



**UNIVERSIDAD DE INVESTIGACIÓN DE TECNOLOGÍA  
EXPERIMENTAL YACHAY**

**Escuela de Ciencias Biológicas e Ingeniería**

**TÍTULO:**

Análisis evolutivo de profagos y elementos transponibles en genomas de *Xylella fastidiosa*

**Trabajo de titulación presentado como requisito para la obtención del título  
de Magíster en Biología Sintética**

**Autor:**

Ing. Dennis Gabriel Jiménez León

**Tutor:**

José Antonio Castillo Morales Ph.D.

Urcuquí, agosto 2024

## **AUTORÍA**

Yo, **DENNIS GABRIEL JIMÉNEZ LEÓN**, con cédula de identidad 172263267-4, declaro que las ideas, juicios, valoraciones, interpretaciones, consultas bibliográficas, definiciones y conceptualizaciones expuestas en el presente trabajo; así cómo, los procedimientos y herramientas utilizadas en la investigación, son de absoluta responsabilidad del autor del trabajo de titulación. Así mismo, me acojo a la normativa interna de la Universidad de Investigación de Tecnología Experimental Yachay.

Uruguay, agosto, 2024

---

**Dennis Gabriel Jiménez León**

**CI: 172263267-4**

## **AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN**

Yo, **DENNIS GABRIEL JIMÉNEZ LEÓN**, con cédula de identidad 172263267-4, cedo a la Universidad de Tecnología Experimental Yachay, los derechos de publicación de la presente obra, sin que deba haber un reconocimiento económico por este concepto. Declaro además que el texto del presente trabajo de titulación no podrá ser cedido a ninguna empresa editorial para su publicación u otros fines, sin contar previamente con la autorización escrita de la Universidad.

Asimismo, autorizo a la Universidad que realice la digitalización y publicación de este trabajo de titulación en el repositorio virtual, de conformidad a lo que dispone la Ley Orgánica de Educación Superior

Urcuquí, agosto, 2024

---

**Dennis Gabriel Jiménez León**

**CI:172263267-4**

## **Dedicatoria**

Dedico esta tesis a mi abuela Gloria Moya, quien fue un pilar fundamental en mi vida con su apoyo y cariño para seguir adelante y de quien sé que estaría muy orgullosa de verme alcanzar esta meta profesional. A mis padres Hugo Jiménez y Mireya León por ser mi inspiración y alegría de cada paso en mi vida, por creer en mí y brindarme toda su confianza. A mi hermana Fernanda, Estefany, familiares y amigos por estar presentes en mi vida en los momentos importantes y brindarme su ayuda en los momentos difíciles.

Dennis Gabriel Jiménez León

## **Agradecimiento**

Agradezco a Dios por guiarme en mi camino para cumplir mis metas, a mis padres por su apoyo incondicional y guía durante toda mi vida. A mi familia por estar presentes en momentos importantes y por brindarme su ayuda en momentos de necesidad. A mis amigos que siempre aportan su cariño y amistad en todo momento y especialmente en los más difíciles.

Agradezco a mi director de tesis, José Castillo Ph. D, por su guía, tiempo y dedicación para ayudarme con la culminación de este trabajo de titulación.

Agradezco a la Secretaría de Educación, Ciencia Tecnología e Innovación (SENESCYT) del Ecuador por incluirme en el programa de becas FORTALECETE 2022 para estudios de posgrados.

Agradezco a la Universidad Yachay Tech por brindarme los recursos y herramientas para completar el programa de maestría.

Dennis Gabriel Jiménez León

## Resumen

*Xylella fastidiosa* es una bacteria patógena de plantas que afecta a cientos de especies vegetales con un alto impacto comercial. La bacteria infecta el xilema de la planta donde forma biopelículas que no permiten el paso de nutrientes y agua, esto produce una gran afección como el marchitamiento de las hojas y reducción en la producción de frutos. La bacteria expresa una gran cantidad de factores de virulencia como enzimas y toxinas que le facilitan su infección en la planta huésped. En este trabajo se analiza la contribución de los elementos genéticos móviles en la evolución y patogenicidad de la bacteria. Para esto se recopilieron 94 genomas de *X. fastidiosa* de las tres principales subespecies. A través de herramientas computacionales se identificaron secuencias pertenecientes a profagos y elementos transponibles con posible participación en la formación de transposones compuestos. Los resultados muestran una gran abundancia y diversidad de profagos, los análisis filogenéticos sugieren que en una escala evolutiva fueron adquiridos recientemente. Además, la evidencia indica que desempeñan un papel importante en la patogenicidad de la bacteria al proveer de genes de virulencia. Por otro lado, se obtuvo una abundancia limitada de secuencias de inserción y transposones. El análisis destaca la presencia de la familia IS200/605 en mayor proporción, además de otros elementos importantes como Tn3 e IS6. La distribución de los elementos transponibles con potencial para formar un transposón compuesto se pudo evidenciar únicamente en las cepas CFBP8073, RH1 y BB08-1, sin embargo, no hay evidencia concluyente de la presencia de transposones compuestos en los genomas bacterianos analizados. Este estudio da a conocer la contribución de EGM a la evolución y patogénesis de *X. fastidiosa*, principalmente con el análisis de profagos. Estos elementos podrían continuar movilizándose y generar nuevas cepas con nuevos hospederos y capacidades patogénicas diferentes.

**Palabras Clave:** Elementos Genéticos Móviles, Patogenicidad, Evolución Genómica, Transferencia Horizontal de Genes, Análisis Filogenético.

## Abstract

*Xylella fastidiosa* is a plant pathogenic bacterium that affects hundreds of plant species with a high commercial impact. The bacteria infect the xylem of the plant where it forms biofilms that do not allow the passage of nutrients and water, this produces a major condition such as wilting of the leaves and reduction in fruit production. The bacterium expresses a large number of virulence factors such as enzymes and toxins that facilitate its infection in the host plant. In this work, the contribution of mobile genetic elements in the evolution and pathogenicity of the bacteria is analyzed. For this, 94 *X. fastidiosa* genomes from the three main subspecies were compiled. Through computational tools, sequences belonging to prophages and transposable elements with possible participation in the formation of compound transposons were identified. The results show a great abundance and diversity of prophages, phylogenetic analyzes suggest that on an evolutionary scale they were acquired recently. Furthermore, evidence indicates that they play an important role in the pathogenicity of the bacteria by providing virulence genes. On the other hand, a limited abundance of insertion sequences and transposons was obtained. The analysis highlights the presence of the IS200/605 family in greater proportion, in addition to other important elements such as Tn3 and IS6. The distribution of transposable elements with the potential to form a compound transposon could be evidenced only in strains CFBP8073, RH1 and BB08-1; however, there is no conclusive evidence of the presence of compound transposons in the bacterial genomes analyzed. This study reveals the contribution of EGM to the evolution and pathogenesis of *X. fastidiosa*, mainly with the analysis of prophages. These elements could continue to mobilize and generate new strains with new hosts and different pathogenic capacities.

**Key Words:** Mobile Genetic Elements, Pathogenicity, Genomic Evolution, Horizontal Gene Transfer, Phylogenetic Analysis.

## TABLA DE CONTENIDOS

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABLAS	ii
ABREVIATURAS	iii
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
1.2. OBJETIVOS	3
1.2.1. Objetivo general	3
1.2.2. Objetivos específicos	3
2. REVISIÓN DE LA LITERATURA	4
2.1. <i>Xylella fastidiosa</i>	4
2.1.1. Principales enfermedades y efectos de <i>Xylella fastidiosa</i>	6
2.1.2. Factores de patogenicidad de <i>Xylella fastidiosa</i>	7
2.2. Transferencia Horizontal de Genes (THG) y Recombinación Homóloga (RH) en <i>Xylella fastidiosa</i>	10
2.3. Elementos genéticos móviles (EGM)	11
2.3.1. Profagos	12
2.3.2. Transposones Compuestos	15
2.4. Programas para la identificación de Profagos y Transposones Compuestos	18
2.4.1. PHASTER	18
2.4.2. TnCentral	19
3. METODOS	20
3.1. Recopilación de secuencias de <i>Xylella fastidiosa</i>	20
3.2. Análisis filogenético	20
3.3. Identificación y filtrado de secuencias de profagos	20
3.4. Caracterización Taxonómica de Profagos	21
3.5. Análisis funcional de genes en profagos y asociación con patogenicidad	21
3.7. Identificación de secuencias de Transposones Compuestos	23

4. RESULTADOS	24
4.1. Características de los genomas de <i>X. fastidiosa</i> obtenidos	24
4.2. Filogenia de <i>X. fastidiosa</i>	24
4.3. Diversidad y distribución de profagos presentes en genomas de <i>X. fastidiosa</i>	25
4.4. Clasificación taxonómica de los profagos intactos	26
4.5. Asociación con patogenicidad y funcionalidad de genes en profagos	30
4.7. Transposones compuestos detectados en genomas de <i>Xylella fastidiosa</i>	33
5. DISCUSIÓN	41
6. CONCLUSIÓN	48
7. REFERENCIAS	49
8. ANEXOS	64

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Microscopia electrónica de barrido de la estructura celular bacteriana de <i>Xylella fastidiosa</i> .....	4
<b>Figura 2.</b> Ciclo de vida de <i>Xylella fastidiosa</i> .....	6
<b>Figura 3.</b> Principales cultivos afectados por <i>Xylella fastidiosa</i> .....	7
<b>Figura 4.</b> Ciclo de vida de los bacteriófagos.....	13
<b>Figura 5.</b> Formas de integración y estructura de profagos en genomas bacterianos. ....	15
<b>Figura 6.</b> Estructura de los transposones compuestos.....	16
<b>Figura 7.</b> Transposición por cointegrados.....	17
<b>Figura 8.</b> Comparación entre arboles filogenéticos del genoma central de diferentes cepas de <i>Xylella fastidiosa</i> .....	25
<b>Figura 9.</b> Asociación entre el tamaño del genoma de <i>Xylella fastidiosa</i> y el número de profagos intactos. ....	26
<b>Figura 10.</b> Árbol proteómico viral con secuencias de referencia y profagos de <i>Xylella fastidiosa</i> reconstruido en ViPtree.....	27
<b>Figura 11.</b> Distribución y abundancia relativa de familias virales en genomas de las tres subespecies de <i>Xylella fastidiosa</i> .....	28
<b>Figura 12.</b> Análisis filogenético de profagos.....	29
<b>Figura 13.</b> Frecuencia de las proteínas analizadas por ortología KEGG de genes incorporados en las secuencias de las tres subespecies de <i>Xylella fastidiosa</i> .....	30
<b>Figura 14.</b> Elementos Transponibles identificados en genomas de <i>Xylella fastidiosa</i> .....	38

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Factores de patogenicidad de <i>Xylella fastidiosa</i> .....	8
<b>Tabla 2.</b> Factores de patogenicidad pertenecientes al SST-II presentes en <i>Xylella fastidiosa</i> . .....	10
<b>Tabla 3.</b> Predicción de proteínas (KEGG Orthology) en profagos involucradas en la virulencia y sistemas de defensa de la bacteria huésped.....	31
<b>Tabla 5.</b> Elementos transponibles confirmados y número de copias en los genomas de <i>Xylella fastidiosa</i> .....	35
<b>Tabla 6.</b> Análisis de secuencias flanqueadas por IS de la misma familia en cepas de <i>Xylella fastidiosa</i> .....	40
<b>Tabla S1.</b> Características generales de los genomas utilizados de <i>Xylella fastidiosa</i> .....	64
<b>Tabla S2.</b> Análisis de distancias entre secuencias IS completas en genomas de <i>Xylella fastidiosa</i> .....	66

## ABREVIATURAS

<b>EGM</b>	Elementos Genéticos Móviles
<b>THG</b>	Transferencia Horizontal de Genes
<b>SST</b>	tipos de sistemas de secreción
<b>IS</b>	Secuencias de Inserción
<b>ICE</b>	Elementos Integrativos y Conjugativos
<b>IME</b>	Elementos Integrativos y Movilizables
<b>CIME</b>	Elementos Cis-Movilizables
<b>CDS</b>	Secuencias Codificantes
<b>PHASTER</b>	PHAge Search Tool – Enhanced Release
<b>TnComp_finder</b>	Composite Transposon Finder
<b>NCBI</b>	National Center for Biotechnology Information
<b>BLAST</b>	Basic Local Alignment Search Tool
<b>TA</b>	Toxina-Antitoxina
<b>Zot</b>	Toxina Zonula occludens
<b>ADNbc</b>	ADN de doble cadena
<b>ADNsc</b>	ADN de cadena simple

## 1. INTRODUCCIÓN

Los elementos genéticos móviles (EGM) son secuencias genómicas que contribuyen con la evolución y variabilidad genética de los organismos. Estos elementos tienen la capacidad de desplazarse y alterar el genoma de un organismo huésped, esto puede contribuir de forma benéfica en la supervivencia de las poblaciones bacterianas (Vale et al., 2022). Los genomas procariotas poseen altas tasas de pérdida y ganancia de genes, en donde los EGM son uno de los principales contribuyentes ya que pueden transportar genes diferentes acoplados a los esenciales para su replicación (Hall et al., 2022; Rankin et al., 2011). Estos genes con frecuencia proporcionan ventajas significativas a los organismos en términos de patogenicidad (Weisberg et al., 2023) y adaptabilidad a ambientes adversos (Khedkar et al., 2022).

Existe una gran diversidad de EGM, entre los más comunes se encuentran: profagos, transposones, plásmidos, secuencias de inserción (IS), elementos integrativos y conjugativos (ICE), entre otros (Jackson et al., 2011). Las bacterias patógenas poseen varios genes responsables de su interacción y virulencia que están asociados con la dinámica de los EGM (Rajabal et al., 2023). Por lo tanto, son un recurso clave en el mejoramiento infectivo de las bacterias para establecerse en nuevos hospederos y generar nuevas capacidades patogénicas (Vale et al., 2022; Weisberg et al., 2023). Las bacterias patógenas vegetales presentan una dinámica de asociación con el huésped compleja donde también influyen EGM. Por lo tanto, comprender el rol de estos elementos en una especie bacteriana es esencial para abordar estrategias efectivas de control y prevención contra organismos perjudiciales.

*Xylella fastidiosa* es una importante bacteria patógena que afecta a una gran diversidad de plantas a nivel mundial, provoca un gran número de enfermedades que ocasionan pérdidas considerables en el rendimiento de los cultivos de importancia económica (Anguita-Maeso et al., 2022; Castro et al., 2021). Entre las afecciones más importantes causadas por la bacteria se encuentran: la enfermedad de Pierce en la vid (Giménez-Romero et al., 2022), clorosis variegada de los cítricos (Barbieri et al., 2023), la enfermedad de quemadura de hoja del almendro (Marco-Noales et al., 2021) y el síndrome de deterioro rápido del olivo (Scortichini, 2022). La bacteria coloniza los vasos del xilema de la planta donde puede formar biopelículas, su alta propagación entre plantas se debe principalmente a insectos hemípteros que se alimentan de la savia del xilema de plantas infectadas alojando la bacteria en su sistema bucal (Castro et al., 2021).

Se han identificado una amplia gama de factores de virulencia y patogenicidad en *X. fastidiosa*, los cuales le permiten a la bacteria evadir las defensas del huésped y establecerse eficazmente en el xilema de la planta (Rapicavoli et al., 2018; Sertedakis et al., 2022). La asociación de los EGM con la presencia y adquisición de factores de virulencia en esta bacteria no ha sido explorada por completo. En este trabajo se desarrolló un análisis de dos tipos de EGM muy importantes: profagos y elementos transponibles (específicamente transposones compuestos). El objetivo del estudio se centró en determinar la asociación y contribución de los dos tipos de EGM con la patogenicidad de *X. fastidiosa*.

### **1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

*Xylella fastidiosa* es una bacteria polífaga (amplio rango de hospederos) originaria del continente americano. Desde el 2013 cuando se la detectó por primera vez en Europa, el rango de hospederos incrementó sustancialmente (Greco et al., 2023). En 2023 se reportó que esta bacteria afecta a 696 especies de plantas pertenecientes a 88 familias diferentes (EFSA et al., 2023). La rápida propagación de la bacteria es debido en gran medida a que cualquier insecto que se alimenta del xilema de la planta la puede transmitir. Hasta la fecha, se han reconocido aproximadamente 120 especies de insectos como vectores potenciales (Loureiro et al., 2023). El comercio de material vegetal infectado además de su uso para plantaciones también contribuye ampliamente con la propagación de la bacteria (Loconsole et al., 2021).

La introducción de *X. fastidiosa* en un nuevo entorno (Europa) ha provocado la aparición de nuevas asociaciones entre hospedero y patógeno, esto ha potenciado el incremento de su propagación (Greco et al., 2023). En Ecuador los estudios epidemiológicos de *X. fastidiosa* son escasos, sin embargo, en Europa hay reportes que identifican la presencia de cepas en plantas de café importado desde el país (Giampetruzzi et al., 2017; Jacques et al., 2016). El impacto de la bacteria en diferentes cultivos provoca pérdidas económicas importantes, al igual que el control de la importación de plantas infectadas causa problemas para los productores (Castro et al., 2021; Schneider et al., 2021). Un ejemplo claro es con la industria vitícola, donde se ha reportado en California pérdidas en cosechas de aproximadamente 104 millones de dólares con costos de 50 millones de dólares en estrategias de prevención (Castro et al., 2021). En Italia se ha estimado que dentro de los próximos 50 años los efectos en plantas de olivo pueden llegar a generar pérdidas de hasta 5.200 millones de euros (Schneider et al., 2020). En el mediterráneo europeo las pérdidas estimadas son de aproximadamente 12.440 millones de dólares, donde el

75,7% corresponde a aceitunas, el 5,7% a plantas de uvas, el 17,7% a cítricos y el 0,9% a las almendras (Cardone et al., 2022).

El incremento de la disponibilidad de datos genómicos gracias a la mayor accesibilidad y eficacia de la secuenciación, ha impulsado el desarrollo de herramientas bioinformáticas para el análisis de diferentes tipos de elementos genéticos. Esto ha generado que una gran variedad de estudios se centre en identificar diferentes tipos de secuencias, como los EGM, que poseen un alto impacto en la estructura del genoma (Hall et al., 2022). Estos elementos pueden transportar una gran diversidad de genes con la capacidad para codificar diferentes rasgos que otorgan beneficios para el huésped bacteriano (Rankin et al., 2011). Por lo tanto, comprender como actúan estos elementos es fundamental para estudiar la dinámica de la evolución de las bacterias patógenas como *X. fastidiosa*. Además, identificar la distribución y adquisición de factores genéticos de patogenicidad en *X. fastidiosa* permite obtener y mejorar estrategias de prevención, diagnóstico y tratamiento.

## **1.2.OBJETIVOS**

### **1.2.1. Objetivo general**

Analizar el impacto de los profagos y elementos transponibles (transposones compuestos) en la evolución y patogenicidad de la bacteria *Xylella fastidiosa*.

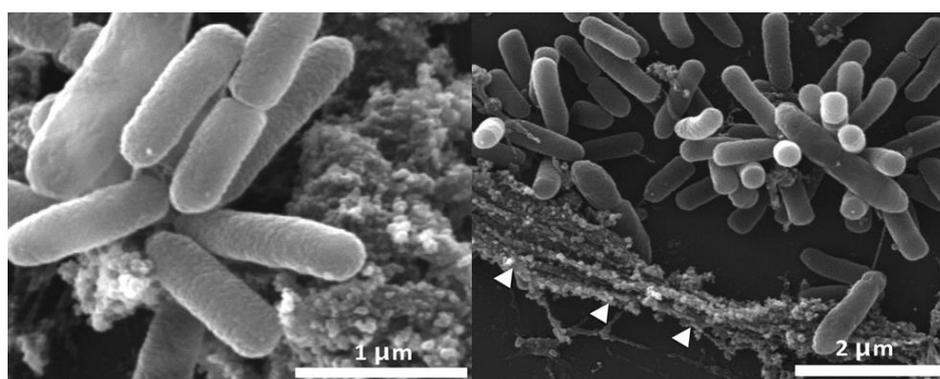
### **1.2.2. Objetivos específicos**

- Obtener datos genómicos de diferentes cepas pertenecientes a la bacteria *Xylella fastidiosa* a través de una base de datos biológica.
- Identificar mediante programas bioinformáticos las secuencias pertenecientes a profagos y transposones compuestos en los genomas de *Xylella fastidiosa*.
- Desarrollar un análisis del contexto genómico de las secuencias de profagos y transposones compuestos.
- Interpretar la contribución de los profagos y transposones compuestos en la evolución y patogenicidad de las diferentes cepas de *Xylella fastidiosa*.

## 2. REVISIÓN DE LA LITERATURA

### 2.1. *Xylella fastidiosa*

*X. fastidiosa* es una bacteria Gram negativa que pertenece a la familia Xanthomonadaceae (Figura 1), es considerada un patógeno vegetal emergente que causa enfermedades en diversas especies de plantas (Loconsole et al., 2021). La bacteria exhibe una amplia diversidad genética que está dividida en seis subespecies: *fastidiosa*, *multiplex*, *pauca*, *sandyi*, *tashke* y *morus* (Denancé et al., 2019). Esta clasificación está basada en sus relaciones genéticas y el rango de hospederos. En la actualidad se reconoce que *fastidiosa*, *pauca* y *multiplex* son las subespecies principales (Anguita-Maeso et al., 2022; Morelli et al., 2021). Existe una amplia diversidad de cepas de *X. fastidiosa* identificadas, los factores clave que han impulsado los procesos evolutivos, la adaptación a nuevos hospederos y la aparición de nuevas especies son la transferencia horizontal de genes (THG) y la recombinación genética (Denancé et al., 2019; Nunney et al., 2014).



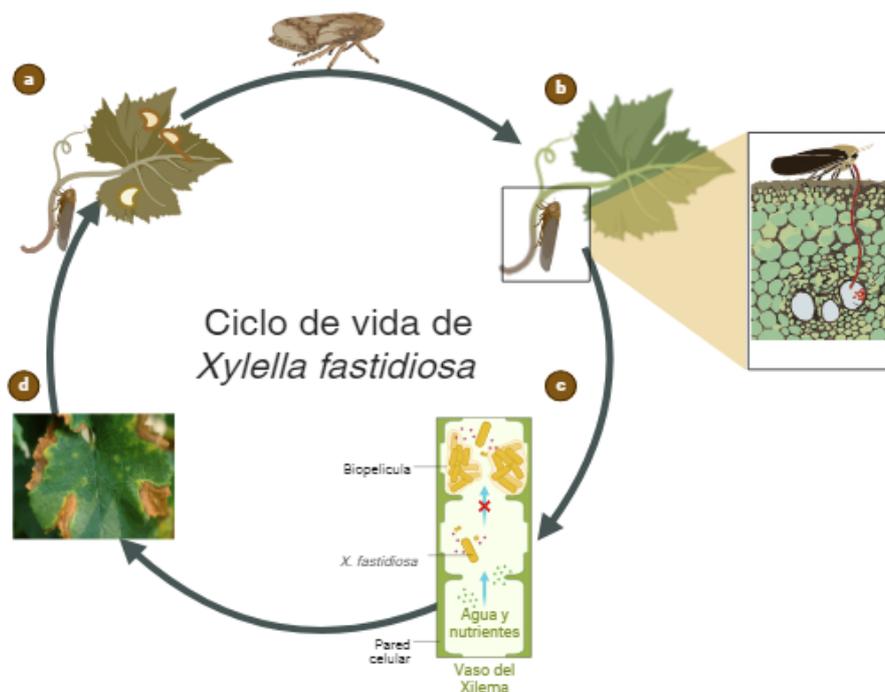
**Figura 1.** Microscopía electrónica de barrido de la estructura celular bacteriana de *Xylella fastidiosa* (Nascimento et al., 2016). Imagen adaptada del estudio de Nascimento et al., 2016.

*X. fastidiosa* puede establecerse y colonizar dos entornos principales (Figura 2): los conductos del xilema en diversas plantas hospederas donde ejerce sus efectos patógenos y piezas bucales de los insectos que se alimentan de la savia del xilema (Almeida & Nunney, 2015). Estos insectos actúan generalmente como vectores de transmisión de la bacteria de una planta a otra. Pertenecen al género Hemiptera, principalmente a las superfamilias Cicadoidea y Cercopoidea (familias: Cercopidae, Cicadidae, Clastopteridae, Cicadellidae y Aphrophoridae) (Giampetruzzi et al., 2017; Godefroid et al., 2019; Loureiro et al., 2023). Es importante destacar que no se sabe de mecanismos específicos de reconocimiento del vector por *X. fastidiosa*, por lo tanto, cualquier insecto que se alimente del xilema tiene el potencial de transmitir la bacteria en dependencia de diferentes factores en cuanto a eficiencia (Cavaliere et al., 2019).

Los insectos utilizan sus piezas bucales para acceder a la savia de la planta. En este momento, *X. fastidiosa* se adhiere y luego se prolifera en el aparato bucal (Loureiro et al., 2023). Se ha observado que la bacteria utiliza la cutícula externa (quitina) del vector como fuente de carbono al disolverlo con sustancias enzimáticas conocidas como quitinasas (Killiny et al., 2010). Dentro del insecto la bacteria no presenta estadios de desarrollo o periodos de latencia, por lo tanto, puede transmitirse constantemente (Morelli et al., 2021). El vector colonizado por la bacteria posteriormente puede alimentarse de una planta huésped no infectada generando un proceso de inoculación, un tiempo mayor de alimentación aumenta la probabilidad de que el insecto alcance el xilema de la planta (Almeida & Nunney, 2015).

Uno de los factores de virulencia esencial para la propagación y transmisión de *X. fastidiosa* es la formación de biopelículas tanto en los vasos del xilema de la planta como en las piezas bucales de los insectos vectores (Castro et al., 2023). Las células bacterianas se adhieren a la superficie de plantas e insectos a través de adhesinas fimbriales y afimbrias de la superficie celular, la alta densidad de células bacterianas promueve el estado adhesivo y la formación de biopelículas (Killiny & Almeida, 2014). Las poblaciones bacterianas deben encontrarse en dos estados fenotípicos (no adherentes y adherentes) de forma que puedan movilizarse para que se produzca un alcance sistémico del tejido del xilema y que las otras poblaciones bacterianas sean susceptibles a la adquisición por los insectos vectores (Newman et al., 2003).

En insectos se ha identificado que la presencia de quitina induce cambios en la regulación genética de la bacteria, lo que promueve la formación de biopelículas (Killiny et al., 2010). La inoculación de *X. fastidiosa* en plantas induce la multiplicación e infección sistémica de los conductos del xilema, el aumento de la densidad celular promueve la capacidad de adherirse a los tejidos del huésped y asociarse en biopelículas (Castro et al., 2023). Esto genera el efecto patogénico de la bacteria debido a la acumulación de células produciendo la obstrucción de los conductos del xilema, las principales consecuencias son la inducción de estrés hídrico y la reducción del suministro de nutrientes a toda la planta (Barbieri et al., 2023; de la Fuente et al., 2013). Los síntomas son variables en dependencia del cultivo, sin embargo, los más comunes se manifiestan en forma de quemaduras y necrosis marginales de las hojas, clorosis y tamaño reducido de los frutos (de la Fuente et al., 2013).

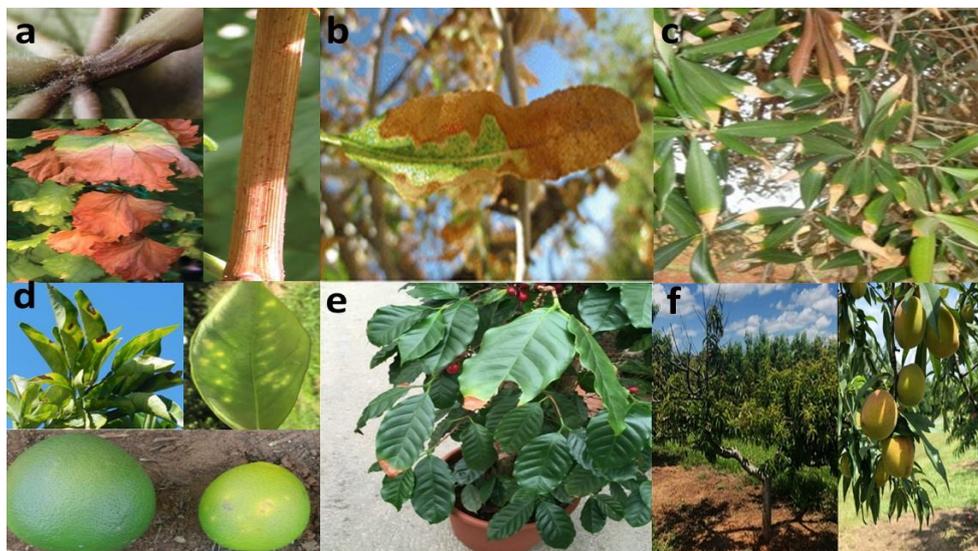


**Figura 2.** Ciclo de vida de *Xylella fastidiosa*. a) La bacteria se adhiere y prolifera en el aparato bucal de un insecto que se alimenta del xilema de una planta enferma. b) El insecto portador, al alimentarse puede llegar a plantas hospederas sanas y liberar la bacteria. c) *X. fastidiosa* libera factores de virulencia y forma biopelículas que pueden bloquear el paso de nutrientes y agua en los vasos del xilema. d) La limitación de los elementos requeridos por la planta genera síntomas que pueden observarse principalmente en las hojas de la planta en forma de quemaduras. Creado con BioRender.com

### 2.1.1. Principales enfermedades y efectos de *Xylella fastidiosa*

Un gran número de especies de plantas son susceptibles a las infecciones por *X. fastidiosa*, no obstante, hay que tomar en cuenta que no todas padecen infecciones a largo plazo y se vuelven sintomáticas (Almeida & Nunney, 2015). Entre los cultivos económicamente más importantes que resultan afectados por la bacteria, se encuentran: la uva, el olivo, los cítricos, el café, las almendras y el melocotón (Castro et al., 2023). La introducción de *X. fastidiosa* a un nuevo entorno ha provocado la propagación de enfermedades conocidas en nuevos territorios y el surgimiento de nuevas enfermedades que involucran nuevas plantas huésped (Almeida & Nunney, 2015). Estas enfermedades producidas por *X. fastidiosa* continúan siendo un gran problema para los productores de los distintos cultivos objetivo de la bacteria (Figura 3). Por ejemplo, en los cítricos genera la enfermedad conocida como “clorosis variegada de los cítricos” que produce una deformación de los bordes y manchas cloróticas en las hojas, endurecimiento de frutos y muerte regresiva (Barbieri et al., 2023).

En olivos la bacteria genera una enfermedad conocida como el “síndrome de declive rápido del olivo”, los síntomas comunes son la aparición de lesiones de color amarillo y marrón en las hojas, seguida de una pérdida de las ramas y posterior mortalidad de los árboles (Giampetruzzi et al., 2017). En las vides genera la “enfermedad de Pierce” que se caracteriza por la desecación de las bayas, baja producción y retraso del crecimiento de los frutos, abscisión anormal de los peciolo, amarilleo de las hojas, desarrollo anormal del peridermo, marchitez y muerte regresiva de las ramas (Rapicavoli et al., 2018). La enfermedad de la quemadura de la hoja del almendro consiste en quemaduras marginales de las hojas y necrosis, los árboles afectados muestran un color amarillo en toda la copa y una clara reducción de la producción de almendros (Anguita-Maeso et al., 2022). Otra enfermedad importante es la “enfermedad del falso melocotón” que se caracteriza por generar un tamaño reducido de los frutos, hojas de color verde más oscuro, senescencia foliar retrasada y floración prematura (Rapicavoli et al., 2018).



**Figura 3.** Principales cultivos afectados por *Xylella fastidiosa*. a) Vid (*Vitis vinifera* L.), enfermedad de Pierce (Thorne et al., 2006). b) Almendros (*Prunus dulcis*), enfermedad de la quemadura de la hoja del almendro (Marco-Noales et al., 2021). c) Olivo (*Olea europaea* L.) síndrome de declive rápido del olivo (Scortichini, 2022). d) Plantas cítricas, clorosis variegada de los cítricos (Coletta-Filho et al., 2020). e) Café (*Coffea arabica* L.), planta de café afectada por la bacteria (Scortichini, 2022). f) Melocotón (*Prunus persica*), enfermedad del falso melocotón (Johnson et al., 2021).

### 2.1.2. Factores de patogenicidad de *Xylella fastidiosa*

Se han identificado diversos factores de virulencia que desempeñan un papel crucial en las interacciones entre las plantas huésped y *X. fastidiosa* para potencialmente desencadenar su patogenicidad (Rapicavoli et al., 2018; Sertedakis et al., 2022). La secreción de varias de estas

proteínas está influenciada por el estado de agregación de la bacteria, es decir, en su forma móvil o en su forma asociada con otras células dentro de una biopelícula (Gouran et al., 2016). Conjuntamente con estas proteínas se incluyen adhesinas fimbriales que forman parte de los pilus tipo I y tipo IV, estas estructuras son importantes para fijar las células a la superficie en el caso del pilus tipo I y contribuyen con la movilidad de las células en el caso del pilus tipo IV (Cruz et al., 2012). *X. fastidiosa* se considera más virulenta en su estado móvil debido a que expresa una serie de proteínas involucradas en la degradación de la pared celular, colonizando más vasos del xilema y generando síntomas tempranos de la enfermedad (Gouran et al., 2016). Incluso, se ha especulado que la bacteria se sesga a su estado adherente para reducir su movimiento sistémico y así evitar matar demasiado rápido a la planta huésped (Castro et al., 2023).

Varios de los factores de virulencia se secretan a través de diferentes tipos de sistemas de secreción (SST), en el genoma de *X. fastidiosa* se han detectado genes que codifican para cuatro tipos: I, II, IV y V (Ingel et al., 2023; Ropicavoli et al., 2018). El SST-I está involucrado en la supervivencia de la bacteria en la planta huésped y el SST-V expresa proteínas autotransportadoras como la XatA que es relevante en la formación de biopelículas (de Souza et al., 2020). El SST-II es el más relevante en patogenicidad ya que codifica varias enzimas extracelulares involucradas en la virulencia y adquisición de nutrientes, se incluyen enzimas que degradan la pared celular vegetal, por ejemplo: poligalacturonasas, celulasas, proteasas y lipasas (Gouran et al., 2016; Nascimento et al., 2016; Roper et al., 2007). La presencia de los diferentes SST en *X. fastidiosa* demuestra el conjunto activo de proteínas y metabolitos que poseen una destacada relevancia en la patogenicidad del microorganismo y sus interacciones con el huésped (de Souza et al., 2020). Varios factores de patogenicidad han sido bien identificados y descritos en *X. fastidiosa*. En la Tabla 1 se exponen diferentes factores de virulencia que han sido recopilados por el estudio de Ropicavoli et al., 2018. La importancia de estos genes radica en que su identificación puede promover el desarrollo de tratamientos o sistemas de control contra la bacteria patógena.

**Tabla 1.** Factores de patogenicidad de *Xylella fastidiosa*.

	Identificación NCBI	Gen	Descripción
<b>Adhesinas</b>	PD0058	<i>fimF</i>	Adhesina fimbrial: desarrollo de biopelículas
	PD0062	<i>fimA</i>	Adhesina fimbrial: desarrollo de biopelículas
	PD0731	<i>xadA</i>	Adhesina afimbrial: Unión de superficie celular y desarrollo de biopelículas
	PD0986		Proteína análoga a la hemaglutinina

	PD1792	<i>hxfB</i>	Hemaglutinina: agregación celular
	PD2118	<i>hxfA</i>	Hemaglutinina: agregación celular
<b>Quorum sensing</b>	PD0233	<i>rpfB</i>	Síntesis del factor de señalización difusible, Quorum sensing
	PD0279	<i>cgsA</i>	Di-GMP sintasa A cíclica: Quorum sensing
	PD0406	<i>rpfC</i>	Quorum sensing
	PD0407	<i>rpfF</i>	Quorum sensing
	PD0732	<i>xpsE</i>	Sistema de secreción tipo II: ATPasa
<b>Sistemas de secreción</b>	PD1964	<i>tolC</i>	Sistema de secreción tipo I
	PD0814	<i>wzy</i>	Síntesis de lipopolisacáridos
<b>Síntesis de polisacáridos</b>	PD1391	<i>gumH</i>	Síntesis de exopolisacáridos
	PD1394	<i>gumD</i>	Síntesis de exopolisacáridos
	PD0956	<i>prtA</i>	Serina proteasa
<b>Enzimas hidrolíticas</b>	PD1485	<i>pglA</i>	Poligalacturonasa: degradación de la membrana en fosas de los vasos del xilema.
	PD1703	<i>lesA/lipA</i>	lipasa/esterasa
	PD1826	<i>chiA</i>	quitinasa
	PD1851	<i>engXC A2</i>	Endoglucanasa: degradación de la membrana de las fosas en los vasos del xilema.
	PD1856	<i>engXC A1</i>	Endoglucanasa: degradación de la membrana de las fosas en los vasos del xilema.
	PD0528	<i>xatA</i>	Desarrollo de biopelículas y agregación celular.
<b>Proteínas de membrana</b>	PD0843	<i>tonB1</i>	Transporte de hierro y vitamina B12.
<b>Respuesta al estrés</b>	PD1380	<i>csp1</i>	Proteína de choque frío
<b>Metabolismo</b>	PD1311		Acil-coenzima A (acil-CoA) sintetasa
<b>Toxinas</b>	PD0928	<i>zot</i>	Supuesta toxina similar a Zot
	PD0848	<i>pilL</i>	Pilus tipo IV: regula los movimientos
	PD1099	<i>dinJ/reIE</i>	Sistema toxina-antitoxina, sistema regulador
	PD1100	<i>YafQ</i>	Sistema toxina-antitoxina
	PD1284	<i>algU</i>	Factor sigma alternativo: genes relacionados con la patogenicidad, genes de respuesta al estrés
	PD1386	<i>xhpT</i>	Sistema regulador de dos componentes: genes relacionados con la patogenicidad, síntesis de exopolisacárido.
	PD1671		Sistema regulador de dos componentes: genes relacionados con la patogenicidad.
	PD1678	<i>phoQ</i>	Sistema regulador de dos componentes: genes relacionados con la patogenicidad, genes de supervivencia.
	PD1679	<i>phoP</i>	Sistema regulador de dos componentes: genes relacionados con la patogenicidad, genes de supervivencia.
	PD1984	<i>gacA</i>	Sistema regulador de dos componentes: genes relacionados con la patogenicidad.

**Nota.** Tabla obtenida de (Rapicavoli et al., 2018).

*X. fastidiosa* carece de un SST-III que es muy común en otras bacterias fitopatógenas, este sistema les permite administrar factores de virulencia desde la bacteria a su entorno o células huésped (Scarpari et al., 2003). Aunque *X. fastidiosa* no posee este sistema, diferentes estudios resaltan la importancia de genes que codifican enzimas propias del SST-II. Estas proteínas

contribuyen con la migración y propagación de la bacteria en los vasos del xilema al degradar la membrana celular y permitir la supervivencia de la bacteria (Nascimento et al., 2016). En el estudio de Ingel et al., se demostró que el SST-II es indispensable para los procesos de infección y patogenicidad de *X. fastidiosa* ya que las proteínas secretadas facilitan el paso de la bacteria por las paredes celulares en los vasos del xilema (Ingel et al., 2023). En la Tabla 2 se recopilan 19 posibles efectores perteneciente al SST-II que se han identificado en genomas de *X. fastidiosa* por Sertedakis et al., 2022.

**Tabla 2.** Factores de patogenicidad pertenecientes al SST-II presentes en *Xylella fastidiosa*.

<b>Identificación NCBI</b>	<b>Descripción</b>
<b>PD_0956</b>	Hidrolasa/serina proteasa/peptidasa
<b>PD_0915</b>	Toxina zonula occludens (Zot)
<b>PD_1703</b>	Hidrolasa/inhibidor de hidrolasa
<b>D934_08750</b>	Hidrolasa/esterasa (LipA)
<b>D934_07885</b>	Peptidasa/Hidrolasa/inhibidor de hidrolasa
<b>D934_09300</b>	Toxina zonula occludens (Zot)
<b>D934_09265</b>	Transferasa/inhibidor de transferasa
<b>RA12_01530</b>	Hidrolasa/esterasa (LipA)
<b>RA12_05570</b>	Hidrolasa/inhibidor de hidrolasa
<b>D934_00810</b>	Proteína de transporte
<b>D934_05685</b>	Proteína de membrana/ Proteína que contiene repeticiones de hemaglutinina
<b>D934_12725</b>	Proteína de transporte
<b>D934_08755</b>	Hidrolasa/esterasa (LipA)
<b>D934_12535</b>	Lipasa/Hidrolasa/esterasa (LipA)
<b>D934_12795</b>	Adhesión celular/ Proteína que contiene repeticiones de hemaglutinina
<b>RA12_11155</b>	Hidrolasa
<b>RA12_11125</b>	Proteína de membrana
<b>RA12_03930</b>	Oxidoreductasa
<b>RA12_03905</b>	Proteína que contiene el dominio N-terminal de hemaglutinina filamentosa

**Nota.** Tabla obtenida de (Sertedakis et al., 2022)

## **2.2. Transferencia Horizontal de Genes (THG) y Recombinación Homóloga (RH) en *Xylella fastidiosa***

Los genes en general se transmiten de forma vertical de la célula madre a la célula hija, sin embargo, los organismos procariotas también tienen la capacidad de intercambiar genes horizontalmente (Daubin & Szöllösi, 2016). La THG puede ocurrir principalmente a través de tres mecanismos bien identificados: la transformación que implica la absorción de ADN libre (generalmente plásmidos) por el citoplasma, la conjugación que depende de un contacto célula-célula a través de un pili sexual y la transducción que se produce por la transmisión de ADN gracias a un bacteriófago (Potnis et al., 2019; Rankin et al., 2011). Se ha demostrado que *X.*

*fastidiosa* es naturalmente competente para la transformación, por lo tanto, tiene la capacidad inherente de incorporar y reorganizar ADN externo en su propio material genético a través de RH (Kung & Almeida, 2011). Cabe destacar que en estudios como el de Firrao et al., han identificado que una porción significativa del genoma de *X. fastidiosa* fue adquirida a través de THG de bacterias lejanamente relacionada (Firrao et al., 2021).

La THG de elementos genéticos como profagos y plásmidos son factores cruciales que impulsan el proceso evolutivo, patogenicidad y capacidad de la bacteria para explorar nuevos entornos (Giampetruzzi et al., 2017). El proceso de THG conduce a la generación de RH para mediar el intercambio de material genético en donde pueden estar presentes genes de resistencia y factores de virulencia (Kung & Almeida, 2011). Es importante destacar que se han detectado altas tasas de RH en varias cepas de *X. fastidiosa* (Potnis et al., 2019). El transporte de cantidades significativas de material genético se ve facilitado por la transferencia de plásmidos a través de procesos conjugativos en comparación con las otras formas de THG como la transformación natural (Burbank & Van Horn, 2017). En varias cepas de *X. fastidiosa* se ha detectado la presencia de plásmidos conjugativos que son un mecanismo común para el intercambio de ADN (Rogers & Stenger, 2012). Los estudios concuerdan que la alta frecuencia de THG y la alta RH de este patógeno han sido los principales factores para la aparición de nuevas enfermedades e infecciones de nuevos hospederos, lo que implica un riesgo en la generación de nuevas variantes de la bacteria (Burbank & Van Horn, 2017; Potnis et al., 2019).

### **2.3.Elementos genéticos móviles (EGM)**

Los EGM ejercen un impacto significativo en la evolución de las bacterias ya que pueden desplazarse dentro y entre los genomas, estos elementos pueden alterar la composición del genoma, proporcionar nuevas funciones, originar nuevos linajes y alterar los estilos de vida de los microorganismos (Weisberg & Chang, 2023). Los EGM pueden promover su propio movimiento de dos formas principales: entre células bacterianas (EGM Intercelular) o dentro de la mismas células bacterianas (EGM Intracelular), el segundo grupo no puede moverse entre células a no ser que formen parte de la secuencia de un elemento del primer grupo (Johansson et al., 2023; Siguier et al., 2014). Dentro de los EGM intercelulares se incluyen plásmidos y bacteriófagos; y en los EGM Intracelulares se encuentran transposones, secuencias de Inserción, integrones e intrones (Siguier et al., 2014). Los elementos integrativos y conjugativos; elementos integrativos y movilizables (IME) y elementos cis-movilizables

(CIME); pueden movilizarse de forma intercelular gracias a la conjugación con otros elementos (Johansson et al., 2023).

Los EGM tienen la capacidad de portar genes que confieren diversas funciones a la célula bacteriana, como: resistencia a antibióticos, vías metabólicas inusuales y factores de patogenicidad. Estos genes se conservan debido a la utilidad que representan y a la contribución que generan en el mantenimiento de las poblaciones bacterianas (Guédon et al., 2017; Rajabal et al., 2023). Por ejemplo, muchos estudios han informado ampliamente la presencia de sistemas toxina-antitoxina (TA) en EGM. Estos genes proporcionan una ventaja adaptativa a la bacteria ya que codifican una proteína tóxica que afecta a la célula y una antitoxina que inhibe o reduce su efecto para evitar matar al huésped (Guglielmini & Van Melderen, 2011; Peltier et al., 2020). En *X. fastidiosa* se ha observado que los EGM pueden representar una gran parte del genoma bacteriano. De hecho, en el estudio de Uceda-Campos et al., observaron que la presencia de EGM en 94 cepas de *X. fastidiosa* oscila entre el 3,8 y 27,76% de todo el genoma (Uceda-Campos et al., 2022). La abundante extensión de los EGM en genomas bacterianos es uno de los principales contribuyentes de su evolución, estos elementos generan variabilidad natural permitiendo que nuevos rasgos persistan y se adapten a su entorno (Weisberg & Chang, 2023).

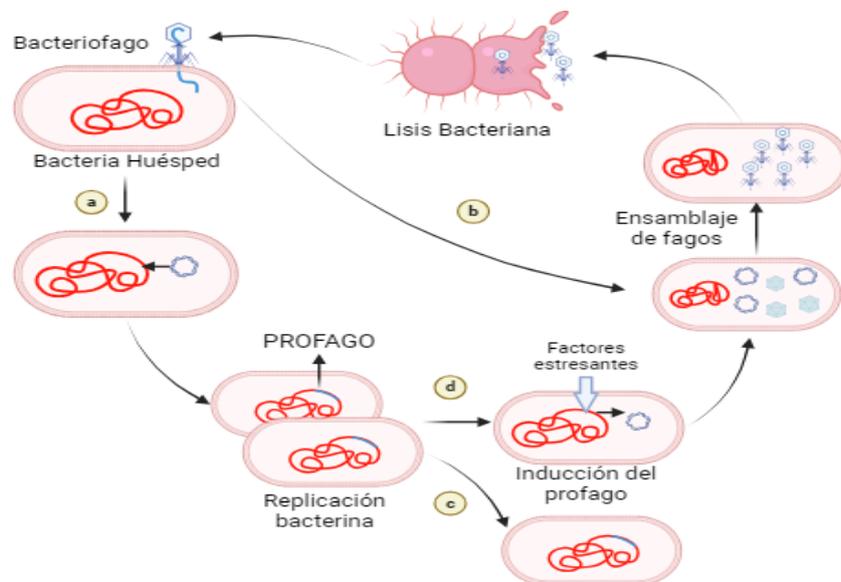
### **2.3.1. Profagos**

Los bacteriófagos son virus que infectan y se replican dentro de un huésped bacteriano, son los organismos más abundantes del planeta y actúan como un control biológico de la biomasa bacteriana (Giri, 2021; Ul Haq et al., 2012). Los fagos poseen una gran diversidad en cuanto a morfología y tamaño del genoma, existen fagos de ADN de doble cadena (ADNbc) que son los más abundantes, ADN monocatenario (ADNsc), ARN monocatenario (ARNsc) y ARN bicatenario (ARNbc) (Zhu et al., 2022). La clasificación de los bacteriófagos sigue siendo un desafío debido a la gran diversidad de especies que alcanza millones, actualmente no existe un método ideal para clasificar fagos debido a la falta de marcadores genéticos conservados y la rápida evolución de los virus (Lopes et al., 2014).

El Comité Internacional sobre Taxonomía de Virus (CITV) se encarga de establecer la clasificación de los virus en base a la comparación de varios rasgos como: características estructurales, rango de huéspedes, patogenicidad, similitud de secuencia y expresión génica de proteínas virales (Lefkowitz et al., 2018). El CITV en 2022 actualizó el sistema de clasificación de fagos eliminando algunas familias importantes, se incluyen: *Siphoviridae*, *Podoviridae* y

*Myoviridae* (Zhu et al., 2022). En la nueva versión se incorporaron familias como: *Autographiviridae*, *Straboviridae*, *Herelleviridae* y *Drexlerviridae*; esta clasificación muestra una mayor conservación que la hace más factible (Zhu et al., 2022). Sin embargo, debido a la importancia de la antigua clasificación algunos estudios (incluido este trabajo) aún las siguen utilizando para identificar y clasificar secuencias de fagos. *Siphoviridae*, *Podoviridae* y *Myoviridae* son virus de ADNbc que pertenecían al orden *Caudovirales* que corresponde el 96% de los bacteriófagos reportados (Giri, 2021).

Los bacteriófagos poseen dos principales ciclos de vida (Figura 4), el primero es el ciclo de vida lítico que ocurre cuando los fagos que infectan a una bacteria se multiplican y forman nuevas partículas virales destruyendo a la bacteria para que las partículas sean liberadas (Ul Haq et al., 2012). El otro ciclo de vida es el lisogénico, ocurre cuando el virus que infecta a la bacteria incorpora su material genético en el genoma de la bacteria de forma que se mantiene replicándose en el huésped durante muchas generaciones (Giri, 2021). Por lo general, los fagos lisogénicos al verse comprometidos debido a condiciones desfavorables para el huésped se liberan del genoma e inducen un ciclo lítico para escapar de la bacteria (Principi et al., 2019). A la secuencia genómica del fago que se incorpora en el genoma del huésped gracias a recombinación o transposición se le denomina Profago (Ranveer et al., 2024; Ul Haq et al., 2012).

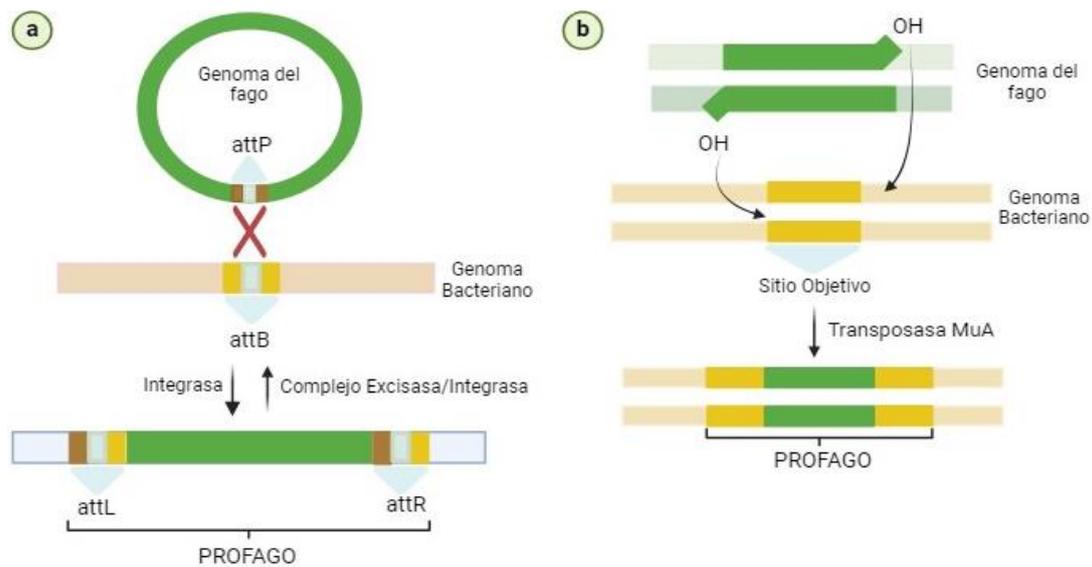


**Figura 4.** Ciclo de vida de los bacteriófagos. a) Ciclo lisogénico: el material genético del bacteriófago se integra en el genoma bacteriano formando PROFAGOS. b) Ciclo lítico: el bacteriófago infecta a la bacteria y toma control inmediato de la maquinaria celular para producir el ensamblaje de nuevas partículas virales que producen lisis y muerte celular. c) Los profagos pueden permanecer latentes

durante periodos prolongados, sin embargo, pueden ocurrir mutaciones que los convierte en no funcionales. d) Los profagos pueden activarse bajo ciertas condiciones, por ejemplo: factores de estrés, especies reactivas de oxígeno (ROS), daño celular, condiciones ambientales adversas, entre otras. Esto impulsa a los profagos funcionales a pasar a un ciclo lítico para generar más partículas virales que infecten nuevas células para conservar su supervivencia. Creado con BioRender.com

Los profagos son EGM que pueden constituir hasta un 20% del genoma de una bacteria huésped, son uno de los mecanismos más eficientes que las bacterias utilizan para obtener material genético (Daubin & Szöllösi, 2016; Nepal et al., 2022). La perduración del profago en el genoma huésped puede deberse principalmente a que comparten una ventaja tanto para el bacteriófago como para la bacteria (Ramisetty & Sudhakari, 2019). Los profagos pueden cargar en sus secuencias: genes de resistencia a antibióticos, proteasas de membrana, inhibidores de la división celular y péptidos tóxicos (Inglis et al., 2024). La contribución más determinante de los profagos en la evolución de bacterias patógenas es posiblemente la integración de genes que codifican para toxinas potentes (Fortier & Sekulovic, 2013). Por ejemplo, la toxina Shiga en *Escherichia coli*, la toxina botulínica en *Clostridium botulinum*, la toxina Zonula occludens (Zot) en *Vibrio cholerae*, entre otras (Liu et al., 2016; Nepal et al., 2022). La gran cantidad de datos genómicos disponibles brinda la oportunidad para identificar profagos, esto es de utilidad ya que impulsan factores de aptitud, virulencia y evolución de su huésped (Fortier & Sekulovic, 2013).

Los fagos utilizan varios mecanismos para integrarse en el genoma del huésped, estos se pueden englobar en dos categorías principales: recombinación en un sitio específico e integración a través de transposición (Ramisetty & Sudhakari, 2019). La recombinación en un sitio específico es la más estudiada, las regiones genómicas donde los fagos lisogénicos se incorporan al genoma del huésped se denominan sitios de unión (att) (Suzuki et al., 2020; Zünd et al., 2021). La integración del material genético (Figura 5) requiere la acción de una integrasa, esta actúa en los sitios de unión de bacterias attB y de fagos attP, para generar la formación de sitios attL (izquierda) y attR (derecha) recombinantes (Rutherford et al., 2013). En cambio, para que se produzca la inducción de un profago y pase a un ciclo lítico se requiere de un complejo excisas/integrasa (Ramisetty & Sudhakari, 2019). Para el caso de la integración por transposición (Figura 5) se requiere la acción de una transposasa, por ejemplo, la integración del fago Mu en el genoma del huésped se realiza mediante la acción de la transposasa MuA que conduce a una duplicación del sitio objetivo (Harshey, 2014).

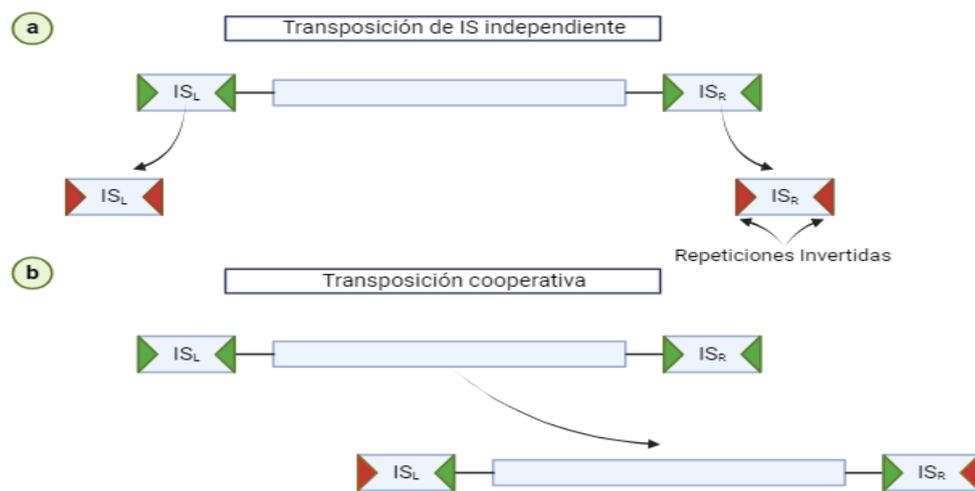


**Figura 5.** Formas de integración y estructura de profagos en genomas bacterianos. a) Integración por recombinación específica. Esta integración se favorece gracias a la acción de una integrasa que cataliza la unión de los sitios attP y attB, esto genera como resultado sitios attL y attR recombinantes. Cuando se genera una activación del profago y pasa a una fase lítica, se requiere de la acción de un complejo excisasa/integrasa b) Integración basada en transposición, se produce gracias a una transposasa que moviliza la secuencia del fago a un sitio objetivo en el genoma del huésped. Creado con BioRender.com

### 2.3.2. Transposones Compuestos

Los elementos transponibles son secuencias genómicas repetitivas importantes que pertenecen al grupo de los EGM, alteran la composición del genoma e influyen en los procesos evolutivos tanto de organismos procarióticos como eucarióticos (Kumar, 2020). Los transposones en general en base a su secuencia de nucleótidos, organización y propiedades pueden agruparse en tres clases. El grupo de clase I está conformado por transposones compuestos e IS, los de clase II son aquellos que se transponen gracias a la formación de cointegrados y de clase III son los llamados transposones conjugativos (Phale et al., 2019). Existen transposones que no solo poseen los genes necesarios para inducir su movimiento, sino también están acoplados a genes que pueden conferir resistencia. A estos transposones se los denominan complejos y son muy importantes en varias bacterias, por ejemplo, en bacterias gram negativas se pueden encontrar transposones complejos como: Tn1, Tn3, Tn21, Tn501, Tn1721 y Tn3926 (Sultan et al., 2018). La familia de transposones Tn3 es una de las más estudiadas y detectadas en bacterias, estos transposones son muy importantes ya que tienen la capacidad de transferir genes de resistencia entre diferentes bacterias (Nicolas et al., 2015).

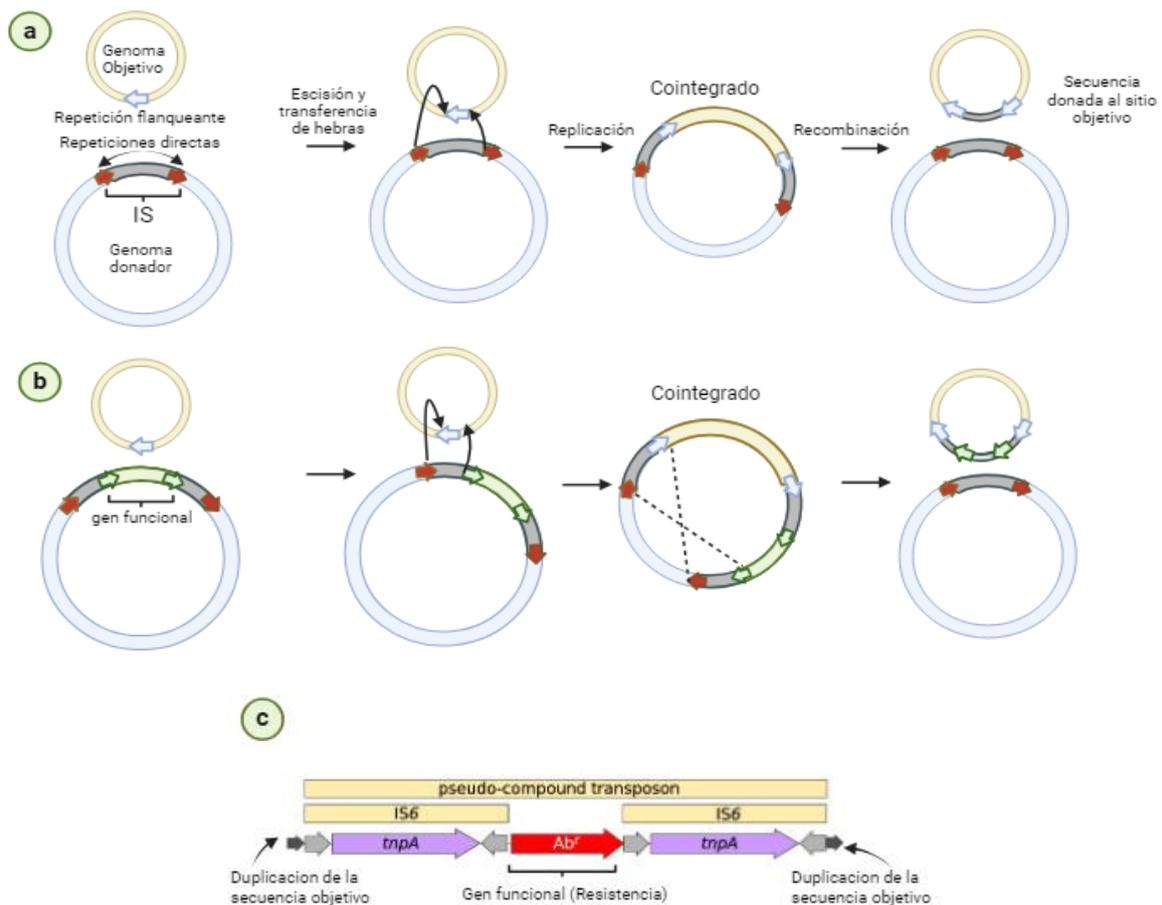
Los transposones compuestos (Figura 6) están conformados principalmente por secuencias IS flanqueantes en posición inversa o directa y bordean genes que expresan diferentes características (Siguier et al., 2015; Wagner, 2006). Por ejemplo, estos genes pueden expresar diferentes tipos de proteínas de secreción, proteínas de resistencia, proteínas metabólicas o proteínas de virulencia (Durrant et al., 2020). Algunos de los transposones compuestos identificados con mayor frecuencia en bacterias gramnegativas son: Tn5, Tn9, Tn10, Tn903, Tn1525 y Tn2350 (Sultan et al., 2018). El hecho de que se encuentren dos IS en un genoma no significa que exista un transposón compuesto, de hecho, su presencia está dada por dos factores principales. Los dos IS flanqueantes deben estar estrechamente vinculados y únicamente deben estar separados por una pequeña cantidad de genes, estos factores son necesarios, pero no suficientes para que un transposón compuesto sea funcional (Wagner, 2006). La movilización de la región de ADN rodeada por dos IS idénticos se produce gracias a una o las dos transposasas presentes en cada IS (Sultan et al., 2018).



**Figura 6.** Estructura de los transposones compuestos. a) Transposición de IS independiente. Una secuencia genómica puede estar flanqueada por dos IS relacionados, estos a su vez pueden moverse independientemente utilizando sus ambos extremos de repeticiones invertidas (Triángulos). b) Transposición cooperativa. Requiere de ambos IS para transponer una secuencia como un todo, utiliza las secuencias repetidas invertidas de los extremos exteriores de los dos IS para formar un transposón compuesto que moviliza genes. Imagen adaptada de (Wagner, 2006). Creado con BioRender.com

Varios tipos de secuencias de inserción tienen la capacidad de formar transposones compuestos, por ejemplo, se ha observado con frecuencia la movilización de genes de resistencia mediada por transposones compuestos - IS26 flanqueantes en bacterias como *Enterobacter cloacae* (Chen et al., 2015). Tn3 es un transposón unitario no compuesto, sin embargo, dentro de esta

familia de transposones se encuentran varios que pueden vincularse a otros transposones unitarios para formar un transposón compuesto (Razavi et al., 2020). La familia IS6 es muy conocida por tener la capacidad de formar transposones pseudocompuestos (Figura 7) muy similares a los compuestos, sin embargo, se forman a través de un mecanismo que involucra la generación de cointegrados (Udaondo et al., 2022). Elementos como IS6/26, Tn3, IS4/5 e IS1 son muy abundantes en patógenos y están fuertemente asociadas con diversos genes de resistencia (Razavi et al., 2020). Hay evidencia de que los diferentes tipos de IS tienen el potencial de formar transposones compuestos, siempre y cuando se encuentren dos IS idénticos rodeando una región de ADN (Sultan et al., 2018). Estos elementos al integrarse en nuevas ubicaciones dentro de un genoma o plásmido a través de procesos de transposición pueden generar deleciones, reorganizaciones y mutaciones cromosómicas (Kumar, 2020).



**Figura 7.** Transposición por cointegrados. a) Cointegración de un IS unitario. El proceso inicia con la escisión de los extremos repetidos del IS para que puedan unirse al sitio objetivo. El sitio objetivo posee una región que está destinada a convertirse en una nueva repetición flanqueante. La replicación genera dos copias de IS en repetición directa generando un cointegrado con una duplicación del sitio objetivo (flechas celestes). Esta estructura luego por recombinación homóloga de los nuevos IS flanqueantes

formados puede disolverse en un genoma diana similar que ahora porta una copia del IS que esta flanqueado por la duplicación del sitio objetivo dispuesto en repeticiones directas. b) Cointegración por un pseudotransposón compuesto de la familia IS6. El genoma donador posee un gen funcional que puede poseer una característica especial, como se menciona anteriormente se produce una escisión del IS para dirigirse al sitio objetivo, esto se produce entre la repetición flanqueante del IS y la secuencia que flanquea el gen funcional. De esta forma se produce un cointegrado que posee una tercera copia del IS, gracias a recombinación homologa se regenera el genoma donador con una sola copia del IS. De igual manera se transfiere el transposón al genoma objetivo conjuntamente con el gen funcional. c) Pseudotransposón compuesto IS6. Los transposones compuestos IS6 se caracterizan por que los IS flanqueantes siempre poseen repeticiones directas para que se pueda producir recombinación y se resuelva el cointegrado. Imagen adaptada de (Varani et al., 2021). Creado con BioRender.com

## **2.4.Programas para la identificación de Profagos y Transposones Compuestos**

### **2.4.1. PHASTER**

PHASTER “PHAge Search Tool – Enhanced Release” es una herramienta bioinformática desarrollada para la eficiente identificación y predicción de profagos en genomas o plásmidos de bacterias (Arndt et al., 2016). Este software es una actualización mejorada del servidor web PHAST, se ha adaptado a las demandas computacionales actuales incorporando varias características nuevas. Presenta una ampliación de núcleos de CPU de 32 a 112, cambios algorítmicos para eficiencia, distribución inteligente de búsquedas en BLAST, reducción de redundancia en base de datos de secuencias utilizando CD-HIT, implementación de un servidor front-end como aplicación Ruby on Rails para una interfaz de usuario moderna, permite guardar resultados y predice los genes utilizando FragGeneScan (Arndt et al., 2018). Los porcentajes de precisión aumentaron del 79,4% (PHAST) al 85,0% en (PHASTER), de igual manera el valor predictivo positivos de profagos mejoró del 86,5% (PHAST) al 87,3% (PHASTER) (Wishart et al., 2023).

PHASTER acepta secuencias de ADN genómico preanotadas en formato GenBank y secuencias genómicas sin procesar en formato FASTA (Arndt et al., 2016). Una de las limitaciones en la detección de profagos es la incertidumbre de la extensión precisa de un profago, esto debido a que en ocasiones se descubren genes de fagos potenciales más allá de los límites indicados por los sitios de unión estimados (Arndt et al., 2018). Esto puede deberse a varias razones, por ejemplo: puede haber varias regiones de profagos presentes, sitios de unión mal identificados, profagos superpuestos debido a que una región del profago intacto se encuentra dentro de un antiguo profago degradado (Arndt et al., 2018; Evseev et al., 2023).

PHASTER actualmente es la herramienta bioinformática predilecta para la identificación de profagos ya que posee altos estándares como la rapidez, exactitud, precisión, facilidad de entender y visualización atractiva; PHASTER ha sido citado más de 2400 veces (Evseev et al., 2023; Wishart et al., 2023).

#### **2.4.2. TnCentral**

TnCentral es una plataforma web que está enfocada en el estudio y recopilación de datos sobre elementos transponibles, se incluyen transposones e IS. TnCentral es una base de datos que permite analizar el panorama de los elementos transponibles en genomas bacterianos, posee una interfaz interactiva y fácil de usar. Posee información de aproximadamente 400 elementos transponibles en donde se incluyen transposones de las familias Tn554, Tn442, Tn7 y Tn3, y otros transposones compuestos (Ross et al., 2021). Adicionalmente el sitio web proporciona tres scripts de Linux descargables para la identificación de transposones en secuencias genómicas. Los scripts son: Tn3 Transposon Finder (Tn3\_finder), Composite Transposon Finder (TnComp\_finder) (Alvarenga & Varani, 2019) que ayuda a la obtención de transposones compuestos y un buscador de IS asociado a genes de resistencia a antibióticos (ISAbR\_finder) (Ross et al., 2021).

### **3. METODOS**

#### **3.1. Recopilación de secuencias de *Xylella fastidiosa***

La selección de las secuencias genómicas de *Xylella fastidiosa* para el desarrollo de los análisis de este trabajo se basó en el estudio realizado por Uceda-Campos et al., 2022. De la base de datos del NCBI se recopilaron 94 cepas pertenecientes a las tres subespecies principales (*fastidiosa*, *pauca* y *multiplex*) tanto de genomas completos como en contigs (Anexo 1-Tabla S1). Para evaluar la calidad de las secuencias genómicas de cada cepa se utilizó la herramienta CheckM (Parks et al., 2015).

#### **3.2. Análisis filogenético**

Para el análisis filogenético se utilizaron las secuencias de las cepas de *X. fastidiosa* antes mencionadas. El software CoreCruncher (Harris et al., 2021) se utilizó para identificar el conjunto de secuencias compartidas (genoma central) entre todos los genomas. A continuación, se desarrolló un alineamiento múltiple usando el servidor web MAFFT (Katoh et al., 2019) y el algoritmo USEARCH para asignar secuencias a grupos (Edgar, 2010). En general, para la identificación de las proteínas centrales se utilizaron configuraciones predeterminadas. La construcción del árbol filogenético se generó utilizando IQtree 1.6.12 (Minh et al., 2020), el método fue el de máxima verosimilitud (MV) configurando los parámetros para 1000 fast Bootstrap (UFBoot) seguido de la inferencia del árbol. El enfoque UFBoot proporcionó una estrategia de arranque para reducir la sobreestimación de los soportes de ramas debido a violaciones del modelo (Kulkarni et al., 2021). En última instancia, se utilizó el software Phylo.IO (Robinson et al., 2016) para comparar el árbol filogenético obtenido y el árbol reconstruido del trabajo de Uceda-Campos et al 2022, en donde utilizaron el mismo conjunto de datos. Además, gracias a la información de la longitud de las ramas de los dos árboles se calculó la distancia Robinson-Foulds.

#### **3.3. Identificación y filtrado de secuencias de profagos**

Para identificar las secuencias de profagos dentro de los genomas de *X. fastidiosa* se utilizó la herramienta web PHASTER (Arndt et al., 2016), sin modificar los parámetros de entrada predeterminados por el software. La información generada en PHASTER de las secuencias se filtró en base a la integridad de los profagos, el software detectó tres categorías: intacto, incompleto y cuestionable. Se evaluó el porcentaje que ocupan estos elementos genéticos asociados con profagos en los genomas de las 94 cepas. Luego se seleccionaron únicamente

los profagos que pertenecían a la categoría “intactos” para continuar con los análisis posteriores. Los profagos intactos poseen los componentes necesarios para ser funcionales, cuentan con una longitud completa en la cual se encuentran secuencias codificantes (CDS). En este trabajo se comparó el número de copias de profagos intactos en relación con el tamaño de los genomas de las cepas de las tres diferentes subespecies de *X. fastidiosa*. Se calculó la validez estadística de la comparación por medio de la prueba de Kruskal-Wallis seguida de una prueba post-hoc de Dunn y el método de Bonferroni para corregir los cálculos.

### **3.4. Caracterización Taxonómica de Profagos**

Para la identificación del grupo taxonómico al cual pertenece cada profago se utilizó el servidor web VIRFAM (Lopes et al., 2014), el cual detecta proteínas específicas en secuencias virales para ser asignadas a una familia. Los profagos de ADNbc encontrados en los genomas bacterianos fueron asignados taxonómicamente en base a la antigua y conocida clasificación por morfología (Myoviridae, Siphoviridae y Podoviridae). En el caso de asignaciones de fagos inseguras se utilizó el servidor web PhaBOX (Shang et al., 2023) y la base de datos de secuencias de virus en el NCBI. La asignación más a fondo de profagos de ADNsc dudosas correspondientes a la familia Inoviridae se realizó a través de BLASTp. Para esto se utilizó como secuencia de referencia la proteína pI (proteína de morfogénesis conservada) derivada de varios inovirus pertenecientes a bacterias del género *Xanthomonas*. La construcción de los árboles filogenéticos para los fagos de ADNsc y ADNbc se la desarrolló mediante el servidor VipTree v. 4.0 (Nishimura et al., 2017) que permite construir filogenia a escala de proteoma. Adicionalmente, VipTree posee una base de datos de virus de diferentes familias, esto facilitó confirmar la asociación de varios de los profagos obtenidos con la familia Inoviridae. De igual manera, para desarrollar una comparación con el genoma de las cepas huésped se utilizó el genoma central de las 94 cepas para generar un árbol filogenético circular completo mediante el software IQtree 1.6.12 (Revisar método 3.2).

### **3.5. Análisis funcional de genes en profagos y asociación con patogenicidad**

Se determinó la identidad funcional de los diferentes genes presentes en las secuencias completas de los profagos, las secuencias se asignaron a grupos o familias de proteínas. Para este análisis se utilizó el servidor web KofamKOALA (Aramaki et al., 2020) el cual es un motor de búsqueda que identifica el número K en la base de datos KEGG orthology (KO) que contiene información biológica sobre proteínas en genomas. De igual forma, este trabajo se centró principalmente en buscar la asociación de los profagos con genes involucrados en la

virulencia de *X. fastidiosa*. Para probar la presencia o ausencia de genes de virulencia en las secuencias de los profagos se utilizó BLASTp local con umbral de e-value = 0,01. Los genes relacionados con virulencia que fueron probados son los identificados en el trabajo de Rapicavoli et al (Rapicavoli et al., 2018) y efectores que desencadenan respuestas idénticas a muerte celular identificados por Sertedakis et al (Sertedakis et al., 2022). Se utilizó una prueba de Kruskal-Wallis como se indicó anteriormente, con el objetivo de comparar el número de genes virulentos aportado por los profagos entre las tres subespecies de *X. fastidiosa*. Para finalizar, se desarrolló un análisis del contexto genómico en los bordes de las secuencias de los profagos intactos, con el objetivo de identificar una posible influencia en su funcionalidad.

### **3.6. Validación evolutiva de la contribución de los profagos a la patogenicidad**

Para el análisis de la contribución evolutiva de los profagos en la patogenicidad de *X. fastidiosa* se utilizó el software BayesTraits v4.0.1 (Meade & Pagel, 2023). Este software permite analizar rasgos con un número limitado de estados como su presencia o ausencia para llevar a cabo un análisis evolutivo gracias a información de las relaciones entre especies (filogenia). Se evaluó la existencia de una correlación entre la patogenicidad en los genomas de *X. fastidiosa* con respecto a la presencia de profagos, para esto se utilizó los genes de virulencia de los estudios de Sertedakis et al., 2021 y Rapicavoli et al., 2018. La presencia o ausencia de los genes se realizó a través de BLASTn como se describió anteriormente, los datos se organizaron en forma binaria (0 o 1) para representar ausencia o presencia de genes de virulencia y profagos en las cepas de *X. fastidiosa*. Se comparó dos modelos discretos que se enfocaron en determinar si los genes patógenos y profagos evaluados evolucionan de forma dependiente o independiente entre sí. Para establecer cuál de los dos modelos es el más probable que sea el correcto, se calculó la probabilidad marginal que especifica en qué medida cada modelo explica los datos obtenidos. Para realizar los cálculos se utilizó el enfoque estadístico MCMC en el marco bayesiano, inicialmente la distribución “prior” se asignó por defecto dando la misma probabilidad a todos los posibles valores de los parámetros (uniforme). Se configuró 2,020,000 iteraciones en total y el burn-in de 2000 para que el algoritmo se estabilice y alcance la convergencia. Para proporcionar una estimación efectiva de la probabilidad marginal se ajustó el muestreador “stepping stone” a 100 ratios y 10000 muestras. Los resultados de verosimilitud marginal se utilizaron para calcular el factor de Bayes, el cual permitió determinar el mejor modelo que se ajusta a los datos (dependiente o independiente).

### **3.7. Identificación de secuencias de Transposones Compuestos**

Los transposones compuestos se identificaron utilizando la herramienta bioinformática Composite Transposon Finder (TnComp\_finder) (Alvarenga & Varani, 2019) que permite identificar elementos genéticos clave pertenecientes a diferentes tipos de transposones compuestos. Los parámetros utilizados en el software fueron las predeterminadas, a excepción del porcentaje de identidad que se estableció en 99%. Para confirmar la presencia y posición de los elementos obtenidos (IS) en el software se utilizó ISEScan (Xie & Tang, 2017). De igual manera para la detección de otros tipos de elementos se lo realizó a través de BLASTn local con umbral de e-value = 0,01. Las secuencias de referencia de cada elemento genético utilizadas fueron descargadas de la base de datos ISFinder (Siguier et al., 2006) y de TnCentral (Ross et al., 2021). De los principales elementos resultantes (IS) se identificó el número de copias y la ubicación en los genomas. Además, entre elementos flanqueantes cercanos se evaluó la cantidad de genes y posibles contribuyentes en procesos evolutivos. Para esto se utilizó el servidor web KofamKOALA con el objetivo de identificar la funcionalidad proteica de los genes presentes entre secuencias IS cercanas. La identificación y análisis de los resultados fueron de forma cualitativa, es decir, se examinó únicamente la posible presencia de potenciales transposones compuestos presentes en las 94 cepas de *X. fastidiosa*.

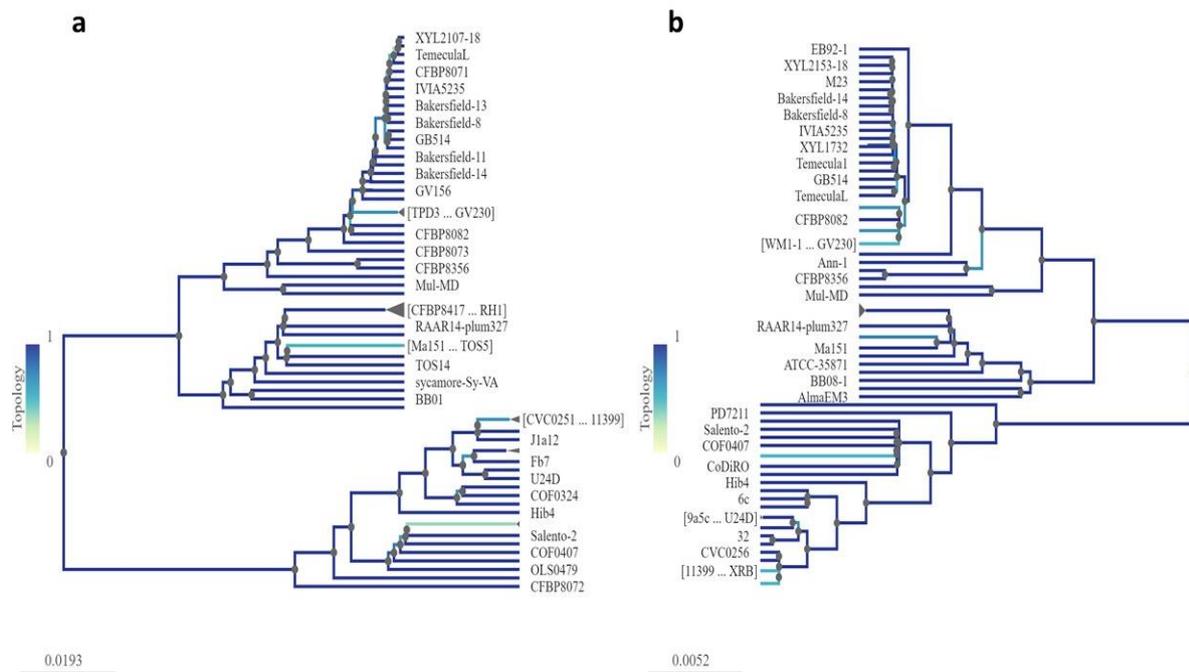
## 4. RESULTADOS

### 4.1. Características de los genomas de *X. fastidiosa* obtenidos

Se utilizó un conjunto de 94 genomas de varias cepas de *X. fastidiosa* para los diferentes análisis (Anexo 1-Tabla S1). Los datos genómicos se verificaron para confirmar un nivel aceptable de calidad de las secuencias de manera que puedan ser utilizadas en los distintos análisis. Los genomas seleccionados mostraron un nivel aceptable de integridad (mayor al 90%) y un nivel bajo de contaminación (menor al 2%) de acuerdo al análisis realizado en CheckM (Anexo 1 - Tabla S1), esto asegura su calidad para el resto de análisis. El tamaño promedio de los 94 genomas obtenidos es 2.554.363,47 pb  $\pm$  97.287,69 pb, siendo la cepa Griffin-1 (2.387.314pb) la posee el genoma más pequeño y la cepa Hib4 (2.813.297pb) la que posee el tamaño de genoma más grande. Los resultados muestran una homogeneidad de los datos en cuanto a calidad de las secuencias y los tamaños cromosómicos de las distintas cepas de *X. fastidiosa*.

### 4.2. Filogenia de *X. fastidiosa*

La construcción de la inferencia filogenética de los genomas se desarrolló utilizando el genoma central de *X. fastidiosa*. Se realizó un alineamiento con las secuencias genómicas de la 94 cepas de *X. fastidiosa* haciendo un total de 483.943 aminoácidos alineados y utilizados en la reconstrucción del árbol filogenético. Los resultados muestran la relación filogenética de todas las cepas, además se puede identificar la formación de los tres grupos o subespecies definidas que corresponden a la clasificación taxonómica esperada (Figura 8). El árbol filogenético se comparó con el objetivo de evaluar la inferencia obtenida con respecto al árbol desarrollado por Uceda-Campos et al (Uceda-Campos et al., 2022). En la Figura 1 se presenta la comparación entre los dos árboles filogenéticos, las distancias calculadas de Robinson-Foulds resultaron en un 39% de similitud entre ambos árboles. Sin embargo, de forma estructural tanto las ramas como los grupos taxonómicos muestran ser bastante similares, no obstante, existen pocas diferencias en cuanto a la organización de las ramas de los árboles.

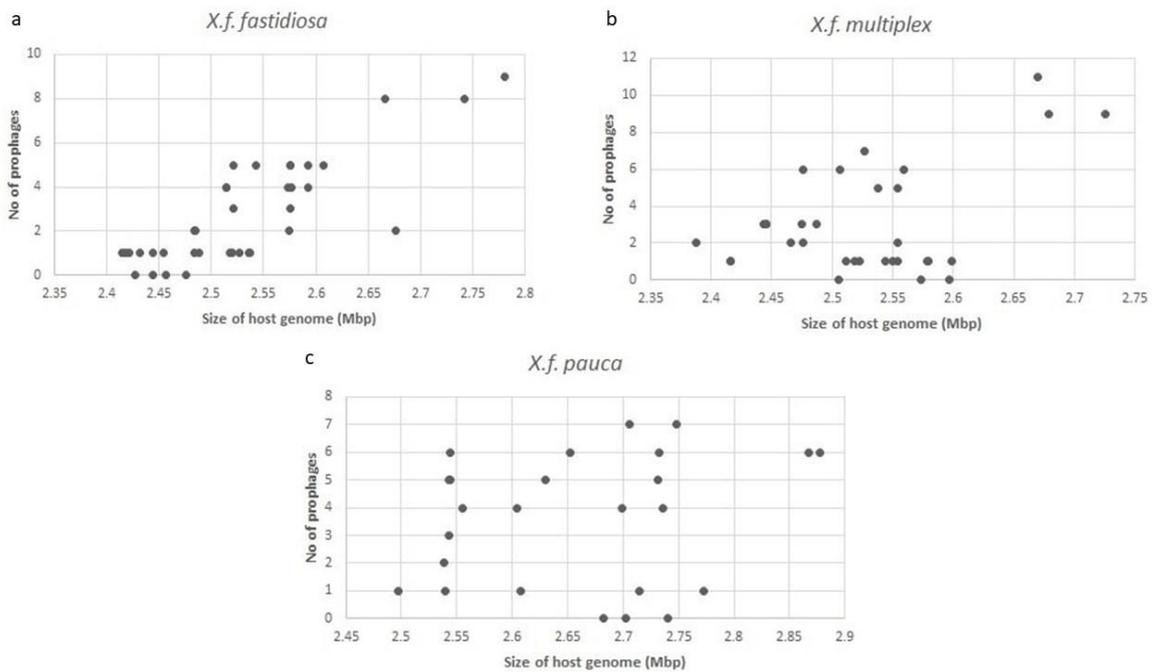


**Figura 8.** Comparación entre arboles filogenéticos del genoma central de diferentes cepas de *Xylella fastidiosa*. a) Árbol filogenético reconstruido en base a la publicación de Uceda-Campos et al 2022; b) Árbol filogenético con secuencias de aminoácidos del genomas central de *X. fastidiosa*. El árbol fue construido con el método de máxima verosimilitud y con el genoma central de la bacteria. La estructura del subárbol del nodo muestra ser idéntica entre ambos arboles ya que las líneas de color azul oscuro tienden a una puntuación máxima de 1 que representa la mayor similitud. Además, la barra indica la escala de las distancias de las ramas que muestran ser similares.

### 4.3. Diversidad y distribución de profagos presentes en los genomas de *X. fastidiosa*

El análisis de profagos en las 94 cepas detectó que en promedio el  $6,78 \pm 0,051$  % del tamaño total del genoma de *X. fastidiosa* corresponde a secuencias genómicas asociadas con profagos. De estas secuencias el  $4,09 \pm 0,044$  % pertenece a secuencias de profagos intactos y el  $2,64 \pm 0,02$  % pertenece a secuencias de profagos incompletos y cuestionables. Se obtuvo un total de 652 profagos pertenecientes a la categoría “intactos” en los 94 genomas de las diferentes cepas de *X. fastidiosa*. Estos profagos fueron utilizados en los análisis posteriores ya que poseen una integridad completa de las secuencias, es decir, poseen un repertorio de genes con similitud a secuencias de fagos funcionales conocidos. Los profagos intactos representan el 44,5% del total de secuencias virales identificadas por el software. Adicionalmente, se evaluó la distribución de los profagos en relación al tamaño del genoma de cada cepa. En este análisis se puede observar variabilidad en la cantidad de profagos entre cepas ya que existen algunas que no poseen profagos intactos y otras que llegan a tener 11 profagos. No obstante, el análisis

estadístico realizado muestra que no hay diferencias significativas en el número de profagos entre las 3 subespecies (Kruskal-Wallis en  $\alpha=0.005$ :  $\chi^2= 2.11$ ,  $p = 0,349$ ,  $gl = 2$ ). Sin embargo, se destaca que en la subespecie *pauca* se detectó el mayor número de profagos intactos por genoma (3,6), seguido de la subespecie *multiplex* con 3,1 profagos intactos por genoma y la subespecie *fastidiosa* con 2,76 profagos intactos por genoma. En la Figura 9 se puede observar que las subespecies *fastidiosa* y *multiplex* siguen una tendencia conocida en la que los organismos con genomas más grandes poseen más EGM, a diferencia de los organismo con genomas más pequeños. Sin embargo, este patrón no se muestra para la subespecie *pauca*.

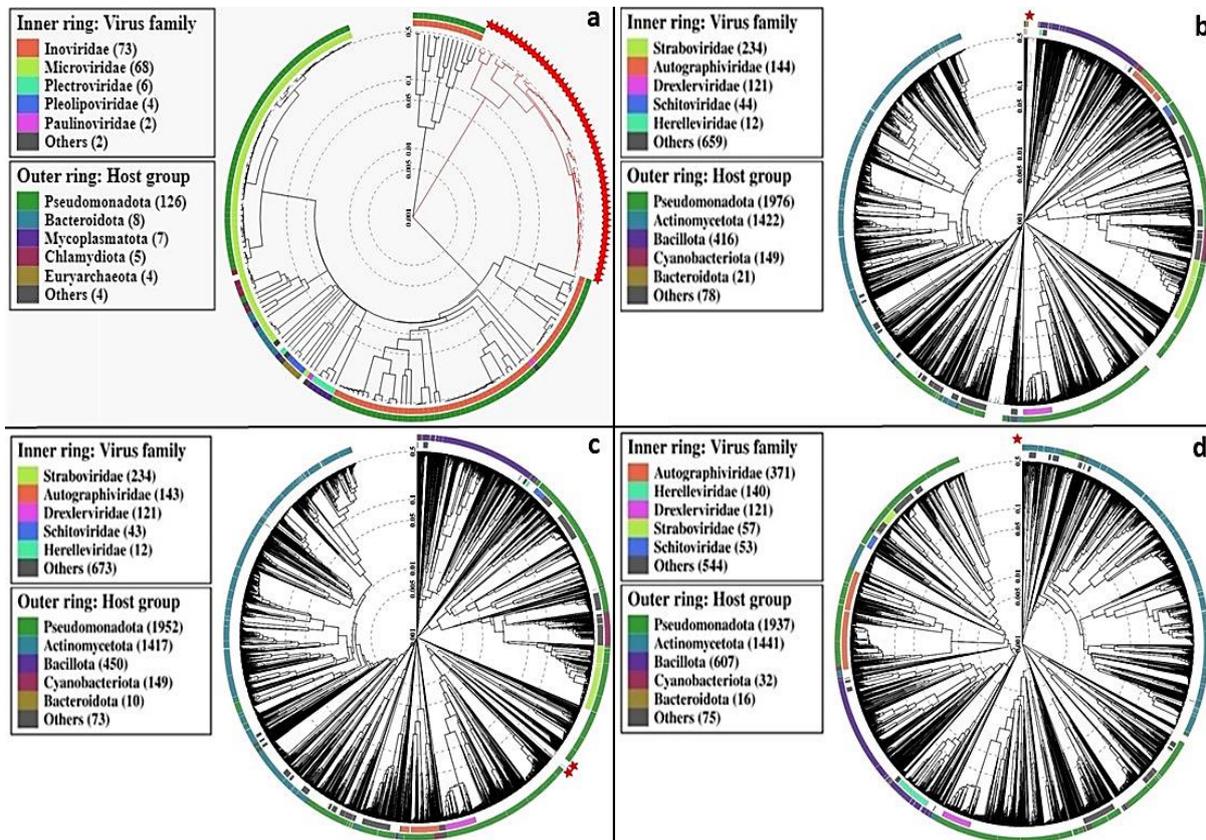


**Figura 9.** Asociación entre el tamaño del genoma de *Xylella fastidiosa* y el número de profagos intactos. Análisis de acuerdo a las tres subespecies: a) *X.f. fastidiosa*; b) *X.f. múltiplex* y c) *X.f. pauca*.

#### 4.4. Clasificación taxonómica de los profagos intactos

Para la clasificación de los profagos a nivel de familias se utilizó las asignaciones clásicas del CITV basadas en morfología, además se evaluó la nueva disposición familiar para el análisis de los profagos. La clasificación obtenida es consistente con las familias clásicas bien descritas como: Myoviridae, Podoviridae, Siphoviridae e Inoviridae. Para la identificación de profagos con genomas de ADNsc (virus filamentosos) se examinó las proteínas involucradas en la morfogénesis y para profagos de ADNbc se evaluó proteínas marcadoras de la cola (virus con colas retráctiles y no retráctiles). Los profagos asignados como virus de ADNsc se confirmaron como miembros de la familia Inoviridae gracias al servidor web Viptree, el cual permite reconstruir relaciones filogenéticas de las secuencias proporcionadas y las asocia con especies

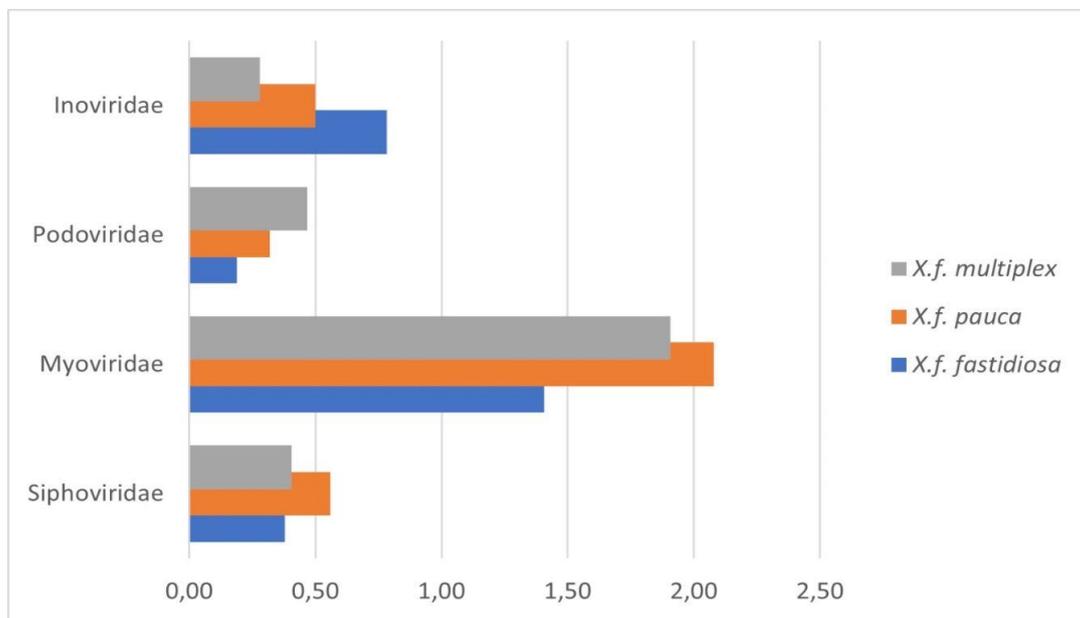
de virus almacenadas en una base de datos. En la Figura 10 se puede observar como las diferentes secuencias de profagos de ADNsc se acoplan al árbol con proteomas de referencia que pertenecen a virus de la familia Inoviridae. Con respecto a la clasificación de profagos de ADNbc de *X. fastidiosa* utilizando similitudes en las secuencias de proteínas a las nuevas familias, el servidor no logra asignarlas a una familia específica (Figura 10).



**Figura 10.** Árbol proteómico viral con secuencias de referencia y profagos de *Xylella fastidiosa* reconstruido en ViPtree. La longitud de las ramas de los árboles se encuentra a escala logarítmica, los anillos con colores corresponden a grupos taxonómicos (anillo exterior) y familias de virus (anillo interior). Las estrellas representan las secuencias pertenecientes a los profagos. Los árboles mostrados corresponden: a) Árbol de profagos identificados como Inoiviridae (ADNsc), consta de la presencia de 156 secuencias de profagos. b) Myoviridae con 165 secuencias de profagos, c) Podoviridae con 30 secuencias de profagos y d) Siphoviridae con 41 secuencias de profagos.

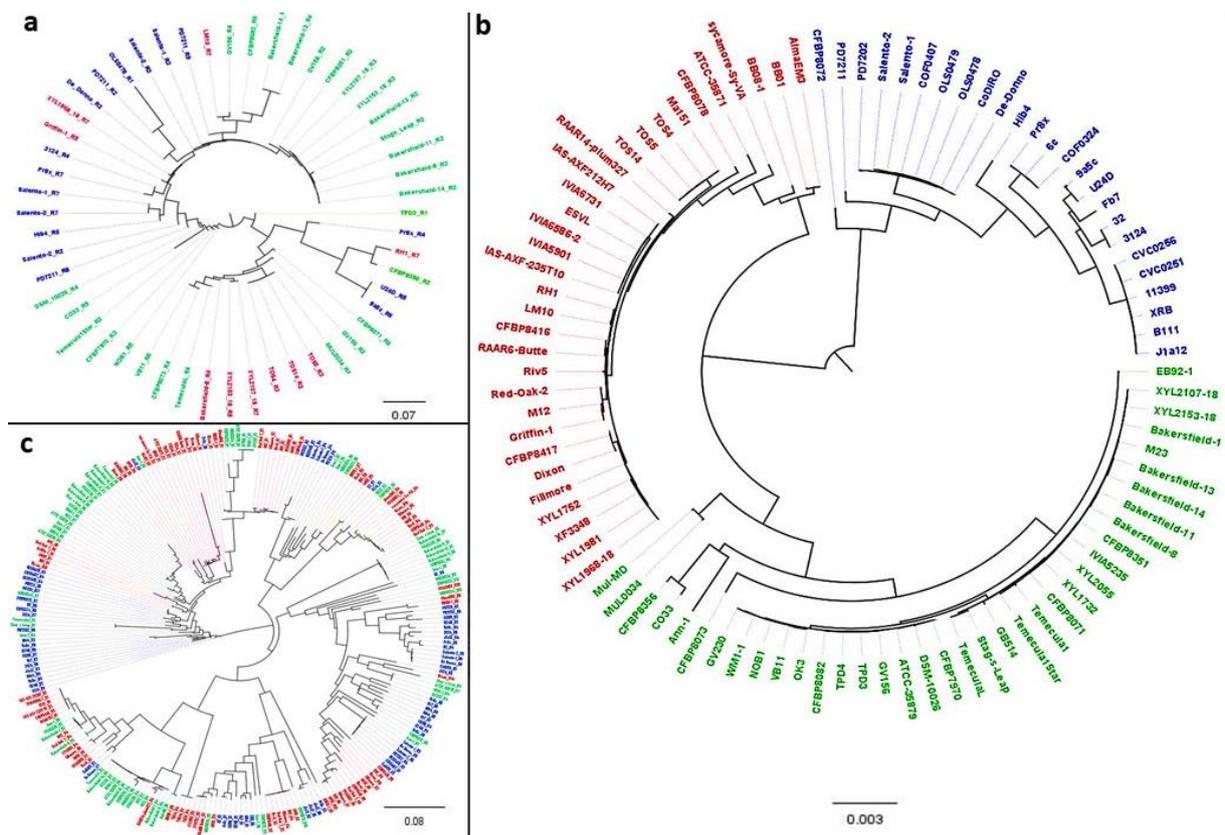
En el año 2022 el CITV actualizó la clasificación taxonómica de las familias de fagos, en donde se eliminó la taxonomía basada en morfología para fagos de ADNbc, lo cual eliminó a las familias: Myoviridae, Siphoviridae y Podoviridae (Zhu et al., 2022). No obstante, en el presente trabajo se utilizó dicha clasificación para el análisis de profagos de *X. fastidiosa*. Los resultados indicaron que la mayoría de profagos intactos con un 56% del total pertenecen a la familia

Myoviridae (Figura 11), estos virus de ADNbc utilizan colas contráctiles de doble capa para infectar bacterias (Nováček et al., 2016). El segundo grupo de profagos que más abundan en *X. fastidiosa* con un 17,9% son los pertenecientes a la familia Inoviridae. Los virus de esta familia son filamentosos sin envoltura y con genoma de ADNsc circular, pueden infectar células, integrar el genoma y preservar la célula infectada ya que no lisan a sus huéspedes (Knezevic et al., 2021). El tercer grupo de virus identificado fue la familia Siphoviridae con un 14,1% (41), los virus pertenecientes a esta familia son fagos con cola larga no contráctil detectados con mayor frecuencia y con genoma de ADNbc (Petrovski et al., 2012). Finalmente, el grupo con 10,3% siendo la menor cantidad de profagos (30) identificados fue la familia Podoviridae, los cuales son virus de ADNbc que poseen una cola corta (Kornienko et al., 2020). En la Figura 3 se puede observar un análisis general de la distribución de las familias de profagos con respecto a las diferentes subespecies de *X. fastidiosa*. Las familias de ADNbc Myoviridae y Siphoviridae son las encontradas en mayor proporción dentro de la subespecie *pauca* en relación a las otras dos. Los profagos de ADNsc se presentaron con mayor frecuencia en los genomas de las bacterias pertenecientes a la subespecie *fastidiosa* y los profagos de la familia Podoviridae tienen mayor presencia en los genomas de la subespecie *multiplex* con respecto a las otras dos subespecies.



**Figura 11.** Distribución y abundancia relativa de familias virales en genomas de las tres subespecies de *Xylella fastidiosa*. Los valores obtenidos para la gráfica se derivan de datos normalizados que se vinculan con la cantidad de profagos encontrados en cada subespecie.

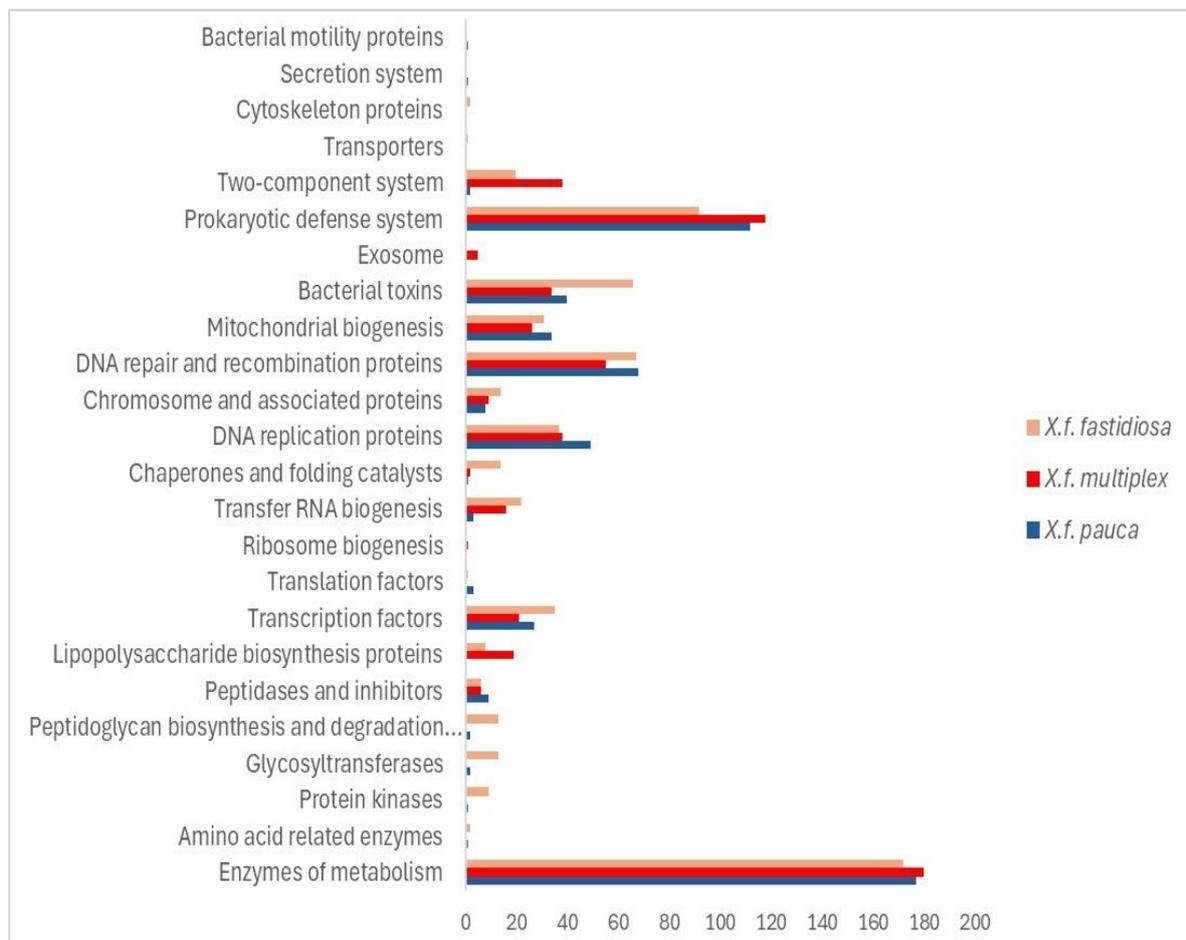
Se construyeron árboles filogenéticos para los diferentes grupos de virus de acuerdo a la composición de su material genético (ADNbc o ADNsc), estos árboles fueron comparados tanto en estructura como distribución con respecto al árbol desarrollado con las 94 cepas de *X. fastidiosa* (Figura 8b). No obstante, se puede apreciar que el árbol de la Figura 12b es similar al árbol de la Figura 8b, ya que está separado por las tres subespecies principales y solo se modificó el diseño para facilitar la comparación visual. Los resultados muestran incoherencias entre el árbol desarrollado con secuencias de profagos Inoviridae (Figura 12a) y el árbol con los genomas del huésped (Figura 12b). De igual manera ocurre con el árbol desarrollado con secuencias de profagos Myoviridae, Podoviridae y Siphoviridae (Figura 12c). Este árbol muestra una tendencia similar al árbol de Inoviridae donde las secuencias de profagos no se agrupan por subespecie como ocurre con el árbol de la Figura 12b. Las diferencias entre los dos árboles de profagos y el de genoma de las cepas de *X. fastidiosa* puede deberse a que los profagos poseen genes duplicados, genes que se movilizaron cambiando de huésped o THG.



**Figura 12.** Análisis filogenético de profagos. Los siguientes árboles filogenéticos corresponden a: a) Secuencias proteómicas de profagos de la familia Inoviridae; b) Secuencias de los genomas de 94 cepas de *X. fastidiosa* y c) Secuencias pertenecientes a profagos de ADNbc (Myoviridae, Siphoviridae y Podoviridae). Los colores en cada cepa representan la pertenencia de la secuencia a las tres diferentes subespecies: verde (*X.f. fastidiosa*), azul (*X.f. pauca*) y rojo (*X.f. multiplex*).

#### 4.5. Asociación con patogenicidad y funcionalidad de genes en profagos

Los profagos son secuencias relativamente grandes de material genético, en su interior poseen genes que codifican para diferentes tipos de proteínas, por ejemplo: proteínas estructurales del virus, enzimas asociadas con el metabolismo, componentes de adhesión, toxinas o factores de virulencia. Para identificar la funcionalidad de los genes que codifican proteínas dentro de los profagos intactos, se organizaron las secuencias proteicas para inferir sus funciones a través de la base de datos KEGG Orthology (KO) que desarrolla una búsqueda de ortólogos proteicos. Los resultados de la frecuencia de proteínas obtenidas por cada grupo KO están representadas en las Figura 13. Dentro de lo más destacado de la gráfica se puede observar claramente la presencia de muchas proteínas asociadas con la virulencia o mejora de la aptitud bacteriana. Además, se pueden encontrar otras proteínas que están involucradas en el metabolismo basal.



**Figura 13.** Frecuencia de las proteínas analizadas por ortología KEGG de genes incorporados en las secuencias de las tres subespecies de *Xylella fastidiosa*. La ortología KEGG se clasificó en categorías principales que incluyen: Procesamiento de información genética, Metabolismo, Señalización y Procesos celulares.

Se desarrolló un análisis para identificar las posibles proteínas capaces de otorgar beneficios a nivel de virulencia y aptitud a la bacteria. En la tabla 3 se resumen las proteínas identificadas como posibles contribuyentes a la virulencia y sistemas de defensa de *X. fastidiosa*. Dentro de las proteínas que causan mayor interés son proteasas y peptidasas, sistemas TA y proteínas involucradas en la motilidad bacteriana como la proteína del pilus tipo IV PilZ. Esto destaca la importancia de la presencia de profagos en los genomas de *X. fastidiosa* ya que se encuentran contribuyendo con genes que otorgan rasgos benéficos para su huésped bacteriano.

**Tabla 3.** Predicción de proteínas (KEGG Orthology) en profagos involucradas en la virulencia y sistemas de defensa de la bacteria huésped.

<b>KEGG Orthology</b>	<b>Función Inferida</b>
<b>KO02048</b>	<b>Sistema de defensa procarióticos</b>
<b>K00571</b>	ADN-metiltransferasa específica de sitio
<b>K07334</b>	toxina HigB-1
<b>K21498</b>	antitoxina HigA-1
<b>K13655</b>	antitoxina MqsA
<b>K13651</b>	regulador de detección de quórum de motilidad / toxina de ARNm interferasa específica de GCU
<b>K06218</b>	ARNm interferasa RelE/StbE
<b>K06223</b>	ADN adenina metilasa
<b>K00558</b>	dcm; ADN (citosina-5)-metiltransferasa 1
<b>K18918</b>	Regulador transcripcional tipo RHH, represor del operón rel/antitoxina RelB
<b>K18831</b>	Regulador transcripcional tipo HTH/antitoxina HigA
<b>K19092</b>	<i>parE1_3_4</i> ; toxina ParE1/3/4
<b>K18828</b>	Endonucleasa VapC específica de ARNt (fMet)
<b>K18829</b>	<i>vapB</i> ; antitoxina VapB
<b>K19156</b>	antitoxina PrIF
<b>K07062</b>	toxina FitB
<b>K18829</b>	antitoxina VapB
<b>K21495</b>	antitoxina FitA
<b>KO02042</b>	<b>Toxinas bacterianas</b>
<b>K10954</b>	Zot; zonula occludens toxin ( <i>zot</i> )
<b>KO02035</b>	<b>Proteínas de motilidad bacteriana</b>
<b>K02676</b>	proteína de ensamblaje del pilus tipo IV PilZ
<b>KO01000</b>	<b>Enzimas</b>
<b>K01358</b>	Proteasa Clp dependiente de ATP, subunidad de proteasa
<b>K01419</b>	Proteasa HslUV dependiente de ATP, subunidad de peptidasa HslV

La falta de validación experimental es un factor limitante de la identificación de proteínas ortólogas en relación a la secuencia proteica estimada por KEGG. Por lo tanto, intentamos confirmar la presencia de los factores de patogenicidad incorporados en los profagos a través de secuencias publicadas en estudios de *X. fastidiosa*. Se utilizó principalmente la información del estudio de Rapicavoli et al., en donde enlistan factores conocidos de virulencia/patogenicidad (Tabla 1) de *X. fastidiosa* (Rapicavoli et al., 2018). De igual manera se utilizó el estudio de Sertedakis et al., (Tabla 2) el cual identifica proteínas en el genoma de *X. fastidiosa* capaces de provocar de manera diferencial muerte celular (Sertedakis et al., 2022). Las secuencias de los estudios fueron descargadas y comparadas con la secuencia de los profagos a través de Blast local. El resultado más destacado fue la identificación de un número significativamente mayor de genes relacionados con virulencia dentro de los profagos pertenecientes a la subespecie *fastidiosa* (prueba de Kruskal-Wallis  $\chi^2 = 38,76$ ; d.f = 2,  $p < 0,001$ ). Además, los genes que se presentan con mayor frecuencia son: El gen *zot* que codifica a la toxina Zot que es la más prevalente, le sigue el sistema TA de tipo II de las familias DinJ /RelE y YafQ; el tercer factor más frecuente es una serina/peptidasa expresada por el gen *prtA*. El sistema *zot* es un potencial factor de virulencia ya que esta proteína está asociada con efectos citotóxicos y podría provocar muerte celular como se ha observado en algunos cultivos de *Nicotiana tabacum* (da Silva et al., 2007; Sertedakis et al., 2022). El sistema TA llamado DinJ /RelE se ha asociado con el incremento de la capacidad del patógeno para propagarse sistémicamente favoreciendo a su patogenicidad (Burbank & Stenger, 2017). YafQ es una endoribonucleasa regulada por la antitoxina DinJ que escinde las secuencias de ARNm bloqueando la traducción de proteínas (Ferrari et al., 2019). El gen *prtA* codifica una enzima con actividad proteasa extracelular que está involucrada en la regulación del crecimiento celular, formación de biopelículas y patogenicidad bacteriana (Gouran et al., 2016).

#### 4.6. Validación evolutiva de profagos

Para determinar la evolución de la patogenicidad de *X. fastidiosa* y su asociación con profagos se utilizó BayesTraits. Se compararon la probabilidad de dos modelos: los rasgos evolucionan de forma “dependiente” y los rasgos evolucionan de forma “independiente”. Para esto se probó con respecto a profagos y los genes de virulencia identificados en los estudios de Rapicavoli et al., 2018 y Sertedakis et al., 2021. Los resultados indican que a nivel de profagos existe una asociación evolutiva dependiente únicamente con genes que expresan los módulos TA y el resto

de genes de patogenicidad muestran una asociación evolutiva “independiente”. Los sistemas toxina-antitoxina detectados en la asociación de profagos con la evolución de la patogenicidad son el sistema TA tipo II DinJ/ReIE (PD1099) y el sistema TA tipo II YafQ (PD1100). Son genes importantes para la virulencia de *X. fastidiosa* que facilitan la infección en la planta huésped.

#### 4.7. Transposones compuestos detectados en genomas de *Xylella fastidiosa*

TnComp\_finder desarrolla un análisis comparativo de la secuencia genómica con respecto a una base de datos de secuencias específicas de los principales elementos genéticos pertenecientes a diferentes tipos de transposones compuestos. Los resultados del análisis en los genomas de *Xylella fastidiosa* se evidencian en la Tabla 4, el programa detecta la presencia de IS y elementos transponibles que comúnmente están asociados con flanquear transposones compuestos. Los IS detectados en la mayoría de cepas pertenecen principalmente a las familias: IS6, IS200-IS605, IS607 e IS1634. Además, existe evidencia de la presencia de transposones pertenecientes a la familia Tn3 en todas las cepas analizadas (Tabla 4).

**Tabla 4.** Elementos transponibles con posible participación en transposones compuestos identificados en genomas de *Xylella fastidiosa* por el TnComp\_finder

Subesp.	Cepa	Elementos transponibles
<i>Fastidiosa</i>	Temecula1	Tn3, IS6, IS200-IS605
	M23	Tn3, IS6, IS200-IS605
	CFBP8351	Tn3, IS6, IS200-IS605
	IVIA5235	Tn3, IS6, IS200-IS605
	CFBP8071	Tn3, IS6, IS200-IS605, IS607
	Bakersfield-1	Tn3, IS6, IS200-IS605
	Bakersfield-11	Tn3, IS6, IS200-IS605
	Bakersfield-13	Tn3, IS6, IS200-IS605
	Bakersfield-14	Tn3, IS6, IS200-IS605
	Bakersfield-8	Tn3, IS6, IS200-IS605
	XYL2153/18	Tn3, IS6, IS200-IS605, IS1634, IS607
	XYL1732	Tn3, IS6, IS200-IS605, IS1634, IS607
	XYL2055	Tn3, IS6, IS200-IS605, IS1634, IS607
	XYL2107/18	Tn3, IS6, IS200-IS605, IS1634, IS607
	Temecula1 Star	Tn3, IS6, IS200-IS605, IS607
	TemeculaL	Tn3, IS6, IS200-IS605, IS1634, IS607
	Stag's Leap	Tn3, IS6, IS200-IS605
	GB514	Tn3, IS6, IS200-IS605
	TPD3	Tn3, IS6, IS200-IS605, IS1634, IS607, ISL3
	TPD4	Tn3, IS6, IS200-IS605, IS1634, IS607
	GV156	Tn3, IS6, IS200-IS605
	GV230	Tn3, IS6, IS200-IS605
	DSM 10026	Tn3, IS6, IS200-IS605, IS607
	ATCC 35879	Tn3, IS6, IS200-IS605

	CFBP7970	Tn3, IS6, IS200-IS605, IS607
	NOB1	Tn3, IS6, IS200-IS605, IS1634, IS607
	CFBP8082	Tn3, IS6, IS200-IS605, IS607
	VB11	Tn3, IS6, IS200-IS605, IS607
	OK3	Tn3, IS6, IS200-IS605, IS607
	WM1-1	Tn3, IS6, IS200-IS605
	EB92.1	Tn3, IS6, IS200-IS605, IS1634, IS607
	CFBP8356	Tn3, IS6, IS200-IS605, IS1634, IS607
	CFBP8073	Tn3, IS6, IS200-IS605
	CO33	Tn3, IS6, IS1634, IS200-IS605
	Ann-1	Tn3, IS6, IS200-IS605
	Mul-MD	Tn3, IS6, IS200-IS605, IS1634, IS607
	MUL0034	Tn3, IS6, IS200-IS605
	XYL1981	Tn3, IS6, IS607, IS200-IS605, IS1634
	XYL1968/18	Tn3, IS6, IS607, IS200-IS605, IS1634
	XYL1752	Tn3, IS6, IS607, IS21, IS200-IS605, IS1634
	XF3348	Tn3, IS3, IS6, IS607, IS200-IS605, IS1634
	Fillmore	Tn3, IS6
	CFBP8417	Tn3, IS6, IS607, IS200-IS605
	Dixon	Tn3, IS6, IS607, IS200-IS605
	IAS-AXF-235T10	Tn3, IS30, IS6, IS607, IS200-IS605, IS1634
	IAS-AXF-212H7	Tn3, IS3, IS6, IS607, IS200-IS605, IS1634
	IVIA6731	Tn3, IS256, IS6, IS607, IS200-IS605, IS1634
	IVIA6586-2	Tn3, IS6, IS607, IS200-IS605, IS1634
	ESVL	Tn3, IS6, IS607, IS200-IS605, IS1634
	IVIA5901	Tn3, IS6
	Griffin-1	Tn3, IS6, IS607, IS200-IS605, IS1634
	M12	Tn3, IS6
<i>Multiplex</i>	RedOak2	Tn3, IS6
	CFBP8416	Tn3, IS6
	RAAR6Butte	Tn3, IS6, IS607, IS200-IS605, IS1634
	LM10	Tn3, IS6
	RH1	Tn3, IS6
	Riv5	Tn3, IS6
	RAAR14plum327	Tn3, IS6, IS607, IS200-IS605, IS1634
	TOS4	Tn3, IS6, IS607, IS200-IS605, IS1634
	TOS14	Tn3, IS6, IS607, IS200-IS605, IS1634
	Ma151	Tn3, IS6, IS200-IS605, IS1634
	TOS5	Tn3, IS6, IS607, IS200-IS605, IS1634
	CFBP8078	Tn3, IS6, IS200-IS605
	ATCC35871	Tn3, IS6, IS200-IS605
	sycamoreSy-VA	Tn3, IS6, IS607, IS200-IS605, IS1634
	AlmaEM3	Tn3, IS6
	BB01	Tn3, IS6, IS607, IS200-IS605, IS1634
	BB08-1	Tn3, IS6
<i>Pauca</i>	9a5c	Tn3, IS6, IS200-IS605
	B111	Tn3, IS6, IS200-IS605
	CVC0251	Tn3, IS6, IS200-IS605
	XRB	Tn3, IS6, IS200-IS605
	J1a12	Tn3, IS6, IS200-IS605
	CVC0256	Tn3, IS6, IS200-IS605
	11399	Tn3, IS6, ISL3, IS200-IS605
	U24D	Tn3, IS6, IS200-IS605

Fb7	Tn3, IS6, IS200-IS605
3124	Tn3, IS6, IS200-IS605
32	Tn3, IS6, IS200-IS605
6c	Tn3, IS6, IS200-IS605
Pr8x	Tn3, IS6, IS200-IS605
COF0324	Tn3, IS6, IS200-IS605
Hib4	Tn3, IS6, IS200-IS605
CoDiRO	Tn3, IS200-IS605
De Donno	Tn3, IS200-IS605
Salento-1	Tn3, IS200-IS605
Salento-2	Tn3, IS200-IS605
OLS0478	Tn3, IS200-IS605
OLS0479	Tn3, IS200-IS605
COF0407	Tn3, IS200-IS605
PD7202	Tn3, IS200-IS605
PD7211	Tn3, IS200-IS605
CFBP8072	Tn3, IS200-IS605

TnComp\_finder presenta todos los elementos en los genomas que podrían estar formando un potencial transposón compuesto, sin embargo, no asegura la presencia de los mismos. Cabe destacar que la principal característica de los transposones compuestos es la presencia de dos IS vinculados que flanqueen una secuencia de ADN con poca cantidad de genes (Wagner, 2006). En general, dos IS pueden formar un transposón compuesto si ambos IS pueden trabajar conjuntamente para movilizar el segmento de ADN. Los estudios hasta la actualidad han identificado transposones compuestos conformados por IS pertenecientes a la misma familia, es decir, una misma copia del IS flanqueando los extremos. Sin embargo, no se puede suponer que dos IS de dos familias diferentes no puedan formar un transposón compuesto, ya que podría ocurrir siempre y cuando los IS estén vinculados y trabajen conjuntamente. En este trabajo se analizó únicamente copias de IS iguales en cada cepa de *X. fastidiosa*, así como las distancias entre sus ubicaciones para especular la posible presencia de un transposón compuesto. Para confirmar la presencia de los elementos transponibles identificados por el TnComp\_finder y su número de copias se utilizó ISEScan, el cual detecta IS en genomas bacterianos. Para el caso de otros elementos como Tn3 (CP040799.2) e IS607 (CP072932.1) se utilizó la base de datos ISFinder para luego desarrollar BLASTn local. En la Tabla 5 se enuncian los resultados obtenidos del número de copias de cada elemento genético detectado en los genomas de *X. fastidiosa*.

**Tabla 5.** Elementos transponibles confirmados y número de copias en los genomas de *Xylella fastidiosa*

S.p.	Cepa	IS200 -605 (C)	IS200 -605 (P)	IS607 (C)	IS607 (P)	IS6 (C)	IS6 (P)	IS21 (P)	IS15 95 (P)	new_ 343 (C)	Tn3 (C)	Tn3 (P)
<i>X. fastidiosa</i>	Temecula1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0

M23	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0
CFBP8351	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0
IVIA5235	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0
CFBP8071	2	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0
Bakersfield-1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0
Bakersfield-11	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0
Bakersfield-13	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0
Bakersfield-14	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0
Bakersfield-8	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0
XYL2153/18	2	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0
XYL1732	2	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0
XYL2055	2	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0
XYL2107/18	2	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0
Temecula1Star	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0
TemeculaL	2	2	0	2	0	1	1	2	0	0	1
Stag's Leap	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0
GB514	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0
TPD3	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	1
TPD4	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1
GV156	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0
GV230	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0
DSM 10026	3	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1
ATCC 35879	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0
CFBP7970	3	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1
NOB1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0
CFBP8082	3	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0
VB11	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0
OK3	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0
WM1-1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0
EB92.1	3	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0
CFBP8356	1	1	0	1	0	1	1	2	0	1	0
CFBP8073	3	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0
CO33	1	2	0	1	0	1	1	1	0	1	0
Ann-1	2	2	1	0	0	1	1	1	0	1	0
Mul-MD	2	1	1	0	0	1	1	2	1	1	0
MUL0034	2	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0
XYL1981	0	4	0	0	0	1	1	0	1	1	0
XYL1968/18	1	5	0	0	0	1	1	0	1	0	1
XYL1752	0	4	0	0	0	1	2	0	1	1	0
XF3348	0	4	0	0	0	1	1	0	1	0	1
Fillmore	4	0	2	1	0	1	1	1	1	1	0
CFBP8417	0	6	0	0	0	1	1	0	1	0	1
Dixon	5	1	2	2	0	1	1	0	1	1	0
IAS-AXF-235T10	0	5	0	0	0	1	1	1	1	0	1
IAS-AXF-212H7	0	6	0	0	0	1	1	1	1	0	1
IVIA6731	0	6	0	0	0	1	1	1	1	0	1
IVIA6586-2	0	6	0	0	0	1	1	1	0	0	1
ESVL	1	3	0	1	0	1	1	1	0	0	1
IVIA5901	4	0	2	1	1	1	1	1	1	1	0
Griffin-1	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0
M12	4	0	2	1	0	1	1	1	1	1	0
RedOak2	4	0	2	1	0	1	1	1	1	1	0
CFBP8416	4	0	2	1	0	1	1	1	1	1	0
RAAR6Butte	1	2	0	1	0	1	1	1	1	0	1
LM10	4	0	2	1	0	1	1	0	1	1	0
RH1	4	0	2	1	2	0	1	0	1	1	0
Riv5	4	0	2	1	0	1	1	1	1	1	0

Multiplex

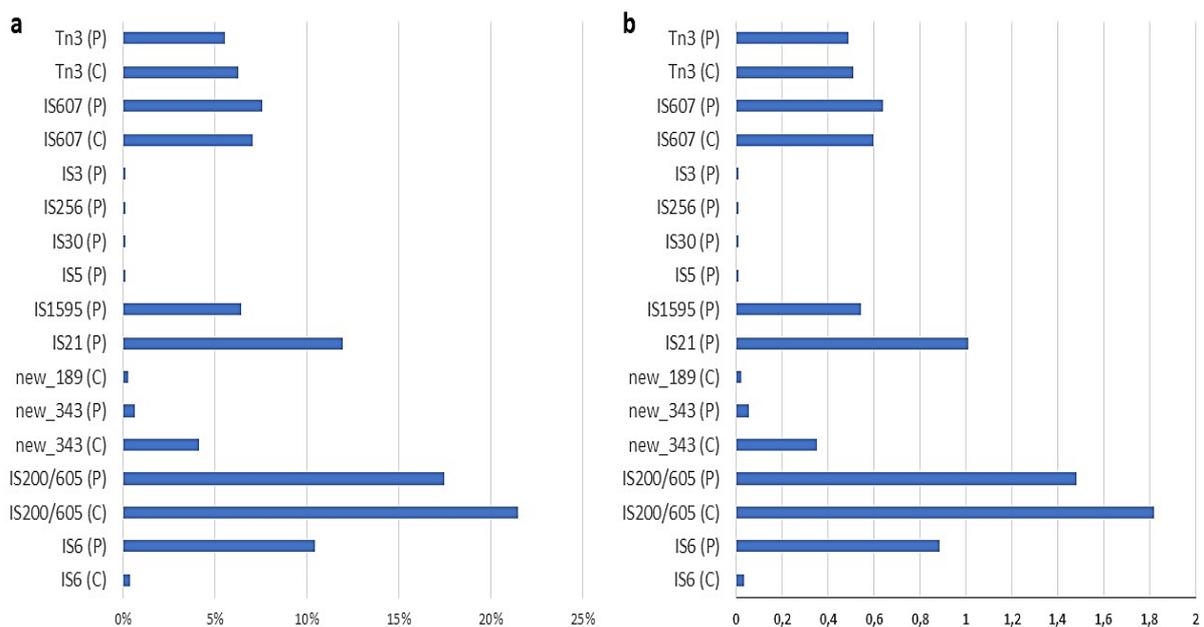
	RAAR14plum32 7	1	2	0	1	0	1	1	1	1	0	1
	TOS4	1	3	0	0	0	1	1	1	1	0	1
	TOS14	1	3	0	0	0	1	1	1	1	0	1
	Ma151	2	1	0	1	0	1	1	1	1	0	1
	TOS5	1	3	0	0	0	1	1	1	1	0	1
	CFBP8078	2	1	0	0	0	1	1	2	0	0	0
	ATCC35871	1	2	0	0	0	1	1	2	0	0	1
	sycamoreSy-VA	1	2	0	1	0	1	1	1	1	1	0
	AlmaEM3	3	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0
	BB01	2	1	0	1	0	1	1	0	1	0	1
	BB08-1	8	0	4	1	0	1	1	1	1	1	0
<i>Pauca</i>	9a5c	2	1	0	2	0	1	1	0	0	0	1
	B111	3	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1
	CVC0251	3	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1
	XRb	2	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1
	J1a12	2	1	0	2	0	1	1	0	0	0	1
	CVC0256	3	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1
	11399	2	1	0	2	0	1	1	0	0	0	1
	U24D	2	1	0	2	0	1	1	0	0	0	1
	Fb7	2	1	0	2	0	1	1	0	0	0	1
	3124	2	1	0	2	0	1	1	0	0	0	1
	32	0	2	0	0	0	1	1	0	0	0	1
	6c	2	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1
	Pr8x	2	1	0	2	0	1	1	0	0	0	1
	COF0324	2	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1
	Hib4	2	1	0	2	0	1	1	0	0	0	1
	CoDiRO	2	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1
	De Donno	2	1	0	2	0	0	1	0	0	0	1
	Salento-1	2	1	0	2	0	0	1	0	0	0	1
	Salento-2	2	1	0	2	0	0	1	0	0	0	1
	OLS0478	3	1	0	2	0	0	1	0	1	0	1
	OLS0479	2	2	0	1	0	0	1	0	0	0	1
	COF0407	2	2	0	1	0	0	1	0	0	0	1
	PD7202	3	1	0	2	0	0	1	0	0	0	1
	PD7211	2	1	0	2	0	0	1	0	0	0	1
	CFBP8072	1	2	0	0	0	0	1	0	0	1	0
		<b>Total</b>	171	139	56	60	3	83	95	51	33	50

Nota: (C) Secuencia Completa – (P) Secuencia Parcial

Los resultados del ISEScan demostraron la presencia de diversas familias de IS en los genomas bacterianos, además, se pudo confirmar la presencia de Tn3 gracias a BLASTn e IS607 gracias a ISFinder (Tabla 5). Los IS se distribuyeron en 2 principales categorías: con secuencia completa (C) y con secuencia parcial (P). Para establecer una posible presencia de potenciales transposones compuestos, uno de los requisitos es la presencia de IS flanqueantes funcionales. Por lo tanto, las secuencias incompletas (P) no tendrían la capacidad de formar parte de este tipo de elementos debido a que pueden ser secuencias ancestrales que a lo largo del tiempo han desarrollado mutaciones y variaciones. Este no sería el caso de IS6 en donde la mayoría de secuencias detectadas (83) que representa el 10,43% de todos los elementos analizados (Figura 14) pertenecen a secuencias parciales. Esto debido a que este tipo de familia de IS tiene la capacidad de formar pseudotransposones compuestos a través de la generación de cointegrados

(Figura 7), por lo tanto, una secuencia parcial con una secuencia donante completa podría ser suficiente para que ocurra la formación de dicho elemento.

En la Figura 14 se puede observar las proporciones presentes en los 94 genomas pertenecientes a cada tipo de elemento móvil. Los resultados destacan principalmente la abundancia de la familia IS200/605 (C) que representa el 21,48% (171) de todos los elementos obtenidos, a este grupo se incluyen secuencias IS200/605 (P) con un 17,46% (139). Se presentan varias familias de IS únicamente detectadas con secuencias parciales, por ejemplo: la familia de IS21 (P) con el 11,93% (95) e IS1595 (P) con un 6,41% (51). Para las familias IS3, IS5, IS30 e IS256 se detectó una sola copia parcial para una cepa entre todos los genomas. Con respecto a la familia Tn3 (C) con un 6,28% (50) y la familia new\_343 (C) con 4,15% (33) se encuentran presentes en varios de los genomas, sin embargo, las secuencias presentes se encuentran en una única copia por genoma y no podrían formar elementos compuestos. La familia IS607 (C) con un 7,04% está presente en varias copias en los genomas analizados y la familia IS6 (C) con 0,38% (3) presenta 2 copias de la secuencia en el genoma de la cepa RH1.



**Figura 14.** Elementos Transponibles identificados en genomas de *Xylella fastidiosa*. a) Proporción de los total de cada elemento en las 94 cepas analizadas. b) Número de copias promedio de los elementos por genoma.

En la Figura 14-b se puede observar el número de copias promedio de los EGM en los 94 genomas de *X. fastidiosa*. Es importante destacar que en general la mayoría de elementos no sobrepasa en promedio 1 copia por genoma, a excepción de la familia IS200/605 que se pueden

detectar  $1,82 \pm 1,3$  copias por genoma. La familia IS607 (C) y la familia IS6 (C) en determinadas cepas se encontraron 2 o más copias, por lo tanto, conjuntamente con IS200/605 (C) se analizaron sus posiciones en los genomas (Anexo 2-Tabla S2). Varias cepas de *X. fastidios* contienen múltiples copias de IS de familias iguales que podrían participar formando un transposón compuesto, sin embargo, las posiciones en los genomas permiten sospechar la ausencia de dichos elementos. Las secuencias IS de la familia IS200/605 e IS607 se detectaron separadas por una distancia promedio de 307,022 kb y 716,025 kb respectivamente. En general, las distancias entre los elementos son muy amplias y con una gran cantidad de genes presentes, por lo tanto, es poco probable que los pares de IS detectados en este trabajo sean capaces de movilizar regiones de ADN muy grandes. Cabe destacar que otro de los requisitos indispensables para que un transposón compuesto este presente y sea funcional es que los IS vinculados deben estar separados por una cantidad mínima de genes (Wagner, 2006).

Para el caso de IS6 (C) que se detectó 2 copias de la secuencia únicamente en el genoma de la cepa RH1, los IS flanqueantes se encontraron separados por una distancia de 12,31 kb. De igual manera, se identificaron distancias cortas (Anexo 2-Tabla S2) en dos cepas: CFBP8073 (3,267 kb) y BB08-1 (1,093 y 0,933 kb) para la familia IS200/605 y en la cepa BB08-1 (4,185 kb) para la familia IS607. Los resultados de la cantidad de genes y la predicción de proteínas por KEGG Orthology se presentan en la Tabla 6. Se puede destacar en la cepa RH1 que los dos IS6 flanquean 14 genes de acuerdo al NCBI, sin embargo, a través del servidor web solo se predijo la funcionalidad de 9 proteínas. Varias de estas proteínas están asociadas con procesos metabólicos, intervienen en la señalización y procesos celulares. La cepa CFBP8073 que posee dos IS200/605 flanquean un solo gen que corresponde a una serina proteasa de tipo subtilasa, estas proteínas están involucradas en múltiples procesos biológicos. Para la cepa BB08-1 los IS de la familia IS200/605 flanquean genes en dos regiones, una contiene 2 genes que corresponden a una lisozima y ADN-metiltransferasa específica de sitio y la otra contiene 3 que no se pudieron predecir a través de la base de datos. La región restante de esta cepa flanqueada por IS de la familia IS607 contiene 6 genes, no obstante, no se pudo detectar la funcionalidad de las proteínas. Los resultados plantean la posibilidad de la formación de transposones compuestos en las tres cepas, la mayoría de genes detectados podrían proporcionar ventajas evolutivas en las cepas de *Xylella fastidiosa*.

**Tabla 6.** Análisis de secuencias flanqueadas por IS de la misma familia en cepas de *Xylella fastidiosa*

Cepa	Familia IS	Distancia (kb)	Genes (NCBI)	Predicción de funcionalidad proteica (KEGG Orthology)
<b>RH1</b>	IS6	12,31	14	-K01845: glutamato-1-semialdehído 2,1-aminomutasa -K03593: Proteína de unión a ATP implicada en la partición cromosómica -K00979:3-desoxi-mano-octulosonato citidililtransferasa (CMP-KDO sintetasa) -K25307: proteína tirosina fosfatasa de bajo peso molecular -K09803: proteína no caracterizada -K01160: unión cruzada endodesoxirribonucleasa RusA -K03703: excinucleasa ABC subunidad C -K00995: CDP-diacilglicerol---glicerol-3-fosfato 3-fosfatidiltransferasa -K01698: porfobilinógeno sintasa
<b>CFBP8073</b>	IS200/605	3,267	1	-K12685: serina proteasa tipo subtilasa
<b>BB08-1</b>	IS200/605	1,093	2	-K01185: Lisozima -K00571: ADN-metiltransferasa específica de sitio
		0,933	3	-N/D
	IS607	4,185	6	-N/D

## 5. DISCUSIÓN

Se ha demostrado que los EGM poseen la capacidad de influir de forma directa en la evolución de la virulencia y la competitividad ecológica en bacterias, gracias a su capacidad de transferir genes que confieren ventajas adaptativas. El enfoque de este estudio fue entender la influencia y capacidad de dos grupos importantes de EGM (profagos y transposones compuestos) para alterar la patogenicidad de la bacteria *X. fastidiosa*. Los profagos contribuyen con la diversidad genética de bacterias relacionadas con patogenicidad, principalmente debido a su capacidad de codificar genes que expresan poderosas proteínas asociadas con virulencia (Fortier & Sekulovic, 2013). En este trabajo se detectó una gran abundancia de profagos en los 94 genomas analizados de las tres subespecies de *X. fastidiosa*. Los profagos de ADNbc fueron mayoritariamente encontrados en los análisis, siendo la familia Myoviridae la más representativa, ya que a esta familia pertenece el 56% de todos los profagos obtenidos. Esto no es de sorprenderse ya que la mayoría de fagos descubiertos en la naturaleza (aproximadamente el 96%) poseen un genoma de ADNbc (Fokine & Rossmann, 2014). A pesar de que se ha observado que la familia Siphoviridae es el grupo más abundante entre los virus de ADNbc (Batinovic et al., 2019). Los fagos de la familia Myoviridae también pueden llevar consigo genes accesorios de interés. Por ejemplo, proteínas que influyen en la regulación de la expresión de toxinas (Sekulovic et al., 2011) y que mejoran la aptitud bacteriana como se ha observado en fagos Myoviridae que infectan a *Ralstonia solanacearum* (Addy et al., 2019; Askora et al., 2017).

A diferencia de los fagos de ADNbc, los virus de ADNsc son poco estudiados y comprenden a una fracción menor. En este trabajo se observó que el 17,9% del total de profagos pertenecen a la familia Inoviridae, asignándose como la segunda familia más abundante dentro de los genomas de *X. fastidiosa*. Esto es importante conocer ya que en bacterias fitopatógenas como *Ralstonia solanacearum* se han detectado particularmente una gran cantidad de profagos pertenecientes a la familia Inoviridae que tienen influencia directa con la patogenicidad de la bacteria (Greenrod et al., 2022). Por lo tanto, estos hallazgos que resaltan la alta presencia de profagos Inoviridae en los genomas, podría significar que su permanencia en grandes proporciones es debido a que aportan características beneficiosas para *X. fastidiosa*. De hecho, esta prevalencia refleja una combinación de beneficios competitivos y un papel en el intercambio de material genético (Wendling et al., 2021). En los Inovirus se han detectado una amplia variedad de sistemas toxinas-antitoxinas y sistemas de modulación de la expresión génica (Roux et al., 2019). Uno de los ejemplos más notables es el fago CTX $\phi$  que expresa la

toxina CtxAB que es el principal factor de virulencia de *Vibrio cholerae* (Klonowska et al., 2023). También incrementan la capacidad de colonizar células huésped (Bille et al., 2017) y potencian la formación de biopelículas (Rice et al., 2009).

Se ha demostrado que varias cepas de *X. fastidiosa* poseen una alta competencia natural para la transformación y tasas relativamente altas de que se produzca recombinación (Kandel et al., 2017; Kung & Almeida, 2011). En este caso, ambos factores son los responsables del amplio intercambio genético y variabilidad entre cepas bacterianas gracias a que permiten la adquisición de material genético exógeno. Para las comparaciones a nivel filogenético se desarrolló un árbol a través de secuencias proteicas compartidas (genoma central) de las 96 cepas del estudio. Las diferencias resultantes en comparación al árbol desarrollado en el estudio de Uceda-Campos et al., de las mismas cepas de *X. fastidiosa* puede deberse al uso de secuencias proteicas en lugar de nucleótidos (Uceda-Campos et al., 2022). Sin embargo, puede observarse que la estructura de las ramas y la distribución de las cepas en las tres subespecies son similares. Los resultados resaltan la poca similitud entre la clasificación taxonómica de *X. fastidiosa* y el árbol reconstruido con secuencias proteicas de profagos. La escasa similitud entre arboles permite sospechar una falta de historia coevolutiva compartida entre los profagos y la bacteria, esto podría significar que los eventos de THG no son ancestrales y pudieron ocurrir recientemente. Los profagos que contienen secuencias funcionales pueden activarse a su estado lítico y moverse a otros huéspedes bacterianos. A medida que un fago lisogénico permanece mucho tiempo en el genoma bacteriano, aumenta la probabilidad de que la acumulación de mutaciones impida la lisis celular vinculando genes del fago a permanecer ligado a la célula huésped (Braga et al., 2018). Por lo tanto, la incongruencia entre los árboles podría significar que los profagos continúan teniendo la capacidad de desarrollar THG. Esto puede dar lugar a nuevas configuraciones patogénicas de *X. fastidiosa* o incluso puede impulsar el surgimiento de nuevas cepas con diferentes capacidades infectivas. De igual manera, es importante destacar que durante la lisis de fagos funcionales pueden ocurrir errores que provocan el empaquetamiento de fragmentos de genes o secuencias completas en lugar de genes propios del fago (Chiang et al., 2019). Estas secuencias incorporadas en los profagos pueden ser funcionales y transmitirse entre bacterias por THG (transducción). En consecuencia, es imprescindible considerar el monitoreo cuidadoso de poblaciones naturales de *X. fastidiosa* para prevenir una mayor aparición de diversidad genética y la generación de cepas que tengan nuevas plantas huésped objetivo.

Como se pueden observar en los resultados, en este trabajo se destaca el potencial de los profagos para contribuir significativamente con la patogenicidad de *X. fastidiosa*. Se encontraron varios genes ampliamente implicados en la patogénesis de bacterias bien reconocidos por estudios. Estos genes presentan varias funciones como la formación de biopelículas y adhesión a la superficie celular del huésped, un paso clave tanto en la infección de la planta como en la transmisión por insectos vectores. Se conoce que en otras bacterias los profagos son capaces de inducir la formación de biopelículas al disminuir e inducir espontáneamente la virulencia de la bacteria (D. Li et al., 2022). Esto podría ser uno de los factores que ayudan a *X. fastidiosa* a generar biopelículas, ya que se ha especulado que la bacteria se inclina por permanecer en un estado adherente disminuyendo su patogenicidad para evitar matar a su huésped muy rápido (Castro et al., 2023). En el análisis KO de las secuencias de profagos se detectaron proteínas involucradas en la adherencia y motilidad celular, por ejemplo, la proteína de ensamblaje del pilus tipo IV PilZ. El estudio de Li et al., demuestra que esta proteína tiene participación directa en la unión celular y la formación de biopelículas en *X. fastidiosa* (Y. Li et al., 2007). De hecho, se ha observado en bacterias fitopatógenas como *Xanthomonas oryzae* que la alteración del gen que codifica para la proteína reduce significativamente la patogenicidad de la bacteria (Burdman et al., 2011).

Por otro lado, la predicción de proteínas también mostró la presencia de enzimas proteasas dentro de los profagos. En estudios previos se señala que los diferentes tipos de proteasas en el genoma de *X. fastidiosa* participan en el control del crecimiento celular, patogenicidad y formación de biopelículas (Gouran et al., 2016). Es interesante destacar la presencia de la subunidad proteolítica de la proteasa Clp en profagos. En estudios como el de Thabet et al., se ha demostrado que esta enzima tiene la capacidad de inducir el sistema SOS de la bacteria en lugar de activar el profago en casos de estrés o daño celular. Esto con el objetivo de salvar al huésped induciendo mecanismos de reparación del ADN y ralentizando los procesos fisiológicos, para que una vez reparado el daño la bacteria continúe multiplicándose al igual que el profago (Thabet et al., 2023). Las proteasas detectadas en los genomas de profagos en este estudio podrían estar también involucradas en la patogenicidad de la bacteria ya que es bien conocido que este tipo de enzimas tienen la capacidad de degradar proteínas incluidas las de la membrana celular, esto puede mejorar la infectividad de la bacteria en la célula huésped. La proteína mayormente detectada en el análisis de profagos de *X. fastidiosa* fue la toxina Zot, la cual puede tener influencia directa en la virulencia de la bacteria. En efecto, el aporte de los profagos de esta proteína está bien identificado por algunos estudios desarrollados en *X.*

*fastidiosa* (Rapicavoli et al., 2018; Uceda-Campos et al., 2022). Se ha sugerido que la toxina Zot está involucrada en interacciones patogénicas entre la bacteria y la planta huésped desempeñando un papel en el desarrollo de la enfermedad (de Mello Varani et al., 2008). Es escasa la evidencia directa de cómo actúa la toxina Zot en plantas, sin embargo, a la actividad de Zot se le atribuye los efectos de varias bacterias fitopatógenas como *Xanthomonas campestris* (da Silva et al., 2007) y *Ralstonia solanacearum* (Guarisch-Sousa et al., 2016) en los tejidos vegetales infectados.

De igual manera, otras proteínas ampliamente identificadas por el análisis KO son los sistemas TA de tipo II de las familias DinJ/RelE y YafQ. En el estudio de Burbank & Stenger destacan la funcionalidad del sistema DinJ/RelE para el control de la proliferación bacteriana, en el estudio proponen que el sistema previene el crecimiento excesivo de la población de *X. fastidiosa* para evitar que bloquee los vasos del xilema y pueda propagarse sistémicamente (Burbank & Stenger, 2017b). Por su parte YafQ es una toxina que pertenece al sistema TA DinJ/YafQ y esta igualmente implicado en la reducción del crecimiento celular gracias a la inhibición de la traducción (Pryszak et al., 2009). Ambos sistemas son muy importantes en la formación de biopelículas como se ha evidenciado en el estudio de Kim et al., en *Escherichia coli*, la eliminación o la sobreexpresión de las toxinas regula de forma compleja la formación de biopelículas (Kim et al., 2009). En consecuencia, estas funciones que proporcionan las toxinas permiten entender el hecho de que se encuentren ambos sistemas en la mayoría de cepas dentro de las secuencias de profagos, se conserven en los genomas bacterianos y puedan movilizarse por THG. No obstante, gracias al análisis BayesTraits se pudo confirmar que ambos sistemas poseen una asociación evolutiva de dependencia con la presencia de profagos contribuyendo con la capacidad de virulencia de *X. fastidiosa*.

En algunos profagos se detectó a la antitoxina MqsA que pertenece al sistema TA MqsRA, se ha reconocido ampliamente que este sistema está asociado con la inducción de células persistentes en condiciones de estrés, formación de biopelículas e inhibición del crecimiento celular (de Souza-Neto et al., 2022). En el estudio de Merfa et al., identificaron que el sistema MqsRA era altamente inducido en *X. fastidiosa* por estrés, regulando negativamente la movilidad celular y positivamente la generación de biopelículas (Merfa et al., 2016). La toxina ParE también detectada en diferentes bacterias se ha demostrado que actúa bloqueando la replicación del ADN para que se pueda activar la respuesta SOS de la bacteria y se genere células persistentes (Kamruzzaman & Iredell, 2019). También se detectó el sistema TA HigA/HigB que son comunes para la estabilidad en la adquisición de plásmidos, no obstante,

se ha observado su presencia en el genoma bacteriano contenidos en profagos donde puede interferir en la expresión génica de la bacteria (de Mello Varani et al., 2008). En general, las diferentes proteínas expresadas por los profagos demuestran aportar características o rasgos importantes en *X. fastidiosa* a nivel de virulencia y resistencia a condiciones desfavorables. Gracias a la THG establecida por los profagos, los genes con potencial benéfico para la bacteria pueden movilizarse entre genomas generando la aparición de nuevas y mejores variantes capaces de infectar nuevos huéspedes. Esto ha favorecido a la bacteria a nivel evolutivo de tal manera que actualmente ha llegado a expandirse en gran parte del mundo.

En relación a los transposones compuestos, en este trabajo se detectó en cada cepa elementos genéticos como IS y genes de transposones con potencial para formar dichos elementos. Los transposones de la familia Tn3 han dotado una gran cantidad de capacidades catabólicas a diferentes tipos de bacterias para lograr una resistencia a diferentes tipos de ambientes o compuestos como los antimicrobianos (Nicolas et al., 2015). La familia Tn3 son transposones unitarios no compuestos, sin embargo, podrían actuar como IS flanqueantes y movilizar un segmento de ADN compuesto como se ha observado en varios miembros de su familia (Razavi et al., 2020). El software los detecta como posibles componentes de un transposón compuesto, sin embargo, los resultados demostraron que en los genomas que están presentes se encuentran en una sola copia. Es importante mencionar que en todos los genomas se detectó la presencia de Tn3 ya sea con su secuencia parcial o completa, esto permite sospechar su contribución en la evolución de la bacteria ya que a este transposón se lo asocia con genes de resistencia. Otro elemento importante detectado en una gran cantidad de cepas son IS pertenecientes a la familia IS6. Estos elementos son fundamentales en la propagación de múltiples genes de resistencia y en el reordenamiento genómico, además se ha demostrado que tienen la capacidad de formar cointegrados en forma de transposones pseudocompuestos (Varani et al., 2021). Como se ha demostrado, *X. fastidiosa* es naturalmente competente para la transformación (Kung & Almeida, 2011) y podría adquirir plásmidos de su entorno que en su secuencia pueden tener IS6. A pesar de que los IS6 detectados en su mayoría son secuencias parciales, esto no tendría inconveniente con la adquisición de genes acoplados a secuencias IS6 completas de un plásmido donador lo que ayudaría a la bacteria a obtener genes que otorguen ventajas evolutivas.

La participación de elementos IS256 en transposones compuestos es ampliamente reconocido, se ha observado en otras bacterias como *Enterococcus faecalis* que abunda y forma parte de estos elementos (Quintiliani & Courvalin, 1996). Sin embargo, en los genomas analizados solo se

pudo detectar una copia en el genoma de la cepa IVIA6731, por lo tanto, al igual que IS3, IS5 e IS30 que tienen una sola copia no tendrían relevancia en este análisis. Los IS obtenidos gracias a ISEScan están acorde a los reportados en el estudio de Uceda-Campos et al., 2022; donde puede observarse que la cantidad de IS por genomas es limitada (Uceda-Campos et al., 2022). No obstante, la familia IS200-605 es la que se encuentra en mayor abundancia dentro de los genomas y en varias cepas se pueden encontrar en más de 2 copias. Lo mismo ocurre para los IS de la familia IS607, en cambio, para la familia IS6 se detectó dos copias completas únicamente en la cepa RH1. Es importante destacar que los transposones compuestos conocidos oscilan hasta 30 Kb entre IS flanqueantes (Wagner, 2006). Por lo tanto, las grandes distancias observadas entre IS flanqueantes (Anexo 2-Tabla S2) de la mayoría de cepas sugiere la no participación de estos elementos en la formación de transposones compuestos. La estabilidad de los transposones compuestos es cuestionable ya que no se presentan en abundancia en los genomas, por lo tanto, si fuese una estrategia evolutivamente estable se logrará la transposición y su presencia con mayor frecuencia (Wagner, 2006).

Se detectó en la cepa RH1 dos IS6 completos flanqueantes de una secuencia de 12,31 kb que contiene a 14 genes. A pesar de que es una secuencia amplia que contiene varios genes, los IS podrían actuar conjuntamente para movilizar el fragmento, los 14 genes identificados por el análisis KO poseen funcionalidad metabólica y no de virulencia o resistencia que es lo que se esperaría. Aun así, hay evidencia de que esto puede ocurrir, por ejemplo, en el estudio de Inui et al., se detectó un transposón compuesto denominado Tn14751 que podía transportar 17,4 Kb de ADN con varios genes no asociados a toxinas o genes de resistencia en *Corynebacterium glutamicum* (Inui et al., 2005). Esto ayuda a sospechar que puede ser posible la movilización del segmento de 14 genes, sin embargo, para confirmarlo se requiere de estudios experimentales. Cabe destacar que la transposición de una secuencia amplia puede afectar y alterar en gran medida la composición del genoma (Inui et al., 2005). Por lo tanto, de forma evolutiva una transposición compuesta debería ser factible de forma natural solo si se adquieren genes seleccionables para el beneficio de la bacteria (Wagner, 2006). Con respecto a IS607 se detectó dos copias que flanquean una secuencia de 4,185 kb que contiene 6 genes en el genoma de BB08-1. El fragmento de ADN es menor, pero no se pudo identificar la funcionalidad de las proteínas por el análisis KO, esto indica que las proteínas presentes en el fragmento no están caracterizadas. Lo mismo ocurre para dos copias de IS200/605 detectadas en la misma cepa con una distancia de 0,933 kb donde se encuentran 3 genes no caracterizados.

Dentro de los resultados más destacados de este análisis se encuentran dos copias de IS200/605 en el genoma de la cepa CFBP8073 que flanquean 3,267 kb correspondientes a un solo gen identificado como una serina proteasa tipo subtilasa. Este tipo de enzimas son muy importantes ya que juegan un papel importante en la virulencia de bacterias, por ejemplo, en *X. fastidiosa* estudios destacan la participación de serinas proteasas en la degradación de membranas de los vasos del xilema para que la bacteria puede cruzar entre vasos adyacentes (Mendes et al., 2016). En la cepa BB08-1 también se detectaron dos copias de IS200/605 que flanquean 1,093 kb que contiene 2 genes identificados como una Lisozima y una ADN-metiltransferasa. Estos genes son importantes para el funcionamiento de las bacterias, la metilación del ADN tiene importantes implicaciones en la expresión de genes, virulencia, colonización del huésped y formación de biopelículas (Gao et al., 2023). La lisozima en cambio es una enzima hidrolítica que degrada paredes celulares bacterianas, lo que le serviría para el control de las poblaciones bacterianas (Nawaz et al., 2022). La movilización de estas secuencias podría ser factible ya que su tamaño, cantidad de genes e IS flanqueantes funcionales están acorde a los requisitos de un transposón compuesto (Udaondo et al., 2022; Wagner, 2006). En general, debido a las características y distribución de la mayor parte de elementos transponibles detectados, hay poca posibilidad de que existan transposones compuestos intactos en los genomas de *X. fastidiosa*. Los pocos segmentos con potencial de movilizarse como un elemento compuesto requieren de experimentación para ser comprobados.

El estudio de los EGM es de gran importancia en bacterias patógenas ya que facilitan la THG donde se incluyen genes de resistencia a antibióticos y virulencia. Esto contribuye con la rápida evolución de patógenos y la aparición de nuevas enfermedades. En el Ecuador los estudios de EGM en bacterias patógenas son escasos, hay algunos estudios, por ejemplo: el de Moser et al., donde determinan el papel de estos elementos en la propagación de *Escherichia coli* resistente a los antimicrobianos de pollos a humanos (Moser et al., 2018). También se puede mencionar un estudio de EGM asociados con la resistencia a los carbapenémicos en bacterias del orden Enterobacterales (Reyes et al., 2020). A pesar de la importancia de los EGM para desarrollar estrategias efectivas de control de infecciones y tratamientos, en Ecuador no existen estudios significativos sobre estos en bacterias patógenas de plantas. Por lo tanto, es crucial comenzar a fomentar el interés y la investigación en la identificación y caracterización de EGM para mejorar la gestión de enfermedades agrícolas y fortalecer la producción sostenible.

## 6. CONCLUSIÓN

Este trabajo otorga información valiosa sobre la contribución de profagos y transposones compuestos en la virulencia y evolución de *X. fastidiosa*. Los profagos detectados en este estudio son abundantes y desempeñan un papel importante para la patogenicidad de la bacteria. Los genes asociados con mejora de la patogenicidad y virulencia de la bacteria otorgan una oportunidad para descubrir estrategias clave para contrarrestar su expresión y limitar la propagación de la bacteria. En las tres subespecies principales de *X. fastidiosa* los profagos detectados poseen genes comunes que le otorgan rasgos benéficos a la bacteria. Los análisis filogenéticos sugieren que los profagos podrían recientemente estar activos y que el reordenamiento de genes producido podría desarrollar nuevas cepas con características patogénicas diferentes a las detectadas actualmente, además de que podría ayudar a facilitar la infección de nuevos huéspedes. El análisis de proteínas en las secuencias de profagos resalta la presencia de toxinas, proteínas de adhesión, sistemas toxina-antitoxina y proteínas metabólicas. En conjunto estas proteínas demuestran el éxito evolutivo y patogénico de la THG por profagos en bacterias. La presencia de transposones compuestos es poco probable, sin embargo, se detectó varios IS con secuencias completas que pueden ser funcionales. Esto significa que en casos de procesos de selección evolutiva podrían movilizarse y alojarse en posiciones cernas. No obstante, se deben cumplir varias características para que un transposón compuesto exista, entre ellas que el proceso de movilización del segmento de material genético beneficie a la bacteria. A pesar de la detección algunos posibles transposones compuestos, en este análisis de los genomas de *X. fastidiosa* no hay evidencia contundente para confirmar la presencia de este tipo de EGM. No obstante, la evidencia actual expuesta en este trabajo realza la importancia de los EGM en la disseminación de genes benéficos para la bacteria. El comprender e identificar los genes transportados es indispensable para entender la evolución de la bacteria y como potencialmente puede ser controlada.

## 7. REFERENCIAS

- Addy, H. S., Ahmad, A. A., & Huang, Q. (2019). Molecular and biological characterization of ralstonia phage RsoM1USA, a new species of P2virus, isolated in the United States. *Frontiers in Microbiology*, *10*(FEB). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00267>
- Almeida, R. P. P., & Nunney, L. (2015). How do plant diseases caused by *Xylella fastidiosa* emerge? *Plant Disease*, *99*(11), 1457–1467. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-15-0159-FE>
- Alvarenga, D., & Varani, A. (2019). *TnComp\_finder: prokaryotic composite transposon finder*. [https://github.com/danillo-alvarenga/tncomp\\_finder](https://github.com/danillo-alvarenga/tncomp_finder)
- Anguita-Maeso, M., Ares-Yebra, A., Haro, C., Román-Écija, M., Olivares-García, C., Costa, J., Marco-Noales, E., Ferrer, A., Navas-Cortés, J. A., & Landa, B. B. (2022). *Xylella fastidiosa* Infection Reshapes Microbial Composition and Network Associations in the Xylem of Almond Trees. *Frontiers in Microbiology*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.866085>
- Aramaki, T., Blanc-Mathieu, R., Endo, H., Ohkubo, K., Kanehisa, M., Goto, S., & Ogata, H. (2020). KofamKOALA: KEGG Ortholog assignment based on profile HMM and adaptive score threshold. *Bioinformatics*, *36*(7), 2251–2252. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz859>
- Arndt, D., Grant, J. R., Marcu, A., Sajed, T., Pon, A., Liang, Y., & Wishart, D. S. (2016). PHASTER: a better, faster version of the PHAST phage search tool. *Nucleic Acids Research*, *44*(W1), W16–W21. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw387>
- Arndt, D., Marcu, A., Liang, Y., & Wishart, D. S. (2018). PHAST, PHASTER and PHASTEST: Tools for finding prophage in bacterial genomes. *Briefings in Bioinformatics*, *20*(4), 1560–1567. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx121>
- Askora, A., Kawasaki, T., Fujie, M., & Yamada, T. (2017). Lysogenic conversion of the phytopathogen *Ralstonia solanacearum* by the P2virus  $\Phi$ RSY1. *Frontiers in Microbiology*, *8*(NOV). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02212>
- Barbieri, H. B., Fernandes, L. S., Pontes, J. G. de M., Pereira, A. K., & Fill, T. P. (2023). An overview of the most threatening diseases that affect worldwide citriculture: Main features, diagnose, and current control strategies. *Frontiers in Natural Products*, *2*. <https://doi.org/10.3389/fntpr.2023.1045364>
- Batinovic, S., Wassef, F., Knowler, S. A., Rice, D. T. F., Stanton, C. R., Rose, J., Tucci, J., Nittami, T., Vinh, A., Drummond, G. R., Sobey, C. G., Chan, H. T., Seviour, R. J., Petrovski, S., & Franks, A. E. (2019). Bacteriophages in natural and artificial environments. In *Pathogens* (Vol. 8, Issue 3). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/pathogens8030100>

- Bille, E., Meyer, J., Jamet, A., Euphrasie, D., Barnier, J. P., Brissac, T., Larsen, A., Pelissier, P., & Nassif, X. (2017). A virulence-associated filamentous bacteriophage of *Neisseria meningitidis* increases host-cell colonisation. *PLoS Pathogens*, *13*(7). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006495>
- Braga, L. P. P., Soucy, S. M., Amgarten, D. E., da Silva, A. M., & Setubal, J. C. (2018). Bacterial diversification in the light of the interactions with phages: The genetic symbionts and their role in ecological speciation. *Frontiers in Ecology and Evolution*, *6*(JAN). <https://doi.org/10.3389/fevo.2018.00006>
- Burbank, L. P., & Stenger, D. C. (2017). The DinJ/RelE toxin-antitoxin system suppresses bacterial proliferation and virulence of *Xylella fastidiosa* in grapevine. *Phytopathology*, *107*(4), 388–394. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-10-16-0374-R>
- Burbank, L. P., & Van Horn, C. R. (2017). Conjugative plasmid transfer in *Xylella fastidiosa* is dependent on tra and trb operon functions. *Journal of Bacteriology*, *199*(21). <https://doi.org/10.1128/JB.00388-17>
- Burdman, S., Bahar, O., Parker, J. K., & de la Fuente, L. (2011). Involvement of type IV pili in pathogenicity of plant pathogenic bacteria. *Genes*, *2*(4), 706–735. <https://doi.org/10.3390/genes2040706>
- Cardone, G., Digiario, M., Djelouah, K., Frem, M., Rota, C., Lenders, A., & Fucilli, V. (2022). Socio-Economic Risks Posed by a New Plant Disease in the Mediterranean Basin. *Diversity*, *14*(11). <https://doi.org/10.3390/d14110975>
- Castro, C., DiSalvo, B., & Caroline Roper, M. (2021). *Xylella fastidiosa*: A reemerging plant pathogen that threatens crops globally. *PLoS Pathogens*, *17*(9). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009813>
- Castro, C., Ndukwe, I., Heiss, C., Black, I., Ingel, B. M., Guevara, M., Sun, Y., Azadi, P., Sun, Q., & Roper, M. C. (2023). *Xylella fastidiosa* modulates exopolysaccharide polymer length and the dynamics of biofilm development with a  $\beta$ -1,4-endoglucanase. *MBio*, *14*(5). <https://doi.org/10.1128/mbio.01395-23>
- Cavaliere, V., Altamura, G., Fumarola, G., Di Carlo, M., Saponari, M., Cornara, D., Bosco, D., & Dongiovanni, C. (2019). Transmission of *Xylella fastidiosa* subspecies pauca sequence type 53 by different insect species. *Insects*, *10*(10). <https://doi.org/10.3390/insects10100324>
- Chen, C. M., Yu, W. L., Huang, M., Liu, J. J., Chen, I. C., Chen, H. F., & Wu, L. T. (2015). Characterization of IS26-composite transposons and multidrug resistance in conjugative plasmids from *Enterobacter cloacae*. *Microbiology and Immunology*, *59*(9), 516–525. <https://doi.org/10.1111/1348-0421.12289>

- Chiang, Y. N., Penadés, J. R., & Chen, J. (2019). Genetic transduction by phages and chromosomal islands: The new and noncanonical. *PLoS Pathogens*, *15*(8). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007878>
- Coletta-Filho, H. Della, Castillo, A. I., Laranjeira, F. F., de Andrade, E. C., Silva, N. T., de Souza, A. A., Bossi, M. E., Almeida, R. P. P., & Lopes, J. R. S. (2020). Citrus Variegated Chlorosis: an Overview of 30 Years of Research and Disease Management. In *Tropical Plant Pathology* (Vol. 45, Issue 3, pp. 175–191). Springer. <https://doi.org/10.1007/s40858-020-00358-5>
- Cruz, L. F., Cobine, P. A., & De La Fuente, L. (2012). Calcium increases *Xylella fastidiosa* surface attachment, biofilm formation, and twitching motility. *Applied and Environmental Microbiology*, *78*(5), 1321–1331. <https://doi.org/10.1128/AEM.06501-11>
- da Silva, V. S., Shida, C. S., Rodrigues, F. B., Ribeiro, D. C. D., de Souza, A. A., Coletta-Filho, H. D., Machado, M. A., Nunes, L. R., & de Oliveira, R. C. (2007). Comparative genomic characterization of citrus-associated *Xylella fastidiosa* strains. *BMC Genomics*, *8*. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-8-474>
- Daubin, V., & Szöllösi, G. J. (2016). Horizontal gene transfer and the history of life. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *8*(4). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018036>
- de la Fuente, L., Parker, J. K., Oliver, J. E., Granger, S., Brannen, P. M., van Santen, E., & Cobine, P. A. (2013). The Bacterial Pathogen *Xylella fastidiosa* Affects the Leaf Ionome of Plant Hosts during Infection. *PLoS ONE*, *8*(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062945>
- de Mello Varani, A., Souza, R. C., Nakaya, H. I., de Lima, W. C., de Almeida, L. G. P., Kitajima, E. W., Chen, J., Civerolo, E., Vasconcelos, A. T. R., & Van Sluys, M. A. (2008). Origins of the *Xylella fastidiosa* prophage-like regions and their impact in genome differentiation. *PLoS ONE*, *3*(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004059>
- de Souza, J. B., Almeida-Souza, H. O., Zaini, P. A., Alves, M. N., de Souza, A. G., Pierry, P. M., da Silva, A. M., Goulart, L. R., Dandekar, A. M., & Nascimento, R. (2020). *Xylella fastidiosa* subsp. Pauca strains fb7 and 9a5c from citrus display differential behavior, secretome, and plant virulence. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(18), 1–20. <https://doi.org/10.3390/ijms21186769>
- de Souza-Neto, R. R., Carvalho, I. G. B., Martins, P. M. M., Picchi, S. C., Tomaz, J. P., Caserta, R., Takita, M. A., & de Souza, A. A. (2022). MqsR toxin as a biotechnological tool for plant pathogen bacterial control. *Scientific Reports*, *12*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06690-x>

- Denancé, N., Briand, M., Gaborieau, R., Gaillard, S., & Jacques, M. A. (2019). Identification of genetic relationships and subspecies signatures in *Xylella fastidiosa*. *BMC Genomics*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5565-9>
- Durrant, M. G., Li, M. M., Siranosian, B. A., Montgomery, S. B., & Bhatt, A. S. (2020). A Bioinformatic Analysis of Integrative Mobile Genetic Elements Highlights Their Role in Bacterial Adaptation. *Cell Host and Microbe*, 27(1), 140-153.e9. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.10.022>
- Edgar, R. C. (2010). Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*, 26(19), 2460–2461. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq461>
- EFSA, Gibin, D., Gutierrez Linares, A., Fasanelli, E., Pasinato, L., & Delbianco, A. (2023). Update of the *Xylella spp.* host plant database – systematic literature search up to 30 June 2023. *EFSA Journal*, 21(12). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8477>
- Evseev, P., Lukianova, A., Tarakanov, R., Tokmakova, A., Popova, A., Kulikov, E., Shneider, M., Ignatov, A., & Miroshnikov, K. (2023). Prophage-Derived Regions in Curtobacterium Genomes: Good Things, Small Packages. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(2). <https://doi.org/10.3390/ijms24021586>
- Ferrari, A., Maggi, S., Montanini, B., Levante, A., Lazzi, C., Yamaguchi, Y., Rivetti, C., & Folli, C. (2019). Identification and first characterization of DinJ-YafQ toxin-antitoxin systems in *Lactobacillus* species of biotechnological interest. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44094-6>
- Firrao, G., Scortichini, M., & Pagliari, L. (2021). Orthology-based estimate of the contribution of horizontal gene transfer from distantly related bacteria to the intraspecific diversity and differentiation of *Xylella fastidiosa*. *Pathogens*, 10(1), 1–17. <https://doi.org/10.3390/pathogens10010046>
- Fokine, A., & Rossmann, M. G. (2014). Molecular architecture of tailed double-stranded DNA phages. *Bacteriophage*, 4(2), e28281. <https://doi.org/10.4161/bact.28281>
- Fortier, L. C., & Sekulovic, O. (2013). Importance of prophages to evolution and virulence of bacterial pathogens. *Virulence*, 4(5), 354–365. <https://doi.org/10.4161/viru.24498>
- Gao, Q., Lu, S., Wang, Y., He, L., Wang, M., Jia, R., Chen, S., Zhu, D., Liu, M., Zhao, X., Yang, Q., Wu, Y., Zhang, S., Huang, J., Mao, S., Ou, X., Sun, D., Tian, B., & Cheng, A. (2023). Bacterial DNA methyltransferase: A key to the epigenetic world with lessons learned from proteobacteria. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 14). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1129437>

- Giampetruzzi, A., Saponari, M., Loconsole, G., Boscia, D., Savino, V. N., Almeida, R. P. P., Zicca, S., Landa, B. B., Chacón-Díaz, C., & Saldarelli, P. (2017). Genome-wide analysis provides evidence on the genetic relatedness of the emergent *Xylella fastidiosa* genotype in Italy to isolates from Central America. *Phytopathology*, *107*(7), 816–827. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-12-16-0420-R>
- Giménez-Romero, A., Galván, J., Montesinos, M., Bauzá, J., Godefroid, M., Fereres, A., Ramasco, J. J., Matías, M. A., & Moralejo, E. (2022). Global predictions for the risk of establishment of Pierce's disease of grapevines. *Communications Biology*, *5*(1). <https://doi.org/10.1038/s42003-022-04358-w>
- Giri, N. (2021). Bacteriophage Structure, Classification, Assembly and Phage Therapy. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, *18*(2), 239–250. <https://doi.org/10.13005/bbra/2911>
- Godefroid, M., Cruaud, A., Streito, J. C., Rasplus, J. Y., & Rossi, J. P. (2019). *Xylella fastidiosa*: climate suitability of European continent. *Scientific Reports*, *9*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45365-y>
- Gouran, H., Gillespie, H., Nascimento, R., Chakraborty, S., Zaini, P. A., Jacobson, A., Phinney, B. S., Dolan, D., Durbin-Johnson, B. P., Antonova, E. S., Lindow, S. E., Mellema, M. S., Goulart, L. R., & Dandekar, A. M. (2016). The Secreted Protease PrtA Controls Cell Growth, Biofilm Formation and Pathogenicity in *Xylella fastidiosa*. *Scientific Reports*, *6*. <https://doi.org/10.1038/srep31098>
- Greco, D., Sabella, E., Carluccio, G., Delle Donne, A. G., De Bellis, L., & Luvisi, A. (2023). *Xylella fastidiosa*, Possible New Threat to Chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Italy. *Horticulturae*, *9*(12). <https://doi.org/10.3390/horticulturae9121315>
- Greenrod, S. T. E., Stoycheva, M., Elphinstone, J., & Friman, V. P. (2022). Global diversity and distribution of prophages are lineage-specific within the *Ralstonia solanacearum* species complex. *BMC Genomics*, *23*(1). <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08909-7>
- Guarisch-Sousa, R., Puigvert, M., Coll, N. S., Siri, M. I., Pianzola, M. J., Valls, M., & Setubal, J. C. (2016). Complete genome sequence of the potato pathogen *Ralstonia solanacearum* UY031. *Standards in Genomic Sciences*, *11*(1). <https://doi.org/10.1186/s40793-016-0131-4>
- Guédon, G., Libante, V., Coluzzi, C., Payot, S., & Leblond-Bourget, N. (2017). The obscure world of integrative and mobilizable elements, highly widespread elements that pirate bacterial conjugative systems. In *Genes* (Vol. 8, Issue 11). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/genes8110337>
- Guglielmini, J., & Van Melderren, L. (2011). Bacterial toxin-antitoxin systems. *Mobile Genetic Elements*, *1*(4), 283–306. <https://doi.org/10.4161/mge.18477>

- Hall, J. P. J., Harrison, E., & Baltrus, D. A. (2022). Introduction: The secret lives of microbial mobile genetic elements. In *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* (Vol. 377, Issue 1842). Royal Society Publishing. <https://doi.org/10.1098/rstb.2020.0460>
- Harris, C. D., Torrance, E. L., Raymann, K., & Bobay, L. M. (2021). Corecruncher: Fast and robust construction of core genomes in large prokaryotic data sets. *Molecular Biology and Evolution*, 38(2), 727–734. <https://doi.org/10.1093/molbev/msaa224>
- Harshey, R. M. (2014). Transposable Phage Mu. *Microbiology Spectrum*, 2(5). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.mdna3-0007-2014>
- Ingel, B., Castro, C., Burbank, L., Her, N., De Anda, N. I., Way, H., Wang, P., & Roper, M. C. (2023). *Xylella fastidiosa* Requires the Type II Secretion System for Pathogenicity and Survival in Grapevine. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 36(10), 636–646. <https://doi.org/10.1094/MPMI-03-23-0027-R>
- Inglis, L. K., Roach, M. J., & Edwards, R. A. (2024). Prophages: an integral but understudied component of the human microbiome. *Microbial Genomics*, 10(1). <https://doi.org/10.1099/mgen.0.001166>
- Inui, M., Tsuge, Y., Suzuki, N., Vertès, A. A., & Yukawa, H. (2005). Isolation and characterization of a native composite transposon, Tn14751, carrying 17.4 kilobases of *Corynebacterium glutamicum* chromosomal DNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(1), 407–416. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.1.407-416.2005>
- Jackson, R. W., Vinatzer, B., Arnold, D. L., Dorus, S., & Murillo, J. (2011). The influence of the accessory genome on bacterial pathogen evolution. *Mobile Genetic Elements*, 1(1), 55–65. <https://doi.org/10.4161/mge.1.1.16432>
- Jacques, M. A., Denancé, N., Legendre, B., Morel, E., Briand, M., Mississippi, S., Durand, K., Olivier, V., Portier, P., Poliakoff, F., & Crouzillat, D. (2016). New coffee plantinfecting *Xylella fastidiosa* variants derived via homologous recombination. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(5), 1556–1568. <https://doi.org/10.1128/AEM.03299-15>
- Johansson, M. H. K., Aarestrup, F. M., & Petersen, T. N. (2023). Importance of mobile genetic elements for dissemination of antimicrobial resistance in metagenomic sewage samples across the world. *PLoS ONE*, 18(10 October). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0293169>
- Johnson, K. A., Bock, C. H., & Brannen, P. M. (2021). Phony peach disease: past and present impact on the peach industry in the southeastern U.S.A. In *CABI Agriculture and Bioscience* (Vol. 2, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s43170-021-00049-4>

- Kamruzzaman, M., & Iredell, J. (2019). A ParDE-family toxin antitoxin system in major resistance plasmids of Enterobacteriaceae confers antibiotic and heat tolerance. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46318-1>
- Kandel, P. P., Almeida, R. P. P., Cobine, P. A., & De La Fuente, L. (2017). Natural competence rates are variable among *Xylella fastidiosa* strains and homologous recombination occurs in vitro between subspecies fastidiosa and multiplex. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 30(7), 589–600. <https://doi.org/10.1094/MPMI-02-17-0053-R>
- Katoh, K., Rozewicki, J., & Yamada, K. D. (2019). MAFFT online service: Multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in Bioinformatics*, 20(4), 1160–1166. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx108>
- Khedkar, S., Smyshlyaev, G., Letunic, I., Maistrenko, O. M., Coelho, L. P., Orakov, A., Forslund, S. K., Hildebrand, F., Luetge, M., Schmidt, T. S. B., Barabas, O., & Bork, P. (2022). Landscape of mobile genetic elements and their antibiotic resistance cargo in prokaryotic genomes. *Nucleic Acids Research*, 50(6), 3155–3168. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac163>
- Killiny, N., & Almeida, R. P. P. (2014). Factors affecting the initial adhesion and retention of the plant pathogen *Xylella fastidiosa* in the foregut of an insect vector. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(1), 420–426. <https://doi.org/10.1128/AEM.03156-13>
- Killiny, N., Prado, S. S., & Almeida, R. P. P. (2010). Chitin utilization by the insect-transmitted bacterium *Xylella fastidiosa*. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(18), 6134–6140. <https://doi.org/10.1128/AEM.01036-10>
- Kim, Y., Wang, X., Ma, Q., Zhang, X. S., & Wood, T. K. (2009). Toxin-antitoxin systems in *Escherichia coli* influence biofilm formation through YjgK (TabA) and fimbriae. *Journal of Bacteriology*, 191(4), 1258–1267. <https://doi.org/10.1128/JB.01465-08>
- Klonowska, A., Ardley, J., Moulin, L., Zandberg, J., Patrel, D., Gollagher, M., Marinova, D., Reddy, T. B. K., Varghese, N., Huntemann, M., Woyke, T., Seshadri, R., Ivanova, N., Kyrpides, N., & Reeve, W. (2023). Discovery of a novel filamentous prophage in the genome of the Mimosa pudica microsymbiont *Cupriavidus taiwanensis* STM 6018. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1082107>
- Knezevic, P., Adriaenssens, E. M., Siddell, S. G., Lefkowitz, E. J., Sabanadzovic, S., Simmonds, P., Zerbini, F. M., Smith, D. B., & Orton, R. J. (2021). ICTV virus taxonomy profile: Inoviridae. *Journal of General Virology*, 102(7). <https://doi.org/10.1099/JGV.0.001614>
- Kornienko, M., Kuptsov, N., Gorodnichev, R., Bespiatykh, D., Guliaev, A., Letarova, M., Kulikov, E., Veselovsky, V., Malakhova, M., Letarov, A., Ilina, E., & Shitikov, E. (2020). Contribution of

- Podoviridae and Myoviridae bacteriophages to the effectiveness of anti-staphylococcal therapeutic cocktails. *Scientific Reports*, *10*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75637-x>
- Kulkarni, S., Kallal, R. J., Wood, H., Dimitrov, D., Giribet, G., & Hormiga, G. (2021). Interrogating Genomic-Scale Data to Resolve Recalcitrant Nodes in the Spider Tree of Life. *Molecular Biology and Evolution*, *38*(3), 891–903. <https://doi.org/10.1093/molbev/msaa251>
- Kumar, A. (2020). Jump around: Transposons in and out of the laboratory. In *F1000Research* (Vol. 9). F1000 Research Ltd. <https://doi.org/10.12688/f1000research.21018.1>
- Kung, S. H., & Almeida, R. P. P. (2011). Natural competence and recombination in the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. *Applied and Environmental Microbiology*, *77*(15), 5278–5284. <https://doi.org/10.1128/AEM.00730-11>
- Lefkowitz, E. J., Dempsey, D. M., Hendrickson, R. C., Orton, R. J., Siddell, S. G., & Smith, D. B. (2018). Virus taxonomy: The database of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). *Nucleic Acids Research*, *46*(D1), D708–D717. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx932>
- Li, D., Liang, W., Hu, Q., Ren, J., Xue, F., Liu, Q., & Tang, F. (2022). The effect of a spontaneous induction prophage, phi458, on biofilm formation and virulence in avian pathogenic *Escherichia coli*. *Frontiers in Microbiology*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1049341>
- Li, Y., Hao, G., Galvani, C. D., Meng, Y., De La Fuente, L., Hoch, H. C., & Burr, T. J. (2007). Type I and type IV pili of *Xylella fastidiosa* affect twitching motility, biofilm formation and cell-cell aggregation. *Microbiology*, *153*(3), 719–726. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2006/002311-0>
- Liu, F., Lee, H., Lan, R., & Zhang, L. (2016). Zonula occludens toxins and their prophages in *Campylobacter* species. *Gut Pathogens*, *8*(1). <https://doi.org/10.1186/s13099-016-0125-1>
- Loconsole, G., Zicca, S., Manco, L., El Hatib, O., Altamura, G., Potere, O., Elicio, V., Valentini, F., Boscia, D., & Saponari, M. (2021). Diagnostic procedures to detect *Xylella fastidiosa* in nursery stocks and consignments of plants for planting. *Agriculture (Switzerland)*, *11*(10). <https://doi.org/10.3390/agriculture11100922>
- Lopes, A., Tavares, P., Petit, M. A., Guérois, R., & Zinn-Justin, S. (2014). Automated classification of tailed bacteriophages according to their neck organization. *BMC Genomics*, *15*(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-1027>
- Loureiro, T., Mesquita, M. M., Dapkevicius, M. de L. E., Serra, L., Martins, Â., Cortez, I., & Poeta, P. (2023). *Xylella fastidiosa*: A Glimpse of the Portuguese Situation. In *Microbiology Research* (Vol. 14, Issue 4, pp. 1568–1588). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/microbiolres14040108>

- Marco-Noales, E., Barbe, S., Monterde, A., Navarro-Herrero, I., Ferrer, A., Dalmau, V., Aure, C. M., Domingo-Calap, M. L., Landa, B. B., & Rosello, M. (2021). Evidence that *Xylella fastidiosa* is the Causal Agent of Almond Leaf Scorch Disease in Alicante, Mainland Spain (Iberian Peninsula). *Plant Disease*, 105(11), 3349–3352. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-21-0625-SC>
- Meade, A., & Pagel, M. (2023). *BayesTraits V4.0.1. Software and manual*. <http://www.evolution.reading.ac.uk/BayesTraitsV4.0.1/BayesTraitsV4.0.1.html>
- Mendes, J. S., Santiago, A. S., Toledo, M. A. S., Horta, M. A. C., de Souza, A. A., Tasic, L., & de Souza, A. P. (2016). In vitro determination of extracellular proteins from *Xylella fastidiosa*. *Frontiers in Microbiology*, 7(DEC). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02090>
- Merfa, M. V., Niza, B., Takita, M. A., & De Souza, A. A. (2016). The MqsRA toxin-antitoxin system from *Xylella fastidiosa* plays a key role in bacterial fitness, pathogenicity, and persister cell formation. *Frontiers in Microbiology*, 7(JUN). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00904>
- Minh, B. Q., Schmidt, H. A., Chernomor, O., Schrempf, D., Woodhams, M. D., Von Haeseler, A., Lanfear, R., & Teeling, E. (2020). IQ-TREE 2: New Models and Efficient Methods for Phylogenetic Inference in the Genomic Era. *Molecular Biology and Evolution*, 37(5), 1530–1534. <https://doi.org/10.1093/molbev/msaa015>
- Morelli, M., García-Madero, J. M., Jos, Á., Saldarelli, P., Dongiovanni, C., Kovacova, M., Saponari, M., Arjona, A. B., Hackl, E., Webb, S., & Compant, S. (2021). *Xylella fastidiosa* in olive: A review of control attempts and current management. In *Microorganisms* (Vol. 9, Issue 8). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081771>
- Moser, K. A., Zhang, L., Spicknall, I., Braykov, N. P., Levy, K., Marrs, C. F., Foxman, B., Trueba, G., Cevallos, W., Goldstick, J., Trostle, J., & Eisenberg, J. N. S. (2018). The Role of Mobile Genetic Elements in the Spread of Antimicrobial-Resistant *Escherichia coli* from Chickens to Humans in Small-Scale Production Poultry Operations in Rural Ecuador. *American Journal of Epidemiology*, 187(3), 558–567. <https://doi.org/10.1093/aje/kwx286>
- Nascimento, R., Gouran, H., Chakraborty, S., Gillespie, H. W., Almeida-Souza, H. O., Tu, A., Rao, B. J., Feldstein, P. A., Bruening, G., Goulart, L. R., & Dandekar, A. M. (2016). The Type II Secreted Lipase/Esterase LesA is a Key Virulence Factor Required for *Xylella fastidiosa* Pathogenesis in Grapevines. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep18598>
- Nawaz, N., Wen, S., Wang, F., Nawaz, S., Raza, J., Iftikhar, M., & Usman, M. (2022). Lysozyme and Its Application as Antibacterial Agent in Food Industry. In *Molecules* (Vol. 27, Issue 19). MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules27196305>

- Nepal, R., Houtak, G., Wormald, P.-J., James Psaltis, A., & Vreugde, S. (2022). Prophage: a crucial catalyst in infectious disease modulation. *The Lancet Microbe*, 3, e162–e163. [https://doi.org/10.1016/S26665247\(21\)003542](https://doi.org/10.1016/S26665247(21)003542)
- Newman, K. L., Almeida, R. P. P., Purcell, A. H., & Lindow, S. E. (2003). Use of a Green Fluorescent Strain for Analysis of *Xylella fastidiosa* Colonization of *Vitis vinifera*. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(12), 7319–7327. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.12.7319-7327.2003>
- Nicolas, E., Lambin, M., Dandoy, D., Galloy, C., Nguyen, N., Oger, C. A., & Hallet, B. (2015). The Tn 3 -family of Replicative Transposons . *Microbiology Spectrum*, 3(4). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.mdna3-0060-2014>
- Nishimura, Y., Yoshida, T., Kuronishi, M., Uehara, H., Ogata, H., & Goto, S. (2017). ViPTree: The viral proteomic tree server. *Bioinformatics*, 33(15), 2379–2380. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx157>
- Nováček, J., Šiborová, M., Benešík, M., Pantůček, R., Doškař, J., & Plevka, P. (2016). Structure and genome release of Twort-like Myoviridae phage with a double-layered baseplate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(33), 9351–9356. <https://doi.org/10.1073/pnas.1605883113>
- Nunney, L., Schuenzel, E. L., Scally, M., Bromley, R. E., & Stouthamerc, R. (2014). Large-scale intersubspecific recombination in the plant-pathogenic bacterium *Xylella fastidiosa* is associated with the host shift to mulberry. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(10), 3025–3033. <https://doi.org/10.1128/AEM.04112-13>
- Parks, D. H., Imelfort, M., Skennerton, C. T., Hugenholtz, P., & Tyson, G. W. (2015). CheckM: Assessing the quality of microbial genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes. *Genome Research*, 25(7), 1043–1055. <https://doi.org/10.1101/gr.186072.114>
- Peltier, J., Hamiot, A., Garneau, J. R., Boudry, P., Maikova, A., Hajnsdorf, E., Fortier, L. C., Dupuy, B., & Soutourina, O. (2020). Type I toxin-antitoxin systems contribute to the maintenance of mobile genetic elements in *Clostridioides difficile*. *Communications Biology*, 3(1). <https://doi.org/10.1038/s42003-020-01448-5>
- Petrovski, S., Dyson, Z. A., Seviour, R. J., & Tillett, D. (2012). Small but Sufficient: the Rhodococcus Phage RRH1 Has the Smallest Known Siphoviridae Genome at 14.2 Kilobases. *Journal of Virology*, 86(1), 358–363. <https://doi.org/10.1128/jvi.05460-11>
- Phale, P. S., Shah, B. A., & Malhotra, H. (2019). Variability in assembly of degradation operons for naphthalene and its derivative, carbaryl, suggests mobilization through horizontal gene transfer. In *Genes* (Vol. 10, Issue 8). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/genes10080569>

- Potnis, N., Kandel, P. P., Merfa, M. V., Retchless, A. C., Parker, J. K., Stenger, D. C., Almeida, R. P. P., Bergsma-Vlami, M., Westenberg, M., Cobine, P. A., & De La Fuente, L. (2019). Patterns of inter- and intrasubspecific homologous recombination inform eco-evolutionary dynamics of *Xylella fastidiosa*. *ISME Journal*, *13*(9), 2319–2333. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0423-y>
- Principi, N., Silvestri, E., & Esposito, S. (2019). Advantages and limitations of bacteriophages for the treatment of bacterial infections. In *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 10, Issue MAY). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00513>
- Prysak, M. H., Mozdierz, C. J., Cook, A. M., Zhu, L., Zhang, Y., Inouye, M., & Woychik, N. A. (2009). Bacterial toxin YafQ is an endoribonuclease that associates with the ribosome and blocks translation elongation through sequence-specific and frame-dependent mRNA cleavage. *Molecular Microbiology*, *71*(5), 1071–1087. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2008.06572.x>
- Quintiliani, R., & Courvalin, P. (1996). Characterization of Tn1547, a composite transposon flanked by the IS16 and IS256-like elements, that confers vancomycin resistance in *Enterococcus faecalis* BM428 1 (Glycopeptide; inverted repeat; TnI0; Tn4001; transposase; uanB). *Gene*, *172*(1), 1–8. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(96\)00110-2](https://doi.org/10.1016/0378-1119(96)00110-2)
- Rajabal, V., Ghaly, T. M., Egidi, E., Ke, M., Penesyian, A., Qi, Q., Gillings, M. R., & Tetu, S. G. (2023). Exploring the role of mobile genetic elements in shaping plant–bacterial interactions for sustainable agriculture and ecosystem health. *Plants People Planet*, *6*, 408–420. <https://doi.org/10.1002/ppp3.10448>
- Ramisetty, B. C. M., & Sudhakari, P. A. (2019). Bacterial “grounded” prophages: Hotspots for genetic renovation and innovation. *Frontiers in Genetics*, *10*(FEB). <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00065>
- Rankin, D. J., Rocha, E. P. C., & Brown, S. P. (2011). What traits are carried on mobile genetic elements, and why. In *Heredity* (Vol. 106, Issue 1, pp. 1–10). <https://doi.org/10.1038/hdy.2010.24>
- Ranveer, S. A., Dasriya, V., Ahmad, M. F., Dhillon, H. S., Samtiya, M., Shama, E., Anand, T., Dhewa, T., Chaudhary, V., Chaudhary, P., Behare, P., Ram, C., Puniya, D. V., Khedkar, G. D., Raposo, A., Han, H., & Puniya, A. K. (2024). Positive and negative aspects of bacteriophages and their immense role in the food chain. In *npj Science of Food* (Vol. 8, Issue 1). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41538-023-00245-8>
- Rapicavoli, J., Ingel, B., Blanco-Ulate, B., Cantu, D., & Roper, C. (2018). *Xylella fastidiosa*: an examination of a re-emerging plant pathogen. *Molecular Plant Pathology*, *19*(4), 786–800. <https://doi.org/10.1111/mpp.12585>

- Razavi, M., Kristiansson, E., Flach, C.-F., & Larsson, D. G. J. (2020). The Association between Insertion Sequences and Antibiotic Resistance Genes. *MSphere*, 5(5). <https://doi.org/10.1128/msphere.00418-20>
- Reyes, J. A., Melano, R., Cárdenas, P. A., & Trueba, G. (2020). Mobile genetic elements associated with carbapenemase genes in South American Enterobacterales. In *Brazilian Journal of Infectious Diseases* (Vol. 24, Issue 3, pp. 231–238). Elsevier Editora Ltda. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2020.03.002>
- Rice, S. A., Tan, C. H., Mikkelsen, P. J., Kung, V., Woo, J., Tay, M., Hauser, A., McDougald, D., Webb, J. S., & Kjelleberg, S. (2009). The biofilm life cycle and virulence of *Pseudomonas aeruginosa* are dependent on a filamentous prophage. *ISME Journal*, 3(3), 271–282. <https://doi.org/10.1038/ismej.2008.109>
- Robinson, O., Dylus, D., & Dessimoz, C. (2016). Phylo.io: Interactive Viewing and Comparison of Large Phylogenetic Trees on the Web. *Molecular Biology and Evolution*, 33(8), 2163–2166. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw080>
- Rogers, E. E., & Stenger, D. C. (2012). A Conjugative 38 kB Plasmid Is Present in Multiple Subspecies of *Xylella fastidiosa*. *PLoS ONE*, 7(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052131>
- Roper, M. C., Greve, L. C., Warren, J. G., Labavitch, J. M., & Kirkpatrick, B. C. (2007). *Xylella fastidiosa* Requires Polygalacturonase for Colonization and Pathogenicity in *Vitis vinifera* Grapevines. / *411 MPMI*, 20(4), 411–419. <https://doi.org/10.1094/MPMI>
- Ross, K., Varani, A. M., Snesrud, E., Huang, H., Alvarenga, D. O., Zhang, J., Wu, C., McGann, P., & Chandlere, M. (2021). TnCentral: a Prokaryotic Transposable Element Database and Web Portal for Transposon Analysis. *MBio*, 12(5). <https://doi.org/10.1128/mBio.02060-21>
- Roux, S., Krupovic, M., Daly, R. A., Borges, A. L., Nayfach, S., Schulz, F., Sharrar, A., Matheus Carnevali, P. B., Cheng, J. F., Ivanova, N. N., Bondy-Denomy, J., Wrighton, K. C., Woyke, T., Visel, A., Kyrpides, N. C., & Eloë-Fadrosh, E. A. (2019). Cryptic inoviruses revealed as pervasive in bacteria and archaea across Earth's biomes. *Nature Microbiology*, 4(11), 1895–1906. <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0510-x>
- Rutherford, K., Yuan, P., Perry, K., Sharp, R., & Van Duyne, G. D. (2013). Attachment site recognition and regulation of directionality by the serine integrases. *Nucleic Acids Research*, 41(17), 8341–8356. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt580>
- Scarpari, L. M., Lambais, M. R., Silva, D. S., Carraro, D. M., & Carrer, H. (2003). Expression of putative pathogenicity-related genes in *Xylella fastidiosa* grown at low and high cell density

- conditions in vitro. *FEMS Microbiology Letters*, 222(1), 83–92. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00251-9](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00251-9)
- Schneider, K., Mourits, M., van der Werf, W., & Lansink, A. O. (2021). On consumer impact from *Xylella fastidiosa* subspecies pauca. *Ecological Economics*, 185. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2021.107024>
- Schneider, K., Van Der Werf, W., Cendoya, M., Mourits, M., Navas-Cortés, J. A., Cortés, C., Vicent, A., & Lansink, A. O. (2020). Impact of *Xylella fastidiosa* subspecies pauca in European olives. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 117(17), 9250–9259. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3672794>.y
- Scortichini, M. (2022). The Epidemiology and Control of “Olive Quick Decline Syndrome” in Salento (Apulia, Italy). In *Agronomy* (Vol. 12, Issue 10). MDPI. <https://doi.org/10.3390/agronomy12102475>
- Sekulovic, O., Meessen-Pinard, M., & Fortier, L. C. (2011). Prophage-stimulated toxin production in *Clostridium difficile* NAP1/027 lysogens. *Journal of Bacteriology*, 193(11), 2726–2734. <https://doi.org/10.1128/JB.00787-10>
- Sertedakis, M., Kotsaridis, K., Tsakiri, D., Mermigka, G., Dominguez-Ferreras, A., Ntoukakis, V., & Sarris, P. F. (2022). Expression of putative effectors of different *Xylella fastidiosa* strains triggers cell death-like responses in various *Nicotiana* model plants. *Molecular Plant Pathology*, 23(1), 148–156. <https://doi.org/10.1111/mpp.13147>
- Shang, J., Peng, C., Liao, H., Tang, X., & Sun, Y. (2023). PhaBOX: A web server for identifying and characterizing phage contigs in metagenomic data. *Bioinformatics Advances*, 3(1). <https://doi.org/10.1093/bioadv/vbad101>
- Siguier, P., Gourbeyre, E., & Chandler, M. (2014). Bacterial insertion sequences: Their genomic impact and diversity. *FEMS Microbiology Reviews*, 38(5), 865–891. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12067>
- Siguier, P., Gourbeyre, E., Varani, A., Ton-Hoang, B., & Chandler, M. (2015). Everyman’s Guide to Bacterial Insertion Sequences. *Microbiology Spectrum*, 3(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.mdna3-0030-2014>
- Siguier, P., Perochon, J., Lestrade, L., Mahillon, J., & Chandler, M. (2006). ISfinder: the reference centre for bacterial insertion sequences. *Nucleic Acids Research*, 34(Database issue). <https://doi.org/10.1093/nar/gkj014>

- Sultan, I., Rahman, S., Jan, A. T., Siddiqui, M. T., Mondal, A. H., & Haq, Q. M. R. (2018). Antibiotics, resistome and resistance mechanisms: A bacterial perspective. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 9, Issue SEP). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02066>
- Suzuki, S., Yoshikawa, M., Imamura, D., Abe, K., Eichenberger, P., & Sato, T. (2020). Compatibility of Site-Specific Recombination Units between Mobile Genetic Elements. *IScience*, 23(1). <https://doi.org/10.1016/j.isci.2019.100805>
- Thabet, M. A., Penadés, J. R., & Haag, A. F. (2023). The ClpX protease is essential for inactivating the CI master repressor and completing prophage induction in *Staphylococcus aureus*. *Nature Communications*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-023-42413-0>
- Thorne, E. T., Stevenson, J. F., Rost, T. L., Labavitch, J. M., & Matthews, M. A. (2006). Pierce's Disease Symptoms: Comparison with Symptoms of Water Deficit and the Impact of Water Deficits. *J Enol Vitic*, 57, 1. <https://doi.org/10.5344/ajev.2006.57.1.1>
- Uceda-Campos, G., Feitosa-Junior, O. R., Santiago, C. R. N., Pierry, P. M., Zaini, P. A., de Santana, W. O., Martins-Junior, J., Barbosa, D., Digiampietri, L. A., Setubal, J. C., & da Silva, A. M. (2022). Comparative Genomics of *Xylella fastidiosa* Explores Candidate Host-Specificity Determinants and Expands the Known Repertoire of Mobile Genetic Elements and Immunity Systems. *Microorganisms*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050914>
- Udaondo, Z., Abram, K. Z., Kothari, A., & Jun, S. R. (2022). Insertion sequences and other mobile elements associated with antibiotic resistance genes in *Enterococcus* isolates from an inpatient with prolonged bacteraemia. *Microbial Genomics*, 8(8). <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000855>
- Ul Haq, I., Chaudhry, W. N., Akhtar, M. N., Andleeb, S., & Qadri, I. (2012). Bacteriophages and their implications on future biotechnology: A review. In *Virology Journal* (Vol. 9). <https://doi.org/10.1186/1743-422X-9-9>
- Vale, F. F., Lehours, P., & Yamaoka, Y. (2022). Editorial: The Role of Mobile Genetic Elements in Bacterial Evolution and Their Adaptability. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 13, p. 849667). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.849667>
- Varani, A., He, S., Siguier, P., Ross, K., & Chandler, M. (2021). The IS6 family, a clinically important group of insertion sequences including IS26. In *Mobile DNA* (Vol. 12, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13100-021-00239-x>
- Wagner, A. (2006). Cooperation is fleeting in the world of transposable elements. *PLoS Computational Biology*, 2(12), 1522–1529. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.0020162>

- Weisberg, A. J., & Chang, J. H. (2023). *Mobile Genetic Element Flexibility as an Underlying Principle to Bacterial Evolution*. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-032521>
- Weisberg, A. J., Pearce, E., Kramer, C. G., Chang, J. H., & Clarke, C. R. (2023). Diverse mobile genetic elements shaped the evolution of *Streptomyces* virulence. *Microbial Genomics*, 9(11). <https://doi.org/10.1099/mgen.0.001127>
- Wendling, C. C., Refardt, D., & Hall, A. R. (2021). Fitness benefits to bacteria of carrying prophages and prophage-encoded antibiotic-resistance genes peak in different environments. *Evolution*, 75(2), 515–528. <https://doi.org/10.1111/evo.14153>
- Wishart, D. S., Han, S., Saha, S., Oler, E., Peters, H., Grant, J. R., Stothard, P., & Gautam, V. (2023). PHASTEST: Faster than PHASTER, better than PHAST. *Nucleic Acids Research*, 51(W1), W443–W450. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad382>
- Xie, Z., & Tang, H. (2017). ISEScan: automated identification of insertion sequence elements in prokaryotic genomes. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 33(21), 3340–3347. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx433>
- Zhu, Y., Shang, J., Peng, C., & Sun, Y. (2022). Phage family classification under Caudoviricetes: A review of current tools using the latest ICTV classification framework. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1032186. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1032186>
- Zünd, M., Ruscheweyh, H. J., Field, C. M., Meyer, N., Cuenca, M., Hoces, D., Hardt, W. D., & Sunagawa, S. (2021). High throughput sequencing provides exact genomic locations of inducible prophages and accurate phage-to-host ratios in gut microbial strains. *Microbiome*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01033-w>

## 8. ANEXOS

### Anexo 1.

**Tabla S1.** Características generales de los genomas utilizados de *Xylella fastidiosa*

Subesp.	Cepa	Assembly accession	Estado del ensamblaje	CheckM integrid. %	CheckM contam. %	Tamaño de genoma
Fastidiosa	Temecula1	GCA_000007245	Completo	97.98	0.28	2.519.802
	M23	GCA_000019765	Completo	98.21	0.28	2.535.690
	CFBP8351	GCA_028228155.1	Completo	98.21	0.17	2.534.856
	IVIA5235	GCA_003515915	Completo	98.21	0.17	2.537.917
	CFBP8071	GCA_004016295	Contig	97.81	0.21	2.484.287
	Bakersfield-1	GCA_009664125	Completo	98.21	0.17	2.537.329
	Bakersfield-11	GCA_015476015	Completo	98.21	0.17	2.554.506
	Bakersfield-13	GCA_015475995	Completo	98.21	0.17	2.537.289
	Bakersfield-14	GCA_015475975	Completo	98.16	0.17	2.536.882
	Bakersfield-8	GCA_015476035	Completo	98.21	0.17	2.553.893
	XYL2153/18	GCA_014856785	Scaffold	95.28	0.17	2.484.994
	XYL1732	GCA_003973705	Contig	98.02	0.17	2.444.109
	XYL2055	GCA_003973695	Contig	98.21	0.37	2.456.780
	XYL2107/18	GCA_014856795	Scaffold	95.46	0.3	2.483.447
	Temecula1Star	GCA_006370185	Contig	98.17	0.17	2.454.666
	TemeculaL	GCA_006370155	Scaffold	98.21	0.28	2.536.542
	Stag's Leap	GCA_021459925.1	Completo	98.21	0.17	2.543.277
	GB514	GCA_000148405	Completo	99.18	0.0	2.491.203
	TPD3	GCA_007845655	Contig	97.89	0.38	2.422.083
	TPD4	GCA_007845705	Contig	97.48	0.53	2.427.175
	GV156	GCA_009910885	Contig	94.57	0.17	2.521.515
	GV230	GCA_014249995	Completo	98.21	0.17	2.514.993
	DSM 10026	GCA_900129695	Scaffold	97.84	0.28	2.431.652
	ATCC 35879	GCA_011801475	Completo	97.88	0.28	2.565.504
	CFBP7970	GCA_004016315	Contig	97.84	0.28	2.488.329
	NOB1	GCA_012952075	Scaffold	95.43	0.17	2.418.556
	CFBP8082	GCA_004016375	Contig	98.21	0.17	2.526.675
	VB11	GCA_012952095	Scaffold	95.44	0.17	2.444.001
	OK3	GCA_012952085	Scaffold	95.37	0.28	2.415.390
	WM1-1	GCA_028227275.1	Completo	98.21	0.17	2.514.513
	EB92.1	GCA_000219235	Contig	97.9	0.28	2.475.426
	CFBP8356	GCA_004016415	Scaffold	98.16	0.17	2.536.149
	CFBP8073	GCA_028226975.1	Completo	98.11	0.17	2.669.408
CO33	GCA_001417925	Contig	97.95	0.17	2.681.926	
Ann-1	GCA_000698805	Completo	96.75	0.15	2.750.603	
Mul-MD	GCA_000567985	Contig	97.31	0.1	2.520.555	
MUL0034	GCA_000698825	Completo	98.2	0.21	2.642.186	
Multiplex	XYL1981	GCA_009669455	Contig	95.96	0.21	2.554.510
	XYL1968/18	GCA_014856935	Contig	95.76	0.17	2.518.610
	XYL1752	GCA_009669505	Contig	95.89	0.34	2.579.375
	XF3348	GCA_009669515	Contig	95.92	0.79	2.573.395
	Fillmore	GCA_012974105	Completo	97.87	0.17	2.526.544
	CFBP8417	GCA_001971505	Contig	97.83	0.17	2.504.981
	Dixon	GCA_000166835	Scaffold	97.87	0.17	2.725.944

IAS-AXF-235T10	GCA_009669465	Contig	95.89	1.18	2.550.209
IAS-AXF-212H7	GCA_009669445	Contig	95.97	0.64	2.522.542
IVIA6731	GCA_009669375	Contig	96.49	0.66	2.598.893
IVIA6586-2	GCA_009669335	Contig	95.97	0.48	2.578.155
ESVL	GCA_004023385	Contig	98.19	0.28	2.554.495
IVIA5901	GCA_004023395	Completo	97.74	0.35	2.559.157
Griffin-1	GCA_000466025	Contig	98.46	0.0	2.387.314
M12	GCA_000019325	Completo	98.06	0.17	2.475.130
RedOak2	GCA_015475935	Completo	97.86	0.17	2.476.446
CFBP8416	GCA_001971475.2	Completo	97.72	0.19	2.506.765
RAAR6Butte	GCA_009695485	Contig	95.95	0.19	2.466.226
LM10	GCA_012974145	Completo	97.3	0.17	2.669.650
RH1	GCA_012974125	Completo	97.91	0.82	2.678.425
Riv5	GCA_015475955	Completo	97.3	0.17	2.499.994
RAAR14plum327	GCA_009695495	Contig	95.4	0.31	2.543.559
TOS4	GCA_007713905	Contig	98.19	0.17	2.445.114
TOS14	GCA_007713995	Contig	98.19	0.17	2.445.518
Ma151	GCA_018449095	Contig	95.82	0.17	2.416.231
TOS5	GCA_007713945	Contig	98.19	0.17	2.443.867
CFBP8078	GCA_004016365	Contig	98.17	0.22	2.596.546
ATCC35871	GCA_000428665	Scaffold	98.66	0.24	2.413.131
sycamoreSy-VA	GCA_000732705	Contig	97.9	0.37	2.475.880
AlmaEM3	GCA_018069645	Completo	98.05	0.17	2.487.451
BB01	GCA_001886315	Scaffold	98.04	0.17	2.511.521
BB08-1	GCA_018069665	Completo	98.66	0.17	2.553.631
9a5c	GCA_000006725	Completo	97.58	0.17	2.679.306
B111	GCA_013283685	Scaffold	99.64	0.18	2.682.276
CVC0251	GCA_001549765	Contig	96.99	0.17	2.740.246
XRB	GCA_013283695	Scaffold	96.97	0.17	2.714.643
J1a12	GCA_001456235	Completo	94.1	0.05	2.788.789
CVC0256	GCA_001549745	Contig	95.31	0.17	2.702.144
11399	GCA_001684415	Contig	96.91	0.17	2.736.060
U24D	GCA_001456275	Completo	96.04	0.17	2.681.334
Fb7	GCA_001456335	Completo	98.78	0.0	2.659.912
3124	GCA_001456195	Completo	97.04	0.17	2.748.592
32	GCA_000506405	Contig	97.37	0.17	2.607.546
6c	GCA_000506905	Contig	97.22	0.17	2.603.975
Pr8x	GCA_001456295	Completo	96.64	0.17	2.666.240
COF0324	GCA_001549815	Contig	97.45	0.18	2.772.556
Hib4	GCA_001456315	Completo	95.29	2.16	2.813.297
CoDiRO	GCA_000811965	Contig	97.39	0.17	2.542.932
De Donno	GCA_002117875	Completo	97.39	0.17	2.508.465
Salento-1	GCA_002954185	Completo	91.74	0.04	2.508.097
Salento-2	GCA_002954205	Completo	93.96	0.05	2.508.296
OLS0478	GCA_001549755	Contig	97.4	0.17	2.555.411
OLS0479	GCA_001549735	Contig	97.34	0.21	2.539.963
COF0407	GCA_001549825	Contig	97.28	0.17	2.538.474
PD7202	GCA_006370235	Contig	95.3	0.17	2.629.977
PD7211	GCA_006370175	Contig	97.21	0.13	2.651.656
CFBP8072	GCA_001469345	Scaffold	96.71	0.19	2.496.662

Pauca

## Anexo 2.

**Tabla S2.** Análisis de distancias entre secuencias IS completas en genomas de *Xylella fastidiosa*

S.p.	Cepa	IS200-605 (C)	IS	Distancia (kb)	IS607 (C)	IS	Distancia (kb)	
<i>Fastidiosa</i>	CFBP8071	2	IS1-IS2	N/D	-	-	-	
	XYL2153/18	2	IS1-IS2	N/D	-	-	-	
	XYL1732	2	IS1-IS2	N/D	-	-	-	
	XYL2055	2	IS1-IS2	N/D	-	-	-	
	XYL2107/18	2	IS1-IS2	N/D	-	-	-	
	TemeculaL	2	IS1-IS2	N/D	-	-	-	
	DSM 10026	3	IS1-IS2	N/D	-	-	-	
				IS2-IS3	N/D			
	CFBP7970	3	IS1-IS2	N/D	-	-	-	
				IS2-IS3	N/D			
	CFBP8082	3	IS1-IS2	N/D	-	-	-	
				IS2-IS3	N/D			
	EB92.1	3	IS1-IS2	21,073	-	-	-	
				IS2-IS3	N/D			
	CFBP8073	3	IS1-IS2	3,267	-	-	-	
				IS2-IS3	162,911			
	Ann-1	2	IS1-IS2	920,273	-	-	-	
	Mul-MD	2	IS1-IS2	N/D	-	-	-	
	MUL0034	2	IS1-IS2	295,558	-	-	-	
	<i>Multiplex</i>	Fillmore	4	IS1-IS2	319,200	2	IS1-IS2	885,314
			IS2-IS3	565,535				
			IS3-IS4	340,147				
Dixon		5	IS1-IS2	321,664	2	IS1-IS2	N/D	
			IS2-IS3	N/D				
			IS3-IS4	N/D				
			IS4-IS5	N/D				
IVIA5901		4	IS1-IS2	578,353	2	IS1-IS2	326,267	
			IS2-IS3	326,348				
			IS3-IS4	344,155				
M12		4	IS1-IS2	316,795	2	IS1-IS2	920,670	
			IS2-IS3	603,296				
			IS3-IS4	339,589				
RedOak2		4	IS1-IS2	318,133	2	IS1-IS2	921,985	
			IS2-IS3	603,273				
			IS3-IS4	339,590				
CFBP8416		4	IS1-IS2	321,676	2	IS1-IS2	886,819	
			IS2-IS3	564,564				
			IS3-IS4	343,051				
LM10		4	IS1-IS2	363,621	2	IS1-IS2	1.026,133	
		IS2-IS3	661,933					
		IS3-IS4	382,648					
RH1	4	IS1-IS2	361,839	2	IS1-IS2	983,844		
		IS2-IS3	621,426					
		IS3-IS4	342,090					
Riv5	4	IS1-IS2	322,144	2	IS1-IS2	927,486		
		IS2-IS3	604,763					
		IS3-IS4	341,607					
Ma151	2	IS1-IS2	N/D	-	-	-		
CFBP8078	2	IS1-IS2	N/D	-	-	-		
AlmaEM3	3	IS1-IS2	560,450	-	-	-		
		IS1-IS3	348,504					
BB01	2	IS1-IS2	N/D	-	-	-		
BB08-1	8	IS1-IS2	629,211	4	IS1-IS2	4,185		
		IS2-IS3	36,259					
		IS3-IS4	1,093		IS2-IS3	277,547		
		IS4-IS5	273,571					
		IS5-IS6	0,933					
		IS6-IS7	347,258		IS3-IS4	N/D		

<i>Pauca</i>	9a5c	2	IS1-IS2	185,647	-	-	-
	B111	3	IS1-IS2	N/D	-	-	-
			IS1-IS3	N/D			
	CVC0251	3	IS1-IS2	N/D	-	-	-
			IS1-IS3	N/D			
	XRB	2	IS1-IS2	N/D	-	-	-
	J1a12	2	IS1-IS2	184,890	-	-	-
	CVC0256	3	IS1-IS2	N/D	-	-	-
			IS1-IS3	N/D			
	11399	2	IS1-IS2	N/D	-	-	-
	U24D	2	IS1-IS2	185,642	-	-	-
	Fb7	2	IS1-IS2	182,452	-	-	-
	3124	2	IS1-IS2	144,004	-	-	-
	6c	2	IS1-IS2	184,487	-	-	-
	Pr8x	2	IS1-IS2	185,628	-	-	-
	COF0324	2	IS1-IS2	N/D	-	-	-
	Hib4	2	IS1-IS2	181,981	-	-	-
	CoDiRO	2	IS1-IS2	141,787	-	-	-
	De Donno	2	IS1-IS2	141,794	-	-	-
	Salento-1	2	IS1-IS2	141,747	-	-	-
	Salento-2	2	IS1-IS2	141,753	-	-	-
	OLS0478	3	IS1-IS2	141,731	-	-	-
			IS2-IS3	N/D			
	OLS0479	2	IS1-IS2	N/D	-	-	-
	COF0407	2	IS1-IS2	N/D	-	-	-
	PD7202	3	IS1-IS2	141,719	-	-	-
			IS2-IS3	N/D			
PD7211	2	IS1-IS2	141,941	-	-	-	

N/D: No se puede determinar-IS en diferentes contigs. Cuadros de gris: Distancias cortas entre IS