

Mecanismos involucrados en el sistema tripartita planta-bacteria-fago de *Ralstonia solanacearum*

Victor Hugo Guadarrama-Pérez¹ **iD**, Victor Rivelino Juárez-González^{1,2} **iD**, Oscar Guadarrama-Pérez⁴ **iD**, Elian Yuritzi Alegría-Herrera³ **iD**, José Luis Rivera-Corona⁴ **iD**, Jesús Hernández-Romano^{4*} **iD**

¹Dirección de Posgrado en Ciencias en Biotecnología, Universidad Politécnica del Estado de Morelos, Jiutepec, Morelos, México. CP.62550. ²Departamento de Medicina Molecular y Bioprocesos, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 2001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos. México. CP: 62210. ³Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa, Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco, Núm. 186, Col. Leyes de Reforma 1A Sección, Alcaldía Iztapalapa, C.P. 09310, CDMX, México. ⁴Dirección de Ingeniería en Tecnología Ambiental y Biotecnología, Universidad Politécnica del Estado de Morelos, Jiutepec, Morelos, México. CP.62550.

Email de autor para correspondencia: *jhernandez@upemor.edu.mx

Recibido: 25 octubre 2024. **Aceptado:** 29 enero 2025

RESUMEN

Los mecanismos de interacción entre sistemas biológicos son cruciales para entender el comportamiento de los fitopatógenos bacterianos en la producción agrícola. El uso de fagos como herramienta de biocontrol se ha convertido en una tecnología sostenible y prometedora para combatir bacterias fitopatógenas. Existe una basta información de la infección de *R. solanacearum* a distintas especies de plantas, sin embargo, los estudios de la interacción entre fagos y *R. solanacearum* son muy limitados. En este trabajo, se revisaron los mecanismos involucrados en la infección de *Ralstonia solanacearum* al hospedero *Solanum lycopersicum* (jitomate) y se recopiló información de los sistemas de defensa de la planta, así como mecanismos de infección de la bacteria. Además, se describen interacciones moleculares identificadas durante la infección de fagos a *R. solanacearum* y las respuestas frente a diferentes sistemas de defensa de la bacteria. Los subsistemas II-C y I-E de CRISPR-Cas ya se ha identificado en *R. solanacearum*, sin embargo, no es el único mecanismo de en contra de los fagos, la plasticidad genómica muestra otros posibles mecanismos aún no descritos completamente, tal como el sistema toxina-antitoxina, infección abortiva y restricción-modificación.

Palabras clave: Agricultura; bacterias fitopatógenas; bacteriófagos; biocontrol; desarrollo sustentable.

ABSTRACT

The mechanisms of interaction between biological systems are crucial to understanding the behavior of bacterial phytopathogens in agricultural production. Using phages as a biocontrol tool has become a sustainable and promising technology to combat phytopathogenic bacteria. There is extensive information on the infection of *R. solanacearum* in different plant species. However, studies on the interaction between phages and *R. solanacearum* are minimal. In this work, we reviewed the mechanisms involved in the infection of *R. solanacearum* to *Solanum lycopersicum* (tomato) and information on the plant defense systems. Furthermore, we described the infection mechanisms of the bacteria, molecular interactions identified during the phage infection of *R. solanacearum*, and the responses to different defense systems of the bacteria. CRISPR-Cas subsystems II-C and I-E have already been identified in *R. solanacearum*. However, it is not the only mechanism against phages due to genomic plasticity shows other possible mechanisms not yet fully described, such as the toxin-antitoxin system, abortive infection, and restriction-modification.

Keywords: Agriculture; phytopathogen bacteria; bacteriophages; biocontrol; sustainable development.

INTRODUCCIÓN

Las plantas han vivido en el planeta mucho más tiempo que los seres humanos y, por lo tanto, también se estresan, se enferman y son infectadas por bacterias denominadas fitopatógenas. Estas bacterias son capaces de colonizar e infectar varias especies de importancia agrícola, por ejemplo, *Burkholderia glumae* es causante del añublo bacteriano de la panícula de arroz [1]. *Pantoea ananatis* y *Pantoea agglomerans* han sido aisladas frecuentemente en cultivos de piña [2, 3]. *Erwinia amylovora* es causante del fuego bacteriano afectando principalmente los cultivos de manzana [4]. *Xanthomonas campestris* produce la enfermedad de la

podredumbre negra en cultivos de col [5]. El denominado “complejo de especies *Ralstonia solanacearum*” es causante de la marchitez y del moco bacterianos, afectando principalmente cultivos de plátano, papa y jitomate [6, 7].

Las plantas son organismos que dependen de las variables medioambientales como humedad relativa, temperatura, radiación UV, tipo de suelo y nutrientes [8]. Sin embargo, cuando se encuentran fuera del umbral óptimo de los factores que requieren para su desarrollo óptimo son susceptibles a enfermedades [8]. Las bacterias en cambio podrían ser favorecidas por malos hábitos como el uso excesivo de pesticidas y bactericidas (produciendo resistencia), la inocuidad e higiene durante el



cultivo, y por los efectos del cambio climático lo que genera que bacterias fitopatógenas se puedan diseminar a través de los cultivos y los frutos causando grandes daños a la economía de los países y a la seguridad alimentaria mundial [9]. Aunque diferentes mecanismos han sido caracterizados en algunas especies de plantas para poder contener con las infecciones bacterianas [10], algunos tratamientos novedosos podrían ser efectivos en contra de estos fitopatógenos.

Diferentes estrategias de control de fitopatógenos son empleadas para mitigar la infección por estas bacterias; los enfoques son fisicoquímicos, culturales y biológicos [11, 12, 13]. Dentro del esquema de control fisicoquímico, algunas prácticas comunes son la solarización del suelo, la aplicación de

bactericidas, pesticidas y sales de cobre, sin embargo, este tipo de prácticas que involucra el uso de sustancias que producen un daño al microbioma natural del suelo y al medioambiente [14]. Dentro del enfoque tradicional o cultural se han adoptado estrategias como la rotación de cultivos, el aislamiento cuarentenario o el desuso del suelo por varios años [15]. En años recientes, debido a los problemas que ha traído el cambio climático, se han comenzado a adoptar prácticas más sostenibles con el medioambiente con enfoques biológicos como el biocontrol, utilizando microorganismos, productos derivados o entidades biológicas como los bacteriófagos para el control de los fitopatógenos [16] (Figura 1).



Figura 1. Interacción entre fagos y bacterias en la rizosfera de la planta del tomate (Imagen modificada de [17] y editada en la herramienta *image generator*).

Los bacteriófagos, denominados simplemente fagos, son un tipo un virus que infectan a bacterias [18] y la mayoría son específicos de una especie, lo que supone un largo recorrido en la coevolución con sus hospederos [17]. Existe una clasificación de fagos de acuerdo con su morfología, hay fagos que poseen una cápside icosaédrica (20 caras triangulares) formada por diferentes proteínas que resguardan el material genético (ADN o ARN de una sola cadena o de cadena doble), otra característica es que los fagos pueden tener una cola conformada por proteínas, la cual puede ser larga y contráctil como en el fago T4 (Myoviridae) [19], larga y rígida como en el fago lambda (λ) (Siphoviridae) [20], o corta y rígida como en el fago T7 (Podoviridae) [21]. Finalmente, algunos fagos carecen de cola o de cápside (filamentosos) como los fagos MS2 y M13 (Cistoviridae e Inoviridae, respectivamente) [22].

El ciclo de vida de las bacterias fitopatógenas depende en gran medida de las condiciones ambientales y de sus mecanismos de infección [23], este tipo de bacterias se pueden clasificar como endófitos, epífitos y/o saprofitos, los endófitos invaden el sistema vascular de la planta, mientras que los epífitos pueden infectar de manera superficial sobre el tronco, flores y hojas. Finalmente, que los saprofitos pueden tomar nutrientes de tejidos muertos de otros organismos y sobrevivir en el suelo por periodos prolongados con una limitación de nutrientes [24]. En el caso de los fagos, también poseen distintos ciclos de replicación, como el ciclo lítico y el ciclo lisogénico. Un fago que

presenta el ciclo lítico, inyecta su material genético en la bacteria y produce la maquinaria enzimática necesaria para el ensamble de múltiples partículas virales dentro de una misma célula, lo que produce eventualmente la lisis de la bacteria [25]. Por otro lado, un fago lisogénico (temperado) es capaz de integrar su genoma al material genético de la bacteria, podría asumirse que el fago entra en una fase latente durante este proceso, y cuando las condiciones se vuelven propicias para el fago, éste es capaz de expresar su maquinaria enzimática para pasar al ciclo lítico [26].

Problemática del jitomate por la bacteria *R. solanacearum*

El jitomate es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial, tiene un valor comercial de 195.3 billones de dólares, pero se estima que en el año 2032 alcance un valor comercial de casi 300 billones de dólares, según lo reportado en el sitio <https://straitsresearch.com/> (Figura 2) [27]. En México, el jitomate es el tercer producto con mayor valor de producción agrícola, solo después del maíz y del aguacate, en el año 2021 la producción de jitomate representó el 4.5% del producto interno bruto (PIB) nacional agrícola, de acuerdo con los datos reportados por el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2024) [28]. El jitomate es uno de los frutos más representativos de la comida internacional, su uso va desde la preparación de ensaladas hasta los platillos mexicanos más elaborados, como el mole. Sin

embargo, enfermedades como la marchitez bacteriana causada por *R. solanacearum* producen pérdidas de hasta el 80% en el cultivo de jitomate en invernadero [29]. La marchitez bacteriana que afecta a la planta de jitomate es ocasionada por *R. solanacearum*, se caracteriza

por el oscurecimiento vascular (visto en el tallo por un corte transversal), la epinastia foliar (doblamiento de las hojas hacia la parte inferior), la necrosis y la marchitez general que inicia desde la parte superior de la planta (Figura 3) [30].



Figura 2. Proyección del valor comercial global del cultivo de jitomate (fuente: Straits Research).



Figura 3. Síntomas de la planta del jitomate en presencia del fitopatógeno *R. solanacearum* y colonias observadas en medio NBY en ausencia (colonias blancas) y en presencia de TZC (colonias rojas). Imagen modificada de [30].

Ralstonia solanacearum puede infectar hasta 450 especies de plantas, es una bacteria considerada como un microorganismo nivel 1 según los estándares de bioseguridad de la ATCC (American Type Culture Collection) [31], por lo que su manejo debe ser muy cuidadoso para evitar su liberación al ambiente ya que es capaz de colonizar la raíz de las plantas del jitomate de manera diferencial, es decir, que existen algunas variedades resistentes dependiendo de la cepa o del sitio geográfico [32]. *Ralstonia solanacearum* pertenece a un “complejo de especies” de amplia distribución geográfica que se extiende por zonas tropicales y subtropicales, entre las especies que lo conforman se encuentran: *R. solanacearum* (América), *R. pseudosolanacearum* (Asia y África) y *R. syzygii* (Indonesia) [33]. Esta bacteria es un bacilo Gram negativo, anaerobio estricto que es capaz de producir exopolisacárido (EPS) como mecanismo de infección.

Mecanismos de infección de *R. solanacearum*

El mecanismo de colonización de la bacteria se ha descrito con anterioridad, se ha observado que *R. solanacearum* es capaz de penetrar la corteza de la raíz para poder establecerse en los conductos del sistema vascular de la planta, específicamente en el xilema, donde puede proliferar hasta alcanzar concentraciones mayores a 1×10^8 UFC/g de planta [34]. En el xilema, una porción de la bacteria puede vivir suspendida en la savia, sin embargo, la mayor parte se encuentra adherida a las paredes

internas que logra colonizar por mecanismos como la producción de EPS y la movilidad tipo “twitching” al interior de la planta [35]. Eventualmente, las altas densidades de bacterias producen un taponamiento de los conductos provocando los síntomas de la marchitez bacteriana [30, 34].

La bacteria produce y libera enzimas denominadas proteínas efectoras que se encargan de degradar la pared celular de la planta hospedera y poder colonizar el sistema vascular, en este grupo de enzimas se pueden encontrar: translocadores, como PopF1 y PopF2 que tienen como función exportar otras proteínas efectoras; enzimas hidrolasas como RipB y RipBN, una cisteína proteasa y una nucleósido N-ribosidrolasa, identificadas como proteínas de resistencia, respectivamente; transferasas como RipAF1, RipAY y RipP1 (hipotética) capaces de transferir grupo ribosilo, glutamilo y acetilo para poder burlar el sistema inmune de algunas especies de plantas; RipE1, una enzima que es familia de las proteínas transglutaminasas, capaz de inducir hormonas de crecimiento como el ácido salicílico y el ácido jasmónico; RipTPS, encargada de sintetizar trealosa, un azúcar con propiedades de osmoprotección [36]. Además, la bacteria cuenta con un sistema de secreción tipo 3 (T3SS), un mecanismo molecular versátil, multifuncional y bimodal, capaz de burlar el sistema inmune de la planta para luego producir una serie de compuestos capaces de infectarla, este proceso es regulado por el factor de transcripción HrpB, el cual regula al gen *hrpY* que codifica para la proteína pili Hrp

involucrada en la translocación de los efectores del T3SS, y el operón PopABC que codifica para las proteínas efectoras [37].

Recientemente, se han caracterizado dos enzimas 3-deshidroquinasas, AroQ1/AroQ2 (asociadas al T3SS) que participan en la síntesis de aminoácidos aromáticos a través de la vía del shikimato [38]. Sin embargo, cuando los respectivos genes fueron silenciados en *R. solanacearum* cultivada con limitación de nutrientes, la densidad celular disminuyó en los sistemas vasculares del jitomate [39]. Los análisis de expresión diferencial han identificado varios genes del sistema T3SS que se expresan en el xilema de la planta, pero no en cultivos ni en apoplastos (espacio extracelular de las células vegetales), como por ejemplo RipM, RipA3, RipZ, RipS1, RipAY; otros genes se expresan tanto en apoplastos como en el xilema, pero no en medio de cultivo, por ejemplo; RipD, RipF1 y RipE1 [40]. Algunos estudios han mostrado la expresión localizada de proteínas efectoras del sistema T3SS, por ejemplo, RipB, RipAF1 y RipAY son genes que se localizan en la periferia celular, en el núcleo y el citoplasma; RipD, se expresa únicamente en el peroxisoma; RipV1 se expresa solo en la periferia celular y RipS3/S2 se expresan únicamente en el núcleo [41]. Una vía de señalización que relaciona algunos efectores de la motilidad bacteriana es regulada negativamente por la proteína PhcA, la cual a su vez regula positivamente el operón de la biosíntesis del EPS [42]. El EPS es el principal factor de virulencia de *R. solanacearum*, se expresa en medio de cultivo y en el sistema

vascular de la planta de jitomate cuando las densidades celulares son muy altas (1×10^8 células/g de planta) [43]. Además, algunos metabolitos son capaces de inducir la expresión del T3SS, por ejemplo, el ácido oleanólico puede inducir de manera dependiente la expresión de algunos genes de proteínas efectoras (PrhR, PrhI, PrhJ, HrpG, PrhG, HrpB, PopA, RipD, RipP1, RipTAL y RipW) [44].

Recientemente se reportó un estudio acerca del secretoma de *R. solanacearum* GMI1000, en el cual la bacteria fue cultivada con un medio inductor del T3SS, se identificaron 228 proteínas encontradas en las bases de datos. Los autores identificaron a HpaB como una nueva proteína reguladora, la cual es requerida para la patogenicidad de la bacteria en múltiples hospederos a través del T3SS [45]. La proteína HpaB se encuentra conservada en varias cepas de distintos filotipos lo que significa que su función es relevante para la infección a la planta, además, se han identificado homólogos en *Xanthomonas* spp. HpaB puede formar heterodímeros y juega un papel importante en la regulación de proteínas efectoras del T3SS a nivel postraduccional, pues junto a HpaD (otra proteína chaperona del T3SS) comparten proteínas blanco como RipAF1, RipP1 y RipTPS [46]. Otra proteína indispensable durante la infección es GspD la cual forma un canal necesario para secretar la enzima endoglucanasa que degrada las paredes celulares de la planta [47]. Los recientes estudios sugieren que el sistema T3SS es un mecanismo altamente organizado y regulado que implica una compleja maquinaria

enzimática del metabolismo central, así como proteínas efectoras especializadas para los mecanismos de colonización e infección por parte de *R. solanacearum* hacia la planta del jitomate.

Mecanismo de defensa de la planta

Algunas de las vías de señalización relacionadas con la respuesta a la infección de bacterias fitopatógenas en plantas son las del ácido jasmónico, ácido salicílico y etileno [48]. Las proteínas conocidas como factores de respuesta a etileno (ERF, por sus siglas en inglés *ethylene responsive factors*) tienen un dominio de unión al ADN muy conservado, estas proteínas tienen como blanco la proteína CTR1, la cual regula negativamente la vía cuando el etileno se encuentra ausente. Mientras que, en presencia de etileno, los ERF se inactivan junto a CTR1 [49]. Además, se ha documentado que las proteínas ERF se unen al ADN en la caja GCC presente en la región promotora de genes relacionados con la patogenicidad en planta [50]. Recientemente, algunos genes de la planta de jitomate se han identificado sobreexpresados durante la infección por *R. solanacearum*, entre los que se encuentran genes que codifican para glucanasas, ACO1 (ACC oxidasa 1), Chi2 (quitinasa), P69B (serin proteasa) y los factores transcripcionales Pti5 y WRKY [51]. La planta tiene mecanismos para poder reconocer el EPS, genes como Pin2 de la vía del ácido jasmónico, PR-1b de la vía del etileno y Glu-A/PR-1a de la vía del ácido salicílico. Interesantemente, estos

genes se expresaron en una planta resistente a *R. solanacearum* y también se observaron cuando se aplicó el EPS purificado libre de células [52].

Algunas plantas pueden formar barreras físicas para contener las poblaciones de bacterias que colonizan el xilema, estas defensas estructurales pueden ser tilosas, geles o callos [53]. Las tilosas son estructuras que crecen de las células del parénquima localizadas en la periferia de los conductos del xilema y que atraviesan el lumen del conducto hasta llegar a la célula adyacente, su función es bloquear la diseminación del fitopatógeno a través de la savia que fluye en el conducto. Este tipo de estructuras se pueden observar en plantas de jitomate resistentes a la infección por *R. solanacearum*, pero no en plantas susceptibles [53]. Un mecanismo distinto de las plantas de jitomate resistentes a *R. solanacearum* es la producción de geles, estas sustancias están formadas principalmente por pectina y puede contener algunas otras sustancias antibacterianas, los geles son secretados por las mismas células que producen las tilosas [54]. Otra barrera física es la callosa, estructura formada por depósitos de β -(1,3)-D-glucano que se localizan entre la membrana plasmática y la pared celular de las células vegetales, estos polímeros sirven como un refuerzo de la pared celular para evitar que la bacteria pueda penetrar fácilmente [55], hay evidencia que la callosa se puede encontrar previamente a la infección en variedades de plantas de jitomate resistentes (Figura 4) [56].

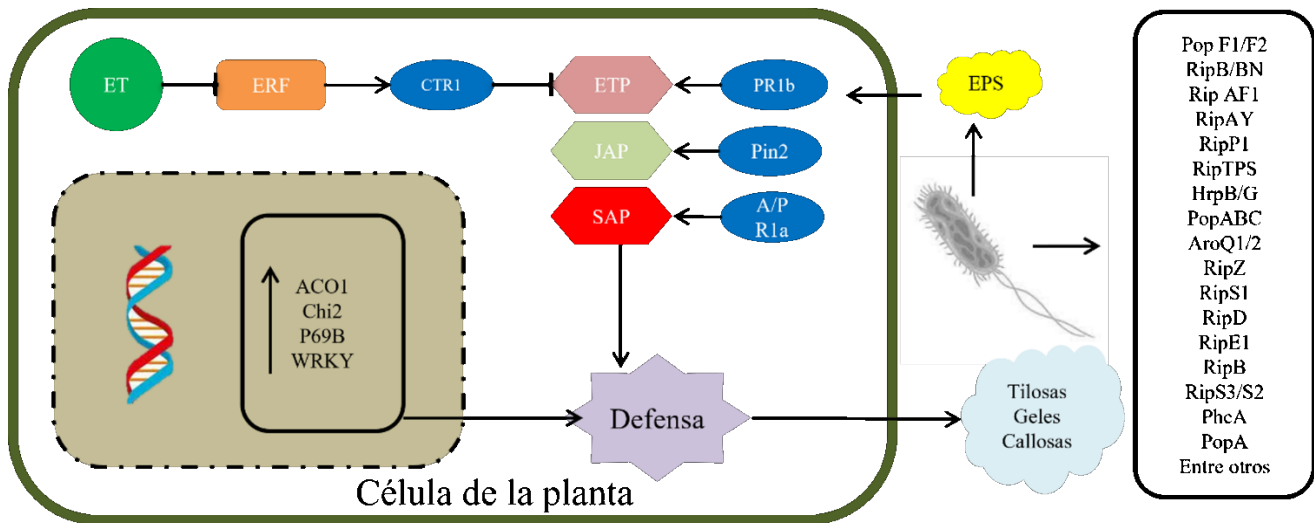


Figura 4. Mecanismos moleculares de defensa de la planta de jitomate y proteínas efectoras para la infección por *R. solanacearum*.

Se ha reportado la acumulación de diversos metabolitos en la planta del jitomate durante la infección de *R. solanacearum*, por ejemplo, aminoácidos, ácidos orgánicos, ácidos grasos, derivados del ácido cinámico y ácido benzoico, flavonoides y glucoalcaloides esteroideos [48]. Los derivados del ácido hidroxibenzoico se producen durante el estrés biótico para contener contra bacterias fitopatógenas, mientras que las fenilaminas que se conjugan entre las poliaminas y derivados del ácido hidroxicinámico, con propiedades antioxidantes y antimicrobianas, estos compuestos se producen en solanáceas bajo estrés abiótico para poder enfrentar infecciones de bacterias fitopatógenas [57]. Los metabolitos descritos en el sistema inmune de la planta pueden jugar varios papeles durante la infección de *R. solanacearum*, sin embargo, en su gran mayoría aún no se conoce su función principal. Los siguientes metabolitos tienen una

función descrita en la literatura: Resveratrol, interfiere la adhesión y la colonización inhibiendo la formación de la biopelícula; dafnetina, inhibe la producción de EPS; ácido cafeico, puede romper la estructura de la membrana plasmática; galato de metilo, daña la pared celular; cumarina, inhibe el *quorum sensing* [58], se reportan estos estudios que fueron realizados en plantas de tabaco ya que, en jitomate los estudios son limitados.

El xilema de la planta del jitomate es una solución pobre en nutrientes (en comparación con el floema) que detona un crecimiento acelerado de *R. solanacearum* en los conductos vasculares, la bacteria produce una serie de metabolitos que se pueden asociar con esa fase de crecimiento acelerado. La putrecina es una poliamina que se produce en las plantas que sufren de estrés hídrico. Se ha visto que plantas de jitomate tratadas con putrecina previamente a la infección de *R. solanacearum*, presentan

síntomas tempranos de marchitez bacteriana en comparación con las que no fueron tratadas [59]. A partir de arginina, *R. solanacearum* es capaz de biosintetizar y excretar putrecina cuando crece en los conductos vasculares de la planta [59]. Interesantemente, una cepa de *R. solanacearum* que carece del gen PhcA es capaz de producir cantidades importantes de putrecina por lo que este metabolito parece ser un mecanismo independiente del T3SS, por lo que las plantas poseen un metabolismo complejo de enzimas desaminasas [60].

Mecanismos de infección de los fagos

Los fagos tienen mecanismos en común para la infección a su hospedero, sin embargo, el contacto inicial depende de una colisión aleatoria a través de difusión libre, posteriormente, los fagos reconocen a su hospedero por medio de receptores proteicos o azúcares específicos localizados en la superficie de la bacteria [61]. A pesar de que los fagos pueden presentar distintas formas y tamaños, todos tienen en común que para poder anclarse a la superficie de su hospedero necesitan de proteínas de unión a receptores. Algunos de los receptores en la superficie del hospedero pueden ser enzimas, proteínas de transporte, receptores de sustrato y otras moléculas localizadas en la membrana externa (Gram negativas). Además, algunos fagos son capaces de anclarse a distintas estructuras de la membrana, por ejemplo, al flagelo o la envoltura celular [62]. Los mecanismos moleculares de los fagos dependen de la

relación con su hospedero, de tal modo que algunos fagos solo pueden reconocer a sus hospederos de manera específica (una sola especie) y otros pocos son capaces de reconocer a más de un hospedero [63].

Los fagos poseen enzimas capaces de degradar las barreras de defensa naturales de las bacterias como el EPS, se han identificado fagos de la familia *Podoviridae* con enzimas depolimerasas de EPS que infectan a *R. Solanacearum* [64]. Recientemente, se encontró que el fago phiAP1 (*Podoviridae*) necesita un sistema de secreción tipo 2 (T2SS) y del Pili tipo 4 (T4P) funcionales para poder infectar a la cepa *R. solanacearum* CFBP2957, lo que supone que el fago se vuelve infectivo cuando la bacteria busca colonizar la planta a través de la expresión de proteínas efectoras del T2SS, sin embargo, también puede sugerir un mecanismo de resistencia en contra de la infección del fago al inactivar el T2SS, aunque esto significaría perder la capacidad de infección hacia la planta, al menos por el T2SS [65]. Algunos fagos son capaces de infectar a través del T4P, al cual lo conforman varias proteínas secretinas que le proporcionan la motilidad a la bacteria, además, un estudio mostró que una mutación en el gen PilQ afecta la motilidad de *R. solanacearum* y su sensibilidad ante fagos de las familias *Inoviridae*, *Myoviridae* y *Podoviridae* [66]. El fago filamentoso phiRSS1 puede ser secretado a través de la proteína GspD, una enzima perteneciente a la familia de secretinas del T2SS relacionada con la secreción de la enzima endoglucanasa, una cepa mutante de GspD fue

CRISPR-Cas es uno de los sistemas de defensa bacterianos en contra de fagos más conocido [61], sin embargo, no es el único, actualmente, se conocen otros sistemas como el de restricción-modificación, toxina-antitoxina, transferencia horizontal de genes, infección abortiva y eventos de mutación y recombinación que permiten que estas dos entidades biológicas coevolucionen constantemente [70]. Una de las características de *R. solanacearum* y de todo el complejo de especies (incluyendo *R. pseudosolanacearum* y *R. syzygii*) es su alta variabilidad y su plasticidad genómica, lo que sugiere una alta capacidad de resistencia a fagos. El sistema CRISPR-Cas ya ha sido estudiado en el complejo de especies, interesantemente, se han encontrado cepas de *Ralstonia* spp. no fitopatogénicas que carecen del locus CRISPR-Cas [71], lo que supone que el sistema pudo ser adquirido como un mecanismo de defensa en contra de los fagos durante la infección a plantas [72]. Por otra parte, los subtipos identificados del locus CRISPR-Cas en varias de las cepas del complejo de especies fueron I-E y II-C, aun así, algunas cepas no presentan alguno de ellos. Una comparación de identidad de aminoácidos de las proteínas Cas mostró que *R. solanacearum* tiene el más alto grado de conservación en comparación con el resto de las especies del complejo [72].

Actualmente, existen escasos reportes de los mecanismos moleculares asociados a los sistemas de defensa de *R. solanacearum*, sin embargo, un análisis *in silico* reporta un arsenal bastante robusto de proteínas de defensa en

contra de fagos. Al menos nueve mecanismos fueron identificados por un análisis de ganancia y pérdida de genes vía transferencia horizontal y de cálculo tasas de mutación-recombinación, los principales mecanismos fueron: toxina-antitoxina, se identificaron veintiocho familias de proteínas de las cuales cinco pertenecen al sistema abortivo de infección por fagos; restricción-modificación, se identificaron dieciocho familias de proteínas entre las cuales se encuentran una endonucleasa de restricción, una enzima de metilación y una metil transferasa y aunque estas proteínas se encontraron presentes en diferentes cepas del complejo de especies, se encuentran con mayor frecuencia en el filotipo II (*R. solanacearum*). Además, un grupo completo de proteínas CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) fue encontrado en el filotipo II como en el filotipo III (*Ralstonia pseudosolanacearum*). Finalmente, los autores reportan otros sistemas poco conocidos y algunas de sus proteínas con funciones desconocidas tal como el sistema Gabija, Hachiman y Thoeris [72].

La terapia fágica aplicada en la agricultura

Uno de los campos de aplicación de la terapia fágica es la agricultura y se ha convertido en una herramienta interesante para el control de fitopatógenos [73]. Recientes estudios han demostrado su efectividad al combatir la marchitez bacteriana, causada en plantas de jitomate por *R. solanacearum*, a pequeña y mediana escala [74]. El fago RSL1 fue aplicado

remojoando el sustrato dos veces con una solución de 1.3×10^{10} UFP/maceta en un plazo de un mes, posteriormente, la planta de jitomate (N=11) fue infectada con la cepa MAF-106611 remojoando la raíz (con heridas) en una solución de 1×10^8 células/mL durante 30 s, la reducción de la marchitez bacteriana mostrada fue del 100% [75]. En otro estudio, el fago PE204 fue regado simultáneamente con la cepa SL341 en plantas de jitomate (N=8-10) utilizando una solución que contenía 2×10^8 UFP y 1×10^7 UFC/g de suelo, la reducción de la marchitez bacteriana fue del 100 % [76]. Interesantemente, los autores también probaron alternadamente los tratamientos, cuando aplicaron primero la bacteria y después el fago, la reducción en la marchitez fue del 30-60 %. Por otro lado, cuando aplicaron primero el fago y después la bacteria, no hubo efecto alguno sobre la enfermedad [76]. Un estudio mostró que inyectando 1 uL del fago phiRSM3 en el tallo de plantas de jitomate (N=20) infectadas con la cepa MAFF-106603 fue capaz de reducir la marchitez bacteriana en un 100 % [77].

CONCLUSIÓN

Los factores demográficos, el cambio climático y las buenas prácticas en el cultivo serán las herramientas más importantes para lograr la seguridad alimentaria, mientras que las tecnologías eficientes y sostenibles serán vitales en la actualidad y en un futuro muy cercano. Los mecanismos moleculares en la interacción tripartita entre planta, bacteria y fago son imprescindibles para poder diseñar

estrategias de biocontrol sustentables y eficientes en contra de bacterias fitopatógenas como *R. solanacearum*. En la actualidad, la terapia fágica en el cultivo de alimentos es una tecnología que promete gracias a que solo puede infectar al fitopatógeno de interés y no el resto del microbioma, además, la dosis puede ser pequeña considerando que los fagos pueden replicarse en presencia del hospedero, lo que facilitaría aplicar por aspersión o riego. Sin embargo, se necesita comprobar la eficiencia de la terapia fágica con experimentos a gran escala en diferentes tipos de cultivos como el de jitomate en invernadero para el caso de *R. solanacearum*.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran la ausencia de conflicto de interés.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Humanidades Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) por las becas otorgadas, a la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (UAM-I), al Centro de Investigación Biomédica del Sur (CIBIS-Xochitepec) y a la Universidad Politécnica del Estado de Morelos (Upemor).

REFERENCIAS

[1]. Ramachandran K, Vijaya SI, Ahmad FN, Amzah B, Zakaria L. Characterization and identification of *Burkholderia glumae* as the

causal pathogen of bacterial panicle blight of rice (*Oryza sativa* L.) in Malaysian rice granaries. J. Gen. Plant Pathol. 2021; 87, 164-169. Disponible en:

<https://doi.org/10.1007/s10327-021-00991-1>

[2]. Guevarra RB, Magez S, Peeters E, Chung MS, Kim KH, Radwanska M. (2021). Comprehensive genomic analysis reveals virulence factors and antibiotic resistance genes in *Pantoea agglomerans* KM1, a potential opportunistic pathogen. PloS one. 2021; 16 (1): 0239792. Disponible en:

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239792>

[3]. Weller-Stuart T, De Maayer P, Coutinho T. *Pantoea ananatis*: genomic insights into a versatile pathogen. Mol. Plant Pathol. 2017; 18 (9), 1191-1198. Disponible en:

<https://doi.org/10.1111/mpp.12517>

[4]. Cui Z, Wang S, Kakar KU, Zeng Q, Puławska J, Schachterle J. Early events in fire blight infection and pathogenesis of *Erwinia amylovora*. Plant Pathol. J. 2021; 103 (Suppl 1): 13-24. Disponible en:

<https://doi.org/10.1007/s42161-020-00675-3>

[5]. Hakalová E, Čechová J, Tekielska DA, Eichmeier A, Pothier JF. Combined effect of thyme and clove phenolic compounds on *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* and biocontrol of black rot disease on cabbage seeds. Front. Microbiol. 2022; 13: 1007988. Disponible en:

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1007988>

[6]. Manda RR, Addanki VA, Srivastava S. Bacterial wilt of solanaceous crops. Int. J. Chem. Stud. 2020; 8(6): 1048-1057. Disponible

en:

<https://www.chemjournal.com/archives/?year=2020&vol=8&issue=6&ArticleId=10903>

[7]. Ramírez M, Neuman BW, Ramírez CA. Bacteriophages as promising agents for the biological control of Moko disease (*Ralstonia solanacearum*) of banana. Biol. Control. 2020; 149: 104238. Disponible en:

<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104238>

[8]. Martins PM, Merfa MV, Takita MA, De Souza AA. Persistence in phytopathogenic bacteria: do we know enough? Front. Microbiol. 2018; 9: 1099. Disponible en:

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01099>

[9]. Zehra A, Raytekar NA, Meena M, Swapnil P. Efficiency of microbial bio-agents as elicitors in plant defense mechanism under biotic stress: A review. Curr Res Microb. Sci. 2021; 2: 100054. Disponible en:

<https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100054>

[10]. Aktepe BP, Aysan Y. Biological control of fire blight disease caused by *Erwinia amylovora* on apple. App. Fruit Sci. 2023; 65 (4), 645-654. Disponible en:

<https://doi.org/10.1007/s10341-022-00751-1>

[11]. Wang Z, Luo W, Cheng S, Zhang H, Zong J, Zhang Z. *Ralstonia solanacearum*—a soil borne hidden enemy of plants: research development in management strategies, their action mechanism and challenges. Front. Plant Sci. 2023; 14: 1141902. Disponible en:

<https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1141902>

[12]. Martins PMM, de Oliveira Andrade M, Benedetti CE, de Souza AA. *Xanthomonas citri*

subsp. *citri*: host interaction and control strategies. *Trop. Plant Pathol.* 2020; 45: 213-236. Disponible en:

<https://doi.org/10.1007/s40858-020-00376-3>

[13]. Sarkar S, Chaudhuri S. Bacterial wilt and its management. *Curr. Sci.* 2016; 110(8): 1439-1445. Disponible en:

<https://www.jstor.org/stable/24908099>

[14]. Wang Z, Luo W, Cheng S, Zhang H, Zong J, Zhang, Z. *Ralstonia solanacearum*—a soil borne hidden enemy of plants: research development in management strategies, their action mechanism and challenges. *Front. Plant Sci.*, 2023; 14: 1141902. Disponible en:

<https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1141902>

[15]. Castellazzi MS, Wood GA, Burgess PJ, Morris J, Conrad KF, Perry JN. A systematic representation of crop rotations. *Agric. Syst.* 2008; 97 (1-2): 26-33. Disponible en:

<https://doi.org/10.1016/j.agsy.2007.10.006>

[16]. Khan RAA, Alam SS, Jaman MS, Li Y, Ahmad M. Biocontrol of phytopathogens—recent progress for improvement in efficacy and understanding action mechanism. *Front. Microbiol.* 2024; 15: 1407711. Disponible en:

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1407711>

[17]. Bleriot I, Pacios O, Blasco L, Fernández-García L, López M, Ortiz-Cartagena C, *et al*. Improving phage therapy by evasion of phage resistance mechanisms. *JAC-AMR.* 2024; 6 (1): 017. Disponible en:

<https://doi.org/10.1093/jacamr/dlae017>

[18]. Hussain W, Ullah MW, Farooq U, Aziz A, Wang S. Bacteriophage-based advanced bacterial detection: Concept, mechanisms, and

applications. *Biosens Bioelectron.* 2021; 177: 112973. Disponible en:

<https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.112973>

[19]. Rao VB, Fokine A, Fang Q, Shao Q. Bacteriophage T4 head: structure, assembly, and genome packaging. *Viruses.* 2023; 15 (2): v15020527. Disponible en:

<https://doi.org/10.3390/v15020527>

[20]. Wang C, Duan J, Gu Z, Ge X, Zeng J, Wang J. Architecture of the bacteriophage lambda tail. *Structure.* 2024; 32 (1): 35-46. Disponible en:

<https://doi.org/10.1016/j.str.2023.10.006>

[21]. Chen W, Xiao H, Wang L, Wang X, Tan Z, Han Z, *et al*. Structural changes in bacteriophage T7 upon receptor-induced genome ejection. *PNAS.* 221; 118 (37): e2102003118. Disponible en:

<https://doi.org/10.1073/pnas.2102003118>

[22]. Farafonov VS, Stich M, Nerukh DA. Complete Virion Simulated: All-Atom Model of an MS2 Bacteriophage with Native Genome. *J. Chem. Theory Comput.* 2023; 19 (21): 7924-7933. Disponible en:

<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jctc.3c00846>

[23]. Aloo BN, Mbega ER, Makumba BA, Tumuhairwe JB. (2022). Life Inside Plants: Insights into the Lifestyle, Diversity, and Metabolites of Endophytic Bacteria Involved in Plant Defense Against Phytopathogens. *Microbial Biocontrol: Sustainable Agriculture and Phytopathogen Management: Volume 1.* 2022; pp. 79-111. Disponible en:

https://doi.org/10.1007/978-3-030-87512-1_4



[24]. Ma M, Mu T, Zhou L. Identification of saprophytic microorganisms and analysis of changes in sensory, physicochemical, and nutritional characteristics of potato and wheat steamed bread during different storage periods. *Food chemistry*. 2021; 348: 128927. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128927>

[25]. Dennehy JJ, Abedon ST. Phage infection and lysis. In: Harper, D.R., Abedon, S.T., Burrowes, B.H., McConville, M.L. (eds) *Bacteriophages*. Springer, Cham. 2021; 341-383. https://doi.org/10.1007/978-3-319-41986-2_53

[26]. Zhang M, Zhang T, Yu M, Chen YL, Jin M. The life cycle transitions of temperate phages: regulating factors and potential ecological implications. *Viruses*. 2022; 14 (9): 1904. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/v14091904>

[27]. Straits Research. <https://straitsresearch.com>. Consultado el 13/09/2024.

[28]. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2024). <https://www.gob.mx/siap>. Consultado el 18/09/2024.

[29]. Naik SA, Hongal S, Harshavardhan M, Chandan K, Kumar AJ, Ashok, *et al*. Productive characteristics and fruit quality traits of cherry tomato hybrids as modulated by grafting on different *Solanum* spp. rootstocks under *Ralstonia solanacearum* infested greenhouse soil. *Agronomy*. 2021; 11 (7):

11071311. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2073-4395/11/7/1311>

[30]. Hernández-Romano J, Ramírez-Rojas S, Ydrac-Morales CJ. First report of *Ralstonia solanacearum* causing tomato bacterial wilt in Mexico. *New Dis. Rep.* 2012; 26 (22): 2044-0588. Disponible en: <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.5197/j.2044-0588.2012.026.022>

[31]. *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* (ATCC 11696). Disponible en: <https://www.atcc.org/products/11696>

[32]. Caldwell D, Kim BS, Iyer-Pascuzzi AS. *Ralstonia solanacearum* differentially colonizes roots of resistant and susceptible tomato plants. *Phytopathol.* 2017; 107: 528–536. Disponible en: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-16-0353-R>

[33]. Paudel S, Dobhal S, Alvarez AM, Arif M. Taxonomy and phylogenetic research on *Ralstonia solanacearum* species complex: a complex pathogen with extraordinary economic consequences. *Pathogens*. 2020; 9 (11): 886. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/pathogens9110886>

[34]. Lowe-Power TM, Khokhani D, Allen C. How *Ralstonia solanacearum* exploits and thrives in the flowing plant xylem environment. *Trends Microbiol.* 2018; 26, 929–942. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.06.002>

[35]. Liu H, Kang Y, Genin S, Schell MA, Denny TP. Twitching motility of *Ralstonia solanacearum* requires a type IV pilus system. *Microbiol.* 2001; 147 (12): 3215-3229.



Disponible en:
<https://doi.org/10.1099/00221287-147-12-3215>

[36]. Landry D, González-Fuente M, Deslandes L, Peeters N. The large, diverse, and robust arsenal of *Ralstonia solanacearum* type III effectors and their in planta functions. Mol. Plant Pathol. 2020; 21 (10): 1377-1388.

Disponible en:
<https://doi.org/10.1111/mpp.12977>

[37]. Cunnac S, Boucher C, Genin S. Characterization of the cis-acting regulatory element controlling HrpB-mediated activation of the type III secretion system and effector genes in *Ralstonia solanacearum*. J. Bacteriol. 2004; 186 (8): 2309-2318. Disponible en:
<https://doi.org/10.1128/jb.186.8.2309-2318.2004>

[38]. Herrmann KM. The shikimate pathway: early steps in the biosynthesis of aromatic compounds. The Plant Cell. 1995; 7 (7): 907.
<https://doi.org/10.1105/tpc.7.7.907>

[39]. Zhang Q, Wu B, Han L, Yu D, Liang T, Wang Y, et al. Functional characterization of two 3-dehydroquinases of AroQ1 and AroQ2 in the shikimate pathway and expression of genes for the type III secretion system in *Ralstonia solanacearum*. Front. Microbiol. 2023; 14: 1186688. Disponible en:
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1186688>

[40]. de Pedro-Jové R, Puigvert M, Sebastià P, Macho AP, Monteiro JS, Coll NS, Valls M. Dynamic expression of *Ralstonia solanacearum* virulence factors and metabolism-controlling genes during plant

infection. BMC Genom. 2021; 22: 1-18. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12864-021-07457-w>

[41]. Brown DG, Allen C. *Ralstonia solanacearum* genes induced during growth in tomato: an inside view of bacterial wilt. Mol. Microbiol. 2004; 53 (6): 1641-1660. Disponible en:
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.04237.x>

[42]. Ishihara T, Mitsuhara I, Takahashi H, Nakaho K. Transcriptome analysis of quantitative resistance-specific response upon *Ralstonia solanacearum* infection in tomato. Plos one. 2012; 7(10): e46763. Disponible en:
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046763>

[43]. Lowe-Power TM, Khokhani D, Allen C. How *Ralstonia solanacearum* exploits and thrives in the flowing plant xylem environment. Trends Microbiol. 2018; 26 (11): 929-942. Disponible en:
[https://www.cell.com/trends/microbiology/abstract/S0966-842X\(18\)30137-9](https://www.cell.com/trends/microbiology/abstract/S0966-842X(18)30137-9)

[44]. Wu D, Ding W, Zhang Y, Liu X, Yang L. Oleanolic acid induces the type III secretion system of *Ralstonia solanacearum*. Front. Microbiol. 2015; 6: 1466. Disponible en:
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01466>

[45]. Lonjon F, Turner M, Henry C, Rengel D, Lohou D, van de Kerkhove Q, et al. Comparative secretome analysis of *Ralstonia solanacearum* type 3 secretion-associated mutants reveals a fine control of effector delivery, essential for bacterial pathogenicity. MCP. 2016; 15 (2): 598-613. Disponible en:
<https://www.mcponline.org/article/S1535->

[9476\(20\)33690-2/fulltext](#)

[46]. Lonjon F, Lohou D, Cazalé AC, Büttner D, Ribeiro BG, Péanne C, et al. HpaB-dependent secretion of type III effectors in the plant pathogens *Ralstonia solanacearum* and *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. Sci. Rep. 2017; 7 (1): 4879. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04853-9>

[47]. Hendrich CG. *Ralstonia Solanacearum* Secretion Systems: Critical Virulence Factors and Points of Vulnerability. The University of Wisconsin-Madison. 2021. Disponible en: <https://search.library.wisc.edu/digital/ANFX34LLUKH4BN9C>

[48]. Safaie-Farahani A, Taghavi SM. Transcript analysis of some defense genes of tomato in response to host and non-host bacterial pathogens. Mol. Biol. Res. Commun. 2017; 6 (4): 177. Disponible en: https://mbrc.shirazu.ac.ir/article_4346.html

[49]. Milling A, Babujee L, Allen C. *Ralstonia solanacearum* extracellular polysaccharide is a specific elicitor of defense responses in wilt-resistant tomato plants. Plosone. 2011; 6 (1): e15853. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015853>

[50]. Zhang H, Zhang D, Chen J, Yang Y, Huang Z, Huang D, et al. Tomato stress-responsive factor TSRF1 interacts with ethylene responsive element GCC box and regulates pathogen resistance to *Ralstonia solanacearum*. Plant Mol. Biol. 2004; 55: 825-834. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11103-004-2140-8>

[51]. Shui D, Sun J, Xiong Z, Zhang S, Shi J.

Comparative identification of WRKY transcription factors and transcriptional response to *Ralstonia solanacearum* in tomato. Gene. 2024; 912: 148384. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2024.148384>

[52]. French E, Kim BS, Rivera-Zuluaga K, Iyer-Pascuzzi AS. Whole root transcriptomic analysis suggests a role for auxin pathways in resistance to *Ralstonia solanacearum* in tomato. MPMI. 2018; 31 (4): 432-444. Disponible en: <https://doi.org/10.1094/MPMI-08-17-0209-R>

[53]. Caldwell D, Kim BS, Iyer-Pascuzzi AS. *Ralstonia solanacearum* differentially colonizes roots of resistant and susceptible tomato plants. Phytopath. 2017; 107 (5): 528-536. Disponible en: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-16-0353-R>

[54]. Shi H, Liu Y, Ding A, Wang W, Sun Y. Induced defense strategies of plants against *Ralstonia solanacearum*. Front. Microbiol. 2023; 14: 1059799. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1059799>

[55]. Ferreira V, Pianzola M J, Vilaró FL, Galván GA, Tondo ML, Rodriguez MV. Interspecific potato breeding lines display differential colonization patterns and induced defense responses after *Ralstonia solanacearum* infection. Front. Plant Sci. 2017; 8:1424. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01424>

[56]. Ishihara T, Mitsuhara I, Takahashi H, Nakaho K. Transcriptome analysis of quantitative resistance-specific response upon *Ralstonia solanacearum* infection in tomato.



Plos one. 2012; 7(10): e46763. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046763>

[57]. Zeiss DR, Mhlongo MI, Tugizimana F, Steenkamp PA, Dubery IA. Metabolomic profiling of the host response of tomato (*Solanum lycopersicum*) following infection by *Ralstonia solanacearum*. Int. J. Mol. Sci. 2019; 20(16): 3945. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms20163945>

[58]. Peyraud R, Cottret L, Marmiesse L, Gouzy J, Genin S. A resource allocation trade-off between virulence and proliferation drives metabolic versatility in the plant pathogen *Ralstonia solanacearum*. PLoS Pathogens. 2016; 12 (10): e1005939. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005939>

[59]. Rivera-Zuluaga K, Hiles R, Barua P, Caldwell D, Iyer-Pascuzzi AS. Getting to the root of *Ralstonia* invasion. Semin. Cell Biol. 2023; 148: 3-12. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2022.12.002>

[60]. Lowe-Power TM, Hendrich CG, von Roepenack-Lahaye E, Li B, Wu D, Mitra R, *et al*. Metabolomics of tomato xylem sap during bacterial wilt reveals *Ralstonia solanacearum* produces abundant putrescine, a metabolite that accelerates wilt disease. Environ. microbiol. 2018; 20 (4): 1330-1349. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14020>

[61]. Labrie SJ, Samson JE, Moineau S. Bacteriophage resistance mechanisms. Nat. Rev. Microbiol. 2010; 8 (5): 317-327. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nrmicro2315>

[62]. Ongena V, Briegel A, Claessen D. Cell

wall deficiency as an escape mechanism from phage infection. Open Biol. 2021; 11 (9): 210199. Disponible en: <https://doi.org/10.1098/rsob.210199>

[63]. Ross A, Ward S, Hyman P. More is better: selecting for broad host range bacteriophages. Front. Microbiol. 2016; 7, 1352. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01352>

[64]. Biosca EG, Català-Senent JF, Figàs-Segura À, Bertolini E, López MM, Álvarez B. Genomic analysis of the first European bacteriophages with depolymerase activity and biocontrol efficacy against the phytopathogen *Ralstonia solanacearum*. Viruses, 2021; 13 (12): 2539. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/v13122539>

[65]. Xavier ADS, de Melo AG, Hendrich CG, Tremblay DM, Rousseau GM, Plante PL, *et al*. In through the out door: a functional virulence factor secretion system is necessary for phage infection in *Ralstonia solanacearum*. Mbio, 2022; 13 (6): e01475-22. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/mbio.01475-22>

[66]. Narulita E, Addy HS, Kawasaki T, Fujie M, Yamada T. The involvement of the PilQ secretin of type IV pili in phage infection in *Ralstonia solanacearum*. Biochem Biophys Res Commun. 2016; 469 (4): 868-872. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.12.071>

[67]. Addy HS, Askora A, Kawasaki T, Fujie M, Yamada T. Disruption of *gspD* and its effects on endoglucanase and filamentous phage secretion in *Ralstonia solanacearum*. Procedia Environ. Sci. 2014; 20: 753-759. Disponible en:



<https://doi.org/10.1016/j.proenv.2014.03.090>

[68]. Addy HS, Askora A, Kawasaki T, Fujie M, Yamada T. The filamentous phage ϕ RSS1 enhances virulence of phytopathogenic *Ralstonia solanacearum* on tomato. *Phytopathology*. 2012; 102 (3): 244-251. Disponible en: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-10-11-0277>

[69]. Wang J, Wang X, Yang K, Lu C, Fields B, Xu Y, *et al*. Phage selection drives resistance–virulence trade-offs in *Ralstonia solanacearum* plant-pathogenic bacterium irrespective of the growth temperature. *Evolution Letters*. 2024; 8 (2): 253-266. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/evlett/grad056>

[70]. Piel D, Bruto M, Labreuche Y, Blanquart F, Goudenège D, Barcia-Cruz R, *et al*. Phage–host coevolution in natural populations. *Nat. Microbiol*, 2022; 7 (7): 1075-1086. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01157-1>

[71]. da Silva Xavier A, de Almeida JCF, de Melo AG, Rousseau GM, Tremblay DM, *et al*. Characterization of CRISPR-Cas systems in the *Ralstonia solanacearum* species complex. *Mol. Plant Pathol*. 2019; 20: 223–239. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/mpp.12750>

[72]. Castillo JA, Secaira-Morocho H, Maldonado S, Sarmiento KN. Diversity and evolutionary dynamics of antiphage defense systems in *Ralstonia solanacearum* species complex. *Front. Microbiol*. 2020; 11: 961.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00961>

[73]. Villalpando-Aguilar JL, Matos-Pech G, López-Rosas I, Castelán-Sánchez HG, Alatorre-Cobos F. Phage therapy for crops: concepts, experimental and bioinformatics approaches to direct its application. *Int. J. Mol. Sci*. 2022; 24 (1): 325. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms24010325>

[74]. Álvarez B, Biosca EG. Bacteriophage-based bacterial wilt biocontrol for environmentally sustainable agriculture. *Frontiers in plant science*. 2017; 8: 1218. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01218>

[75]. Fujiwara A, Fujisawa M, Hamasaki R, Kawasaki T, Fujie M, Yamada T. Biocontrol of *Ralstonia solanacearum* by treatment with lytic bacteriophages. *Appl. Environ. Microbiol*. 2011; 77: 4155–4162. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/AEM.02847-10>

[76]. Bae JY, Wu J, Lee HJ, Jo EJ, Murugaiyan S, Chung E, *et al*. Biocontrol potential of a lytic bacteriophage PE204 against bacterial wilt of tomato. *J. Microbiol. Biotechnol*. 2012; 22: 1613–1620. Disponible en: <https://doi.org/10.4014/jmb.1208.08072>

[77]. Addy HS, Askora A, Kawasaki T, Fujie M, Yamada T. Loss of virulence of the phytopathogen *Ralstonia solanacearum* through infection by ϕ RSM3 filamentous phages. *Phytopathology* 2012; 102: 469–477. Disponible en: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-11-11-0319-R>