Región Tox-	Rico <i>et al.</i> , 2006
AVR1-F AVR1-R	CCGCCGTAGCAGGGCTTCAC GGACCAATCTCTTTTCTCAA	<i>phtL</i>	Gonzalez <i>et al.</i> , 2003
PHTE-F PHTE-R	AATATAGGCTTCAACTTCCTC CCAGGTCAACTCACTTCCG	<i>phtE</i>	Gonzalez <i>et al.</i> , 2003
P25156 Ptx115c	GCAAAAACGAAAACACCAGGCT ATCGCGCTGATCCGGAAAGG	<i>phtA</i>	Aguilera <i>et al.</i> , 2017
P12556 P11311	TCCGGTTATCGCTTCAGGTCG GCAGTTTCTGATCTTGGGCC	<i>phtM-N</i>	Aguilera <i>et al.</i> , 2017

Es importante considerar la existencia de aislados de *P. syringae* pv. *phaseolicola* que no producen faseolotoxina y por lo tanto, no se pueden detectar utilizando estos oligonucleótidos (Rico *et al.*, 2006). Además, la producción de faseolotoxina no es una característica específica de patovar *phaseolicola*, por lo que estos ensayos también podrían detectar otros patovares (Tamura *et al.*, 2002). De acuerdo con esto, se han diseñado nuevas metodologías; por ejemplo, la PCR en tiempo real TaqMan, en la que se emplearon oligonucleótidos específicos, basados en el gen de la recombinasa específica de sitio. A través de esta estrategia se lograron diferenciar entre cepas de *P. syringae* pv. *phaseolicola* productoras y no productoras de faseolotoxina (Cho *et al.*, 2010). Otra técnica de amplificación de ADN, conocida como amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP; por sus siglas en inglés, *Loop-Mediated Isothermal Amplification*), ha sido adaptada para facilitar la caracterización e identificación rápida y específica del patovar *phaseolicola* (Li *et al.*, 2009). El diagnóstico molecular de *P. syringae* pv. *phaseolicola* es fundamental para el manejo eficaz del tizón de halo en cultivos de frijol. Aunque el diagnóstico molecular puede ser más costoso y requiere de infraestructura especializada, su alta precisión, rapidez y capacidad para detectar infecciones de manera temprana y cuantitativa, hacen que sea una herramienta indispensable en la lucha contra este patógeno. Con el tiempo, se espera que las tecnologías de diagnóstico molecular continúen mejorando y se hagan más accesibles, lo que permitirá un manejo más eficiente de las enfermedades bacterianas en la agricultura.

Estrategias moleculares para el manejo del tizón de halo del frijol. Una alternativa para la agricultura en México

En México, el manejo del tizón de halo en frijol se ha convertido en un desafío para los productores debido a la naturaleza agresiva de la enfermedad y la capacidad de propagación rápida (Félix-Gastélum *et al.*, 2016). *P. syringae* pv. *phaseolicola* se encuentra ampliamente distribuida en el país (Figura 5), por lo que es un riesgo para la producción nacional de frijol (Félix-Gastélum *et al.*, 2016; Jiménez-Hernández *et al.*, 2023; Navarrete y Acosta-Gallegos, 2000; Quiñones-Aguilar *et al.*, 2018). Es por esto que para el manejo del tizón de halo, se han desarrollado estrategias como la aplicación de antibióticos agrícolas, la eliminación de residuos de la cosecha, la rotación de cultivos o el empleo de variedades de frijol resistentes; entre otras (Schwartz *et al.*, 2005). Con la combinación de estas medidas ha sido posible controlar el desarrollo de la enfermedad; sin embargo, no ha sido suficiente.

A partir de los avances en la Biotecnología, las estrategias moleculares han emergido como una herramienta poderosa que pueden complementar las estrategias convencionales y lograr un manejo más eficiente y sostenible de los patógenos. La resistencia genética es una de las estrategias más efectivas para controlar las



Figura 5. Mapa representativo de la distribución de *P. syringae* pv. *phaseolicola* en México. Los estados marcados con color amarillo indican la presencia de esta bacteria.

enfermedades en las plantas. En México, el uso de marcadores moleculares ha favorecido la identificación de variedades de frijol, como Flor de Mayo M38, San Rafael, Pinto Laguna 80 y Pinto Saltillo, que muestran resistencia contra *P. syringae* pv. *phaseolicola* (Jiménez-Hernández *et al.*, 2023). A pesar de esto, la resistencia en las variedades comerciales disponibles en México sigue siendo limitada, por lo que el desarrollo de nuevas variedades resistentes, mediante técnicas moleculares novedosas como la edición genética CRISPR/Cas9 (Thomas *et al.*, 2024), podría representar una alternativa para introducir de manera específica, genes de resistencia en las variedades de frijol. Adicionalmente, las tecnologías basadas en las llamadas “ciencias ómicas”, ofrecen información valiosa para comprender la interacción de *P. syringae* pv. *phaseolicola* con el frijol. Los análisis proteómicos de las variedades de frijol resistentes al tizón de halo, aportan información para entender la naturaleza de esa resistencia (Cooper *et al.*, 2020; Oblessuc *et al.*, 2022), además de generar información que podría ser utilizada para desarrollo de estrategias de control, basadas en los análisis de marcadores genéticos y proteicos de dichas variedades. El uso de bacteriófagos en el control biológico también es una alternativa prometedora y ecológica para el control de bacterias patógenas. En el 2018, Quiñones-Aguilar y cols., aislaron bacteriófagos nativos del estado de Zacatecas y evaluaron su actividad lítica contra cepas virulentas de *P. syringae* pv. *phaseolicola*.

la. De esta manera, se identificó un bacteriófago capaz de disminuir hasta un 60% el daño provocado por el patovar *phaseolicola* en ejotes (Quiñones-Aguilar *et al.*, 2018). En México, las técnicas moleculares enfocadas en el manejo del tizón de halo y demás enfermedades en los cultivos, son limitadas, por lo que es necesario impulsar el desarrollo de nuevas estrategias que complementen el manejo del tizón de halo del cultivo de frijol en la agricultura mexicana.

CONCLUSIONES

Pseudomonas syringae pv. *phaseolicola* es una especie bacteriana con gran capacidad patogénica, por tal motivo, se ha convertido en un modelo de estudio para la comprensión de la interacción molecular planta-patógeno. Las regiones Pht y Pbo, que contienen genes involucrados en la biosíntesis de la faseolotoxina, juegan un papel clave en el desarrollo del tizón de halo. Las evidencias sustentan que la adquisición de las regiones Pht y Pbo se llevó a cabo a través de eventos de transferencia horizontal, una actividad común entre los fitopatógenos. De esta manera, adquieren material genético foráneo y lo controlan a través de su sistema de regulación endógeno; que para el caso de los genes *pht* y *pbo*, fueron incorporados a la regulación global del sistema de dos componentes, GacS/GacA y del regulador IHF. Para *P. syringae* pv. *phaseolicola*, la adquisición de las Regiones Pht y Pbo ha sido un evento favorable, ya que le permitió aumentar su grado de virulencia, de manera que el resultado de esta nueva habilidad es devastar con mayor eficiencia al cultivo de frijol. Los estudios a nivel molecular de los factores de patogenicidad y virulencia de *P. syringae* pv. *phaseolicola*, como es el caso de la faseolotoxina, ofrecen información valiosa para el diseño de estrategias de diagnóstico y manejo del tizón de halo. El desarrollo de nuevas estrategias moleculares favorecerá el diagnóstico temprano, la identificación de nuevas cepas patógenas y el desarrollo de cultivos resistentes, lo que a su vez reducirá el impacto económico de las enfermedades en cultivos de importancia agronómica como el frijol.

REFERENCIAS

- Aguilera S, De la Torre-Zavala S, Hernandez-Flores JL, Murillo J, Bravo J and Alvarez-Morales A. 2012. Expression of the gene for resistance to phaseolotoxin (*argK*) depends on the activity of genes *phtABC* in *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. PLoS One 7(10): e46815. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046815>
- Aguilera S, Lopez-Lopez K, Nieto Y, Garciduenas-Pina R, Hernandez-Guzman G, Hernandez-Flores JL, Murillo J and Alvarez-Morales A. 2007. Functional characterization of the gene cluster from *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* NPS3121 involved in synthesis of phaseolotoxin. Journal of Bacteriology 189(7): 2834-2843. <https://doi.org/10.1128/JB.01845-06>

- Akbari-Kiarood SL, Rahnama K, Golmohammadi M and Nasrollanejad S. 2020. *Quorum quenching* endophytic bacteria inhibit disease caused by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* in Citrus cultivars. *Journal of Basic Microbiology* 60(9): 746-757. <https://doi.org/10.1002/jobm.202000038>
- Arai T and Kino K. 2008. A novel L-amino acid ligase is encoded by a gene in the phaseolotoxin biosynthetic gene cluster from *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* 1448A. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 72(11): 3048-3050. <https://doi.org/10.1271/bbb.80439>
- Arnold DL, Lovell HC, Jackson RW and Mansfield JW. 2011. *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*: from 'has bean' to supermodel. *Molecular Plant Pathology* 12(7): 617-627. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00697.x>
- Arrebola E, Cazorla FM, Perez-Garcia A and de Vicente A. 2011. Chemical and metabolic aspects of antimetabolite toxins produced by *Pseudomonas syringae* pathovars. *Toxins* 3(9): 1089-1110. <https://doi.org/10.3390/toxins3091089>
- Arvizu-Gomez JL, Hernandez-Morales A, Pastor-Palacios G, Brieba LG and Alvarez-Morales A. 2011. Integration Host Factor (IHF) binds to the promoter region of the *phtD* operon involved in phaseolotoxin synthesis in *P. syringae* pv. *phaseolicola* NPS3121. *BMC Microbiology* 11: 90. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-90>
- Baltenneck J, Reverchon S and Hommais F. 2021. Quorum sensing regulation in phytopathogenic bacteria. *Microorganisms* 9(2): 239-260. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020239>
- Bender CL, Alarcon-Chaidez F and Gross DC. 1999. *Pseudomonas syringae* phytotoxins: mode of action, regulation, and biosynthesis by peptide and polyketide synthetases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 63(2): 266-292. <https://doi.org/10.1128/MMBR.63.2.266-292.1999>
- Bogatzevska N. 1997. Natural epiphytic survival of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* on weeds Pp:72-76. *In*: Rudolph K, Burr, TJ., Mansfield JW., Stead D, Vivian A, von Kietzell J (eds.). *Pseudomonas syringae* pathovars and related pathogens. *Developments in Plant Pathology*, vol 9. Springer, Dordrecht. 322p. https://doi.org/10.1007/978-94-011-5472-7_14
- Bull C, De Boer S, Denny T, Firrao G, Fischer-Le Saux M, Saddler GS, Scortichini M, Stead DE and Takikawa Y. 2010. Comprehensive list of names of plant pathogenic bacteria, 1980-2007. *Journal of Plant Pathology* 92: 551-592. <http://www.jstor.org/stable/41998846>
- Carraro N, Rivard N, Burrus V and Ceccarelli D. 2017. Mobilizable genomic islands, different strategies for the dissemination of multidrug resistance and other adaptive traits. *Mobile Genetics Elements* 7(2): 1-6. <https://doi.org/10.1080/2159256X.2017.1304193>
- Chen H, Chen J, Zhao Y and Liu F. 2022. *Pseudomonas syringae* pathovars. *Trends in Microbiology* 30(9): 912-913.
- Chen L, Li P, Deng Z and Zhao C. 2015. Ornithine transcarbamylase ArgK plays a dual role for the self-defense of phaseolotoxin producing *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. *Scientific Reports* 5: 12892. <https://doi.org/10.1038/srep12892>
- Cho MS, Jeon YH, Kang MJ, Ahn HI, Baek HJ, Na YW, Choi YM, Kim TS and Park DS. 2010. Sensitive and specific detection of phaseolotoxigenic and nontoxigenic strains of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* by TaqMan real-time PCR using site-specific recombinase gene sequences. *Microbiological Research* 165(7): 565-572. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2009.11.001>
- Cooper B, Campbell KB, Beard HS, Garrett WM and Ferreira ME. 2020. The proteomics of resistance to halo blight in common bean. *Molecular Plant Microbe Interactions* 33(9): 1161-1175. <https://doi.org/10.1094/MPMI-05-20-0112-R>
- De la Fuente-Martinez JM, Mosqueda-Cano G, Alvarez-Morales A and Herrera-Estrella L. 1992. Expression of a bacterial phaseolotoxin-resistant ornithyl transcarbamylase in transgenic tobacco confers resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. *Biotechnology* 10(8): 905-909. <https://doi.org/10.1038/nbt0892-905>
- De la Torre-Zavala S, Aguilera S, Ibarra-Laclette E, Hernandez-Flores JL, Hernandez-Morales A, Murillo J and Alvarez-Morales A. 2011. Gene expression of Pht cluster genes and a putative non-ribosomal peptide synthetase required for phaseolotoxin production is regulated by GacS/GacA in *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. *Research in Microbiology* 162(5): 488-498. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2011.04.010>
- Félix-Gastélum R, Maldonado-Mendoza IE, Navarrete-Maya R, Olivas-Peraza NG, Brito-Vega H and Acosta-Gallegos A. 2016. Identification of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* as the causal agent of halo blight in yellow beans in northern Sinaloa, Mexico. *Phytoparasitica* 44: 369-378. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s12600-016-0530-5>
- Fernandez-Sanz A, Rodicio M and González A. 2020. Phenotypic and genotypic analysis of *Pseudomonas syringae* recovered from symptomatic beans and associated weeds in Northern Spain. *European Journal of Plant Pathology* 157: 377-387. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02010-z>

- Fernandez-Sanz AM, Rodicio MR and Gonzalez AJ. 2016. *Pseudomonas syringae* pv. phaseolicola isolated from weeds in bean crop fields. *Letters in Applied Microbiology* 62(4): 344-348. <https://doi.org/10.1111/lam.12556>
- Fleitas-Martinez O, Rigueiras PO, Pires ADS, Porto WF, Silva ON, de la Fuente-Nunez C and Franco OL. 2018. Interference with Quorum-Sensing signal biosynthesis as a promising therapeutic strategy against multidrug-resistant pathogens. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 8: 444-451. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00444>
- Foyer CH, Lam HM, Nguyen HT, Siddique KH, Varshney RK, Colmer TD, Cowling W, Bramley H, Mori TA, Hodgson JM, Cooper JW, Miller AJ, Kunert K, Vorster J, Cullis C, Ozga JA, Wahlqvist ML, Liang Y, Shou H, Shi K, Yu J, Fodor N, Kaiser BN, Wong FL, Valliyodan B and Considine MJ. 2016. Neglecting legumes has compromised human health and sustainable food production. *Nature Plants* 2: 16112. <https://doi.org/10.1038/nplants.2016.112>
- Fujikawa T and Sawada H. 2019. Genome analysis of *Pseudomonas syringae* pv. actinidiae biovar 6, which produces the phytotoxins, phaseolotoxin and coronatine. *Scientific Reports* 9(1): 3836. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40754-9>
- Gonzalez-Villanueva L, Arvizu-Gomez JL, Hernandez-Morales A, Aguilera-Aguirre S and Alvarez-Morales A. 2014. The PhtL protein of *Pseudomonas syringae* pv. phaseolicola NPS3121 affects the expression of both phaseolotoxin cluster (Pht) and non-Pht encoded genes. *Microbiological Research* 169: 221-231. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.05.002>
- Gonzalez AI, Perez de la Vega M, Ruiz ML and Polanco C. 2003. Analysis of the argK-tox gene cluster in nontoxigenic strains of *Pseudomonas syringae* pv. phaseolicola. *Applied and Environmental Microbiology* 69(8): 4979-4982. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.8.4979-4982.2003>
- Guardado-Valdivia L, Chacon-Lopez A, Murillo J, Poveda J, Hernandez-Flores JL, Xoca-Orozco L and Aguilera S. 2021. The Pbo cluster from *Pseudomonas syringae* pv. phaseolicola NPS3121 is thermoregulated and required for phaseolotoxin biosynthesis. *Toxins* 13(9): 628-648. <https://doi.org/10.3390/toxins13090628>
- Hernandez-Guzman G and Alvarez-Morales A. 2001. Isolation and characterization of the gene coding for the amidinotransferase involved in the biosynthesis of phaseolotoxin in *Pseudomonas syringae* pv. phaseolicola. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 14(4): 545-554. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2001.14.4.545>
- Ichinose Y, Taguchi F and Mukaihara T. 2013. Pathogenicity and virulence factors of *Pseudomonas syringae*. *Journal of General Plant Pathology* 79: 285-296. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s10327-013-0452-8>
- Jiménez-Hernández Y, Montero-Tavera V, Ramírez Pimentel JG, Aguirre-Mancilla CL, Raya Pérez JC and Acosta-Gallegos JA. 2023. Respuesta de cultivares de frijol a inoculación e incidencia natural del tizón de halo y utilidad de marcadores moleculares para selección. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas* 14(8): ME:e3274. <https://doi.org/https://doi.org/10.29312/remexca.v14i8.3274>
- Kashyap DR, Wang M, Liu LH, Boons GJ, Gupta D and Dziarski R. 2011. Peptidoglycan recognition proteins kill bacteria by activating protein-sensing two-component systems. *Nature Medicine* 17(6): 676-683. <https://doi.org/10.1038/nm.2357>
- Lamichhane J, Messean A and Morris C. 2015. Insights into epidemiology and control of diseases of annual plants caused by the *Pseudomonas syringae* species complex. *Journal of General Plant Pathology* 81: 331-350. <https://doi.org/10.1007/s10327-015-0605-z>
- Latour X. 2020. The evanescent GacS signal. *Microorganisms* 8(11): 1746-1768. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111746>
- Lépiz-Ildelfonso R, Sánchez PS, López AE, López AJJ, Chavarín EIE and Meza VKE. 2015. El cultivo del frijol en Jalisco: tecnología para altos rendimientos. Ed. Universidad de Guadalajara. México. 54p. http://www.cucba.udg.mx/sites/default/files/adjuntos/el_cultivo_de_frijol_en_jalisco.pdf
- Li X, Nie J, Ward L, Madani M, Hsiang T, Zhao Y and De Boer SH. 2009. Comparative genomics-guided loop-mediated isothermal amplification for characterization of *Pseudomonas syringae* pv. phaseolicola. *Journal of Applied Microbiology* 107(3): 717-726. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04262.x>
- Lopez-Lopez K, Hernandez-Flores JL, Cruz-Aguilar M and Alvarez-Morales A. 2004. In *Pseudomonas syringae* pv. phaseolicola, expression of the argK gene, encoding the phaseolotoxin-resistant ornithine carbamoyltransferase, is regulated indirectly by temperature and directly by a precursor resembling carbamoylphosphate. *Journal of Bacteriology* 186(1): 146-153. <https://doi.org/10.1128/JB.186.1.146-153.2004>
- Mansfield J, Genin S, Magori S, Citovsky V, Sriariyanum M, Ronald P, Dow M, Verdier V, Beer SV, Machado MA, Toth I, Salmond G and Foster GD. 2012. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol* 13(6): 614-629. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x>

- McManus PS. 2014. Does a drop in the bucket make a splash? Assessing the impact of antibiotic use on plants. *Current Opinion in Microbiology* 19: 76-82. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2014.05.013>
- Melnyk RA, Hossain SS and Haney CH. 2019. Convergent gain and loss of genomic islands drive lifestyle changes in plant-associated *Pseudomonas*. *The ISME Journal* 13(6): 1575-1588. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0372-5>
- Mosqueda-Cano G and Herrera-Estrella L. 1997. A simple and efficient PCR method for the specific detection of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* in bean seeds. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 13: 463-467. <https://doi.org/10.1023/A:1018588503396>
- Mosqueda G, Van den Broeck G, Saucedo O, Bailey AM, Alvarez-Morales A and Herrera-Estrella L. 1990. Isolation and characterization of the gene from *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* encoding the phaseolotoxin-insensitive ornithine carbamoyl-transferase. *Molecular Genetics and Genomics* 222(3): 461-466. <https://doi.org/10.1007/BF00633857>
- Murillo J, Bardaji L and Führer E. 2010. La grasa de las judías, causada por la bacteria *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. *Phytoma* 224: 27-32. <https://www.phytoma.com/la-revista/phytohemeroteca/224-diciembre-2010/la-grasa-de-las-judias-causada-por-la-bacteria-pseudomonas-syringae-pv-phaseolicola>.
- Murillo J, Bardaji L, Navarro de la Fuente L, Führer ME, Aguilera S and Alvarez-Morales A. 2011. Variation in conservation of the cluster for biosynthesis of the phytotoxin phaseolotoxin in *Pseudomonas syringae* suggests at least two events of horizontal acquisition. *Research in Microbiology* 162(3): 253-261. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2010.10.011>
- Navarrete MR and Acosta-Gallegos JA. 2000. Resistencia del frijol al tizón de halo en el Valle de México y progreso de la enfermedad. *Revista Fitotecnia Mexicana* 23: 17-28. <https://doi.org/https://doi.org/10.35196/rfm.2000.1.17>
- Oblessuc PR, Bridges DF and Melotto M. 2022. *Pseudomonas phaseolicola* preferentially modulates genes encoding leucine-rich repeat and malectin domains in the bean landrace G2333. *Planta* 256(2): 25-52. <https://doi.org/10.1007/s00425-022-03943-x>
- Quiñones-Aguilar EE, Reyes-Tena A, Hernández-Montiel LG and Rincón-Enríquez G. 2018. Bacteriófagos en el control biológico de *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* agente causal del tizón de halo del frijol. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 5(14): 191-202. <https://doi.org/10.19136/era.a5n14.1159>
- Ramirez-Zapata D, Ramos C, Aguilera S, Bardaji L, Martínez-Gil M and Murillo J. 2020. Two homologues of the global regulator Csr/Rsm redundantly control phaseolotoxin biosynthesis and virulence in the plant pathogen *Pseudomonas amygdali* pv. *phaseolicola* 1448A. *Microorganisms* 8(10): 1536-1558. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101536>
- Redondo-Salvo S, Fernandez-Lopez R, Ruiz R, Vielva L, de Toro M, Rocha EPC, Garcillan-Barcia MP and de la Cruz F. 2020. Pathways for horizontal gene transfer in bacteria revealed by a global map of their plasmids. *Nature Communications* 11(1): 3602-3626. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17278-2>
- Reverchon S, Meyer S, Forquet R, Hommais F, Muskhelishvili G and Nasser W. 2021. The nucleoid-associated protein IHF acts as a ‘transcriptional domainin’ protein coordinating the bacterial virulence traits with global transcription. *Nucleic Acids Research* 49(2): 776-790. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1227>
- Rico A, Erdozain M, O. BA, R. DGJ and Murillo J. 2006. Detection by multiplex PCR and characterization of nontoxigenic strains of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* from different places in Spain. *Spanish Journal of Agricultural Research* 4: 261-267. <https://doi.org/10.5424/sjar/2006043-203>
- Sawada H, Kanaya S, Tsuda M, Suzuki F, Azegami K and Saitou N. 2002. A phylogenomic study of the OCTase genes in *Pseudomonas syringae* pathovars: The horizontal transfer of the *argK*-tox cluster and the evolutionary history of OCTase genes on their genomes. *Journal of Molecular Evolution* 54: 437-457.
- Schaad N, Cheong S, Tamaki S, Hatziloukas E and Panopoulos N. 1995. A combined biological and enzymatic amplification (BIO-PCR) technique to detect *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* in bean seed extracts. *Phytopathology* 85: 243-246. https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1995Articles/Phyto1985n1902_1243.pdf
- Schaad NW, Azad H, Peet RC and Panopoulos NJ. 1989. Identification of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* by a DNA hybridization probe. *Techniques* 79(8): 903-907. https://doi.org/https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1989Articles/Phyto79n08_903.PDF
- Schaad NW, Berthier-Schaad Y and Knorr D. 2007. A high throughput membrane BIO-PCR technique for ultra-sensitive detection of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. *Plant Pathology* 56: 1-8. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01488.x>

- Schwartz H, Franc G, Hanson L and Harveson R. 2005. Disease management. In S. HF, B. MA, H. RM, and F. GD (Eds.), Dry Bean Production and Pest Management. Colorado State Univ. . 109-143. <https://doi.org/https://issuu.com/scisoc/docs/43275>
- Sikdar R and Elias M. 2020. Quorum quenching enzymes and their effects on virulence, biofilm, and microbiomes: a review of recent advances. *Expert Review of Anti-Infective Therapy* 18(12): 1221-1233. <https://doi.org/10.1080/14787210.2020.1794815>
- Sultan M, Arya R and Kim KK. 2021. Roles of two-component systems in *Pseudomonas aeruginosa* virulence. *International Journal of Molecular Sciences* 22(22): 12152-12172. <https://doi.org/10.3390/ijms222212152>
- Sundin GW and Wang N. 2018. Antibiotic resistance in plant-pathogenic bacteria. *Annual Review of Phytopathology* 56: 161-180. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080417-045946>
- Sundin GW, Wang N, Charkowski AO, Castiblanco LF, Jia H and Zhao Y. 2016. Perspectives on the transition from bacterial phytopathogen genomics studies to applications enhancing disease management: from promise to practice. *Phytopathology* 106(10): 1071-1082. <https://doi.org/10.1094/Phyto-03-16-0117-FI>
- Tamura K, Imamura M, Yoneyama K, Kohno Y, Takikawa Y, Yamaguchi I and Takahashi H. 2002. Role of phaseolotoxin production by *Pseudomonas syringae* pv. actinidiae in the formation of halo lesions of kiwifruit canker disease. *Physiology and Molecular Plant Pathology* 60: 207-214. <https://doi.org/10.1006/pmpp.2002.0405>
- Taylor JD and Dudley CL. 2008. Seed treatment for the control of halo-blight of beans (*Pseudomonas phaseolicola*). *Annals of Applied Biology* 85: 223-232. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1977.tb01796.x>
- Thomas WJW, Amas JC, Dolatabadian A, Huang S, Zhang F, Zandberg JD, Neik TX, Edwards D and Batley J. 2024. Recent advances in the improvement of genetic resistance against disease in vegetable crops. *Plant Physiology* 196(1): 32-46. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiae302> %J Plant Physiology
- Tock AJ, Fourie D, Walley PG, Holub EB, Soler A, Cichy KA, Pastor-Corrales MA, Song Q, Porch TG, Hart JP, Vasconcellos RCC, Vicente JG, Barker GC and Miklas PN. 2017. Genome-wide linkage and association mapping of halo blight resistance in common bean to race 6 of the globally important bacterial pathogen. *Frontiers in Plant Science* 8: 1170-1195. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01170>
- Tourte C and Manceau C. 1995. A strain of *Pseudomonas syringae* which does not belong to pathovar phaseolicola produces phaseolotoxin. *European Journal of Plant Pathology* 101: 483-490. <https://doi.org/10.1007/BF01874471>
- Wyatt GM, Turner JG and Morgan MRA. 1989. Rapid and specific detection of *Pseudomonas syringae* pv. phaseolicola by immunological methods. *Food and Agricultural Immunology* 1: 53-63.
- Xin XF, Kvitko B and He SY. 2018. *Pseudomonas syringae*: what it takes to be a pathogen. *Nature Reviews Microbiology* 16(5): 316-328. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.17>
- Zhang YX and Patil SS. 1997. The *phtE* locus in the phaseolotoxin gene cluster has ORFs with homologies to genes encoding amino acid transferases, the AraC family of transcriptional factors, and fatty acid desaturases. *Molecular Plant Microbe Interactions* 10(8): 947-960. <https://doi.org/10.1094/MPMI.1997.10.8.947>