



**CENTRO DE INVESTIGACION Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

UNIDAD ZACATENCO

DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA

**Diversidad genética de *Xylella fastidiosa* Wells et al. 1987
en viñedos mexicanos**

Tesis que presenta
Andrés Aguilar Granados

Para obtener el grado de

**DOCTOR EN CIENCIAS
EN LA ESPECIALIDAD DE BIOTECNOLOGÍA**

Directora de Tesis: **Guadalupe Beatriz Xoconostle Cázares**

Ciudad de México,

Marzo, 2021.

Agradecimiento

Agradecimiento al Conacyt por la beca recibida (225277), al CINVESTAV y SENASICA.

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	7
1.1 Producción de vid en México	7
1.2 Generalidades de <i>Xylella fastidiosa</i> Wells et al. 1987	7
1.3 Insectos vectores.....	8
1.4 Subespecies de <i>Xylella fastidiosa</i>	9
1.5 Recombinación genética	9
1.6 Análisis Multilocus de Secuencias (MLST Multi Locus Sequence Typing)..	10
1.7 Sistema vascular de las plantas	11
1.8 Transferencia de información genética en <i>Xylella fastidiosa</i>	13
1.9 Transducción en <i>Xylella fastidiosa</i>	14
1.10 Transformación genética de <i>Xylella fastidiosa</i>	15
2. JUSTIFICACIÓN.....	16
3. HIPÓTESIS DEL TRABAJO	17
4. OBJETIVO.....	17
5. MATERIALES Y MÉTODOS	18
5.1 Muestreo de plantas en campo.....	18
5.2 Aislamiento de la bacteria.....	19
5.3 Extracción de DNA y detección	21
5.4 Determinación de la subespecie de <i>Xylella fastidiosa</i> por MLSA-MLST	21
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	23
7. CONCLUSIONES.....	39
8. REFERENCIAS	40
9. ANEXOS	48

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Secuencia de iniciadores empleados para la PCR punto final y tiempo real.	22
Cuadro 2. Variedades de vid analizadas para la detección de <i>Xylella fastidiosa</i> . 24	
Cuadro 3. Perfil alélico de aislamientos de <i>Xylella fastidiosa</i> de viñedos mexicanos.....	28

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Sitios de muestreo de vid en la región centro norte de México.	18
Figura 2. Material vegetal de vid con síntomas de <i>Xylella fastidiosa</i>	20
Figura 3. Colonias de <i>X. fastidiosa</i> aisladas en medio de cultivo BCYE y PD3..	23
Figura 4. Inferencia bayesiana of <i>Xylella fastidiosa</i>	27
Figura 5. Árbol filogenético de los diferentes alelos del gene <i>cysG</i>	30
Figura 6. Árbol filogenético de los diferentes alelos del gene <i>gltT</i>	31
Figura 7. Árbol filogenético de los diferentes alelos del gene <i>holC</i>	32
Figura 8. Árbol filogenético de los diferentes alelos del gene <i>leuA</i>	33
Figura 9. Árbol filogenético de los diferentes alelos del gene <i>malF</i>	34
Figura 10. Árbol filogenético de los diferentes alelos del gene <i>nuoL</i>	35
Figura 11. Árbol filogenético de los diferentes alelos del gene <i>petC</i>	36

Resumen

Xylella fastidiosa es una bacteria fitopatógena habitante del xilema que afecta a diversas plantas cultivadas. En México se tiene conocimiento de la presencia de la bacteria en los estados de Baja California, Coahuila y Querétaro, sin embargo se desconoce si se encuentra presente en otros estados y si está involucrada otra subespecie. Para identificar su posible presencia, se analizaron en el laboratorio de bacteriología del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF), 408 muestras de vides de los principales estados productores. Para la detección de la bacteria se empleó la técnica de PCR punto final (RST31/RST33) y PCR tiempo real (XF-F/XF-R/XF-P), la tipificación de la subespecie se realizó empleando el análisis/tipificación multilocus de las secuencias (MLSA-MLST) basado en el análisis concatenado de siete genes de mantenimiento: *leuA*, *petC*, *malF*, *cysG*, *holC*, *nuoL* y *gltT*. Estas secuencias se compararon con las secuencias tipo (ST) de las subespecies correspondientes. Se confirmó la presencia de *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa* en los estados de Baja California, Coahuila y Querétaro. Los aislamientos del norte del país presentan identidad con la secuencias tipo 1 (ST1), similar a los aislamientos de vid de Estados Unidos. Sin embargo, el aislamiento de Querétaro no muestra identidad con alguna secuencia tipo. Esto indica que hay variabilidad genética entre los aislamientos del norte y centro del país.

Palabras clave: *Vitis vinífera*, Enfermedad de Pierce, MLST, MLSA, Variabilidad genética, Filogenia molecular.

Abstract

Xylella fastidiosa is a phytopathogenic bacterium inhabiting the xylem that affects diverse agriculturally relevant crops. In Mexico, *X. fastidiosa* has been reported in the states of Baja California, Coahuila and Querétaro; however, it is not known whether there are subspecies in México. In order to determine the genetic diversity of this bacterium, 408 grape vine samples were collected from the main producing states in Mexico. For genus identification, real-time PCR and three-loci end-point PCR analyses were employed. The genotyping of the subspecies was carried out using MultiLocus Sequence Typing and Analysis (MLSA-MLST), based on seven housekeeping genes: *leuA*, *petC*, *malF*, *cysG*, *holC*, *nuoL* and *gltT*. The resulting sequences were compared with those present in extant databases. The presence of *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* in the states of Baja California, Coahuila and Querétaro was thus confirmed. The isolates from Northern Mexico bear high similarity with the grape vine isolates from the United States. However, the isolates from Querétaro showed significant differences with currently known sequences, showing that there is genetic variability between the isolates from Northern and Central Mexico.

Keywords: *Vitis vinifera*, Pierce disease, MLST, MLSA, Genetic diversity, Molecular phylogeny.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Producción de vid en México

México cuenta con una superficie de 33,437 hectáreas plantadas con vid y una producción de 351 310 toneladas anuales. Siendo el estado de Sonora el principal productor, seguido de Zacatecas y Baja California. Entre los tres estados generan el 93% de la producción nacional. El 63 % de la producción se destina para el consumo en fresco, mientras que el 24.4% para la elaboración de vinos y jugos y el 12.6 % se deshidrata (SAGARPA, 2017).

1.2 Generalidades de *Xylella fastidiosa* Wells et al. 1987

Xylella fastidiosa es una bacteria fitopatógena obligada, limitada al xilema de las plantas y se transmite por chicharritas. En 1892 se realiza el primer reporte de *X. fastidiosa* por Newton Pierce (Pierce, 1892) en vid, y más tarde fue denominada como enfermedad de Pierce. Es hasta 1970 cuando se determina que es una bacteria y no un virus la responsable de la enfermedad de Pierce (Davis et al., 1978). Desde entonces, esta bacteria ha generado daños en diferentes sistemas de producción agrícola. En 1987 se reporta a *X. fastidiosa* afectando el cultivo de cítricos en Brasil, denominándose a esta enfermedad la clorosis variegada de los cítricos (CVC) (Chang et al., 1993 y Hartung, 1994). En 2013 se presenta en Apulia, al sur de Italia, afectando cultivares de olivo (Saponari et al., 2013 y Saponari et al., 2017).

La distribución de la bacteria a escala mundial está directamente relacionada con la movilización de material vegetal infectado (Sicard et al., 2018). Se estima que esta bacteria tiene la capacidad de afectar a más de 563 especies de plantas, incluyendo plantas forestales, frutales, malezas, ornamentales y silvestres (EFSA, 2018).

En México se detectó la bacteria en 1995 en el cultivo de vid en Ensenada, Baja California; posteriormente en 2007, fue reportada en Parras de la Fuente, Coahuila y en 2011 en el municipio de Ezequiel Montes, en Querétaro.

Xylella fastidiosa es una de las bacterias más peligrosas a nivel mundial ya que puede provocar daños en hojas, tallos y frutos, causando un fuerte impacto económico principalmente en cultivos leñosos como vid, cítricos y diversos frutales de hueso (durazno, ciruela, aguacate), café, arándano y ornamentales (SENASICA, 2019b)

La Universidad de California refiere que durante el periodo 1994 -2000, cerca de 500 hectáreas cultivadas con vid en el estado de California fueron afectadas por la enfermedad, ocasionando pérdidas superiores a los 30 millones de dólares (State of California, 2010). La introducción y diseminación de la Quemadura de la hoja en México podría afectar la producción de aguacate, arándano, nuez pecanera, durazno, chabacano y ciruela, que de acuerdo al SIAP (2019), la superficie sembrada de estos cultivos en el ciclo agrícola 2017 fue de 392,011.83 ha, con una producción de 2,462,019.93 toneladas y un valor de producción de \$55,049.63 millones de pesos. Asimismo, podría afectar las zonas forestales al presentarse en robles, olmos, sicomoros y liquidámbar. La Unión Europea la considera una bacteria de importancia cuarentenaria (organismo nocivo, de la que se prohíbe su introducción y propagación). (SENASICA, 2019 a y b).

1.3 Insectos vectores

Existen dos grupos importantes de insectos vectores, que se alimentan directamente de la savia del xilema, los cicadélidos (Cicadellidae subfamilia Cicadellinae) y los salivazos (Cercopoidea, familias Aphrophoridae, Cercopidae y Clastopteridae) (Hewitt *et al.*, 1946 y Severin, 1950).

1.4 Subespecies de *Xylella fastidiosa*

Desde la descripción de la bacteria en 1987 por Wells y colaboradores, se han propuesto seis subespecies; *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* (Schaad *et al.*, 2004), *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* (Schaad *et al.*, 2004), *X. fastidiosa* subsp. *pauca* (Schaad *et al.*, 2004), *X. fastidiosa* subsp. *sandyi* (Schuenzel *et al.*, 2005), *X. fastidiosa* subsp. *tashke* (Randall *et al.*, 2009) y *X. fastidiosa* subsp. *morus* (Nunney *et al.*, 2014). Sin embargo, en 2016 Marcelletti y Scortichini realizaron una filogenia y una red de Neighbor-net de 820088 nucleótidos del genoma, un análisis de identidad de nucleótidos, y un árbol consenso de 956 familias de genes de 21 aislamientos de *Xylella fastidiosa*, respaldando los resultados propuestos por Schaad *et al.*, (2014) donde se propone la presencia de tres subespecies; *fastidiosa*, *multiplex* y *pauca*, las subsp. *sandyi* y *morus* se integran en la subsp. *fastidiosa*. Cabe destacar que solo las subespecies *fastidiosa* y *multiplex* son taxonómicamente válidas (<https://lpsn.dsmz.de/species/xylella-fastidiosa>).

1.5 Recombinación genética

Las subespecies de *X. fastidiosa* en el continente americano han evolucionado en sitios geográficos aislados; por ejemplo, la subsp. *multiplex* evolucionó en Norte América, la subsp. *fastidiosa* en Centro América y la subsp. *pauca* en Sudamérica (Almeida y Nunney, 2015). La recombinación homóloga de la bacteria puede ocurrir cuando hay coinfección en plantas hospedantes y/o en insectos vectores. Por ejemplo la recombinación entre *X. fastidiosa* subsp. *pauca* endémica de Sudamérica y *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* introducida que pudo haber facilitado la adaptación de la bacteria a cítricos y a café (Coletta-Filho *et al.*, 2017, Nunney *et al.*, 2012). De igual forma se tiene reportado el caso de *X. fastidiosa* subsp. *morus* que surgió como un proceso de recombinación entre *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* y subsp. *multiplex* (Nunney *et al.*, 2014).

Este proceso de recombinación genética se propone como el elemento principal de la evolución de *X. fastidiosa*, el cual ocurre en un periodo de tiempo corto y

tiene efectos evolutivos significativos (Kung *et al.*, 2013), aumentando la adaptación de patógenos a nuevos entornos (Baltrus *et al.*, 2008) y confiere a la bacteria la habilidad de explorar nuevos nichos e infectar nuevos hospederos (Nunney *et al.*, 2014). Con estos elementos, se considera que los mecanismos de generación de variación genética están relacionados a la aparición de nuevas asociaciones entre la bacteria y las plantas, generándose aislamientos patogénicos a determinados cultivos o variedades (Coletta-Filho *et al.*, 2017 y Almeida y Nunney 2015).

1.6 Análisis Multilocus de Secuencias (MLST Multi Locus Sequence Typing).

Los métodos de identificación microbiana han evolucionado rápidamente en las últimas décadas. Uno de estos métodos es la tipificación de secuencias de loci múltiples (MLST Multi Locus Sequence Typing) (Maiden *et al.*, 1999). La tipificación de secuencias multilocus identifica y agrupa cepas bacterianas basadas en datos de secuencias de ADN de siete genes de mantenimiento. Es una herramienta poderosa para comprender las dinámicas evolutivas de los patógenos, detectar los procesos de recombinación genética, obtener información sobre su diversidad genética, documentar la variabilidad genética de aislamientos bacterianos, conocer los cambios evolutivos que ocurren dentro de los taxones, comprender la epidemiología de las bacterias patógenas, rastrear los patrones biogeográficos o determinar la especificidad del hospedante (Maiden *et al.*, 1998, Nunney *et al.*, 2012b y Nunney *et al.*, 2013).

En 2005 se empleó el método MLST, para la tipificación de los aislamientos de *Xylella fastidiosa*, lo que permitió comprender las relaciones filogenéticas entre las subespecies reportadas, y cómo los clados se organizan en relación a los hospederos y la localización geográfica (Sally *et al.*, 2005).

1.7 Sistema vascular de las plantas

En las plantas vasculares existen dos sistemas de transporte; el xilema que moviliza principalmente agua y minerales en la dirección al flujo de transpiración y el floema que transporta fotoasimilados, hormonas, proteínas y ácidos nucleicos de tejidos productores a tejidos consumidores. El xilema y el floema se desarrollan a partir de células no diferenciadas procambiales o cambiales. También se induce la diferenciación de tejido vascular en las áreas con heridas, en la formación de raíces laterales, en las zonas de injerto, y en las asociaciones parasíticas o semiparasíticas con otras plantas, pero no con otros organismos como hongos filamentosos. El xilema y el floema son tejidos anatómica, fisiológica y funcionalmente diferentes a pesar de que se diferencian de los mismos precursores y que se encuentran en estrecha relación espacial (Taiz y Zeiger. 2002).

El xilema maduro está constituido de elementos traqueales (conductores), fibras y parénquima. Durante el crecimiento primario de la planta, el xilema se origina del procambium. Los elementos del xilema primario que se diferencian y maduran son los del protoxilema. Aquellos elementos traqueales que maduran después constituyen el metaxilema. La formación de un elemento traqueal está caracterizado por una serie de cambios citológicos. Al iniciarse el proceso de diferenciación, el joven elemento traqueal tiene un protoplasto que contiene todos los organelos típicos de una célula meristemática. Al avanzar el proceso, el núcleo se hace poliploide y aumenta su tamaño. Algunos organelos celulares se pliegan sobre la pared para reforzarlas. Al finalizar la formación de la pared secundaria, la célula inicia un periodo de autólisis programada que culmina con la muerte del protoplasto. Se activan enzimas fibrolíticas que darán paso a la perforación de la pared celular y formarán las placas cribosas, y con ello se constituye el sistema

vascular. También existen elementos no conductores en el xilema que son de naturaleza parenquimática (almacenan sustancias de reserva y participan en transporte de metabolitos) o esclerenquimática (fibrotraqueidas o fibras libriformes y ejercen función de soporte) (Taiz y Zeiger. 2002).

El floema constituye un sistema de transporte intercelular a larga distancia, que moviliza los carbohidratos producidos en la fotosíntesis, moléculas mensajeras (RNA), así como otras sustancias, hacia las zonas de crecimiento y diferenciación. El floema primario se clasifica en protofloema y metafloema. Los elementos cribosos del protofloema son los primeros que maduran en partes de la planta que aún están en crecimiento. Son capaces de alargarse y ajustarse al ritmo de crecimiento del órgano, pero están sujetos a las tensiones que producen el acumulamiento y crecimiento de las células circundantes, por lo que pronto son obliteradas y dejan de funcionar. Los elementos celulares constitutivos del floema se clasifican en conductores (elementos cribosos) y no conductores. El elemento criboso joven tiene todos los componentes normales de una célula meristemática. Los elementos cribosos son células conductoras muy especializadas, cuya diferenciación implica eventos de síntesis y autofagia selectiva, resultando en la reorganización de algunos componentes celulares y la desaparición de otros. La placa cribosa se inicia como una pared ordinaria, desde un inicio tiene plasmodesmos, la deposición de callosa alrededor de los plasmodesmos se inicia antes de que la pared de la placa cribosa alcance su grosor final. Al degenerar el núcleo, los canales de los plasmodesmos se agrandan y muchas veces desarrollan una cavidad en la región de la lámina media. El poro se abre y sirve de comunicación entre los elementos cribosos. La maduración de la placa cribosa es uno de los resultados de la autólisis que ocurre en el elemento criboso, cuando éste se convierte en una célula especializada (Taiz y Zeiger. 2002).

El cambium es un meristemo lateral que durante el proceso de crecimiento secundario forma un cilindro angosto de células, que circundan al xilema primario de los tallos. Es por esto que se incrementa el diámetro de los tallos, al agregar

capas sucesivas de xilema y floema secundarios. La adición de nuevas células en el xilema y floema se efectúa mediante división tangencial de las células iniciales del cambium (Taiz y Zeiger. 2002).

Con esta descripción anatómica y funcional del tejido vascular, es importante destacar que el xilema maduro es el hábitat de la bacteria fitopatógena *Xylella fastidiosa*; y es capaz de alojarse desde la raíz hasta los tejidos conductores menores, incluyendo los hidatodos. Los métodos de control de bacterias endófitas es un reto para la sanidad vegetal, pues físicamente es difícil de que los antibióticos penetren y sean estables en estos sitios anatómicamente inaccesibles. Adicionalmente, la bacteria es capaz de sintetizar y secretar carbohidratos que forman biofilms, los cuales impiden el movimiento de agua, produciendo así el síntoma típico de la enfermedad de Pierce, que es el borde seco de las hojas, y eventualmente se necrosan, por falta de agua.

1.8 Transferencia de información genética en *Xylella fastidiosa*.

Cualquier mecanismo de control deberá considerar esta adaptación fisiológica de la bacteria a generar nichos especializados, así como a su habilidad de realizar recombinación genética con otras subespecies. Sobre este particular, se reconocen tres mecanismos de transferencia horizontal de información genética (THIG): la conjugación, la transducción mediada por fagos y la transformación.

Xylella fastidiosa puede poseer plásmidos nativos que codifican para funciones de transferencia y movilización, lo que sugiere la conjugación como un mecanismo adicional de THIG (Burbank y Van Horn, 2017). En algunos aislados de *X. fastidiosa*, a menudo en plásmidos nativos, se encuentran los operones *tra* y *trb*, que por homología, se especula que codifican para un sistema de secreción conjugativo de tipo IV. Las cepas de *X. fastidiosa* que portan los genes de transferencia conjugativos pueden pertenecer a diferentes subespecies y con frecuencia difieren en los rangos de hospedantes. Burbank y Van Horn, 2017,

utilizando la cepa M23 de *X. fastidiosa* (*X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa*) o Dixon (*X. fastidiosa* subsp. *multiplex*) como cepa donante y Temecula (*X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa*) como cepa receptora, se caracterizaron la transferencia del plásmido utilizando el vector movilizable pBBR5pemIK de amplio rango de huéspedes. La transferencia del plásmido se observó en condiciones in vitro con ambas cepas donantes y fue dependiente de las funciones de los operones *tra* y *trb*. Un mecanismo conjugativo probablemente contribuye a la transferencia de genes entre diversas cepas de *X. fastidiosa*, posiblemente facilitando la adaptación a nuevos ambientes o diferentes hospedantes. La transferencia de plásmidos mediante un mecanismo conjugativo permite el movimiento de grandes cantidades de material genético a la vez, en comparación con otras rutas de transferencia de genes como la transformación natural (Burbank y Van Horn, 2017).

1.9 Transducción en *Xylella fastidiosa*.

El grupo del Dr. González en Texas (Ahern *et al.*, 2014) reportaron el aislamiento y caracterización de fagos virulentos para *X. fastidiosa*, sifófagos (Sano y Salvo) y podófagos (Prado y Paz), con un rango de hospedadores que incluye *Xanthomonas* spp (Ahern *et al.*, 2014). Los fagos propagados en hospedadores homólogos habían observado altas tasas de adsorción. Sano y Salvo son > 80% homólogos y son sinténicos con el fago BcepNazgul. Los genes de lisis del tipo de fagos similares a Nazgul incluyen un gen que codifica una lipoproteína endolisina de membrana externa y también familias de genes que proporcionan información sobre la evolución de la vía de lisis para los fagos de hospedadores Gram-negativos. Prado y Paz, aunque no exhiben una homología de DNA significativa entre sí, son nuevos miembros del tipo de fago con homología al fago phiKMV, según la posición del gen de la ARN polimerasa de subunidad única. Los cuatro fagos son pilus de tipo IV dependientes de la infección tanto de *X. fastidiosa* como de *Xanthomonas*.

1.10 Transformación genética de *Xylella fastidiosa*.

Denancé et al., 2019, empleando herramientas bioinformáticas, compararon genomas completos de 46 aislados depositados en la base de datos del Genbank, asimismo, identificaron secuencias privativas para cada uno de los aislados. El resultado sobresaliente es la sinonimia entre cepas de diferentes colecciones, aunque la identificación de k-meros (cortos y largos) específicos en genes afiliados a ontologías genéticas diferenciales sugieren que la filogenia conocida a la fecha puede ser una subestimación, y que subespecies pueden agrupar aislados con filogenias diferentes. Para el tema que nos ocupa de presencia de elementos episomales tipo plásmidos, este grupo identificó la presencia de dos elementos integradores y conjugativos (ICE), uno cromosómico y un plásmido completo en una sola cepa de *X. fastidiosa* subsp. *pauca*. Finalmente, una taxonomía revisada de *X. fastidiosa* en tres clados principales definidos por la subespecie *pauca* (clado I), *multiplex* (clado II) y la combinación de *fastidiosa*, *morus* y *sandyi* (clado III) fue fuertemente apoyada por k-mers específicamente asociados con estas subespecies. A la fecha se desconoce cuál es la presión de selección que puede mantener a estos episomas transformados en cepas ambientales; sin embargo, propone un mecanismo de transferencia horizontal de información genética que puede explicar aislados nuevos, obtenidos a través de transformación genética.

2. JUSTIFICACIÓN

México es un productor importante de uva, ya sea para su consumo fresco, como uva de mesa, o bien para su uso como materia prima en la elaboración de vinos. Ambos productos son tanto para consumo interno, como para exportación. Esta cadena de valor se ve fortalecida cuando se promueve la sanidad e inocuidad de estos productos. Con el objeto de dimensionar la presencia y diversidad genética de esta bacteria fitopatógena, se propuso conocer la distribución geográfica de *Xylella fastidiosa* en el país y el análisis de su variabilidad genética, como un primer paso para el manejo de la enfermedad.

3. HIPÓTESIS DEL TRABAJO

En México existe la bacteria *Xylella fastidiosa* asociada a cultivos de vid, sin embargo se desconoce si existe mas de una subespecie, que pueda tener cambios genéticos por efecto de su adaptación a estos agroecosistemas. La caracterización de su diversidad nos permitirá evaluar escenarios posibles para su adecuada mitigación y control.

4. OBJETIVO

Conocer la distribución geográfica de la bacteria en las principales regiones productoras de vid, así como su variabilidad genética.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Muestreo de plantas en campo

Con el apoyo de Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria y los Comités Estatales de Sanidad Vegetal, durante 2016 y 2018 se realizaron muestreos en las principales zonas productoras de vid: Aguascalientes (16 muestras), Baja California Norte (71 muestras), Chihuahua (8 muestras), Coahuila (4 muestras), Guanajuato (20 muestras), Nuevo León (7), Querétaro (68 muestras), Sonora (197 muestras) y zacatecas (17 muestras). Un total de 408 muestras fueron analizadas en el laboratorio (figura 1).

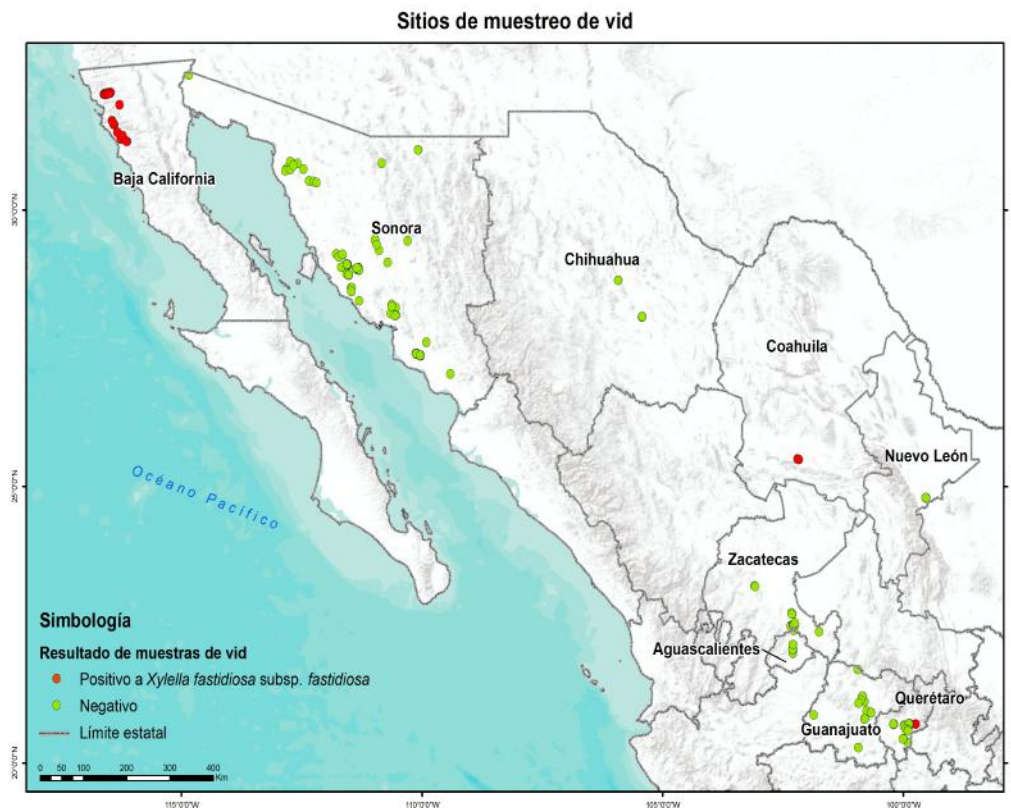


Figura 1. Sitios de muestreo de vid en la región centro norte de México. Los puntos rojos corresponden a muestra positivas a *Xylella fastidiosa* y los puntos verdes a muestras negativas.

5.2 Aislamiento de la bacteria

Se tomaron 5 peciolo de hojas con síntomas de quemadura marginal (Figura 2), estos fueron desinfectados superficialmente con hipoclorito de sodio al 2 % durante 2 minutos, de igual forma se agregó etanol al 70% y se enjuagaron 3 veces con agua destilada estéril. Cada peciolo se partió por la mitad y se presionó con una pinza estéril por un extremo, mientras que con el otro extremo del peciolo se presionó suavemente sobre el medio de cultivo BCYE (Wells *et al.*, 1981) y PD3 (Davis *et al.*, 1981), los medios se incubaron de 35 a 48 días a 28°C para el desarrollo de las colonias. Las colonias crecidas fueron purificadas y conservadas en glicerol 40% a -80 °C.



Figura 2. Material vegetal de vid con síntomas de *Xylella fastidiosa*. Se observa el borde que inicia clorótico, se seca y necrosa rápidamente. Esta marchitez está asociada a una deficiente movilización de agua por el tejido vascular hasta el hidátodo.

5.3 Extracción de DNA y detección

Para la extracción de DNA se pesaron 0.5 g de peciolo de hojas de vid y se empleó el protocolo estandarizado de CTAB (Loconsole *et al.*, 2014). La presencia del DNA de la bacteria se detectó con la técnica de PCR tiempo real y PCR convencional con los iniciadores XF-F/XF-R y RST31 y RST 33 propuestos por Harper *et al.*, 2010 y Minsavage *et al.*, 1994, respectivamente (Cuadro 1).

5.4 Determinación de la subespecie de *Xylella fastidiosa* por MLSA-MLST

Para conocer la subespecie de *Xylella fastidiosa* se amplificaron los genes de mantenimiento; *leuA*, *petC*, *malF*, *cysG*, *holC*, *nuoL* y *gltT* (Yuan *et al.*, 2010) (Cuadro 1). Los productos amplificados se enviaron a secuenciar y posteriormente se realizó un análisis/tipificación multi-locus de secuencias (MLSA-MLST), comparándose con las secuencias tipo (ST) de las diferentes subespecies correspondientes disponibles en la base de datos (<http://pubmlst.org/fastidiosa/>). Las secuencias de *Xylella taiwanensis* PLS235 se emplearon como fuera de grupo. Las secuencias fueron alineadas empleando el programa ClustalW (Thompson, 1994) con 10000 repeticiones bootstraps. Los alineamientos fueron concatenados empleando Mesquite v3.51 (Maddison y Maddison, 2018). Con los genes concatenados se realizó una inferencia bayesiana usando MrBayes 3.2.1 (Huelsenback y Ronquist, 2001). Adicionalmente, de cada gene se construyó un árbol filogenético empleando los alelos correspondientes para conocer la variabilidad genética. Se empleó el método de Maximum Likelihood con el modelo de sustitución de Tamura-Nei y 1000 repeticiones bootstrap.

Cuadro 1. Secuencia de iniciadores empleados para la PCR punto final y tiempo real.

Tipo	Nombre	Secuencia (5' - 3')	Tamaño producto amplificado (pb) ó tipo de sonda
Sentido	RST31	GCGTTAATTTTCGAAGTGATTTCGATTGC	733
Antisentido	RST33	CACCATTCGTATCCCGGTG	
Sentido	XF-F	CACGGCTGGTAACGGAAGA	TaqMan
Antisentido	XF-R	GGGTTGCGTGGTCAAATCAAG	
Sonda	XF-P	6FAM- TCGCATCCCGTGGCTCAGTCC-BHQ-1	
Sentido	<i>leuA</i> -for	GGTGCACGCCAAATCGAATG	708
Antisentido	<i>leuA</i> -rev	GTATCGTTGTGGCGTACACTG	
Sentido	<i>petC</i> -for	GCTGCCATTCGTTGAAGTACCT	533
Antisentido	<i>petC</i> -rev	GCACGTCCTCCCAATAAGCCT	
Sentido	<i>malF</i> -for	TTGCTGGTCCTGCGGTGTTG	730
Antisentido	<i>malF</i> -rev	GACAGCAGAAGCACGTCCCAGAT	
Sentido	<i>cysG</i> -for	GCCGAAGCAGTGCTGGAAG	600
Antisentido	<i>cysG</i> -rev	GCCATTTTCGATCAGTGCAAAAG	
Sentido	<i>holC</i> -for	ATGGCACGCGCCGACTTCT	379
Antisentido	<i>holC</i> -rev	ATGTCGTGTTTGTTCATGTGCAGG	
Sentido	<i>nuoL</i> -for	TAGCGACTTACGGTACTGGGC	557
Antisentido	<i>nuoL</i> -rev	ACCACCGATCCACAACGCAT	
Sentido	<i>glT</i> -for	TCATGATCCAAATCACTCGCTT	654
Antisentido	<i>glT</i> -rev	ACTGGACGCTGCCTC GTAAACC	

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se confirmó la presencia de *Xylella fastidiosa* por PCR con los iniciadores RST31 y RST33 (Minsavage *et al.*, 1994), y qPCR con los iniciadores XF-F/XF-R (Harper *et al.*, 2010) en los estados de Baja California, Coahuila y Querétaro (Cuadro 2, anexo 1). Se logró el aislamiento de *Xylella fastidiosa* en medios de cultivo BCYE y PD3 (figura 3). Colonias bacterianas blancas, circulares, de bordes lisos y ligeramente convexas, similares a las reportadas por la literatura (EPPO, 2019).

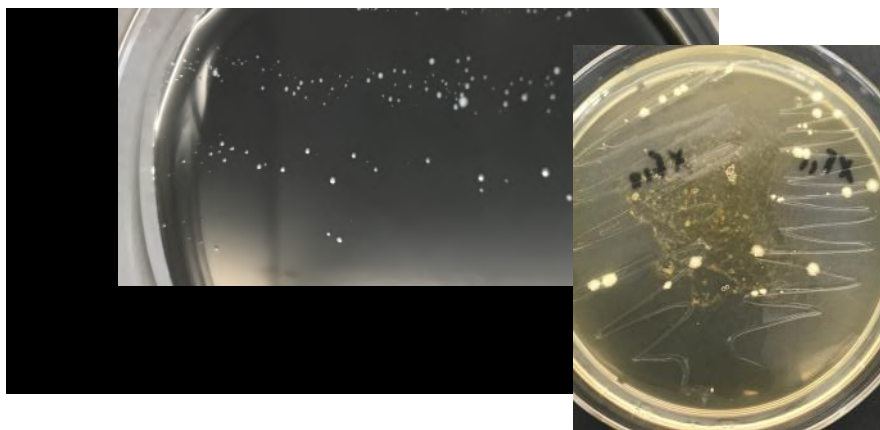


Figura 3. Colonias de *Xylella fastidiosa* aisladas en medio de cultivo BCYE y PD3, después de 48 días en incubación a 28°C.

Cuadro 2. Variedades de vid analizadas para la detección de *Xylella fastidiosa*.

Estado	Variedad	Muestra analizadas	Muestras negativas a <i>Xylella</i> <i>fastidiosa</i>	Muestras positivas a <i>Xylella</i> <i>fastidiosa</i>
Aguascalientes	Salvador	1	1	
	Victoria	1	1	
	Malbec	12	1	
	-----	2	1	
Baja California	Cabernet	9		9
	Cabernet Sauvignon	3		3
	Chardonnay	1		1
	Red Globe	2		2
	Globo Rojo	19		19
	Merlot	18		19
	Nebbiolo	11		13
	Sauvignon Blanc	3		3
	Sheni Blanc	2		2
	Tempranillo	1		1
	Valdepeña	1		1
	Viognier	1		1
Chihuahua	Shyra	2	2	
	Sauvignon	2	2	
	-----	4	2	
Coahuila	Cabernet Sauvignon	1		1
	Shiraz	2		2
	----	1		1
Guanajuato	Merlot	2	2	
	Malbec	1	1	
	Chardonnay	1	1	

	-----	16	16	
Nuevo León	Cabernet sauvignon	1	1	
	Chardonnay	1	1	
	Chenin blanc	1	1	
	Malbec	1	1	
	Merlot	1	1	
	Shiraz	2	2	
Querétaro	Malbec	2	2	
	Shiraz	7	7	
	Cabernet	1	1	
	Cabernet Sauvignon	3	3	
	Chardonnay	1	1	
	Macabeo	25	14	11
	Merlot	1	1	
	Moscat	1		1
	Savignon blanc	6	5	1
	Sharelo	6	5	1
	Red globe	2	2	
	Salvador	1	1	
	Moscatel	1	1	
	-----	11	7	4
Sonora	Cotton Candy	1	1	
	Early Divine	3	3	
	Early sweet	5	5	
	Flame	76	76	
	Freedom	3	3	
	Globo Rojo	1	1	
	Green Seedless	1	1	
	Harmony	7	7	
	Ivory	56	56	

	Krissy	1	1
	Magneta	1	1
	Merlot	1	1
	Mourverde	2	2
	Perlette	5	5
	Salt creek	1	1
	Summer Royal	3	3
	Superior	17	17
	Sweet Celebration	4	4
	Thamson	1	1
	Timco	2	2
	---	6	6
Zacatecas	Globo rojo	12	12
	Carignan	4	4
	Cabernet	1	1

Las secuencias generadas en este estudio (Anexo 2) se compararon con las secuencias tipo (ST) disponibles en la base de datos que incluyen las subespecies *fastidiosa*, *morus*, *multiplex*, *pauca* y *sandyi*. Se construyó un árbol Bayesiano empleando las secuencias concatenadas de los genes. El análisis multi-locus de secuencias muestra que los aislamientos de vid en los estados de Baja California, Coahuila y Querétaro se agrupan con las secuencias tipo de *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa* (figura 4), no se detectó la presencia de otra subespecie en los viñedos mexicanos.

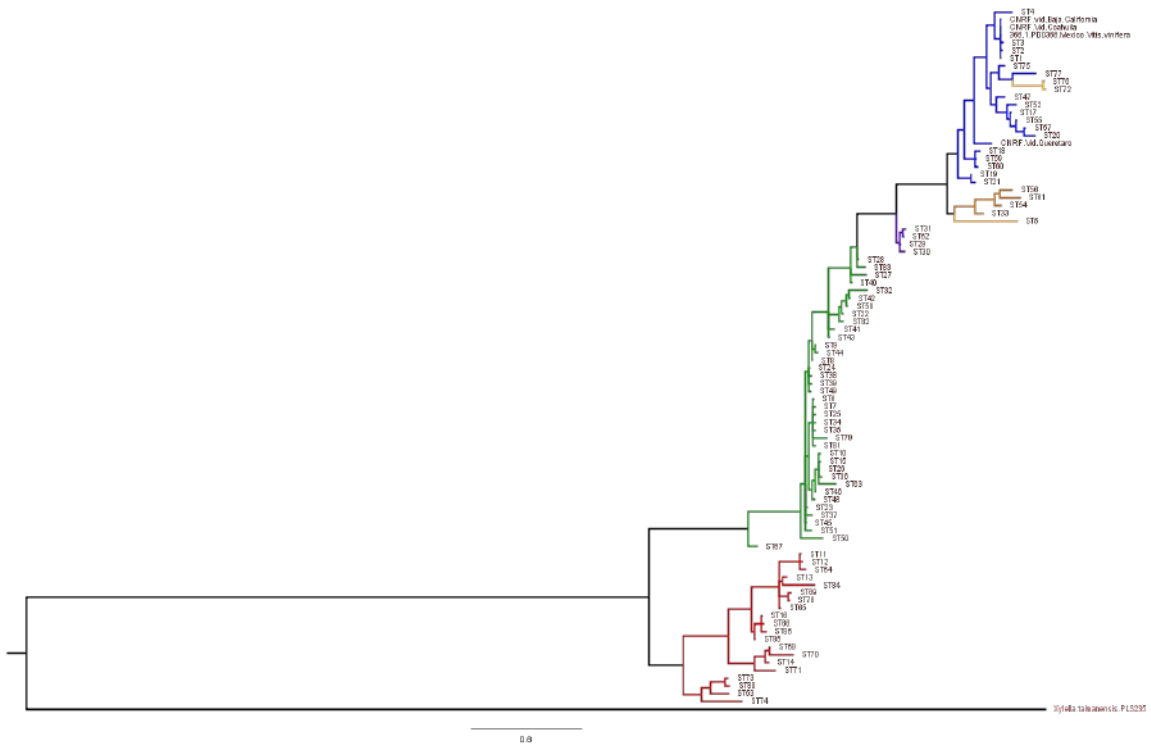


Figura 4. Inferencia bayesiana of *Xylella fastidiosa*, empleando los genes *leuA*, *petC*, *malF*, *cysG*, *holC*, *nuoL*, y *gltT* de las secuencias tipo (ST). Los cinco clados se muestran en colores; rojo (subsp. *pauca*), verde (subsp. *multiplex*), purpura (subsp. *morus*), amarillo (subsp. *sandyi*) y azul (subsp. *fastidiosa*). Las secuencias “CNRF” representan los aislamientos de este estudio. *Xylella taiwanensis* PLS235 fue empleada como fuera de grupo.

Los aislamientos del norte del país (Baja California y Coahuila) presentan identidad con las secuencia tipo 1 (ST1), similar a los aislamientos de vid de California en Estados Unidos. Al analizar cada gene con los respectivos alelos, se observa que los genes de los aislamientos de Baja California y Coahuila presentan identidad con los alelos 1, típicos de ST1 (Cuadro 3, figura 5-11). La vía más probable de introducción a México de estos aislamientos es a través de la

importación de material vegetal propagativo de Norte América, considerando que se ha detectado la bacteria en material vegetal propagativo de vid de importación.

Cuadro 3. Perfil alélico de aislamientos de *Xylella fastidiosa* de viñedos mexicanos.

		MLST loci							
Material	Estado	ST	<i>leuA</i>	<i>petC</i>	<i>malF</i>	<i>cysG</i>	<i>holC</i>	<i>nuoL</i>	<i>glfT</i>
	Baja								
Vid	California	ST1	1	1	1	1	1	1	1
Vid	Coahuila	ST1	1	1	1	1	1	1	1
							25*		
							56 G=A		
							86 T=C		
						23*	131 T=C		
Vid	Querétaro	-----	1	1	9*	21C=A	134 T=C	1	1
					44C=T	53T=C	185 T=C		
					99T=G	495T=C	218 G=A		

----- (Sin dato), * (existen sustituciones).

Los aislamientos de Querétaro no muestran identidad con alguna de las 86 secuencias tipo (ST). Se observa una distancia de 0.0038711687 y 0.0039770045 con respecto a los aislamientos de Baja California y Coahuila. Esto indica que existe variabilidad genética entre los aislamientos de *X. fastidiosa* de vid en México. La secuencia *X. fastidiosa* de vid de Querétaro muestra mayor proximidad (0.0038565862 de distancia) con la secuencia tipo ST59 (subespecie *fastidiosa*), correspondiente a aislamientos de vid de Costa Rica. Al no existir identidad se sugiere que se trata de un nueva secuencia tipo (ST) con un perfil alélico particular (Cuadro 3).

Los genes *leuA*, *petC*, *nuoL* y *gltT* de los aislamientos de vid de Querétaro presentan identidad con los alelos *leuA* 1, *petC* 1, *nuoL* 1 y *gltT* 1 respectivamente reportados (Cuadro 3).

El gene *malF* se agrupa con el alelo *malF* 9, sin embargo, presenta dos sustituciones, en la posición 44 se sustituye una C por un T y en la posición 99 se sustituye una T por una C (Cuadro 3, figura 9), esta variabilidad sugiere que se trata de un nuevo alelo. El alelo *malF* 9 está presente en las secuencias tipo ST18 y ST59 (subespecie *fastidiosa*) aisladas de vid en Costa Rica.

El gen *cysG* se agrupa con el alelo *cysG* 23, sin embargo, presenta tres sustituciones; en la posición 21 se sustituye una C por una A, en la 53 la T por la C y en la 495 la T por la C (Cuadro 3, Figura 5), esta variabilidad sugiere que se trata de un nuevo alelo. El alelo *cysG* 23 está reportado en la secuencia tipo ST23 (subespecie *multiplex*), presente en aislamientos de café y vid en Costa Rica. Se propone también esta secuencia como un nuevo alelo del gene *cysG*.

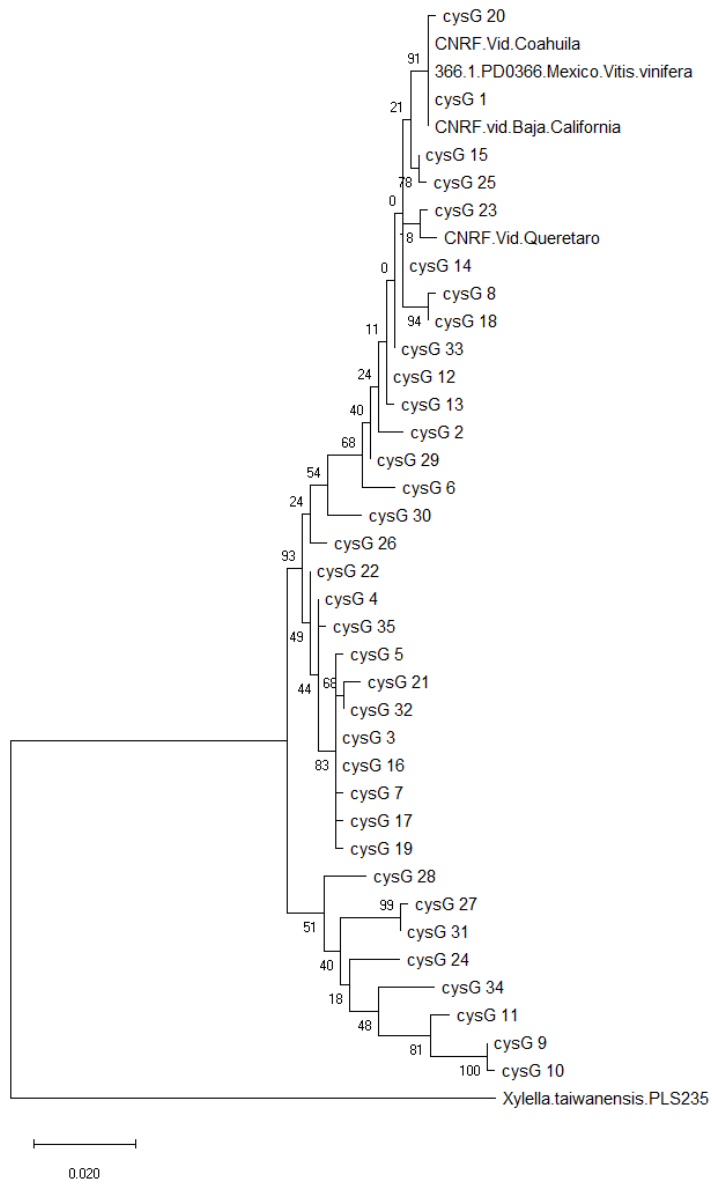


Figura 5. Árbol filogenético de los diferentes alelos del gene *cysG*. Se empleó el método de Maximum Likelihood con el modelo de sustitución de Tammura-Nei y 1000 repeticiones bootstrap.

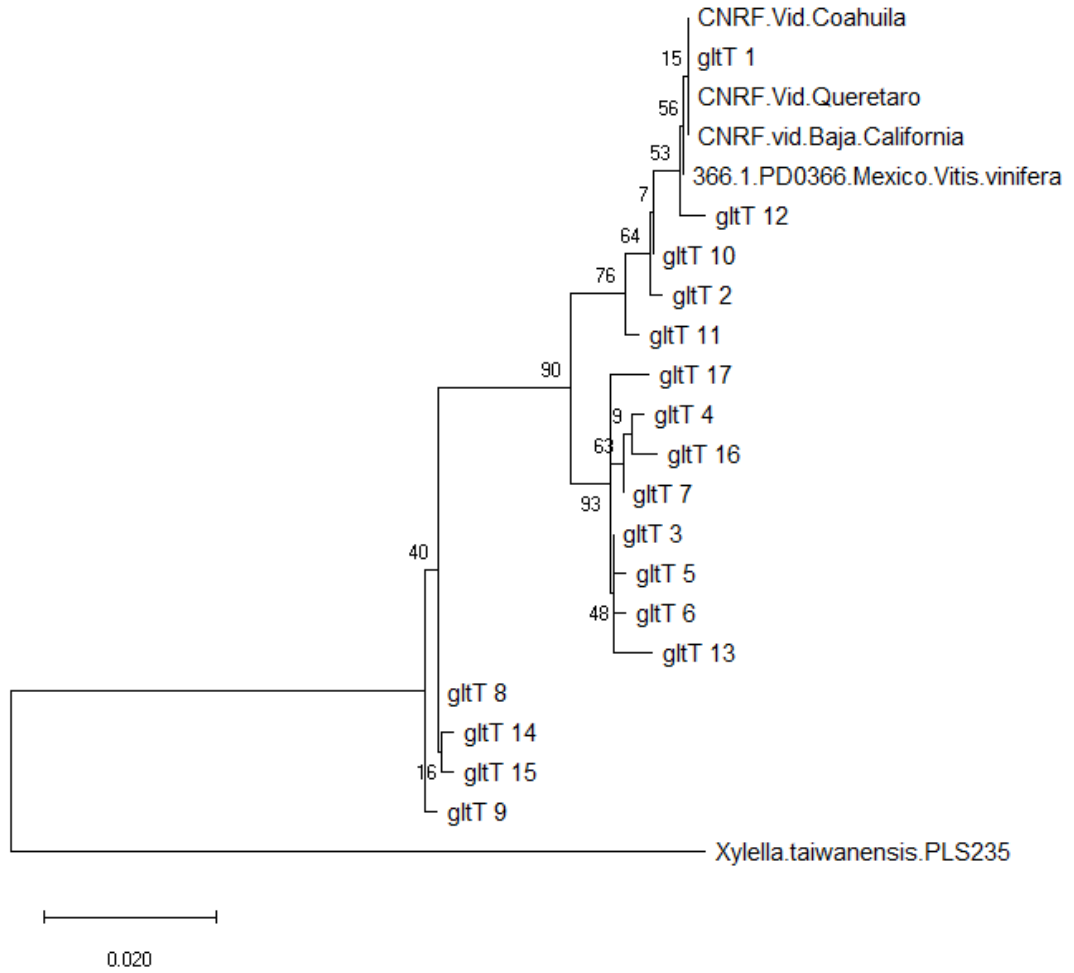


Figura 6. Árbol filogenético de los diferentes alelos del gene *gltT*. Se empleó el método de Maximum Likelihood con el modelo de sustitución de Tamura-Nei y 1000 repeticiones bootstrap.

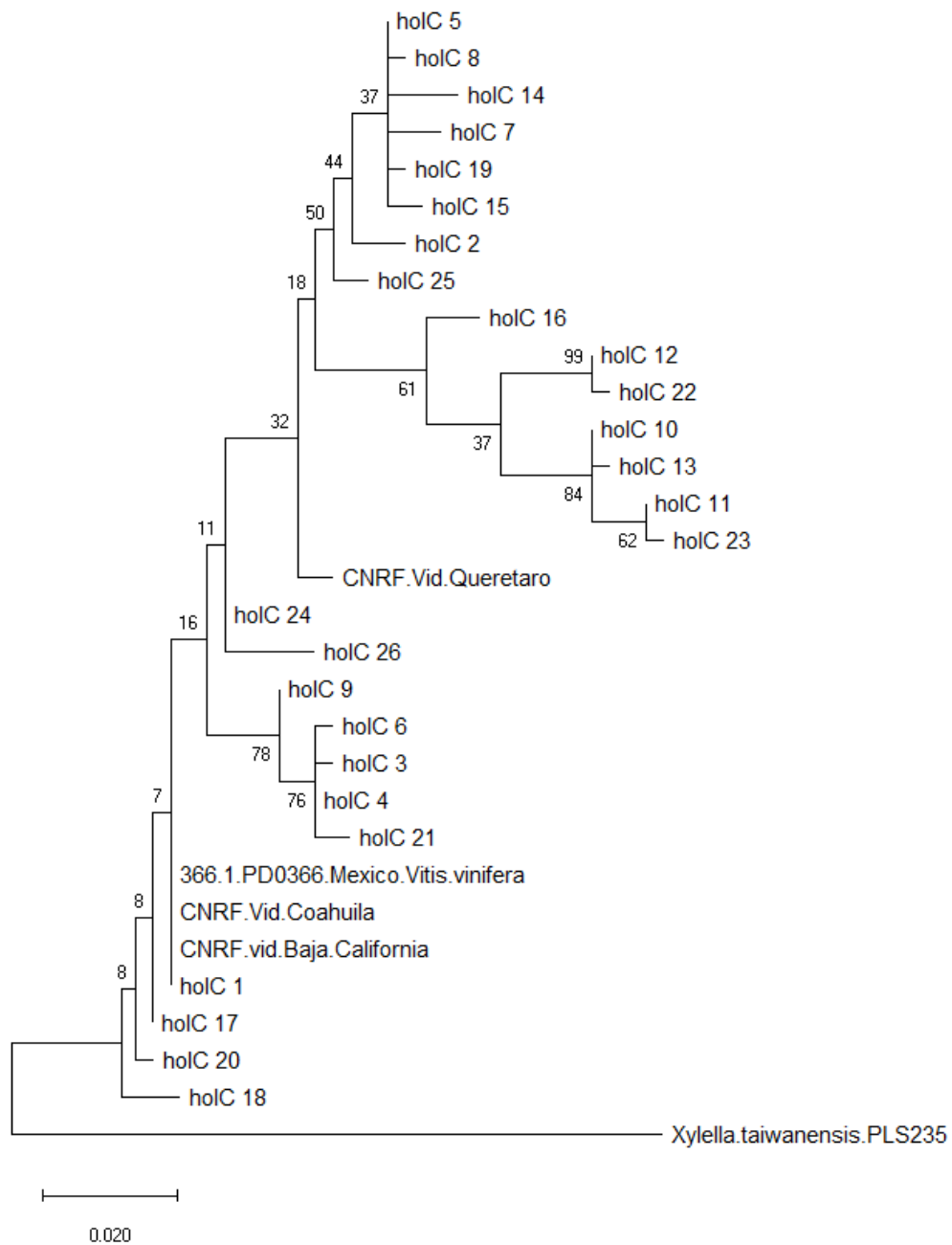


Figura 7. Árbol filogenético de los diferentes alelos del gene *holC*. Se empleó el método de Maximum Likelihood con el modelo de sustitución de Tammura-Nei y 1000 repeticiones bootstrap.

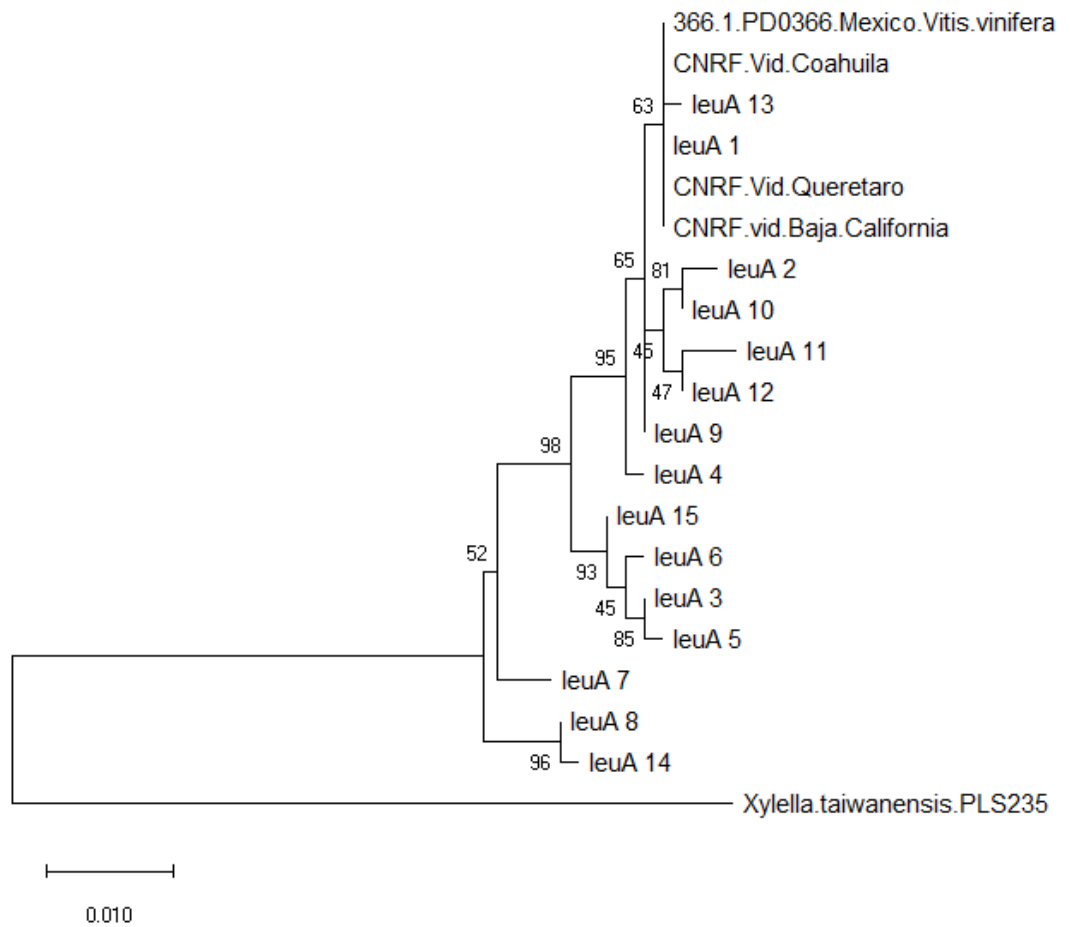


Figura 8. Árbol filogenético de los diferentes alelos del gene *leuA*. Se empleó el método de Maximum Likelihood con el modelo de sustitución de Tamura-Nei y 1000 repeticiones bootstrap.

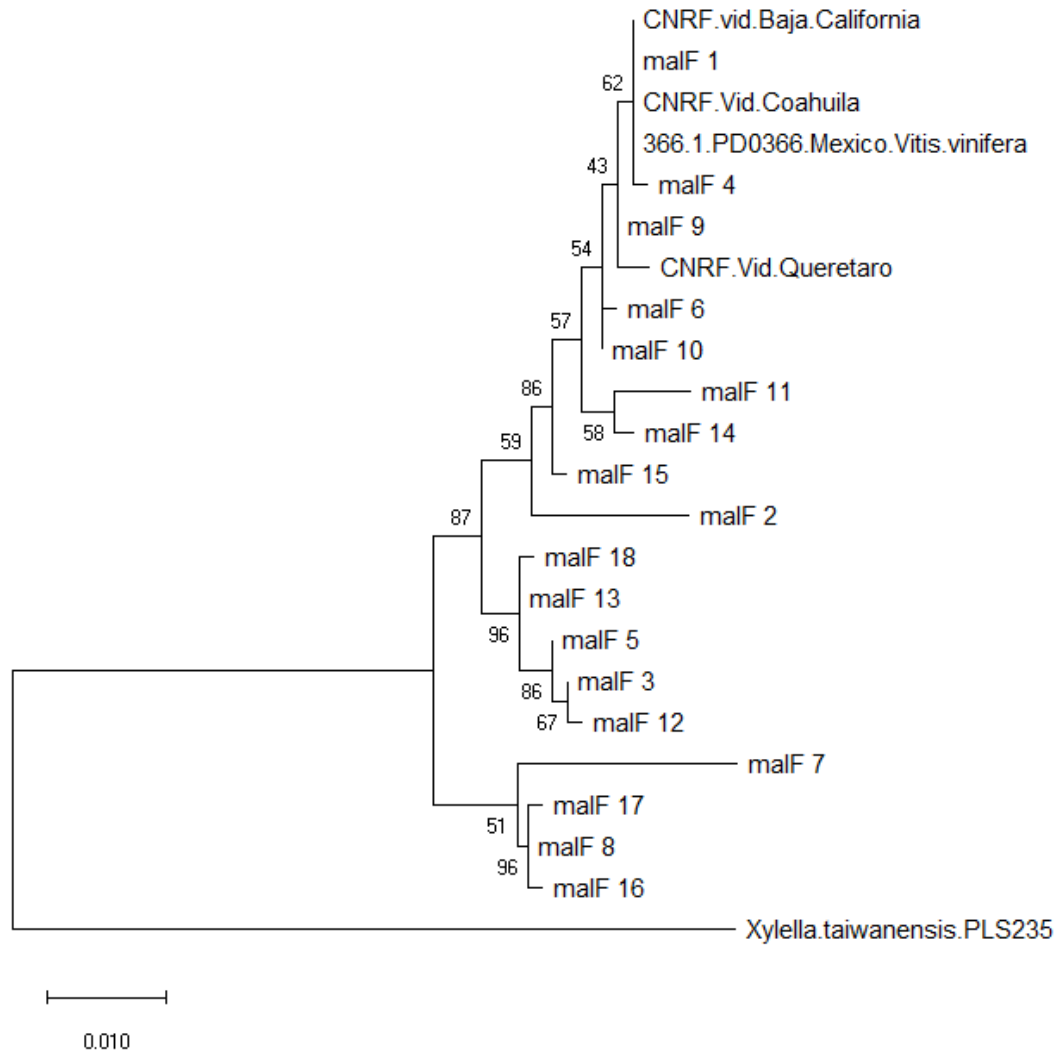


Figura 9. Árbol filogenético de los diferentes alelos del gene *malF*. Se empleó el método de Maximun Likelihood con el modelo de sustitución de Tammura-Nei y 1000 repeticiones bootstrap.

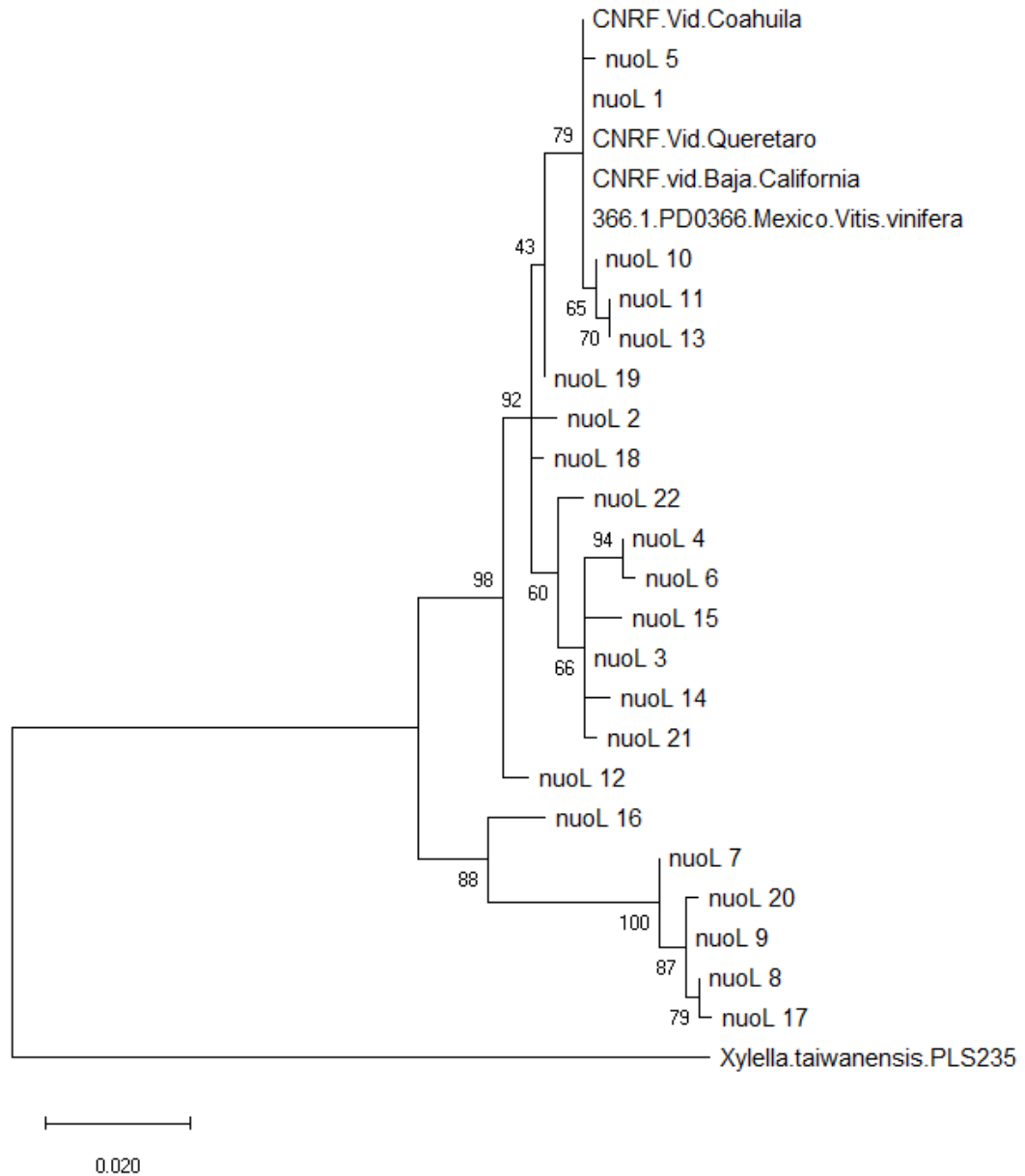


Figura 10. Árbol filogenético de los diferentes alelos del gene *nuoL*. Se empleó el método de Maximun Likelihood con el modelo de sustitución de Tammura-Nei y 1000 repeticiones bootstrap.

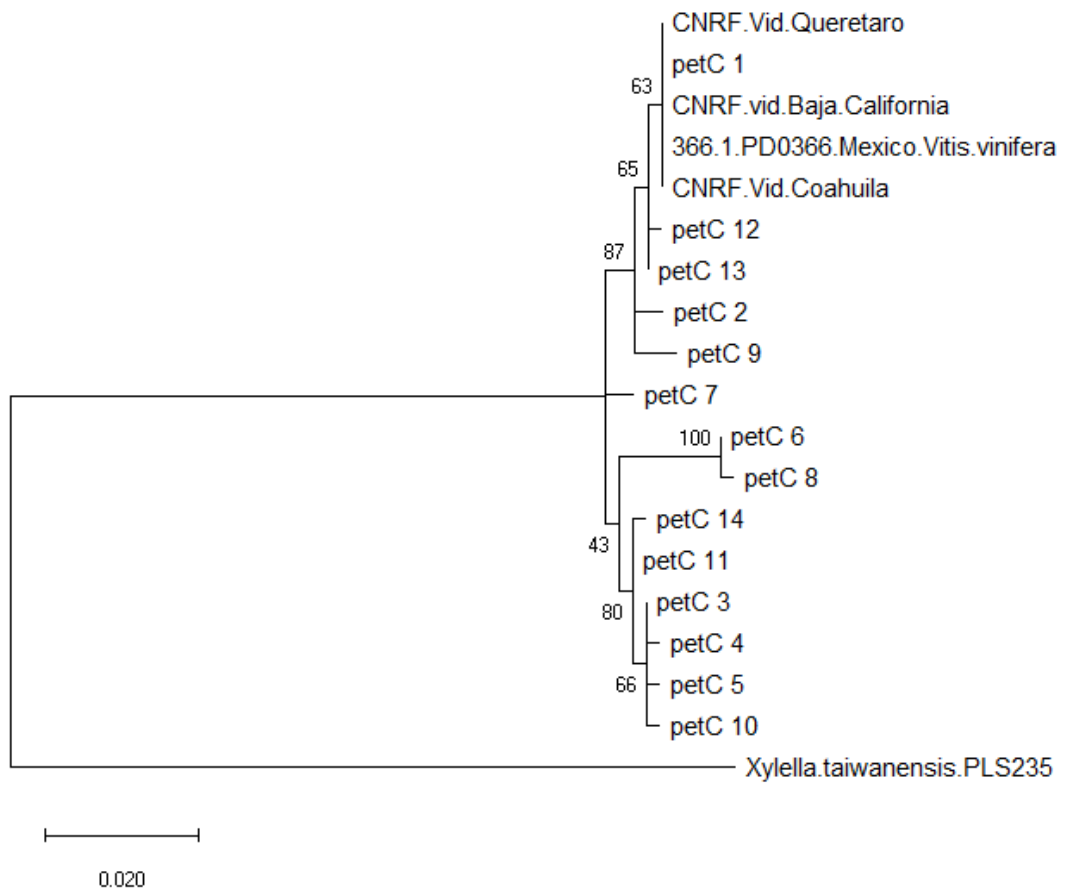


Figura 11. Árbol filogenético de los diferentes alelos del gene *petC*. Se empleó el método de Maximun Likelihood con el modelo de sustitución de Tammura-Nei y 1000 repeticiones bootstrap.

El gen *hoIC* no muestra agrupación con algún alelo, formando un clado separado. Muestra mayor proximidad con el alelo *hoIC* 25 (0.0159931961 de distancia), sin embargo, existen seis sustituciones, en la posición 56 una G por una A, en la posición 86 una T por una C, en la posición 131 una T por una C, en la posición 134 una T por una C, en la posición 185 una T por una C y en la posición 218 una

G por una A (Cuadro 3, Figura 7). Esto nos permite proponer un nuevo alelo del gen *ho/C*. El alelo *ho/C* 25 está presente en la secuencia tipo ST74 (subespecie *pauca*) aislada de café de Ecuador.

Falta determinar si el aislamiento del centro del país (Querétaro) fue introducido en material propagativo de vid o si se trata de un aislamiento nativo presente en plantas silvestres próximas a los viñedos y que eventualmente se movilizó por insectos vectores a las plantaciones de vid. También queda por aclarar el impacto que esta variante tendrá en la agricultura nacional, ya que se desconoce cuál puede ser el efecto sobre otros cultivos (aguacate, alfalfa, almendro, arándano, café, cítricos, higo, nogal, olivo, etc.).

La caracterización alélica de los genes muestra los eventos de recombinación intersubespecífica. Scally *et al.*, en 2005 puntualiza que en MLST la combinación del número de alelo en cada uno de los siete loci da lugar a una secuencia tipo (ST) y al existir un cambio en alguna de las bases de la secuencia de algún locus éste es considerado como un nuevo alelo, es por ello que se propone 3 nuevos alelos, uno para el gen *malF*, uno para el gen *cysG* y otro para el gen *ho/C*. De igual forma se propone al aislamiento de vid de Querétaro como una nueva secuencia tipo (ST) de *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa*.

Se considera que ésta variabilidad genética está dada por un proceso de recombinación y no por un proceso de mutación puntual. La recombinación se puede identificar por una estructura de mosaico en un gen particular, que refleja las diferentes historias evolutivas de diferentes regiones del gen. En contraste, una mutación puntual resulta en un alelo novedoso que se distingue por un solo cambio de base (Scally *et al.*, 2005).

Comprender la genética de la población bacteriana se ha vuelto cada vez más importante para entender cómo evolucionan estos patógenos y cómo los cambios genéticos han permitido adaptarse a diferentes hospederos y entornos. El análisis genético demuestra que la recombinación intersubespecífica dentro de *X.*

fastidiosa favorece la variabilidad genética, esto ocurre cuando dos aislamientos genéticamente diferentes entran en contacto directo ya sea en el aparato bucal del vector o en los vasos de xilema (Chatterjee *et al.*, 2008, Kung y Almeida, 2014). Este proceso de recombinación genética podría ser una ruta a través de la cual se produce la transferencia horizontal de genes entre aislamientos en ambientes naturales. Las altas tasas de recombinación junto con el movimiento descontrolado de aislamientos de *X. fastidiosa* puede tener consecuencias desastrosas (Jacques *et al.*, 2016). Debido a que existe amplia evidencia de la plasticidad del genoma de *X. fastidiosa* y los procesos de recombinación genética, la invasión y generación de nuevos genotipos puede llevar al establecimiento de la bacteria en campo y posteriormente, a la aparición de epidemias, e incluso causar enfermedades en nuevos hospederos (Nunney *et al.*, 2014a).

Esto enfatiza el riesgo de introducir nuevos genotipos en áreas donde está presente la bacteria, aumentando las posibilidades de flujo de genes que podrían resultar en una expansión del rango de hospederos y la aparición de nuevas enfermedades. El hombre juega un papel importante en el establecimiento de la epidemia; se moviliza e introduce material infectado, se establece un monocultivo y una variedad, que lleva a la selección de insectos vectores. La forma en que las personas y las instituciones responden a la aparición de la enfermedad median las consecuencias agroecológicas. Este es un problema particularmente difícil en el manejo de epidemias de *X. fastidiosa*, ya que los esfuerzos de erradicación y las medidas de contención, deben idearse e implementarse rápidamente (Sicard *et al.*, 2018). Otra limitante en el manejo de la enfermedad es la falta de cooperación o confianza de las partes interesadas, así como las dificultades que tienen las instituciones políticas para implementar las medidas requeridas (Colella, 2016). Es por ello que resulta importante incluir a los productores en el desarrollo de las estrategias a implementar, para fomentar la cooperación y la confianza.

7. CONCLUSIONES

En el cultivo de vid se detectó la presencia de *Xylella fastidiosa* subespecie *fastidiosa*. Los aislamientos de Baja California y Coahuila son genéticamente iguales a las secuencias tipo detectadas en California, Estados Unidos, sin embargo los aislamientos de Querétaro presentan variabilidad genética suficiente para proponer una secuencia tipo (ST) nueva. Falta aclarar si esta variabilidad genética puede conferir especificidad por otro rango de hospederos o afinidad a otro grupo de vectores, y en función a ello establecer el manejo integral de la enfermedad.

8. REFERENCIAS

- Ahern SJ, Das M, Bhowmick TS, Young R, Gonzalez CF. Characterization of Novel Virulent Broad-Host-Range Phages of *Xylella fastidiosa* and *Xanthomonas*. *J Bacteriol.* 2014 Jan; 196(2): 459–471. doi: 10.1128/JB.01080-13
- Almeida RPP y Nunney L. 2015. How do plant disease caused by *Xylella fastidiosa* emerge? *Plant Disease.* 99; 1457-1467.
- Almeida RPP y Purcell AH. 2003. Biological traits of *Xylella fastidiosa* from grapes and almonds. *App. Environ. Microbiol.* 69:7447–7452.
- Baltrus DA, Guillemin K, Phillips PC. 2008. Natural transformation increases the rate of adaptation in the human pathogen *Helicobacter pylori*. *Evolution* 62:39–49.
- Burbank LP, Van Horn CR. 2017. Conjugative Plasmid Transfer in *Xylella fastidiosa* Is Dependent on *tra* and *trb* Operon Functions. *Journal of Bacteriology.* 199:(21) DOI: 10.1128/jb.00388-17
- Chatterjee S, Wistrom C y Lindow SE. 2008. A cell-cell signaling sensor is required for virulence and insect transmission of *Xylella fastidiosa*. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:2670–2675. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0712236105>.
- Chang CJ, Garnier M, Zreik L, Rossetti V, Bove JM. 1993. Culture and serological detection of the Xylem-limited bacterium causing citrus variegated chlorosis and its identification as a strain of *Xylella fastidiosa*. *Curr. Microbiol.* 27:137–42.
- Colella C. 2016. Distrusting science on communication platforms: socio-anthropological aspects of the science-society dialectic within a phytosanitary emergency. In *Proceedings of the 2nd International Workshop on Social*

- Media World Sensors, 10th International Conference on Language Resources and Evaluation, ed. L Di Caro, M Cataldi, C Schifanella, pp. 19–24. Portoroz, Slovenia: Eur. Lang. Res. Assoc.
- Coletta-Filho HD, Francisco CS, Lopes JRS, Muller C, Almeida RPP. 2017. Homologous recombination and *Xylella fastidiosa* host-pathogen associations in South America. *Phytopathology* 107:305–12
- Davis MJ, Purcell AH, Thomson SV. 1978. Pierce's disease of grapevines: isolation of the causal bacterium. *Science* 199:75–77
- Davis MJ, Whitcomb RF, Gillaspie AGJ (1981) Fastidious bacteria of plant vascular tissue and invertebrates (including so called rickettsia like bacteria). In: Starr MP, Stolp H, Truper Hg, Balows A, Schlegel Hg (eds) *The prokaryotes: a handbook on habits, isolation, and identification of bacteria*. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag, pp 2172–2188
- Denancé N, Briand M, Gaborieau R, Gaillard S, Jacques MA. 2019. Identification of genetic relationships and subspecies signatures in *Xylella fastidiosa*. *BMC Genomics*. 20:239. doi: 10.1186/s12864-019-5565-9.
- EFSA (European Food Safety Authority). 2018. Scientific report on the update of the *Xylella* spp. host plant database. *EFSA Journal*. 16(9):5408, 87 pp.
- EFSA (European Food Safety Authority). 2015. Scientific opinion on the risks to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory, with the identification and evaluation of risk reduction options. *EFSA J*. 13:3989
- EPPO. (2019). PM 7/24 (4) *Xylella fastidiosa*. *EPPO Bulletin*, 48(3), 175–218. doi:10.1111/epp.12469.
- Jacques MA, Denancé N, Legendre B, Morel E, Briand M, Mississippi S, Durand K, Olivier V, Portier P, Poliakoff F, Crouzillat D. 2016. New Coffee plant-

Infecting *Xylella fastidiosa* variants derived via homologous recombination. *Appl Environ Microbiol* 82:1556–1568. doi:10.1128/AEM.03299-15.

Harper S, Ward L y Clover G. 2010. Development of LAMP and real-time PCR methods for the rapid detection of *Xylella fastidiosa* for quarantine and field applications. *Phytopathol.* 100; 1282–1288.

Hartung JS. 1994. Citrus variegated chlorosis bacterium: axenic culture, pathogenicity, and serological relationships with other strains of *Xylella fastidiosa*. *Phytopathology* 84:591–97.

Hewitt WB, Houston B, Frazier NW, Freitag JH. 1946. Leafhopper transmission of the virus causing Pierce's disease of grape and dwarf of alfalfa. *Phytopathology* 36:117–28.

Huelsenback JP y Ronquist F. 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* 17,754–755.

Kung SH y Almeida RPP. 2014. Biological and genetic factors regulating natural competence in a bacterial plant pathogen. *Microbiology* 160:37– 46. <http://dx.doi.org/10.1099/mic.0.070581-0>.

Loconsole G, Potere O, Boscia D, Altamura G, Djelouah K, Elbeaino T, Frasheri D, Lorusso D, Palmisano F, Pollastro F, Silletti MR, Trisciuzzi N, Valentini F, Savino V and Saponari M. 2014. Detection of *Xylella fastidiosa* in olive trees by molecular and serological methods. *J. Plant Pathol.* 96, 1–8.

Maiden MCJ, Bygraves JA, Feil E., Morelli, G., Russell, J. E., Urwin, R., Zhang, Q., Zhou, J., Zurth, K., Caugant, D. A., Feavers, I. M., Achtman, M., and Spratt, B. G. 1998. Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:3140-3145.

- Marcelletti S y Scortichini M. 2016. Genome-wide comparison and taxonomic relatedness of multiple *Xylella fastidiosa* strains reveal the occurrence of three subspecies and a new *Xylella* species. Arch Microbiol 198:803–812 DOI 10.1007/s00203-016-1245-1
- Minsavage GV., Thompson CM, Hopkins DL, Leite RMVB. and Stall RE. 1994. Development of a Polymerase Chain Reaction Protocol for Detection of *Xylella fastidiosa* in Plant Tissue. Phytopatology. 84.5. 456-461.
- Maddison, W. P. and D.R. Maddison. 2018. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.51 <http://www.mesquiteproject.org>
- Nunney L, Yuan X, Bromley RE, Stouthamer R. 2012a. Detecting genetic introgression: high levels of intersubspecific recombination found in *Xylella fastidiosa* in Brazil. Appl. Environ. Microbiol. 78:4702–14
- Nunney L, Elfekih S and Stouthamer R. 2012b. The Importance of Multilocus Sequence Typing: Cautionary Tales from the Bacterium *Xylella fastidiosa*. Phytopathology. Vol. 102, No. 5, 456-460.
- Nunney L, Vickerman DB, Bromley RE, Russell SA, Hartman JR, Morano LD, Stouthamer R. 2013. Recent evolutionary radiation and host plant specialization in the *Xylella fastidiosa* subspecies native to the United States. Applied and Environmental Microbiology 79:2189–2200.
- Nunney L, Schuenzel EL, Scally M, Bromley RE, Stouthamer R. 2014a. Large-scale intersubspecific recombination in the plant-pathogenic bacterium *Xylella fastidiosa* is associated with the host shift to mulberry. Appl. Environ. Microbiol. 80:3025–33
- Nunney L, Ortiz B, Russell SA, Ruiz-Sanchez R, Stouthamer R. 2014. The Complex Biogeography of the Plant Pathogen *Xylella fastidiosa*: Genetic

- Evidence of Introductions and Subspecific Introgression in Central America. PLoS ONE 9 (11): e112463.
- Pierce NB. 1892. The California vine disease: a preliminary report of investigations. Washington, DC: Gov. Print. Off.
- https://archive.org/stream/californiavinedi02pier/californiavinedi02pier_djvu.txt
- Randall JJ, Goldberg NP, Kemp JD, Radionenko M, French JM, Olsen MW. 2009. Genetic analysis of a novel *Xylella fastidiosa* subspecies found in the southwestern United States. Appl Environ Microbiol. 75: 5631–5638.
- SAGARPA. 2017. Planeación agrícola nacional 2017-2030, Uva mexicana.
- <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257085/Potencial-Uva.pdf>
- Saponari M, Boscia D, Altamura G, Loconsole G, Zicca S, D’Attoma G, Morelli M, Palmisano F, Saponari A, Tavano D, Savino V. N, Dongiovanni C and Martelli G. P. 2017. Isolation and pathogenicity of *Xylella fastidiosa* associated to the olive quick decline syndrome in southern Italy. Scientific Reports. 7:17723
- Saponari M, Boscia D, Nigro F, Martelli GP. 2013. Identification of DNA sequences related to *Xylella fastidiosa* in oleander, almond and olive trees exhibiting leaf scorch symptoms in Apulia (southern Italy). J. Plant Pathol. 95:668.
- Scallly M, Schuenzel EL, Stouthamer R, Nunney L. 2005. Multilocus sequence type system for the plant pathogen *Xylella fastidiosa* and relative contributions of recombination and point mutation to clonal diversity. Appl. Environ. Microbiol. 71:8491–99.
- Schaad NW, Postnikova E, Lacy G, Fatmi M, Chang CJ. 2004. *Xylella fastidiosa* subspecies: *X. fastidiosa* subsp *piercei*, subsp. nov., *X. fastidiosa* subsp.

- multiplex* subsp. nov., and *X. fastidiosa* subsp. *pauca* subsp. nov. Syst Appl Microbiol. 27: 290–300.
- Schuenzel EL, Scally M, Stouthamer R, Nunney L. 2005. A multigene phylogenetic study of clonal diversity and divergence in North American strains of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. Appl Environ Microbiol; 71: 3832–3839.
- Severin HHP. 1950. Spittle-insect vectors of Pierce's disease virus: II. Life history and virus transmission. Hilgardia. 19(11):357–82.
- SENASICA. 2019a. Enfermedad de Pierce (*Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa*). Dirección General de Sanidad Vegetal-Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria. Cd. de México. Ficha Técnica No. 26. 14 p.
- SENASICA. 2019b. Quemadura de la hoja (*Xylella fastidiosa*). Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria- Dirección General de Sanidad Vegetal- Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria. Ciudad de México. Fecha de última actualización: enero de 2019. Ficha Técnica No 66.
18p.<https://prod.senasica.gob.mx/SIRVEF/ContenidoPublico/Fichas%20tecnicas/Ficha%20técnica%20quemadura%20de%20la%20hoja.pdf>
- SIAP. 2019. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola en México. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. En línea: http://nube.siap.gob.mx/cierre_agricola/ 2017 Fecha de consulta: diciembre de 2018.
- Sicard A, Zeilinger AR, Vanhove M, Schartel TE, Beal DJ, Daugherty MP, and Almeida RPP. 2018. *Xylella fastidiosa*: insights into an emerging plant pathogen. Annual Review of Phytopathology. 56:181-202.

- State of California. 2010. Pierce's Disease Control Program. California Department of Food and Agriculture. En línea: http://www.cdfa.ca.gov/pdcp/Pierce's_Disease.html. Fecha de consulta: marzo de 2010.
- Kung SH, Retchless AC, Kwan JY, Almeida RPP. 2013. Effects of DNA size on transformation and recombination efficiencies in *Xylella fastidiosa*. *Applied and Environmental Microbiology*. 79:1712–1717
- Thomas CM, Nielsen KM. 2005. Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. *Nat. Rev. Microbiol.* 3:711–721.
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 1994 Nov 11(22):4673-80.
- Varani AM, Monteiro-Vitorello CB, Nakaya HI and Van-Sluys MA. 2013. The role of prophage in plant-pathogenic bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 51:429–51.
- Wells JM, Raju BC, Hung HY, Weisburg WG, Mandelco-Paul L, Brenner DJ. 1987. *Xylella fastidiosa* gen. nov., sp. nov: gram-negative, xylem-limited, fastidious plant bacteria related to *Xanthomonas* spp. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 37:136–43.
- Yuan X, Morano L, Bromley R, Spring-Pearson S, Stouthamer R, Nunney L. 2010. Multilocus sequence typing of *Xylella fastidiosa* causing Pierce's disease and oleander leaf scorch in the United States. *Phytopathology*. 100(6), 601-11. doi: 10.1094/PHYTO-100-6-0601.

9. ANEXOS

Anexo 1. Relación de muestras de vid analizadas para detección de *Xylella fastidiosa*.

Muestra	Estado	Municipio	Variedad	PCR	qPCR	subespecie
AGS 1	Aguascalientes	Casio	Salvador	-	-	----
AGS 2	Aguascalientes	Jesus María	Victoria	-	-	----
AGS 3	Aguascalientes	Pabellón de Arteaga	Malbec	-	-	----
AGS 4	Aguascalientes	Pabellón de Arteaga	Malbec	-	-	----
AGS 5	Aguascalientes	Pabellón de Arteaga	Malbec	-	-	----
AGS 6	Aguascalientes	Pabellón de Arteaga	Malbec	-	-	----
AGS 7	Aguascalientes	Pabellón de Arteaga	Malbec	-	-	----
AGS 8	Aguascalientes	Pabellón de Arteaga	Malbec	-	-	----
AGS 9	Aguascalientes	Pabellón de Arteaga	Malbec	-	-	----
AGS 10	Aguascalientes	Pabellón de Arteaga	Malbec	-	-	----
AGS 11	Aguascalientes	Pabellón de Arteaga	Malbec	-	-	----
AGS 12	Aguascalientes	Pabellón de Arteaga	Malbec	-	-	----
AGS 13	Aguascalientes	Pabellón de Arteaga	Malbec	-	-	----
AGS 14	Aguascalientes	Pabellón de Arteaga	Malbec	-	-	----
AGS 15	Aguascalientes	Pabellón de Arteaga	----	-	-	----
AGS 16	Aguascalientes	Pabellón de Arteaga	----	-	-	----
BCN 7	Baja California	Ensenada	Cabernet	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 34	Baja California	Ensenada	Cabernet	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 45	Baja California	Ensenada	Cabernet	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 46	Baja California	Ensenada	Cabernet	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 47	Baja California	Ensenada	Cabernet	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 49	Baja California	Ensenada	Cabernet	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 50	Baja California	Ensenada	Cabernet	+	+	<i>fastidiosa</i>

BCN 67	Baja California	Ensenada	Cabernet	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 68	Baja California	Ensenada	Cabernet	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 4	Baja California	Ensenada	Cabernet Sauvignon	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 58	Baja California	Ensenada	Cabernet Sauvignon	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 60	Baja California	Ensenada	Cabernet Sauvignon	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 35	Baja California	Ensenada	Chardonnay	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 1	Baja California	Ensenada	Red Globe	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 2	Baja California	Ensenada	Red Globe	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 19	Baja California	Ensenada	Globo Rojo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 22	Baja California	Ensenada	Globo Rojo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 23	Baja California	Ensenada	Globo Rojo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 24	Baja California	Ensenada	Globo Rojo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 25	Baja California	Ensenada	Globo Rojo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 26	Baja California	Ensenada	Globo Rojo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 27	Baja California	Ensenada	Globo Rojo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 28	Baja California	Ensenada	Globo Rojo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 29	Baja California	Ensenada	Globo Rojo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 30	Baja California	Ensenada	Globo Rojo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 31	Baja California	Ensenada	Globo Rojo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 32	Baja California	Ensenada	Globo Rojo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 33	Baja California	Ensenada	Globo Rojo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 59	Baja California	Ensenada	Globo rojo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 62	Baja California	Ensenada	Globo Rojo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 63	Baja California	Ensenada	Globo Rojo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 64	Baja California	Ensenada	Globo Rojo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 65	Baja California	Ensenada	Globo Rojo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 66	Baja California	Ensenada	Globo Rojo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 5	Baja California	Ensenada	Merlot	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 8	Baja California	Ensenada	Merlot	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 9	Baja California	Ensenada	Merlot	+	+	<i>fastidiosa</i>

BCN 10	Baja California	Ensenada	Merlot	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 11	Baja California	Ensenada	Merlot	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 12	Baja California	Ensenada	Merlot	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 13	Baja California	Ensenada	Merlot	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 14	Baja California	Ensenada	Merlot	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 15	Baja California	Ensenada	Merlot	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 16	Baja California	Ensenada	Merlot	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 17	Baja California	Ensenada	Merlot	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 51	Baja California	Ensenada	Merlot	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 52	Baja California	Ensenada	Merlot	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 53	Baja California	Ensenada	Merlot	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 57	Baja California	Ensenada	Merlot	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 69	Baja California	Ensenada	Merlot	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 70	Baja California	Ensenada	Merlot	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 71	Baja California	Ensenada	Merlot	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 36	Baja California	Ensenada	Nebbiolo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 37	Baja California	Ensenada	Nebbiolo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 38	Baja California	Ensenada	Nebbiolo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 39	Baja California	Ensenada	Nebbiolo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 40	Baja California	Ensenada	Nebbiolo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 41	Baja California	Ensenada	Nebbiolo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 42	Baja California	Ensenada	Nebbiolo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 43	Baja California	Ensenada	Nebbiolo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 44	Baja California	Ensenada	Nebbiolo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 54	Baja California	Ensenada	Nebbiolo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 55	Baja California	Ensenada	Nebbiolo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 6	Baja California	Ensenada	Sauvignon Blanc	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 48	Baja California	Ensenada	Sauvignon Blanc	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 56	Baja California	Ensenada	Sauvignon Blanc	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 21	Baja California	Ensenada	Sheni Blanc	+	+	<i>fastidiosa</i>

BCN 61	Baja California	Ensenada	Sheni Blanc	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 3	Baja California	Ensenada	Tempranillo	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 20	Baja California	Ensenada	Valdepeña	+	+	<i>fastidiosa</i>
BCN 18	Baja California	Ensenada	Viognier	+	+	<i>fastidiosa</i>
CHI 1	Chihuahua	Aldama	----	-	-	----
CHI 2	Chihuahua	Aldama	----	-	-	----
CHI 3	Chihuahua	Aldama	----	-	-	----
CHI 4	Chihuahua	Aldama	----	-	-	----
CHI 5	Chihuahua	Chihuahua	Shyra	-	-	----
CHI 6	Chihuahua	Delicias	Sauvignon	-	-	----
CHI 7	Chihuahua	Delicias	Sauvignon	-	-	----
CHI 8	Chihuahua	Delicias	Shyra	-	-	----
COA 1	Coahuila	Parras	----	+	+	<i>fastidiosa</i>
COA 2	Coahuila	Parras	Cabernet Sauvignon	+	+	<i>fastidiosa</i>
COA 3	Coahuila	Parras	Shiraz	+	+	<i>fastidiosa</i>
COA 4	Coahuila	Parras	Shiraz	+	+	<i>fastidiosa</i>
GTO 1	Guanajuato	Comonfort	----	-	-	----
GTO 2	Guanajuato	Comonfort	----	-	-	----
GTO 3	Guanajuato	Dolores Hidalgo	----	-	-	----
GTO 4	Guanajuato	Dolores Hidalgo	----	-	-	----
GTO 5	Guanajuato	Dolores Hidalgo	----	-	-	----
GTO 6	Guanajuato	Dolores Hidalgo	Merlot	-	-	----
GTO 7	Guanajuato	Dolores Hidalgo	Merlot	-	-	----
GTO 8	Guanajuato	Dolores Hidalgo	Malbec	-	-	----
GTO 9	Guanajuato	Dolores Hidalgo	Chardonnay	-	-	----
GTO 10	Guanajuato	Salvatierra	----	-	-	----
GTO 11	Guanajuato	Salvatierra	----	-	-	----
GTO 12	Guanajuato	San Francisco del Rincón	----	-	-	----
GTO 13	Guanajuato	San Felipe	----	-	-	----
GTO 14	Guanajuato	San Felipe	----	-	-	----

GTO 15	Guanajuato	San Miguel de Allende	----	-	-	----
GTO 16	Guanajuato	San Miguel de Allende	----	-	-	----
GTO 17	Guanajuato	San Miguel de Allende	----	-	-	----
GTO 18	Guanajuato	San Miguel de Allende	----	-	-	----
GTO 19	Guanajuato	San Miguel de Allende	----	-	-	----
GTO 20	Guanajuato	San Miguel de Allende	----	-	-	----
NL 4	Nuevo León	Linares	Cabernet sauvignon	-	-	----
NL 3	Nuevo León	Linares	Chardonnay	-	-	----
NL 1	Nuevo León	Linares	Chenin blanc	-	-	----
NL 5	Nuevo León	Linares	Malbec	-	-	----
NL 6	Nuevo León	Linares	Merlot	-	-	----
NL 2	Nuevo León	Linares	Shiraz	-	-	----
NL 7	Nuevo León	Linares	Shiraz	-	-	----
QRO 1	Querétaro	Colon	Malbec	-	-	----
QRO 2	Querétaro	Colon	Malbec	-	-	----
QRO 3	Querétaro	Colon	Sauvignon Blanc	-	-	----
QRO 4	Querétaro	El Marques	Shiraz	-	-	----
QRO 5	Querétaro	El Marques	Shiraz	-	-	----
QRO 6	Querétaro	El Marques	Shiraz	-	-	----
QRO 7	Querétaro	El Marques	Shiraz	-	-	----
QRO 8	Querétaro	El Marques	Shiraz	-	-	----
QRO 9	Querétaro	El Marques	Shiraz	-	-	----
QRO 10	Querétaro	El Marques	Shiraz	-	-	----
QRO 11	Querétaro	Ezequiel Montes	Cabernet	-	-	----
QRO 12	Querétaro	Ezequiel Montes	Cabernet Sauvignon	-	-	----
QRO 13	Querétaro	Ezequiel Montes	Cabernet Sauvignon	-	-	----
QRO 14	Querétaro	Ezequiel Montes	Cabernet Sauvignon	-	-	----
QRO 15	Querétaro	Ezequiel Montes	Chardonay	-	-	----
QRO 16	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	-	-	----
QRO 17	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	-	-	----

QRO 18	Querétaro	----	----	-	-	----
QRO 19	Querétaro	----	----	-	-	----
QRO 20	Querétaro	Ezequiel Montes	----	+	+	<i>fastidiosa</i>
QRO 21	Querétaro	Ezequiel Montes	----	+	+	<i>fastidiosa</i>
QRO 22	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	+	+	<i>fastidiosa</i>
QRO 23	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	+	+	<i>fastidiosa</i>
QRO 24	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	+	+	<i>fastidiosa</i>
QRO 25	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	+	+	<i>fastidiosa</i>
QRO 26	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	+	+	<i>fastidiosa</i>
QRO 27	Querétaro	----	----	-	-	----
QRO 28	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	-	-	----
QRO 29	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	+	+	<i>fastidiosa</i>
QRO 30	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	+	+	<i>fastidiosa</i>
QRO 31	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	+	+	<i>fastidiosa</i>
QRO 32	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	-	-	----
QRO 33	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	-	-	----
QRO 34	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	-	-	----
QRO 35	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	-	-	----
QRO 36	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	-	-	----
QRO 37	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	-	-	----
QRO 38	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	-	-	----
QRO 39	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	-	-	----
QRO 40	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	-	-	----
QRO 41	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	+	+	<i>fastidiosa</i>
QRO 42	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	+	+	<i>fastidiosa</i>
QRO 43	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	+	+	<i>fastidiosa</i>
QRO 44	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	-	-	----
QRO 45	Querétaro	Ezequiel Montes	Macabeo	-	-	----
QRO 46	Querétaro	Ezequiel Montes	Merlot	-	-	----
QRO 47	Querétaro	Ezequiel Montes	Moscat	+	+	<i>fastidiosa</i>

QRO 48	Querétaro	Ezequiel Montes	Sauvignon Blanc	-	-	----
QRO 49	Querétaro	Ezequiel Montes	Sauvignon Blanc	-	-	----
QRO 50	Querétaro	Ezequiel Montes	Sauvignon Blanc	+	+	<i>fastidiosa</i>
QRO 51	Querétaro	Ezequiel Montes	Sauvignon Blanc	-	-	----
QRO 52	Querétaro	Ezequiel Montes	Sauvignon Blanc	-	-	----
QRO 53	Querétaro	Ezequiel Montes	Sharelo	-	-	----
QRO 54	Querétaro	Ezequiel Montes	Sharelo	-	-	----
QRO 55	Querétaro	Ezequiel Montes	Sharelo	-	-	----
QRO 56	Querétaro	Ezequiel Montes	----	-	-	----
QRO 57	Querétaro	Ezequiel Montes	----	-	-	----
QRO 58	Querétaro	Ezequiel Montes	Sharelo	+	+	<i>fastidiosa</i>
QRO 59	Querétaro	Ezequiel Montes	Sharelo	-	-	----
QRO 60	Querétaro	Ezequiel Montes	----	-	-	----
QRO 61	Querétaro	Ezequiel Montes	----	+	+	<i>fastidiosa</i>
QRO 62	Querétaro	Ezequiel Montes	----	+	+	<i>fastidiosa</i>
QRO 63	Querétaro	Ezequiel Montes	Sharelo	-	-	----
QRO 64	Querétaro	San Juan del Río	Red globe	-	-	----
QRO 65	Querétaro	San Juan del Río	Varias	-	-	----
QRO 66	Querétaro	Tequisquiapan	Red globe	-	-	----
QRO 67	Querétaro	Tequisquiapan	Salvador	-	-	----
QRO 68	Querétaro	Tequisquiapan	Moscatel	-	-	----
SON 1	Sonora	Bácum	Early sweet	-	-	----
SON 2	Sonora	Bácum	Early sweet	-	-	----
SON 3	Sonora	Bácum	Early sweet	-	-	----
SON 4	Sonora	Bácum	Early sweet	-	-	----
SON 5	Sonora	Bácum	Superior	-	-	----
SON 6	Sonora	Bácum	Superior	-	-	----
SON 7	Sonora	Caborca	Flame	-	-	----
SON 8	Sonora	Caborca	Flame	-	-	----
SON 9	Sonora	Caborca	Flame	-	-	----

SON 10	Sonora	Caborca	Flame	-	-	----
SON 11	Sonora	Caborca	Flame	-	-	----
SON 12	Sonora	Caborca	Superior	-	-	----
SON 13	Sonora	Caborca	Superior	-	-	----
SON 14	Sonora	Caborca	Superior	-	-	----
SON 15	Sonora	Caborca	Superior	-	-	----
SON 16	Sonora	Caborca	Superior	-	-	----
SON 17	Sonora	Caborca	Thamson	-	-	----
SON 18	Sonora	Cajame	Early sweet	-	-	----
SON 19	Sonora	Cajame	Merlot	-	-	----
SON 20	Sonora	Cajame	Superior	-	-	----
SON 21	Sonora	Cajame	Superior	-	-	----
SON 22	Sonora	Cajame	Superior	-	-	----
SON 23	Sonora	Cananea	----	-	-	----
SON 24	Sonora	Cananea	Mourverde	-	-	----
SON 25	Sonora	Cananea	Mourverde	-	-	----
SON 26	Sonora	Empalme	Summer Royal	-	-	----
SON 27	Sonora	Guaymas	Flame	-	-	----
SON 28	Sonora	Guaymas	Early Divine	-	-	----
SON 29	Sonora	Guaymas	Summer Royal	-	-	----
SON 30	Sonora	Guaymas	----	-	-	----
SON 31	Sonora	Guaymas	----	-	-	----
SON 32	Sonora	Guaymas	Superior	-	-	----
SON 33	Sonora	Guaymas	Superior	-	-	----
SON 34	Sonora	Hermosillo	Cotton Candy	-	-	----
SON 35	Sonora	Hermosillo	Early Divien	-	-	----
SON 36	Sonora	Hermosillo	Early Divine	-	-	----
SON 37	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 38	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 39	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----

SON 40	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 41	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 42	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 43	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 44	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 45	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 46	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 47	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 48	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 49	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 50	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 51	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 52	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 53	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 54	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 55	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 56	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 57	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 58	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 59	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 60	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 61	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 62	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 63	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 64	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 65	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 66	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 67	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 68	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 69	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----

SON 70	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 71	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 72	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 73	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 74	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 75	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 76	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 77	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 78	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 79	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 80	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 81	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 82	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 83	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 84	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 85	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 86	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 87	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 88	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 89	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 90	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 91	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 92	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 93	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 94	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 95	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 96	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 97	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 98	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 99	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----

SON 100	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 101	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 102	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 103	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 104	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 105	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 106	Sonora	Hermosillo	Flame	-	-	----
SON 107	Sonora	Hermosillo	Freedom	-	-	----
SON 108	Sonora	Hermosillo	Patrón Freedom	-	-	----
SON 109	Sonora	Hermosillo	Globo Rojo	-	-	----
SON 110	Sonora	Hermosillo	Green Seedless	-	-	----
SON 111	Sonora	Hermosillo	Patrón Harmony	-	-	----
SON 112	Sonora	Hermosillo	Patrón Harmony	-	-	----
SON 113	Sonora	Hermosillo	Patrón Harmony	-	-	----
SON 114	Sonora	Hermosillo	Patrón Harmony	-	-	----
SON 115	Sonora	Hermosillo	Patrón Harmony	-	-	----
SON 116	Sonora	Hermosillo	Patron Harmony	-	-	----
SON 117	Sonora	Hermosillo	Harmony	-	-	----
SON 118	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 119	Sonora	Hermosillo	Ivory/Freedom	-	-	----
SON 120	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 121	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 122	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 123	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 124	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 125	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 126	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 127	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 128	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 129	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----

SON 130	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 131	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 132	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 133	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 134	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 135	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 136	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 137	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 138	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 139	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 140	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 141	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 142	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 143	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 144	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 145	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 146	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 147	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 148	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 149	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 150	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 151	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 152	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 153	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 154	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 155	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 156	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 157	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 158	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 159	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----

SON 160	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 161	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 162	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 163	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 164	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 165	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 166	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 167	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 168	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 169	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 170	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 171	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 172	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 173	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 174	Sonora	Hermosillo	Ivory	-	-	----
SON 175	Sonora	Hermosillo	Krissy	-	-	----
SON 176	Sonora	Hermosillo	Magneta	-	-	----
SON 177	Sonora	Hermosillo	Perlette	-	-	----
SON 178	Sonora	Hermosillo	Perlette	-	-	----
SON 179	Sonora	Hermosillo	Perlette	-	-	----
SON 180	Sonora	Hermosillo	Salt creek	-	-	----
SON 181	Sonora	Hermosillo	Summer Royal	-	-	----
SON 182	Sonora	Hermosillo	Superior	-	-	----
SON 183	Sonora	Hermosillo	Superior	-	-	----
SON 184	Sonora	Hermosillo	Superior	-	-	----
SON 185	Sonora	Hermosillo	Superior	-	-	----
SON 186	Sonora	Hermosillo	Sweet Celebration	-	-	----
SON 187	Sonora	Hermosillo	Sweet Celebration	-	-	----
SON 188	Sonora	Hermosillo	Sweet Celebration	-	-	----
SON 189	Sonora	Hermosillo	Sweet Celebration	-	-	----

SON 190	Sonora	Hermosillo	Timco	-	-	----
SON 191	Sonora	Hermosillo	Timco	-	-	----
SON 192	Sonora	Hermosillo	----	-	-	----
SON 193	Sonora	Imuris	Perlette	-	-	----
SON 194	Sonora	Navojóa	----	-	-	----
SON 195	Sonora	San Luis Rio Colorado	----	-	-	----
SON 196	sonora	San Miguel de Horcasitas	Perlette	-	-	----
SON 197	Sonora	Ures	Superior	-	-	----
ZAC 1	Zacatecas	Cuauhtémoc	Globo rojo	-	-	----
ZAC 2	Zacatecas	Cuauhtémoc	Globo rojo	-	-	----
ZAC 3	Zacatecas	Fresnillo	Carignan	-	-	----
ZAC 4	Zacatecas	Fresnillo	Globo rojo	-	-	----
ZAC 5	Zacatecas	Luis Moya	Carignan	-	-	----
ZAC 6	Zacatecas	Luis Moya	Globo rojo	-	-	----
ZAC 7	Zacatecas	Luis Moya	Globo rojo	-	-	----
ZAC 8	Zacatecas	Luis Moya	Globo rojo	-	-	----
ZAC 9	Zacatecas	Luis Moya	Globo rojo	-	-	----
ZAC 10	Zacatecas	Luis Moya	Globo rojo	-	-	----
ZAC 11	Zacatecas	Luis Moya	Globo rojo	-	-	----
ZAC 12	Zacatecas	Ojocaliente	Globo rojo	-	-	----
ZAC 13	Zacatecas	Trancoso	Cabernet	-	-	----
ZAC 14	Zacatecas	Trancoso	Globo rojo	-	-	----
ZAC 15	Zacatecas	Trancoso	Globo rojo	-	-	----
ZAC 16	Zacatecas	Villa Hidalgo	Carigñan	-	-	----
ZAC 17	Zacatecas	Villa Hidalgo	Carigñan	-	-	----

ANEXO2

Secuencias nucleotídicas de los genes de mantenimiento ; *leuA*, *petC*, *malF*, *cysG*, *holC*, *nuoL* y *gltT* de las cepas *Xylella fastidiosa* aisladas de viñedos de Baja California, Coahuila y Querétaro:

>CNRF.Vid.Coahuila.cysG

--

```
GCACTCGCCAAGACTCCCCCACGGAGTCCGGCAGCGTCACCCTGGTGGGCGCTGGCGCCGGCGACGCCGGGCTACTGACCTTAAATGCACTGCGCGCCTTG AATGAAGCCGACATCATCCTCTACGACCGCCTGGTCAGCGACACCGTGTTAC AGATGGCACGGCGCGATGCGGAGCAGATCGAAGTAGGCAAATCCGCAACGG GCCACAGTGTGCGCCAAGAAGACATTCACACCCTGATGCTGCAACACGCCCG TGCTGGTCAGCGTGTTCGTACGGCTGAAAGGTGGCGATCCATTCGTCTTCGGT CGTGGTGGCGAGGAACTGGAATTCTTACGTACCCACGGCATCCCCTATGAGG TCATCCCCGGAATCACCGCCGCCCTTGCCTGTGCCGCCTATGCGGGTATCCC CTTGACCCACCGCGACCACGCCCAATCGCTATGCCTGATCACCGCCCATTGC CAATCCTCCCTAGATACCCTGAACTGGGCTGCACTGGCACAAGAACGTCAAACGCTGGCGTTCTACATGGGCGTGGCGGGACTACCCACCATACAGCAACGCC TGTGTGAGGCTGGACGGACCGAAACAACG-
```

>CNRF.vid.Baja.California.cysG

```
CAGCACTCGCCAAGACTCCCCCACGGAGTCCGGCAGCGTCACCCTGGTGG GCGCTGGCGCCGGCGACGCCGGGCTACTGACCTTAAATGCACTGCGCGCCT TGAATGAAGCCGACATCATCCTCTACGACCGCCTGGTCAGCGACACCGTGTT ACAGATGGCACGGCGCGATGCGGAGCAGATCGAAGTAGGCAAATCCGCAAC GGGCCACAGTGTGCGCCAAGAAGACATTCACACCCTGATGCTGCAACACGCC CGTGCTGGTCAGCGTGTTCGTACGGCTGAAAGGTGGCGATCCATTCGTCTTCG GTCGTGGTGGCGAGGAACTGGAATTCTTACGTACCCACGGCATCCCCTATGA GGTATCCCCGGAATCACCGCCGCCCTTGCCTGTGCCGCCTATGCGGGTATC CCCTTGACCCACCGCGACCACGCCCAATCGCTATGCCTGATCACCGCCCATT
```

GCCAATCCTCCCTAGATACCCTGAACTGGGCTGCACTGGCACAAGAACGTCA
AACGCTGGCGTTCTACATGGGCGTGGCGGGACTACCCACCATAACAGCAACG
CCTGTGTGAGGCTGGACGGACCGAAACAACG-

>CNRF.Vid.Queretaro.cysG

CAGCACTCGCCAAGACTCCCACCACGGAGTCCGGCAGCGTCACCCTGGTGG
GCGCTGGCGCCGGCGACGCAGGGCTACTGACCTTAAATGCACTGCGCGCCT
TGAATGAAGCCGACATCATCCTCTACGACCGCCTGGTCAGCGACACCGTGTT
ACAGATGGCACGGCGCGATGCGGAGCAGATCGAAGTAGGCAAATCCGCAAC
GGGCCACAGTGTGCGCCAAGAAGACATTCACACCCTGATGCTGCAACACGCC
CGTGCTGGTCAGCGTGTGCTACGGCTGAAAGGTGGCGATCCATTCGTCTTCG
GTCGTGGTGGCGAGGAACTGGAATTCTTACGTACCCACGGCATCCCCTATGA
GGTCATCCCCGGAATCACCGCCGCCCTTGCCTGTGCCGCCTATGCAGGTATC
CCCTTGACCCACCGCGACCACGCCCAATCGCTATGCCTGATCACCGCCCATT
GCCAATCCTCCCTAGATACCCTGAACTGGGCTGCACTGGCACAAGAACGTCA
AACGCTGGCGTTCTACATGGGCGTGGCGGGACTACCCACCATAACAGCAACG
CCTGTGTGAGGCTGGACGGGCCGAAACAACGC

>CNRF.Vid.Coahuila.gltT

--

TGCTGGAGATGACACCACTGGGGACCTTTGGATTAATCGCTGCGTTGGTCGG
GAGCTATGGTTTTTCAGAAGTTGCTGCCTTTTCGGTCACTTTGTATTGGCACTTTA
TTTGGCATGTGCGTTACACATTGTGGTGGTGTACAGCGGGCTTCTGCTGGCA
CATGGTTTTGAGTCCATTGAAGTTTTTTCAGGGGTGTCGCGCCAGGGATGCAGG
TCGCTTTTGTGAGTTCTTCCAGCTTTGCTGCGATGCCAGTGGCGTTACGCGC
GATTACGCACAATCTGGGGGTTAACAAGGACTACGCTGCATTTGCTGTGCCG
CTGGGTAGTAGCATCAAGATGGACGGTTGCGGGGCGATCTTTCCAGCGTTGT
GTGCGGTGTTTCATCGCTCAGTACACCGGGGTGCCGCTGACCGCGAATCAATA
TTTCGTCATTTTTATCGCATCGGTA CTGCGCAGTTTTTGGCACGGCCGGGGTG

CCAGGTACGGCGGTGGTGTATGGCAACCGTGGTGCTGAGTGCAGCTCATTG
CCGCTGGAGGTAATTGGTTATCTGTATGCCATTGATCGCGTGTTAGACATGAT
GCGCACTATGACAAACGTCACCGGACAGATGTTGGTGCCGGTGCTGGT-----

>CNRF.vid.Baja.California.gltT

TGTGCTGGAGATGACACCACTGGGGACCTTTGGATTAATCGCTGCGTTGGTC
GGGAGCTATGGTTTTCAGAAGTTGCTGCCTTTGCGTCACTTTGTATTGGCACT
TTATTTGGCATGTGCGTTACACATTGTGGTGGTGTACAGCGGGCTTCTGCTGG
CACATGGTTTGAGTCCATTGAAGTTTTTCAGGGGTGTGCGGCCAGGGATGCA
GGTCGCTTTTGTGAGTTCTTCCAGCTTTGCTGCGATGCCAGTGGCGTTACGC
GCGATTACGCACAATCTGGGGGTTAACAAGGACTACGCTGCATTTGCTGTGC
CGCTGGGTAGTAGCATCAAGATGGACGGTTGCGGGGCGATCTTCCAGCGTT
GTGTGCGGTGTTTCATCGCTCAGTACACCGGGGTGCCGCTGACCGCGAATCAA
TATTTGTCATTTTTATCGCATCGGTACTIONCGGCAGTTTTGGCACGGCCGGGGT
GCCAGGTACGGCGGTGGTGTATGGCAACCGTGGTGCTGAGTGCAGCTCATT
GCCGCTGGAGGTAATTGGTTATCTGTATGCCATTGATCGCGTGTTAGACATGA
TGCGCACTATGACAAACGTCACCGGACAGATGTTGGTGCCGGTGCTGGTGGC
AAAAGAAACGGGATTACTGAATACAAC

>CNRF.Vid.Queretaro.gltT

TGTGCTGGAGATGACACCACTGGGGACCTTTGGATTAATCGCTGCGTTGGTC
GGGAGCTATGGTTTTCAGAAGTTGCTGCCTTTGCGTCACTTTGTATTGGCACT
TTATTTGGCATGTGCGTTACACATTGTGGTGGTGTACAGCGGGCTTCTGCTGG
CACATGGTTTGAGTCCATTGAAGTTTTTCAGGGGTGTGCGGCCAGGGATGCA
GGTCGCTTTTGTGAGTTCTTCCAGCTTTGCTGCGATGCCAGTGGCGTTACGC
GCGATTACGCACAATCTGGGGGTTAACAAGGACTACGCTGCATTTGCTGTGC
CGCTGGGTAGTAGCATCAAGATGGACGGTTGCGGGGCGATCTTCCAGCGTT
GTGTGCGGTGTTTCATCGCTCAGTACACCGGGGTGCCGCTGACCGCGAATCAA
TATTTGTCATTTTTATCGCATCGGTACTIONCGGCAGTTTTGGCACGGCCGGGGT

GCCAGGTACGGCGGTGGTGTATGGCAACCGTGGTGCTGAGTGCAGCTCATTT
GCCGCTGGAGGTAATTGGTTATCTGTATGCCATTGATCGCGTGTTAGACATGA
TGCGCACTATGACAAACGTCACCGGACAGATGTTGGTGCCGGTGCTGGTGGC
AAAAGAAACGGGATTACTIONACTGAATACAAC

>CNRF.Vid.Coahuila.holC

--

TTGATTGCCAAACCGCGCTTTCTTGAGAAACCGCTGCAATTAGTCTGCGAATT
AGTCCGCAAAGCCTACGACACCCATCAGCCACACTGATTCTGGCCCGCGAC
CAGGCCAGGCCGAAGCACTGGATGACCTACTGTGGGCGTTTCGACCCGGAC
GCCTACATCCCCACCAAATCGCTGGCAGCGACGAAGACGACGACATCACCC
CCGTATTGATTGCCACCCCGGACAGCGACACCCATCGCGCCCGCTGGTCAT
CAACCTACGCGACGCCCTTGGGATGGCCCCTGCGAACGCGTGTTGGAGGT
GGTTCCCGCTGATCCTGCGGCACGCGAGCCACTGCGTGAACGCTGGAAACA
CTACAAGGCACGCGG

>CNRF.vid.Baja.California.holC

ATTTGATTGCCAAACCGCGCTTTCTTGAGAAACCGCTGCAATTAGTCTGCGAA
TTAGTCCGCAAAGCCTACGACACCCATCAGCCACACTGATTCTGGCCCGCG
ACCAGGCCAGGCCGAAGCACTGGATGACCTACTGTGGGCGTTTCGACCCGG
ACGCCTACATCCCCACCAAATCGCTGGCAGCGACGAAGACGACGACATCAC
CCCCGTATTGATTGCCACCCCGGACAGCGACACCCATCGCGCCCGCTGGT
CATCAACCTACGCGACGCCCTTGGGATGGCCCCTGCGAACGCGTGTTGGA
GGTGGTTCCCGCTGATCCTGCGGCACGCGAGCCACTGCGTGAACGCTGGAA
ACACTACAAGGCACGCGG

>CNRF.Vid.Queretaro.holC

ATTTGATTGCCAAACCGCGCTTTCTTGAGAAACCGCTGCAATTAGTCTGCGAA
TTAGTCCGCAAAGCCTACGACACTAATCAACCCACGCTGATTCTGGCCCGCG

ACCAGGCCAGGCCGAAGCACTGGACGACCTACTGTGGGCGTTTCGACCCGG
ACGCCTACATCCCCACCAGATCGCCGGCAGCGACGAAGACGACGACATCA
CCCCGTATTAATTGCCACCCCGGACAGCGACACCCCATCGCGCCCGCTGGT
CATCAACCTACGCGACGCCCTTGGGACGGCCCCTGCGAACGCGTGTTGGA
GGTGGTTCCCGCTGATCCTGCGGCACGCGAGCCACTGCGTGAACGCTGGAA
ACACTACAAGGCACGCGG

>CNRF.Vid.Coahuila.leuA

TACTATCAATGGCATTGGTGAGCGCGCTGGTAACTGCGCGCTGGAAGAACTC
ACTATGGTGTTGAAAGTACGCAACGCGTTTTACAACATTGATACTTCAATCCAC
ACATCACGTATCGTCTCCACCTCCCAGTTACTGCAACGATTGGTTGGCATGCC
CGTGCAACGTAACAAGGCAGTAGTAGGTGCCAATGCCTTTGCACATGAATCG
GGTATCCACCAGCACGGTATGCTGCGCCATCGCGGCACCTACGAAATCATGC
GTCCACAAGAAGTCGGTTGGGTATGTTGCGCATATGGTGCTCGGCCGCCATAG
CGGCCGTGCTGCGGTGCAACAGCGTCTACGCGCACTGGGCTACTTGCTGGA
GGAAGAAGATCTAAAAGTGGTATTTGAAGAATTCAAACAGCTTTGTGAGAAAC
AGCGTTTGGTCACCGATGTGCGACCTGCAAGTACTGATGCAAGATAACAACAGTA
CAGCATGGCTATCGCTTGGCCTCAATGACAATCAGTGATGTTGGTAACCGGG
CCAACGCACTGGTGGAAATTGTCCGATCCCCAAGGTCAGCGTGTTGCCGAAAC
TGCGCAAGGCAACGGCCAGTAGATGCACTGTTTCGGAGCGCTGGCTGCAGC
AACTGGGGTCAAAGTGGAGTTGGACAGCTATCAGGTACACAGTGTTGGTATC
GGGGCCGATGCACGTGGTGAAGCAAACCT

>CNRF.vid.Baja.California.leuA

TACTATCAATGGCATTGGTGAGCGCGCTGGTAACTGCGCGCTGGAAGAACTC
ACTATGGTGTTGAAAGTACGCAACGCGTTTTACAACATTGATACTTCAATCCAC
ACATCACGTATCGTCTCCACCTCCCAGTTACTGCAACGATTGGTTGGCATGCC
CGTGCAACGTAACAAGGCAGTAGTAGGTGCCAATGCCTTTGCACATGAATCG
GGTATCCACCAGCACGGTATGCTGCGCCATCGCGGCACCTACGAAATCATGC

GTCCACAAGAAGTCGGTTGGGTATGTTTCGCATATGGTGCTCGGCCGCCATAG
CGGCCGTGCTGCGGTGGAACAGCGTCTACGCGCACTGGGCTACTTGCTGGA
GGAAGAAGATCTAAAAGTGGTATTTGAAGAATTCAAACAGCTTTGTGAGAAAC
AGCGTTTGGTCACCGATGTGACCTGCAAGTACTGATGCAAGATAACAACAGTA
CAGCATGGCTATCGCTTGGCCTCAATGACAATCAGTGATGTTGGTAACCGGG
CCAACGCACTGGTGGAAATTGTCCGATCCCCAAGGTCAGCGTGTTGCCGAAAC
TGCGCAAGGCAACGGCCAGTAGATGCACTGTTTCGGAGCGCTGGCTGCAGC
AACTGGGGTCAAAGTGGAGTTGGACAGCTATCAGGTACACAGTGTTGGTATC
GGGGCCGATGCACGTGGTGAAGCAAACt

>CNRF.Vid.Queretaro.leuA

TACTATCAATGGCATTGGTGAGCGCGCTGGTAACTGCGCGCTGGAAGAACTC
ACTATGGTGTTGAAAGTACGCAACGCGTTTTACAACATTGATACTTCAATCCAC
ACATCACGTATCGTCTCCACCTCCCAGTTACTGCAACGATTGGTTGGCATGCC
CGTGCAACGTAACAAGGCAGTAGTAGGTGCCAATGCCTTTGCACATGAATCG
GGTATCCACCAGCACGGTATGCTGCGCCATCGCGGCACCTACGAAATCATGC
GTCCACAAGAAGTCGGTTGGGTATGTTTCGCATATGGTGCTCGGCCGCCATAG
CGGCCGTGCTGCGGTGGAACAGCGTCTACGCGCACTGGGCTACTTGCTGGA
GGAAGAAGATCTAAAAGTGGTATTTGAAGAATTCAAACAGCTTTGTGAGAAAC
AGCGTTTGGTCACCGATGTGACCTGCAAGTACTGATGCAAGATAACAACAGTA
CAGCATGGCTATCGCTTGGCCTCAATGACAATCAGTGATGTTGGTAACCGGG
CCAACGCACTGGTGGAAATTGTCCGATCCCCAAGGTCAGCGTGTTGCCGAAAC
TGCGCAAGGCAACGGCCAGTAGATGCACTGTTTCGGAGCGCTGGCTGCAGC
AACTGGGGTCAAAGTGGAGTTGGACAGCTATCAGGTACACAGTGTTGGTATC
GGGGCCGATGCACGTGGTGAAGCAAACt

>CNRF.Vid.Coahuila.malF

GTTATCGGGATGTTCTTCGGTGTGCCGGTGTGATGGCGTTGGCGCTCAGTT
TGACCGATTTGATTTGTATGCTCTGGGCAATCCGATGTATCTGCGTTTTGTT

GGATTGGATAATTATCTGGAGTTGTTGCACACCCCGTTGTTCTGGAAGTCGCT
GTGGAATACGACCTATTTTGTGCTGCTGGGGATGCCGATGTCGATTATGGTGT
CTCTGGGAGCTGCGTTGCTGCTGAATTCAAGAGCGGCGCGTTTTAAGGGATT
GTTTCGCACCGTGTTGTTTGTCTCCGGTGGTGACGACGCTGGTAGCTGTCGCG
CTGATTTGGCGTTATCTGTTTCACCTGAAGTATGGGGTGGTGAATTGGCTGCT
GAATTGTGTTGGTATTCATCCAATTGATTGGTTGGGTGATCCGCGTTTTGGCGA
TGCCGATGATCATGTTGTTGCGCGGTGTGGAAGAACTTTGGCTACAACATGGT
GATTTTTCTGGCCGGGTTGCAGGCGATTCCACAGGATCTGTACGAGGCTGCG
CGCATTGATGGCGCGTCCAAATGGCAGCAATTCTTGCATATCACGTTTTCCGAT
GCTGGGGCCTGTGCTGATGGTGGTTGGGATTATCACGGTATCCGGCTATTTTC
CAGTTGTTTGCAGAGCCTTATGTGATGACCCGAGGGGATCCTCTACAGAGTA
CGGTCAGTGTGCTGTATTTTCATGTTTGAAGGAGGGTTTTAAGTGGTGG-

>CNRF.vid.Baja.California.malF

GTTATCGGGATGTTCTTCGGTGTGCCGGTGTGATGGCGTTGGCGCTCAGTT
TGACCGATTTGATTTGTATGCTCTGGGCAATCCGATGTATCTGCGTTTTGTT
GGATTGGATAATTATCTGGAGTTGTTGCACACCCCGTTGTTCTGGAAGTCGCT
GTGGAATACGACCTATTTTGTGCTGCTGGGGATGCCGATGTCGATTATGGTGT
CTCTGGGAGCTGCGTTGCTGCTGAATTCAAGAGCGGCGCGTTTTAAGGGATT
GTTTCGCACCGTGTTGTTTGTCTCCGGTGGTGACGACGCTGGTAGCTGTCGCG
CTGATTTGGCGTTATCTGTTTCACCTGAAGTATGGGGTGGTGAATTGGCTGCT
GAATTGTGTTGGTATTCATCCAATTGATTGGTTGGGTGATCCGCGTTTTGGCGA
TGCCGATGATCATGTTGTTGCGCGGTGTGGAAGAACTTTGGCTACAACATGGT
GATTTTTCTGGCCGGGTTGCAGGCGATTCCACAGGATCTGTACGAGGCTGCG
CGCATTGATGGCGCGTCCAAATGGCAGCAATTCTTGCATATCACGTTTTCCGAT
GCTGGGGCCTGTGCTGATGGTGGTTGGGATTATCACGGTATCCGGCTATTTTC
CAGTTGTTTGCAGAGCCTTATGTGATGACCCGAGGGGATCCTCTACAGAGTA
CGGTCAGTGTGCTGTATTTTCATGTTTGAAGGAGGGTTTTAAGTGGTGGGA

>CNRF.Vid.Queretaro.malF

GTGATCGGGATGTTCTTCGGTGTGCCGGTGTGATGGCGTTGGTGCTCAGTT
TGACCGATTTGATTTGTATGCTCTGGGCAATCCGATGTATCTGCGCTTTGTT
GGATTGGATAATTATCTGGAGTTGTTGCACACCCCGTTGTTCTGGAAGTCGCT
GTGGAATACGACCTATTTTGTGCTGCTGGGGATGCCGATGTCGATTATGGTGT
CTCTGGGAGCTGCGTTGCTGCTGAATTCAAGAGCGGCGCGTTTTAAGGGATT
GTTTCGCACCGTGTTGTTTGTCTCCGGTGGTGACGACGCTGGTAGCTGTCGCG
CTGATTTGGCGTTATCTGTTTCACCTGAAGTATGGGGTGGTGAATTGGCTGCT
GAATTGTGTTGGTATTCATCCAATTGATTGGTTGGGTGATCCGCGTTTTGGCGA
TGCCGATGATCATGTTGTTGCGGGTGTGGAAGAACTTTGGCTACAACATGGT
GATTTTTCTGGCCGGGTTGCAGGCGATTCCACAGGATCTGTACGAGGCTGCG
CGCATTGATGGCGCGTCCAAATGGCAGCAATTCTTGCATATCACGTTTTCCGAT
GCTGGGGCCTGTGCTGATGGTGGTTGGGATTATCACGGTATCCGGCTATTTTC
CAGTTGTTTGCAGAGCCTTATGTGATGACCCGAGGGGATCCTCTACAGAGTA
CGGTCAGTGTGCTGTATTTTCATGTTTGTGGAGGGTTTTAAGTGGTGGA

>CNRF.Vid.Coahuila.nuoL

TGTTGGAGGCGGACATGATGCTGATGACCATGTAAATACACACACGTCAAATG
ATGAACATGCGCATGGTGTGCATGAGCCGCAAGAATCGCCATGGGTAGTGAC
ATTGCCGCTAATTTTTCTGGCAATCCCTTCTATTGCGTTGGGCTTCTTCACGAT
TGGTCCGATGCTGTTTGGTACGGACTGGGCAGGCCATCATGCCGTTGAGGTG
ATCTGGGGTCAGACTGTCTCATTCTTTACAGGCATCATTGATTTTTATGATCCG
GCACAGAATACAGTTGCTGTTTTGGGTGAGGAATTCCGCGGCCCGGTGGCTT
TTGCGCTGCATGGGATGATGTCGGCACCATTTCTTTTTAACGGTTGCCGGCTTC
TTGCTTGCCGTGTTGCTGTATCTATGGAAACCGCAATGGCCAGTGAAAATACG
TGAAACCTTCTCGTTGCCGGTGCATTTCTGGAGAACAAGTACGGTTTTG

>CNRF.vid.Baja.California.nuoL

GGTGCTCGGCGGTGTA
CTGACCTTTCATGGT
CTGATGACCATGTAA
CATGAGCCGCAAGA
CAATCCCTTCTATT
ACGGACTGGGCAGG
CATTCTTTACAGGC
TTTTGGGTGAGGA
GTCCGGCACCATT
ATCTATGGAAACCG
GTGCGTATTCTGG

>CNRF.Vid.Queretaro.nuoL

GGTGCTCGGCGGTGTA
CTGACCTTTCATGGT
CTGATGACCATGTAA
CATGAGCCGCAAGA
CAATCCCTTCTATT
ACGGACTGGGCAGG
CATTCTTTACAGGC
TTTTGGGTGAGGA
GTCCGGCACCATT
ATCTATGGAAACCG
GTGCGTATTCTGG

>CNRF.Vid.Coahuila.petC

--

GTTATTCACGTATCG
ACCCTCAATGTCACC

CGGTTGACACCTCCGAGCAGTGGTTTGGTAAGATTCCGCCGGATTTGAGTTT
GGTGGCCCGCGTCCGTGGGAGTGATTGGATCTACACTTATCTGAGGTCTTTC
TACGTGCGACTCGACTCGCCCGCTGGGTTGGAACAATCGACTGTTTGTGATG
TTTCTATGCCCAATCCACTGTCGCATCTCCAGGGTGTGCAGCGGGCAGAATA
TGGTGGGGCGTTCGAGGCTGGTGCTGATCGGTTAGTGACTGGGTTGGTTCT
GGTCCAGCCAGGTCAGCAGAGCCCTGCTGAGTTTGACCAGACTCTGCGTGAC
ATTGTCAATTTCTTGCAATATGCCGCCGAGCCTGCGGCGTTACAACGGCATT
TTTGAGAGTATGGGTACTGTTGTTCCCTAGTGTTGTTGACTTTCTTGGTTTATCT
ACTTAAG-

>CNRF.vid.Baja.California.petC

ACGTTATTCACGTATCGCTGCTGATTTGGGTTTAAGTGAAGTGCAGGTGATGA
GTACCCTCAATGTCACCGGTGCCAAGTTTGGCGATACGATCATGACAGGGAT
GCCGGTTGACACCTCCGAGCAGTGGTTTGGTAAGATTCCGCCGGATTTGAGT
TTGGTGGCCCGCGTCCGTGGGAGTGATTGGATCTACACTTATCTGAGGTCTT
TCTACGTGCGACTCGACTCGCCCGCTGGGTTGGAACAATCGACTGTTTGTGCA
TGTTTCTATGCCCAATCCACTGTCGCATCTCCAGGGTGTGCAGCGGGCAGAA
TATGGTGGGGCGTTCGAGGCTGGTGCTGATCGGTTAGTGACTGGGTTGGTTC
TGGTCCAGCCAGGTCAGCAGAGCCCTGCTGAGTTTGACCAGACTCTGCGTGA
CATTGTCAATTTCTTGCAATATGCCGCCGAGCCTGCGGCGTTACAACGGCATT
CTTTGAGAGTATGGGTACTGTTGTTCCCTAGTGTTGTTGACTTTCTTGGTTTATC
TACTTAAGA

>CNRF.Vid.Queretaro.petC

ACGTTATTCACGTATCGCTGCTGATTTGGGTTTAAGTGAAGTGCAGGTGATGA
GTACCCTCAATGTCACCGGTGCCAAGTTTGGCGATACGATCATGACAGGGAT
GCCGGTTGACACCTCCGAGCAGTGGTTTGGTAAGATTCCGCCGGATTTGAGT
TTGGTGGCCCGCGTCCGTGGGAGTGATTGGATCTACACTTATCTGAGGTCTT
TCTACGTGCGACTCGACTCGCCCGCTGGGTTGGAACAATCGACTGTTTGTGCA
TGTTTCTATGCCCAATCCACTGTCGCATCTCCAGGGTGTGCAGCGGGCAGAA

TATGGTGGGGCGTCGCAGGCTGGTGCTGATCGGTTAGTGACTGGGTTGGTTC
TGGTCCAGCCAGGTCAGCAGAGCCCTGCTGAGTTTGACCAGACTCTGCGTGA
CATTGTCAATTTCTTGCAATATGCCGCCGAGCCTGCGGCGTTACAACGGCATT
CTTTGAGAGTATGGGTACTGTTGTTCCCTAGTGTTGTTGACTTTCTTGGTTTATC
TACTTAAGA

Genetic diversity of *Xylella fastidiosa* in Mexican vineyards.

Andrés Aguilar-Granados^{1,2}, Bárbara Hernández-Macías², Guillermo Santiago-Martínez², Roberto Ruiz-Medrano¹, Luis Kameyama-Kawabe³, Jesús Hinojosa-Moya⁴, María del Carmen Montes-Horcasitas¹, and Beatriz Xoconostle-Cázares^{1*}.

¹Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Av. IPN 2508 San Pedro Zacatenco, 07360 CDMX, México. ²Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria, Servicio Nacional de Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. 55740 Tecámac, Estado de México. ³Departamento de Genética y Biología Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, ⁴Facultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Carr. Cañada Morelos Km 7.5 El Salado, Tecamachalco Puebla, México.

*To whom corresponding should be addressed: bxoconos@cinvestav.mx

Aceptado para publicación en PLANT DISEASE