



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y  
APLICADAS

Centro de Investigación en Dinámica Celular  
Área terminal de Bioquímica y Biología Molecular

**“Estudio integral ómico de los mecanismos de defensa  
en *Solanum lycopersicum* durante la infección por  
Begomovirus”.**

## **TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**LICENCIADO EN CIENCIAS CON ÁREA TERMINAL EN  
BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR**

Presenta:

**CINTIA BEATRIZ PÉREZ LÓPEZ**

Directora de Tesis:  
Dra. Sonia Dávila Ramos

Cuernavaca, Morelos

Mayo, 2023.

El Comité Tutorial que participó en el desarrollo de este proyecto fueron:

Dr. Ramón Antonio González García-Conde

CIDC, UAEM

Dra. Verónica Lira Ruan

CIDC, UAEM

Dra. Sonia Dávila Ramos

CIDC, UAEM

Dr. Hugo Gildardo Castelán Sánchez

CONACyT

Dr. Adrián Ochoa Leyva

IBT, UNAM

## **AGRADECIMIENTOS**

Estimados miembros del comité tutorial, a través de estas líneas, quisiera expresar mi sincero agradecimiento por su dedicación y compromiso durante el proceso de evaluación de mi tesis. Sus comentarios, sugerencias y críticas constructivas han sido de gran ayuda para mejorar mi trabajo y hacerlo más sólido y completo. Gracias por su labor y por hacer posible que este proyecto de tesis llegara a su fin con éxito.

Agradezco a mis abuelos por ser un modelo de inspiración en mi vida. A mi abuela quien abrió el camino para las mujeres de ciencia en nuestra familia y dio sentido a mi curiosidad interior, por haber sido una pionera en su campo, y por haber demostrado que el género no debe ser una limitación para el éxito en la ciencia.

La universidad puede ser abrumadora, pero con amigos al lado, se vuelve más fácil, desde sobrevivir a las largas noches de estudio en la universidad hasta cambiar tu vida. Espero que nuestra amistad continúe creciendo a lo largo de los años, y que siempre pueden contar conmigo como yo he contado con ustedes. He de recordarles también que su influencia ha dejado una huella profunda en mi vida, y siempre recordaré los momentos que hemos compartido. Gracias una vez más por su amistad, apoyo, guía y porque creyeron en mí desde el principio, cuando yo aún no lo hacía.

LARF, te agradezco por todo el amor que me has brindado en sus diversas formas. Tus terapias sin horario, tus aventuras y, sobre todo, tu presencia incondicional en mi vida ha significado mucho para mí. Desde que nos conocimos, hemos crecido juntos, evolucionando como personas y como amigos. Siempre has estado ahí para mí en los momentos difíciles, ofreciéndome tu apoyo y tu sabiduría, y compartiendo conmigo los buenos momentos. Eres un verdadero amigo en el sentido más profundo de la palabra, y me siento afortunada de tenerte en mi vida.

*“Call me anytime that you see the lightning*

*Don't you be alone, you can always find me”*

LARO, aunque al inicio sólo nos conocíamos por las clases a través de Zoom, *mein bester Freund*, has llegado a ser un verdadero amigo para mí. Gracias por compartir tu historia conmigo y ahora permitirme ser parte de ella. Además de ser una fuente constante de inspiración en mi vida. Tu dedicación por tus sueños y tu compañía han sido una gran motivación para mí, por siempre estar dispuesto a brindar apoyo, actos y palabras de aliento cuando lo necesito sin importar la distancia. Espero que nuestra amistad siga creciendo y que podamos compartir muchas más aventuras juntos, ya sea en línea o en persona.

Agradezco a mi curioso explorador de los rincones más escondidos, que, con su suave ronroneo y su presencia reconfortante, me ha ayudado a mantener la calma en los momentos de estrés y me ha brindado su amor incondicional en todo momento. por haberme enseñado la importancia de disfrutar de las pequeñas cosas.

Gracias a todas las personas que me apoyaron en los múltiples emprendimientos a lo largo de mi carrera. Su ayuda ha sido fundamental para alcanzar mis objetivos y superar los desafíos que he enfrentado.

Nuevamente, gracias a todos aquellos que han sido parte de mi camino y han contribuido a mi crecimiento profesional y personal.

## DEDICATORIAS

En memoria de aquel que dejó una huella imborrable en mi vida, dedico este trabajo a mi abuelo. Aunque, tu partida llegó mientras yo trabajaba en esta tesis, tus enseñanzas, amor y apoyo que nunca se apagará. Abuelo, "sigue volando alto Ilhuicahua", te amo y gracias. Te dedico este proyecto como una forma de honrar tu legado y contribución a mi vida. Descansa en paz

También dedico este trabajo al Sr. Kary, mi elegante cazador de suaves pasos, quien me acompañó y llenó de amor hasta el último momento en el que cerró sus ojitos. Tu presencia y tu afecto significaron mucho para mí. ¡Gracias por todo, mi ronroneante amigo de cuatro patas!

Finalmente, dedico este trabajo a mis seres queridos que aún están aquí: a mi hermano CAPL, por siempre escucharme, apoyarme, alentarme y estar conmigo. A mis papás ELB y RAPM, por darme todo lo que han podido a lo largo de los años. Sin su amor, su apoyo y su aliento, este proyecto no hubiera sido posible. Gracias por todo.

Con todo mi cariño y aprecio, CBPL.

## RESUMEN

Las plantas tienen mecanismos específicos para combatir cada tipo de patógeno que las ataca. Debido a la gran importancia económica del cultivo de jitomate (*Solanum lycopersicum*) y al impacto de las pérdidas generadas por las infecciones virales, este trabajo se enfocó en investigar la defensa del jitomate contra los begomovirus.

Actualmente, se analizan datos masivos mediante las ómicas, lo que permite integrar un panorama enriquecido de cualquier pregunta biológica. Con el desarrollo de la metagenómica del tipo *shotgun* permite conocer las poblaciones virales de un ambiente sin la necesidad de tener un conocimiento previo de las secuencias que lo componen.

Con el objetivo de conocer los posibles mecanismos de defensa que el jitomate (*Solanum lycopersicum*) podría utilizar de manera potencial ante una infección por begomovirus, se emplearon herramientas bioinformáticas para integrar los datos multiómicos de su genoma y viroma.

En el presente trabajo, la genómica permitió conocer los genes en diferentes especies de jitomate con potencial para participar en la respuesta inmune. Por su parte, los metagenomas dilucidaron la coevolución planta-virus.

**ÍNDICE GENERAL**

<b>AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>III</b>
<b>DEDICATORIAS .....</b>	<b>VI</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>VII</b>
<b>ÍNDICE GENERAL.....</b>	<b>VIII</b>
<b>LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS.....</b>	<b>XI</b>
<b>LISTA DE TABLAS.....</b>	<b>X</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>XI</b>
<b>CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
1.1    Generalidades del jitomate.....	1
1.1.1 <i>Biología del jitomate .....</i>	<i>1</i>
1.1.2 <i>Importancia económica.....</i>	<i>3</i>
1.1.3 <i>El jitomate como modelo de estudio.....</i>	<i>5</i>
1.1.4 <i>El genoma del jitomate .....</i>	<i>6</i>
1.1.5 <i>Sistema inmune de las plantas.....</i>	<i>7</i>
1.2    Generalidades de los virus.....	12
1.2.1 <i>Familias virales que infectan a las plantas .....</i>	<i>13</i>
1.2.2 <i>Estructura viral de los Geminivirus .....</i>	<i>15</i>
1.2.3 <i>Genoma y ciclo de replicación.....</i>	<i>16</i>



1.2.4	<i>Pérdidas económicas causadas por virus</i> .....	22
1.3	Vector: La mosca blanca .....	24
1.3.1	<i>Ciclo de replicación viral en la mosca blanca</i> .....	27
1.4	Ciencias ómicas .....	31
1.4.1	<i>Genómica</i> .....	31
1.4.2	<i>Transcriptómica</i> .....	32
1.4.3	<i>Proteómica</i> .....	32
1.4.4	<i>Metagenómica</i> .....	32
<b>CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....</b>		<b>35</b>
2.1	Mecanismos de defensa de plantas contra virus .....	35
2.1.1	<i>Mecanismos de defensa del jitomate contra virus</i> .....	36
2.1.2	<i>Begomovirus de jitomate</i> .....	38
2.2	Análisis integrativo multi-ómico en jitomate.....	39
<b>CAPÍTULO III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>		<b>41</b>
3.1	Justificación.....	41
3.2	Hipótesis .....	42
3.3	Objetivos .....	42
3.3.1	<i>General</i> .....	42
3.3.2	<i>Particulares</i> .....	42
<b>CAPÍTULO IV. METODOLOGÍA.....</b>		<b>44</b>

	X
4.1 Enfoque genómico .....	44
4.2 Enfoque metagenómico .....	46
<b>CAPÍTULO V. RESULTADOS Y DISCUSIONES .....</b>	<b>48</b>
5.1 Resultados genómicos .....	48
5.2 Resultados metagenómicos .....	57
<b>CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES .....</b>	<b>73</b>
<b>CAPÍTULO VII. REFERENCIAS .....</b>	<b>75</b>
<b>MATERIAL COMPLEMENTARIO.....</b>	<b>99</b>

## LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

ABA: Ácido abscísico	DNA: Ácido desoxirribonucleico
AGO: Argonauta	dsDNA: DNA de doble cadena
ATG8: del inglés <i>Autophagy-Related 8</i>	dsRNA: RNA de doble cadena
ATP: Adenosin trifosfato	ETI: inmunidad desencadenada por el efector (del inglés <i>effector-triggered immunity</i> )
Avr-R: Interacción del efector reconocido (genes avirulencia o avr)	ETS: Susceptibilidad desencadenada por efectores (del inglés <i>effector-triggered susceptibility</i> )
BACs: Cromosomas artificiales bacterianos ( <i>Bacterial artificial chromosomes</i> )	Genes R: Genes de resistencia del huésped
BG: Branginoesteroides	HR: Respuesta de muerte celular hipersensible
CK: Citocininas	IAA: Ácido indolacético (del inglés <i>Indole-3-acetic acid, IAA, 3-IAA</i> )
CP: Proteínas de la cápside	IR: Región intergénica
CR: Región común	JA: Ácido jasmónico
DCL: Proteínas tipo Dicer, por sus siglas en inglés <i>Dicer-like</i>	Kb: Kilo bases
DEGs: Genes expresados diferencialmente	
DICER: Proteínas DICER	

KEGG: *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*

LIR: Región intergénica larga

m: Metros

m<sup>2</sup>: Metro cuadrado

MAPK: Proteínas cinasas activadas por mitógenos

MB: Mega bases

miRNA: microRNA

ML: Máxima verosimilitud

MP: Proteínas de movimiento

NC: No circulante

NCBI: Por sus siglas en inglés *National Center for Biotechnology Information*

nm: Nanómetros

NSP: proteína de transbordador nuclear (del inglés *nuclear shuttle protein*)

ORF: marco abierto de lectura o marco de lectura abierta (del inglés *open reading frame*)

P/MAMP: patrones moleculares asociados a patógenos o moléculas (del inglés *pathogen- or molecule-associated molecular patterns*)

pb: Pares de bases

PCNA: del inglés *Proliferating cell nuclear antigen*

PRE-CP: Precusores de proteínas de la cápside

PRR: Receptores de reconocimiento de patrones (del inglés *Pattern recognition receptors*)

PTGS: Silenciamiento Génico Post-Transcripcional

PTI: del inglés *Pattern-triggered immunity*

RCR: Mecanismo de círculo rodante

Ren: Proteína potenciadora de la replicación (del inglés *replication enhancer protein*)

Rep: Proteína iniciadora de replicación (del inglés *replication-associated protein*)

RLKs: del inglés *Receptor like kinases*

RNA: Ácido ribonucleico

SA: Ácido salicílico

SCR: *Satellite conserved region*

SGA: Glicoalcaloides esteroideos anti-nutricionales

SIR: del inglés *Short intergenic region*

siRNA: RNA de interferencia corta

SL: Estrigolactonas

SRA: Base de datos *Sequence Read Archive*

ssDNA: DNA de cadena sencilla

ssRNA: RNA de cadena sencilla

SUMO: *Small ubiquitin-like modifier proteins*

TGMV: *Tomato golden mosaic virus*

TGS: Silenciamiento génico transcripcional

TLCYnV: *Tomato leaf curl Yunnan virus*

ToLCV-sat: *Tomato leaf curl virus-satellite*

ToMV: *Tomato mosaic virus*

TrAP: Proteína activadora transcripcional (del inglés *transcriptional activator protein*)

TSWV: *Tomato spotted wilt virus*

TTSS: Sistema de secreción tipo III o T3SS (del inglés *type III secretion system*)

TYLCCNB: del inglés *Tomato yellow leaf curl China betasatellite*

TYLCSV: del inglés *Tomato yellow leaf curl Sardinia virus*

TYLCV: virus de la hoja amarilla rizada del jitomate (del inglés *Tomato yellow leaf curl virus*)

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía del jitomate .....	1
Tabla 2. Ejemplo de algunas familias virales que infectan a plantas. Las iniciales corresponden a fungi (F), planta (P) y animal (A). (Bernardo et al., 2013; Fermin, 2018; R. Jones, 2021; Pérez-Moreno et al., 2008; Roossinck, 2012; Rubio et al., 2020; Sicard et al., 2019; Tao et al., 2013).....	13
Tabla 3. Otros virus transmitidos por la mosca blanca (modificado de Ghosh & Ghanim, 2021). ...	25
Tabla 4. Metada de los siete genomas de jitomates utilizados en el presente trabajo.....	49
Tabla 5. Metadatos de las secuencias del artículo de Rodríguez-Negrete et al., 2019. ....	58
Tabla S6. Lista de genes con sus respectivas vías metabólicas a las que pertenecen, ordenados alfabéticamente por gen.....	99
Tabla S7. Tabla de frecuencia de los 63 genes ortólogos presentes en las siete especies de jitomates. .....	103
Tabla S8. Tabla de los 46 genes ausentes en las siete especies de jitomates.....	105

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Partes de la planta del jitomate. A) Plántula B) Planta con 40 días de crecimiento; C) Hoja; D) Flores; E) Fruto; F) Semillas; G) Esquema general de la planta del jitomate (modificado de Flores et al., 2012; Kimura & Sinha, 2008). .....	2
Figura 2. Ciclo de vida basado en la edad de la planta medido en días. (FAOSTAT, 2022). .....	3
Figura 3. Producción mundial de tomates frescos por continente, datos promedios en el periodo de 1994 a 2021 (FAOSTAT, 2022). .....	4
Figura 4. A) Mapa de enlace de 1952 dónde cada lugar geométrico está rodeado por dibujos de los fenotipos normales y variantes. Las distancias del mapa de interlocus se muestran en unidades de mapa (Griffiths et al., 2012). B) Los 12 cromosomas de <i>S. lycopersicum</i> (modificado de Zhu et al., 2018). .....	7
Figura 5. Síntomas en el jitomate causados por bacterias (mota bacteriana, marchitez manchada, agalla de la corona), hongos (marchitez por <i>Fusarium</i> , oídio, antracnosis), virus (virus del mosaico del jitomate) y nematodos (nudo de la raíz) (Buchanan et al., 2015). .....	8
Figura 6. El modelo de zigzag explica la coevolución entre patógenos y plantas (J. D. G. Jones & Dangl, 2006; J. Jones & Dangl, 2006). .....	9
Figura 7. Los tres niveles de mecanismos celulares en la planta ante el ataque de un patógeno (R. L. Jones et al., 2012). .....	12
Figura 8. Árbol filogenético de los géneros de la familia <i>Geminiviridae</i> (Fiallo-Olivé et al., 2021)...	15
Figura 9. La estructura de los geminivirus. A) Partículas geminadas del virus <i>Maize streak virus</i> . Barra de escala 50 nm. B) Reconstrucción microscópica crioelectrónica de <i>Maize streak virus</i> . Barra de escala 10 nm. C) Modelo atómico completo para las 110 subunidades de la cápside de <i>Ageratum yellow vein virus</i> . (Modificado de Fiallo-Olivé et al., 2021; Hesketh et al., 2018; Zerbini et al., 2017). .....	16
Figura 10. Comparación de las diferentes organizaciones del genoma. Las familias o géneros enlistados son los que presentan diferencias significativas en la organización del genoma, aunque no son todas las familias virales con genomas multipartitas (Sicard et al., 2016). .....	17
Figura 11. Organización de genomas monopartitos (izquierda) y bipartitos (derecha). El código de color de los ORF corresponde a las proteínas codificadas; la horquilla que incluye el origen de la replicación se indica en el IR/LIR del DNA-A y DNA-B respectivamente (Fiallo-Olivé et al., 2021). .....	19
Figura 12. Ciclo de replicación viral (modificado de Hanley-Bowdoin et al., 2013). .....	21
Figura 13. Organización del genoma del betasatélite y la estructura tridimensional de la proteína viral $\beta$ C1 (Mubin et al., 2020). .....	22
Figura 14. Ciclo de vida de la mosca blanca (DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL, 2020). .....	26
Figura 15. La mosca blanca en diferentes estadios en el envés de las hojas del jitomate. ....	27



Figura 16. Ciclo de replicación viral en la mosca blanca. 1 y 2) Glándulas salivales, 8) hemolinfa, 13) estilete y 14) partículas virales (rojo) (modificado de Ghosh & Ghanim, 2021).....	29
Figura 17. Ciencias ómicas y su objeto de estudio (modificada de Amer & Baidoo, 2021) .....	31
Figura 18. Plantas de jitomate infectadas por diferentes begomovirus. A) Virus de la hoja amarilla rizada del jitomate (TYLC). B) Virus del mosaico del pepino (CMV). C) Virus de la clorosis del jitomate (ToCV). D) Virus del torrado del jitomate (ToTV). E) Virus de las manchas por zonas del pelargonio (PZSV). F) Virus marchitez manchada del jitomate (TSWV) (Hanssen & Lapidot, 2012).....	39
Figura 19. Árbol filogenético construido a partir de secuencias de la proteína F-Box de las siete especies de jitomates analizadas en el presente trabajo con su correspondiente foto al lado derecho. Los números en las ramas representan el porcentaje de Bootstrap obtenido a partir de 1000 repeticiones, el grupo externo es <i>S. lycopersicoides</i> (morado), se señala al organismo de referencia <i>S. lycopersicum</i> (negritas).....	48
Figura 20. Tabla del BLAST correspondiente a <i>S.lycopersicum var. cerasiforme</i> . .....	50
Figura 21. Mapa de KEGG de la vía de las hormonas en jitomate ( <i>S. lycopersicum</i> ).....	56
Figura 22. Mapa de las áreas de muestreo correspondientes a cinco regiones ubicadas en diferentes zonas biogeográficas, diferenciadas por colores: Baja California (BC), Sonora (SO), Sinaloa (SI), Colima-Nayarit (CN), y Coahuila-Durango (CD). BC-SQ: Baja California, San Quintín; BC-EN: Baja California, Ensenada; BC-ME: Baja California, Mexicali; SO-OB: Sonora, Obregón; SO-NA: Sonora, Navojoa; SO-HU: Sonora, Huatabampo; SO-RC: Sonora, Rio Colorado; SI-GV: Sinaloa, Guasave; SI-SL: Sinaloa, Sinaloa de Leyva; SI-MO: Sinaloa, Mocorito; SI-PC: Sinaloa, Playa Ceuta; SI-CO: Sinaloa, Concordia; SI-AC: Sinaloa, Agua Caliente; SI-RO: Sinaloa, El Rosario; CN-SO: Colima-Nayarit, Santa Maria del Oro; CN-TE: Colima-Nayarit, Tecomán; CD-TL: Coahuila-Durango, Tlahualilo; CD-LG: Coahuila-Durango, La Goma; CD-TO: Coahuila-Durango, Torreón; CD-PO: Coahuila-Durango, Poanas.....	57
Figura 23. Reporte de METAQUAST de las secuencias del estudio realizado por Rodríguez-Negrete et al. en 2019.....	59
Figura 24. Árbol filogenético de máxima verosimilitud del ORF del DNA-A V1 y AV1 de los begomovirus monopartitas y bipartitas respectivamente que codifican a la proteína CP. Los números en las ramas representan el porcentaje de Bootstrap obtenido a partir de 1000 repeticiones y la barra de escala representa el número de sustituciones por sitio. ....	63
Figura 25. ORF del DNA-A C1 y AC1 que codifican a la proteína REP. Los números en las ramas representan el porcentaje de Bootstrap obtenido a partir de 1000 repeticiones y la barra de escala representa el número de sustituciones por sitio.....	64
Figura 26. ORF del DNA-A C2 y AC2 que codifican a la proteína TrAP. Los números en las ramas representan el porcentaje de Bootstrap obtenido a partir de 1000 repeticiones y la barra de escala representa el número de sustituciones por sitio.....	65

Figura 27. ORF del DNA-A C3 y AC3 que codifican a la proteína REn. Los números en las ramas representan el porcentaje de Bootstrap obtenido a partir de 1000 repeticiones y la barra de escala representa el número de sustituciones por sitio.....	66
Figura 28. ORF del DNA-A C4 y AC4 que codifican a la proteína C4. Los números en las ramas representan el porcentaje de Bootstrap obtenido a partir de 1000 repeticiones y la barra de escala representa el número de sustituciones por sitio.....	67
Figura 29. ORF del DNA-A C5 y AC5 que codifican a la proteína C5. Los números en las ramas representan el porcentaje de Bootstrap obtenido a partir de 1000 repeticiones y la barra de escala representa el número de sustituciones por sitio.....	68
Figura 30. ORF $\beta$ V1 del DNA-B que codifica a la proteína NSP. Los números en las ramas representan el porcentaje de Bootstrap obtenido a partir de 1000 repeticiones y la barra de escala representa el número de sustituciones por sitio.....	69
Figura 31. ORF BC1 del DNA-B que codifica a la proteína MP. Los números en las ramas representan el porcentaje de Bootstrap obtenido a partir de 1000 repeticiones y la barra de escala representa el número de sustituciones por sitio.....	69
Figura 32. Fragmento de una matriz de divergencia para la proteína AC4 de begomovirus bipartitas. Modelo LG+G4. Resaltando el valor mínimo (lila), valor máximo (azul), porcentaje de divergencia (gris). .....	71

## CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Generalidades del jitomate

El jitomate (*Solanum lycopersicum*) se originó y domesticó en Mesoamérica, eventualmente tras la conquista de los españoles en el siglo XVI se extendió al mundo, convirtiéndose en un alimento primordial para la humanidad (Bergougnoux, 2014; Kimura & Sinha, 2008).

#### 1.1.1 Biología del jitomate

Los jitomates pertenecen a la familia *Solanaceae*, la cual tiene aproximadamente 3000 especies, que incluye otras plantas de gran interés comercial como las berenjenas, las papas, los pimientos y el tabaco (Ranjan et al., 2012). Su taxonomía es descrita en la Tabla 1 (Bohs & Olmstead, 1997).

Tabla 1. Taxonomía del jitomate

Phylum	<i>Streptophyta</i>
Clase	<i>Dicotiledóneas</i>
Orden	<i>Sonalanes (Personatae)</i>
Familia	<i>Solanaceae</i>
Género	<i>Solanum</i>
Especie	<i>lycopersicum</i>

Los jitomates son plantas dicotiledóneas, se consideran perennes ya que en promedio viven más de dos años y se pueden obtener de dos a tres cosechas (Hanssen & Lapidot, 2012; López Marin, 2017). La anatomía de la planta se describe en la Fig. 1 (Sistema Nacional de Vigilancia y Monitoreo de plagas, 2022).

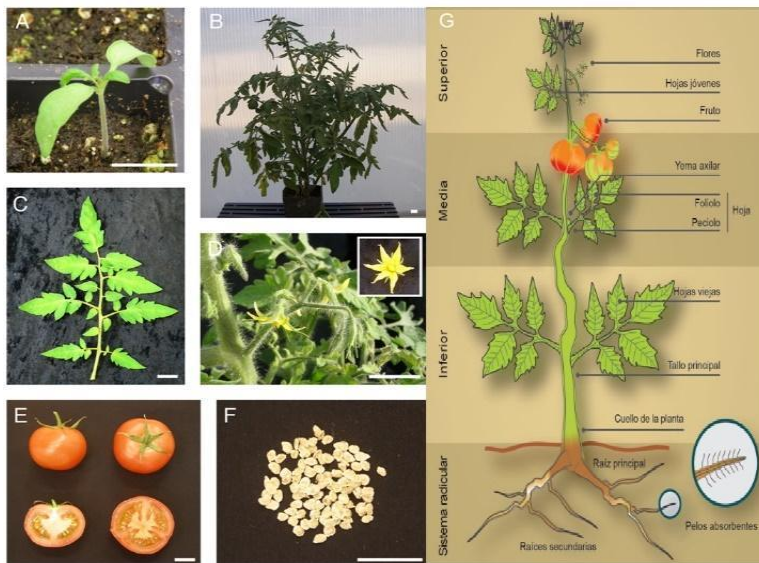


Figura 1. Partes de la planta del jitomate. A) Plántula B) Planta con 40 días de crecimiento; C) Hoja; D) Flores; E) Fruto; F) Semillas; G) Esquema general de la planta del jitomate (modificado de Flores et al., 2012; Kimura & Sinha, 2008).

El ciclo de vida del jitomate abarca cinco etapas: plántula, crecimiento vegetativo, floración, fructificación y maduración. Las cuales están determinadas por la variedad del jitomate y las condiciones climatológicas de la zona donde se cultivan (Fig. 2) (López Marin, 2017).

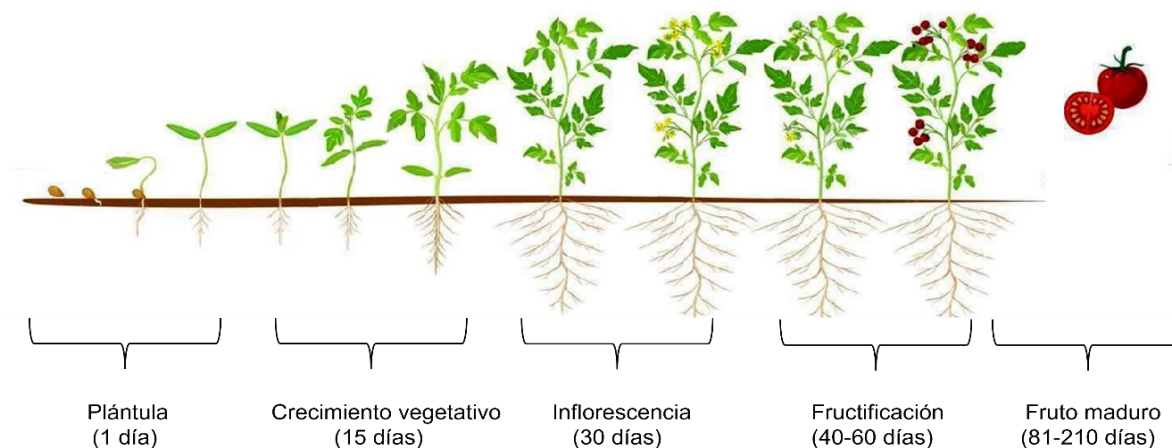


Figura 2. Ciclo de vida basado en la edad de la planta medido en días. (FAOSTAT, 2022).

### 1.1.2 Importancia económica

El jitomate no solo se comercializa fresco en el mercado, también se utiliza en la industria de alimentos procesados, como pasta, concentrado, jugo y catsup (Bergougoux, 2014).

El jitomate es una de las plantas más importantes económicamente, en 2018 su valor de producción mundial fue estimado en 93.9 mil millones de dólares (Rivarez et al., 2021).

América es el segundo productor mundial de jitomate al alcanzar el 17.3% de la cosecha promedio obtenida entre 1994 y 2021 periodo en el que Asia alcanzó la mayor producción con el 54.9% (Fig. 3) (FAOSTAT, 2022).

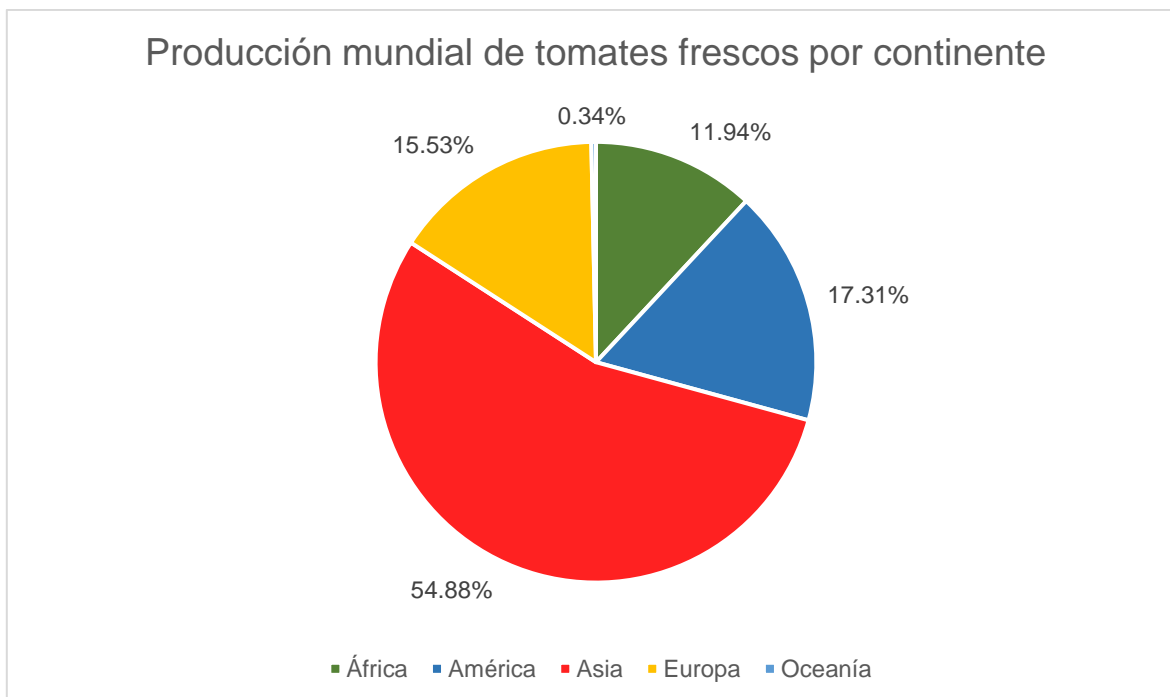


Figura 3. Producción mundial de tomates frescos por continente, datos promedios en el periodo de 1994 a 2021 (FAOSTAT, 2022).

México ocupa el décimo lugar en producción de jitomate, el segundo en América. Durante el ciclo Otoño-Invierno 2022 el principal estado productor de jitomates en México es Sinaloa, con un volumen de producción 536,829 toneladas anuales, el cual representa el 62.2% de la producción nacional. Le siguen en producción: Baja California Sur con 51,988 toneladas (6.0%); Sonora, 43,370 toneladas (5.0%) y Michoacán con 36,855 toneladas (4.3%). Estos cuatro estados aportan más de la mitad de la producción del país con 77.5%(FIRA, 2016; Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2022).

Hasta el momento se han descrito más de 10 000 variedades de jitomates a nivel mundial, aunque no todas se cultivan (Schoch et al., 2020; USDA, 2021). Las principales variedades cultivadas a nivel mundial y en México son las saladette o

roma, bola, seguidas de las especialidades de racimo, uva o grape, cherry y cocktail (SAGARPA, 2017, 2018).

### **1.1.3 El jitomate como modelo de estudio**

El jitomate ha sido ampliamente utilizado no solamente como alimento, sino también como material de investigación, porque es importante desde el punto de vista agronómico y por sus características particulares que favorecen su manipulación y su aporte al conocimiento de las plantas.

La planta de jitomate tiene muchas características interesantes, como son su fruto carnoso, sus brotes simpodiales (tipo de crecimiento donde la yema axilar reemplaza a la yema terminal al morir anualmente) o sus hojas compuestas, que otras plantas modelo como *Oryza sativa* (arroz) o *Arabidopsis thaliana* no tienen (Kimura & Sinha, 2008).

Las principales características de los jitomates que favorecen su uso como modelo de estudio son las siguientes:

- Capacidad de crecimiento bajo diferentes condiciones de cultivo
- Capacidad de propagación asexual mediante injerto
- Tiempo de generación corto de 210 días aproximadamente
- Buen control en la polinización e hibridación, que resulta en un fácil mantenimiento
- Genoma relativamente pequeño (950 Mb)
- Requieren un mínimo de 8 horas de luz (planta de día largo)

- Niveles altos de autofertilidad
- Posibilidad de regenerar plantas de diferentes explantes

(Bai & Lindhout, 2007; Barone et al., 2008; Dell'Amico-Rodríguez et al., 2018; K & semester Ed student St Joseph, 2018; Ranjan et al., 2012).

#### **1.1.4 El genoma del jitomate**

La secuenciación del genoma del jitomate se inició en 2005 y fue publicado en *Nature* el 31 de mayo de 2012, culminando años de trabajo del Consorcio del Genoma del Jitomate, un equipo multinacional de científicos de 14 países (The Tomato Genome Consortium, 2012).

El genoma del jitomate domesticado "Heinz 1706" se secuenció utilizando una combinación de lecturas largas obtenidas con Sanger y 454/Roche GS FLX y lecturas cortas de alta cobertura mediante las tecnologías de SOLiD e ILLUMINA GAIIx (Ranjan et al., 2012).

Las secuencias se ensamblaron en 91 *scaffolds*, cubriendo 760 Mb de los 950 Mb del genoma diploide, alineados en los 12 cromosomas del jitomate con 35, 000 genes codificantes (Fig. 4) (Barone et al., 2008; Mueller et al., 2005; Ranjan et al., 2012; The Tomato Genome Consortium, 2012; X. Wang et al., 2020).



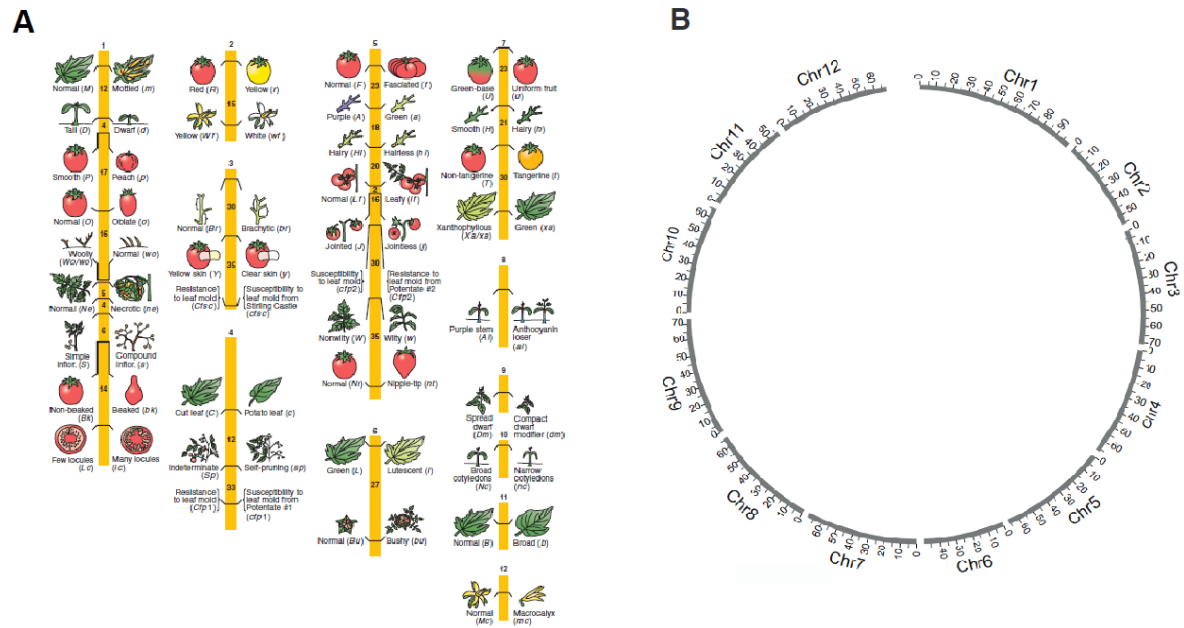


Figura 4. A) Mapa de enlace de 1952 donde cada lugar geométrico está rodeado por dibujos de los fenotipos normales y variantes. Las distancias del mapa de interlocus se muestran en unidades de mapa (Griffiths et al., 2012). B) Los 12 cromosomas de *S. lycopersicum* (modificado de Zhu et al., 2018).

### 1.1.5 Sistema inmune de las plantas

Las comunidades de plantas interactúan con organismos benéficos y antagonicos, lo cual les exige el desarrollo de respuestas adaptativas para integrar las diferentes señales que reciben.

Las plantas están constantemente expuestas a los factores bióticos del entorno, como patógenos y herbívoros, los cuales tienen complejas redes de interacción como la simbiosis, mutualismo, alelopáticas, coevolutivas, etc. (Zou et al., 2020).

El jitomate es susceptible a más de 200 enfermedades, transmitidas por hongos, bacterias, nemátodos y virus; la mayoría de patógenos atacan una parte específica de la planta y producen síntomas característicos de la enfermedad, que pueden presentarse como manchas, marchitamiento, necrosis o agrandamiento de las raíces (Fig. 5) (Buchanan et al., 2015; Flores et al., 2012; Silva et al., 2019).

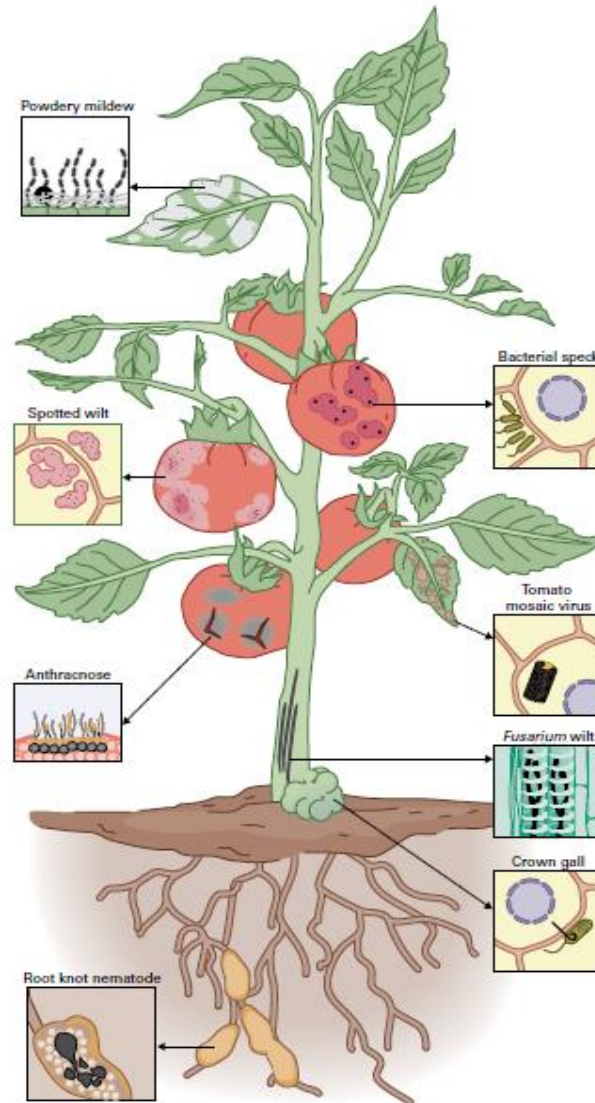


Figura 5. Síntomas en el jitomate causados por bacterias (mota bacteriana, marchitez manchada, agalla de la corona), hongos (marchitez por *Fusarium*, oídio, antracnosis), virus (virus del mosaico del jitomate) y nematodos (nudo de la raíz) (Buchanan et al., 2015).

En consecuencia, las plantas tienen diferentes mecanismos de defensa y niveles de respuesta al percibir el ataque de los patógenos. El modelo zigzag explica una perspectiva dinámica y evolutiva de la respuesta que las plantas tienen ante una infección (Fig. 6).

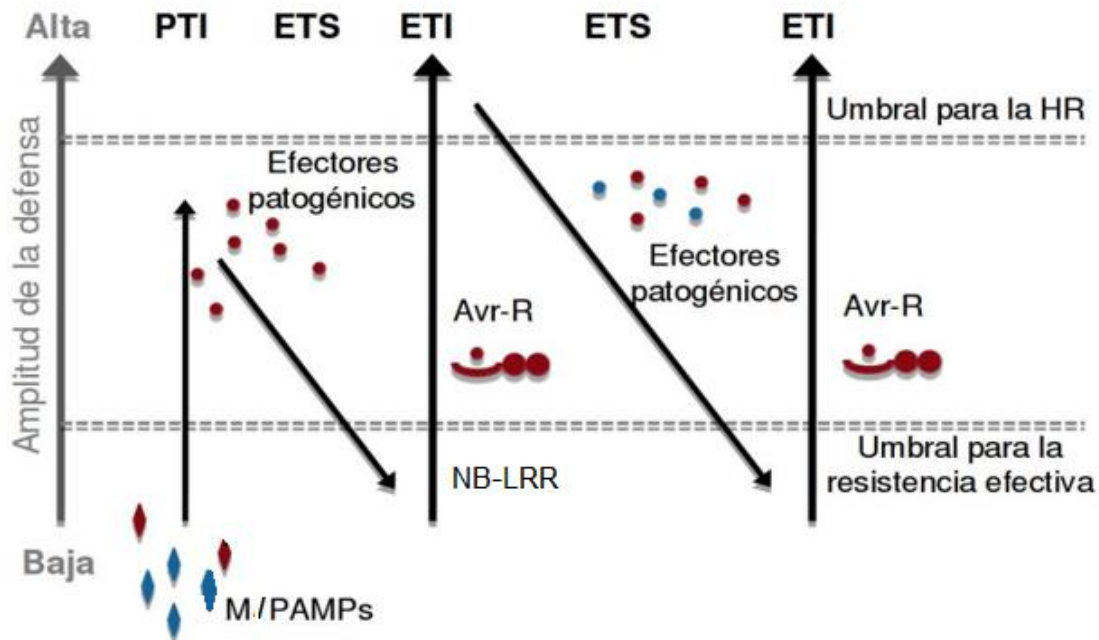


Figura 6. El modelo de zigzag explica la coevolución entre patógenos y plantas (J. D. G. Jones & Dangl, 2006; J. Jones & Dangl, 2006).

El primer nivel de reconocimiento que tienen las plantas ante los patógenos es el reconocimiento de PAMP (del inglés: *pathogen-associated molecular pattern*), mediante receptores que reconocen estos patrones (PRRs, del inglés: *pattern recognition receptors*) y que se encuentran en la superficie de las células vegetales, y se denomina PTI (del inglés: *PAMP-triggered immunity*). Sin embargo, hay patógenos exitosos que producen efectores que inhiben la PTI, como fitotoxinas, polisacáridos extracelulares y efectores proteicos, la mayoría de los cuales se secretan mediante el sistema de secreción tipo III (TTSS), los cuales son reconocidos por las plantas mediante receptores adicionales, proteínas NB-LRR (del inglés: *nucleotide-binding leucine-rich repeat*), los cuales desencadenan

respuestas efectoras contra estos que se denomina ETI (del inglés: *effector-triggered immunity*) (Ojito-Ramos & Portal, 2010).

Durante el proceso evolutivo, una vez que los patógenos adquirieron la capacidad de suprimir las defensas primarias, las plantas desarrollaron un mecanismo especializado para detectarlos. Entre estos está un sistema de reconocimiento genético del patógeno, controlado por los genes de resistencia del huésped. En este sistema de resistencia denominado gen-por-gen, los genes R de la planta confieren resistencia al patógeno que contiene, a su vez, los genes de avirulencia (Avr) correspondientes, llamados así, porque su presencia previene el desarrollo de la enfermedad.

Los eventos de reconocimiento implican los productos de los genes R y Avr desencadenantes de las respuestas de la defensa del huésped, incluyendo la muerte localizada de la célula huésped o una respuesta hipersensible (HR) que limita la propagación del patógeno.

La ETI es, probablemente, una de las formas de respuestas de defensa en plantas de mayor alcance y normalmente culmina en una HR. Muchos patógenos producen pequeñas moléculas efectoras que mimetizan las hormonas de las plantas (J. Jones & Dangl, 2006). Existen tres moléculas señalizadoras que regulan la defensa de la planta contra los ataques microbianos: el SA, el JA y el etileno.

La señalización dependiente de etileno es importante para la respuesta de la planta ante el ataque de los patógenos, ante una herida mecánica y/ o inducida por herbívoros. La señalización dependiente de SA es crítica en el establecimiento de resistencia bacteriana local y sistémica, mientras que la señalización dependiente

de JA se induce en respuesta a la herida y a la depredación mecánica de herbívoros. Las rutas de señalización de la defensa a través del SA y de JA son, generalmente, antagónicas, y los patógenos bacterianos han evolucionado para suprimir las respuestas de la defensa mediadas por el SA.

El principal medio a través del cual las plantas se defienden contra la infección viral es el silenciamiento del RNA viral, que regula la acumulación de moléculas endógenas y exógenas. Los efectores de la virulencia viral se pueden considerar los encargados de suprimir la respuesta silenciadora del RNA del huésped. Naturalmente, las plantas utilizan un segundo mecanismo de defensa para reconocer y para restringir el movimiento de los virus.

Debido a la coevolución de las plantas y los virus patógenos, las plantas adquirieron múltiples estrategias para defenderse y contrarrestar las infecciones virales y la patogénesis. Sin embargo, los virus han coevolucionado para superar esas respuestas de resistencia. En condiciones naturales, las plantas pueden ser infectadas por múltiples virus (Gupta et al., 2021).

Las proteínas R específicas reconocen componentes virales de cualquier supresor y lo silencian; además, pueden reconocer otras proteínas que se acumulen como resultado de la replicación viral (Bridson & Stanley, 2006; J. Jones & Dangl, 2006; Ojito-Ramos & Portal, 2010).

Los mecanismos de resistencia celular que se activan en la planta en defensa contra el ataque de patógenos ocurren en tres niveles (Fig.7): a) inmediatos en las células cuando se percibe una infección o daños, b) local: cuando se ha esparcido hasta

las células vecinas además, ocurre la activación de genes secundarios para contener el patógeno y c) sistémico: ocurre en toda la planta, órganos distantes confiriendo una resistencia mejorada contra un posible ataque posterior a un amplio rango de patógenos que suele terminar en la HR para evitar la propagación de los patógenos en la planta. El éxito de la HR es que mueren las células infectadas (necrosis) impidiendo la propagación de la infección.

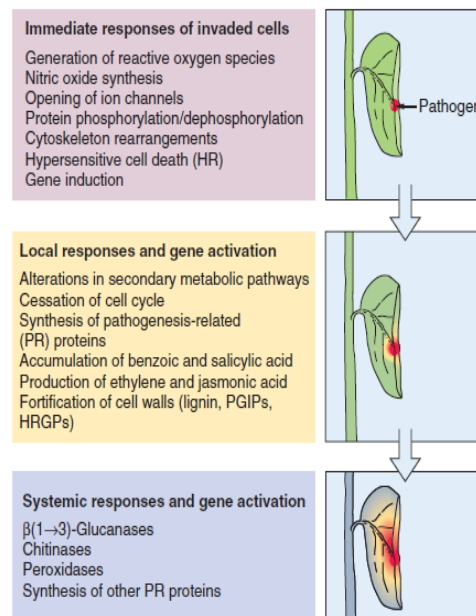


Figura 7. Los tres niveles de mecanismos celulares en la planta ante el ataque de un patógeno (R. L. Jones et al., 2012).

## 1.2 Generalidades de los virus

Los virus son las entidades biológicas más abundantes estimadas de entre  $10^{31}$  a  $10^{32}$  virus en la atmósfera terrestre (Dávila-Ramos et al., 2019; Zárate et al., 2017).

Son parásitos intracelulares obligados, puesto que requieren de la maquinaria celular del huésped para replicarse, porque no sintetizan sus proteínas, ya que carecen de ribosomas, por lo tanto, utilizan la maquinaria de ribosomas de la célula huésped para traducir su mRNA en proteínas (Walsh et al., 2013). Además,

necesitan a la célula para obtener la energía necesaria, puesto que no pueden generar ni almacenar ATP, ni sintetizar precursores como aminoácidos, nucleótidos y lípidos, así como para realizar otras funciones metabólicas (Chaitanya, 2019). Los virus son capaces de infectar a todos los dominios de la vida, incluso a otros virus como el virofago *Sputnik* (Sato & Koyanagi, 2008).

### 1.2.1 Familias virales que infectan a las plantas

La mayoría de los virus que infectan a las plantas tienen genomas de RNA, de los cuales gran parte son de ssRNA (+), seguidos de los ssRNA (-) y los de dsRNA y en menor parte de DNA (Gergerich & Dolja, 2006). Entre las familias virales que infectan a las plantas (Tabla 2) se encuentran las siguientes:

Tabla 2. Ejemplo de algunas familias virales que infectan a plantas. Las iniciales corresponden a fungi (F), planta (P) y animal (A). (Bernardo et al., 2013; Fermin, 2018; R. Jones, 2021; Pérez-Moreno et al., 2008; Roossinck, 2012; Rubio et al., 2020; Sicard et al., 2019; Tao et al., 2013).

Familia	Tipo de genoma	Huésped
<i>Alphaflexiviridae</i>	ssRNA(+)	F-P
<i>Amalgaviridae</i>	dsRNA	P
<i>Bromoviridae</i>	ssRNA(+)	P
<i>Caulimoviridae</i>	dsDNA	P
<i>Fimoviridae</i>	ssRNA (-)	P
<i>Geminiviridae</i>	ssDNA(+/-)	P
<i>Ophioviridae</i>	ssRNA(-)	P
<i>Potyviridae</i>	ssRNA(+)	P
<i>Reoviridae</i>	dsRNA	A-F-P

<i>Rhabdoviridae</i>	ssRNA(-)	A-P
<i>Metaviridae</i>	dsRNA	A-F-P
<i>Nanoviridae</i>	ssDNA	P
<i>Virgaviridae</i>	ssRNA(+)	P

La familia *Geminiviridae* llamada así por sus partículas icosaédricas geminadas, abarca 14 géneros (Fig. 8): *Becurtovirus*, *Capulavirus*, *Citlodavirus*, *Curtovirus*, *Eragrovirus*, *Grablovirus*, *Maldovirus*, *Mastrevirus*, *Mulcrilevirus*, *Opunvirus*, *Topilevirus*, *Topocuvirus* y *Turncurtovirus* los cuales tienen genomas monopartitas mientras que el género *Begomovirus* puede ser mono o bipartitas (Fiallo-Olivé et al., 2009; Hanley-Bowdoin et al., 2013; Zerbini et al., 2017); la familia se conforma de aproximadamente 520 especies.



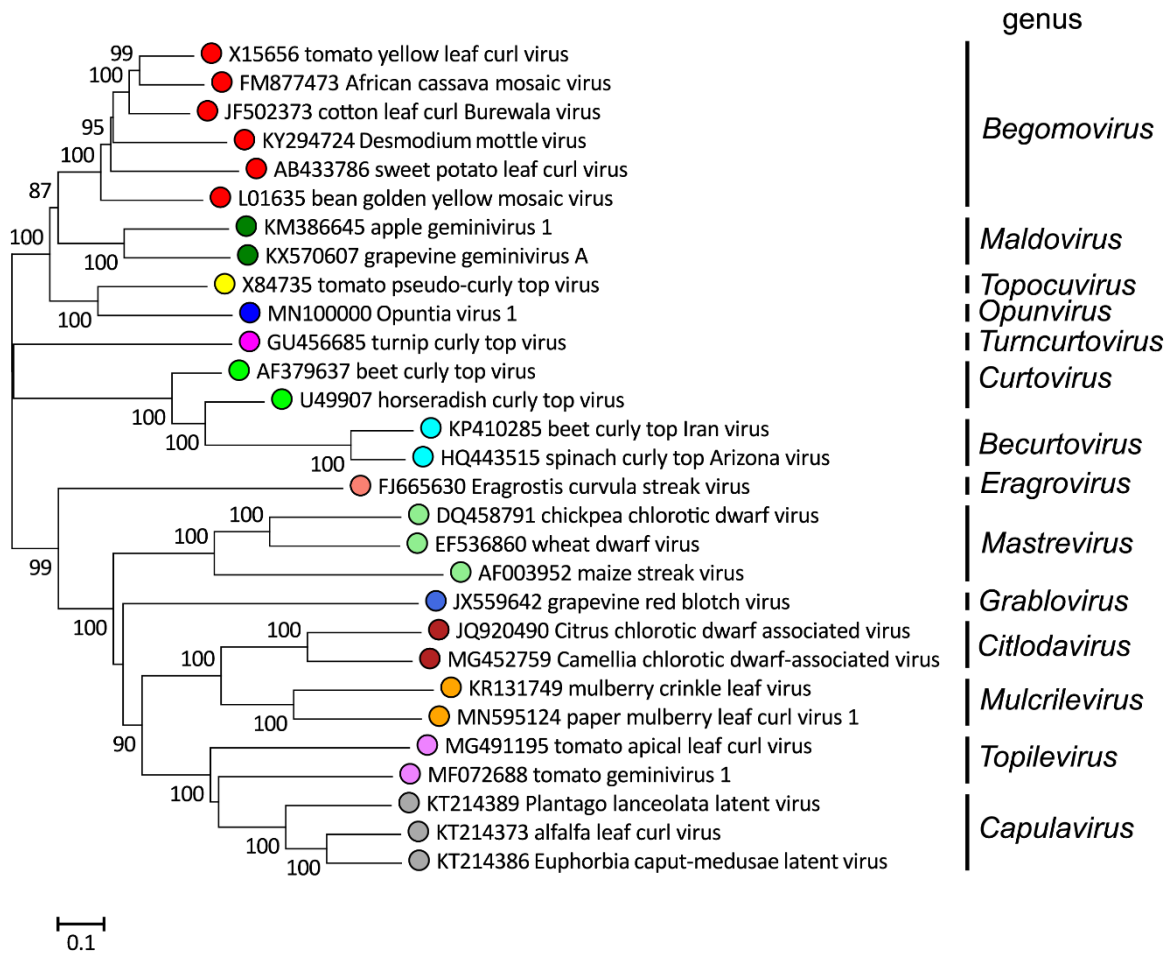


Figura 8. Árbol filogenético de los géneros de la familia *Geminiviridae* (Fiallo-Olivé et al., 2021).

### 1.2.2 Estructura viral de los Geminivirus

La morfología del virión consta de dos cápsides icosaédricas incompletas, que se fusionan formando una estructura geminada; la simetría de la cápside tiene un valor de  $T=1$ , formada por 110 CP subunidades organizadas en 22 capsómeros pentaméricos; no está envuelto; mide aproximadamente 38 nm de longitud y 22 nm de diámetro (Fig. 9).

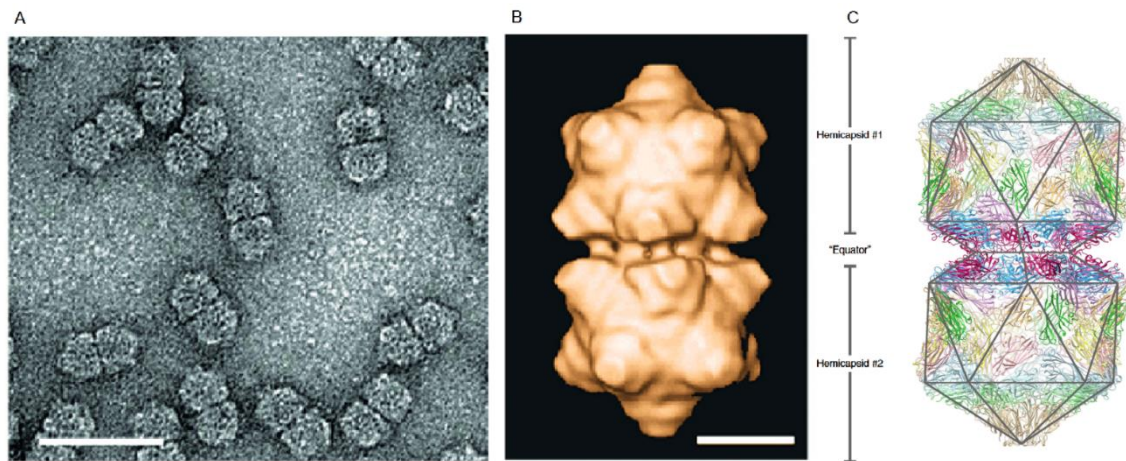


Figura 9. La estructura de los geminivirus. A) Partículas geminadas del virus *Maize streak virus*. Barra de escala 50 nm. B) Reconstrucción microscópica crioelectrónica de *Maize streak virus*. Barra de escala 10 nm. C) Modelo atómico completo para las 110 subunidades de la cápside de *Ageratum yellow vein virus*. (Modificado de Fiallo-Olivé et al., 2021; Hesketh et al., 2018; Zerbini et al., 2017).

### 1.2.3 Genoma y ciclo de replicación

La familia *Geminiviridae* acorde a la clasificación de Baltimore, pertenece al grupo II, ya que el genoma es de ssDNA. Aunque, los virus en la mayoría de los géneros de la familia tienen genomas monopartitos, los del género *Begomovirus* tienen genomas mono o bipartitos circulares, donde el tamaño del genoma de los *Begomovirus* ronda entre los 2 a 5.2 Kb, si es monopartita mide aproximadamente 2.7Kb y si es bipartita cada cadena mide aproximadamente 2.6Kb, dando un total de 5.2 Kb (Fiallo-Olivé et al., 2021).

La unidad espacial del ciclo de replicación viral es una célula individual. Los virus multipartitos tienen un genoma segmentado donde cada segmento se encapsida por separado, por lo que, el genoma viral no se repite en una sola partícula de virus, sino en la población viral, aunque rara vez coexisten dentro de las células individuales; aunque dependiendo de la especie viral, los virus multipartitos pueden

tener su genoma compuesto por dos hasta ocho segmentos de DNA o RNA ya sea de cadena simple o doble (Fig. 10), cada uno encapsidado individualmente en una partícula de virus separada (Sicard et al., 2016, 2019; Yang & Zhou, 2017).

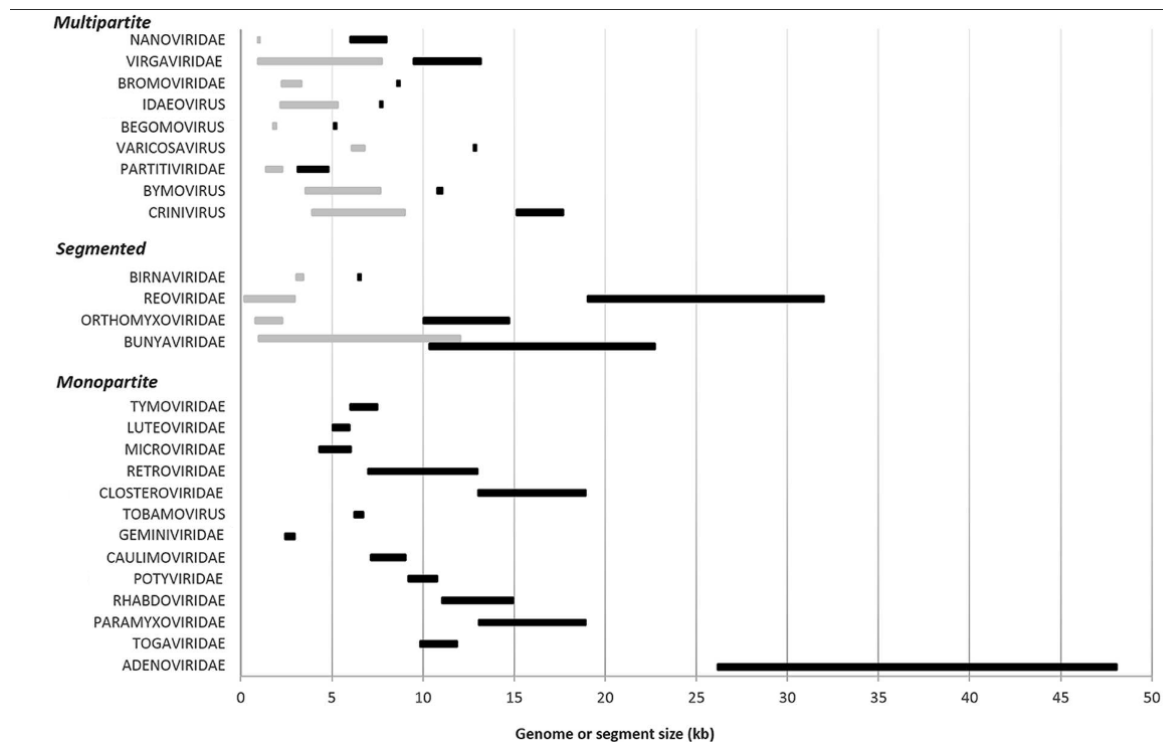


Figura 10. Comparación de las diferentes organizaciones del genoma. Las familias o géneros enlistados son los que presentan diferencias significativas en la organización del genoma, aunque no son todas las familias virales con genomas multipartitas (Sicard et al., 2016).

Los virus multipartita infectan con frecuencia plantas y hongos, representando entre el 35 y 40% de los géneros y familias virales descritos, en menor medida infectan insectos e hipotéticamente a vertebrados (Sicard et al., 2019).

El genoma de los begomovirus bipartitos contiene dos moléculas circulares de DNA monocatenarias (DNA-A y DNA-B), los begomovirus monopartitos tienen un solo componente genómico similar al DNA-A de los begomovirus bipartitos (Zou et al., 2020). No obstante, el establecimiento de una infección productiva requiere ambas

partes del genoma, por lo tanto, es necesario que mínimo dos partículas virales lleven al menos una copia de cada uno de los segmentos del genoma para infectar una nueva célula huésped (Chaitanya, 2019).

Los genes del DNA-A codifican para la replicación, el empaquetamiento, la transmisión al vector y los supresores virales, mientras que los genes del DNA-B codifican para las funciones de movimiento, los cuales son regulados por las proteínas CP y PRE-CP (Prasad et al., 2020). Sin embargo, los dos componentes A y B, comparten aproximadamente 200 pb denominada la región común dentro de IR/LIR, cuya estructura de tallo-asa es la secuencia conservada 5'-TAATATTAC-3'; además incluye al origen de replicación (Fiallo-Olivé et al., 2021; Gupta et al., 2021).

Los ORF presentes en el DNA-A son: V1/AV1, V2/AV2, C1/AC1, C2/AC2, C3/AC3, C4/AC4, C5/AC5 en begomovirus monopartitas y bipartitas respectivamente, que codifican para las proteínas de: cápside (CP), pre-cápside (Pre-CP), asociada a replicación (Rep), activadora transcripcional (TrAP), potenciadora de replicación (Ren), C4, C5. Aunque el ORF V2/AV2 suele no estar presente en los begomovirus americanos (Torres-Herrera et al., 2019). Mientras que en el DNA-B, el ORF  $\beta$ V1 codifica para una proteína con función de elicitador (NSP) y el ORF BC1 codifica para la proteína de movimiento (MV) (Fig. 11) (Fiallo-Olivé et al., 2021; Guerrero et al., 2020; Hashmi & Kumar, 2020; Zerbini et al., 2017; Zhao et al., 2022).

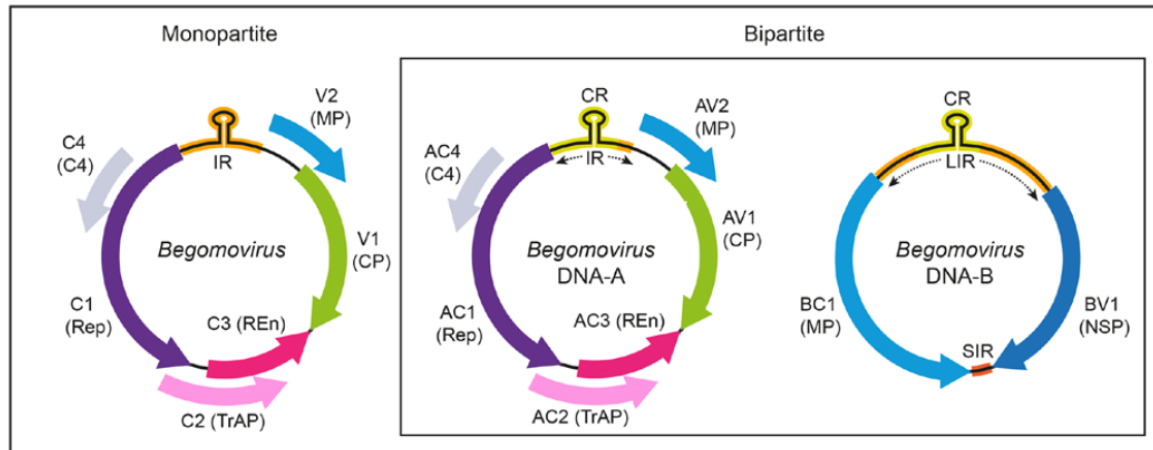


Figura 11. Organización de genomas monopartitos (izquierda) y bipartitos (derecha). El código de color de los ORF corresponde a las proteínas codificadas; la horquilla que incluye el origen de la replicación se indica en el IR/LIR del DNA-A y DNA-B respectivamente (Fiallo-Olivé et al., 2021).

Además de eso, los geminivirus no codifican DNA o RNA polimerasas y dependen de la maquinaria del huésped para replicar sus genomas circulares de ssDNA a través del intermediario de DNA de doble cadena (dsDNA) (Guerrero et al., 2020).

Algunas proteínas virales, como Rep están altamente conservadas en toda la familia *Geminiviridae* (Fondong, 2019), mientras que otras confieren propiedades únicas a un género determinado, como CP que determina la especificidad del insecto que sirve como vector para la infección a las plantas (Hanley-Bowdoin et al., 2013).

El ciclo de replicación inicia con la liberación de ssDNA viral en el núcleo, Rep corta un extremo 3'-OH libre en la secuencia 5'-TAATATTAC-3' para la adición de nucleótidos por las DNA polimerasas del huésped, iniciando la replicación mediante el mecanismo de RCR; el cDNA puede emparejarse con la cadena del virión para formar un dúplex, al cual se le conoce como la forma replicativa, ya que actúa como

molde para posteriores replications (genoma en nuevos viriones) o puede reintegrarse al ciclo de replicación viral.

El dsDNA se empaqueta en minicromosomas (Ceniceros-Ojeda et al., 2016) tras asociarse con los nucleosomas, posteriormente es transcrito de forma bidireccional por la RNA polimerasa II del huésped y comienza cuando Rep reprime su propia transcripción, a su vez activa la expresión de la proteína TrAP, y está activa la expresión de CP y NSP. Finalmente, todos los transcritos se traducen en el citoplasma.

La proteína NSP se une al DNA viral y lo exporta al citoplasma a través del complejo del poro nuclear, donde MP lo transporta a través de los plasmodesmos.

El ssDNA circular puede ser encapsidado por CP en el núcleo o en el citoplasma, sin embargo, la ubicación exacta sigue siendo controvertida. En este momento, los viriones ya estarían disponibles para su adquisición por la mosca blanca (Fig. 12) (Fiallo-Olivé et al., 2021; Gupta et al., 2021; Hanley-Bowdoin et al., 2013; Prasad et al., 2020).

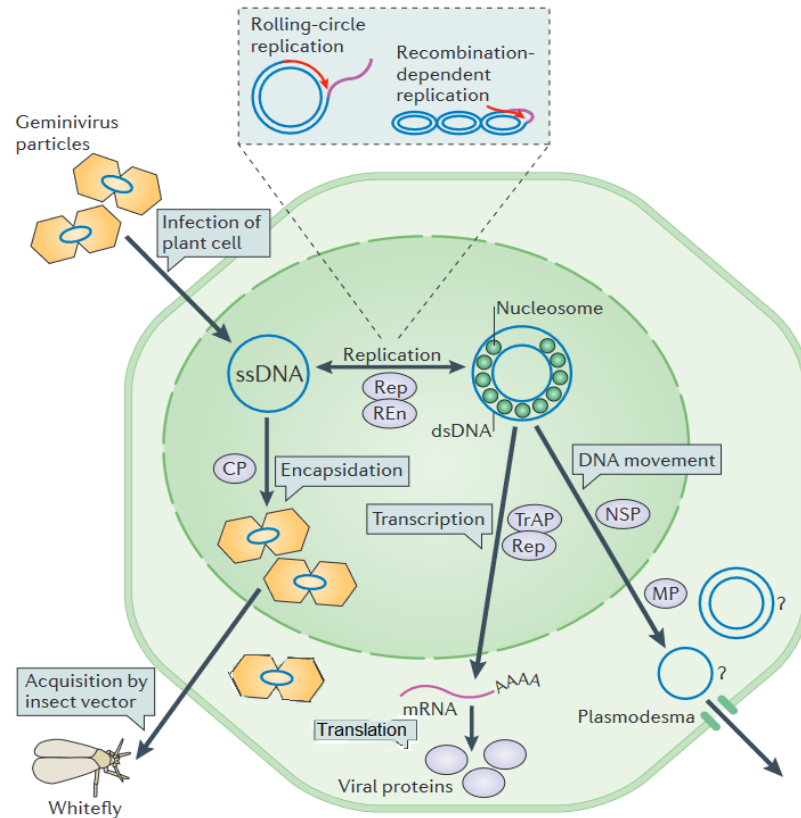


Figura 12. Ciclo de replicación viral (modificado de Hanley-Bowdoin et al., 2013).

### 1.2.3.1 Satélites asociados con begomovirus

Muchos begomovirus se asocian con DNA satélites que codifican proteínas que potencian la patogénesis; los satélites dependen del virus ayudante para su replicación y propagación. Existen tres tipos: alfa, beta y deltasatélites (Fig. 13) (Gupta et al., 2021; Hanley-Bowdoin et al., 2013; Mubin et al., 2020; Zou et al., 2020).

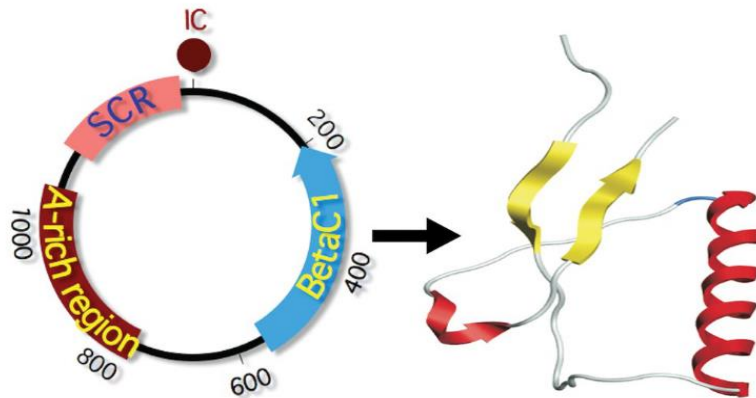


Figura 13. Organización del genoma del betasátélite y la estructura tridimensional de la proteína viral  $\beta$ C1 (Mubin et al., 2020).

#### **1.2.4 Pérdidas económicas causadas por virus**

Los virus afectan a la economía por la reducción en la producción de alimentos, fibra, plantas ornamentales y productos medicinales. Por otra parte, casi la mitad (47%) de los patógenos que causan epidemias emergentes y reemergentes en plantas a nivel mundial son virus, en consecuencia, aumenta el impacto económico global existente en las enfermedades virales de las plantas (R. Jones, 2021).

Los daños económicos mundiales causados por los virus en los cultivos son difíciles de estimar; sin embargo, las aproximaciones indican que las pérdidas de rendimiento oscilan entre 30 y 60 mil millones de dólares anuales y sigue incrementado (Fingu-Mabola & Francis, 2021; R. Jones, 2021; Rivarez et al., 2021).

La incidencia y la gravedad de las enfermedades por geminivirus ha aumentado considerablemente en los últimos 20 años (Hanley-Bowdoin et al., 2013). Asimismo, han impactado dramáticamente los rendimientos agrícolas en los últimos 50 años a nivel mundial (Bernardo et al., 2013).



Los daños atribuidos a los geminivirus incluyen más de 300 millones de dólares de pérdidas en la industria india de los frijoles, hasta el 100% de pérdida de la cosecha de jitomate en Italia y en República Dominicana casi 2,000 millones de dólares de pérdidas en la producción de yuca africana. Concluyendo que el impacto de los geminivirus es amplio y destructivo (Beam & Ascencio-Ibáñez, 2020).

Dentro de las pandemias en cultivos de importancia económica causadas por virus de DNA, específicamente por begomovirus, se encuentran la enfermedad del mosaico de la yuca (CMD), la enfermedad de la parte superior del racimo de plátano causada por un babuvirus y la enfermedad de la raya del maíz causada por el virus de la raya del maíz (MSV), un mastrevirus (Kreuze & Valkonen, 2017).

Los virus causan una gran parte de las enfermedades de importancia económica en los principales cultivos, incluyendo al jitomate. En la última década (2011-2020) se reportaron virus emergentes o reemergentes que infectan al jitomate en todo el mundo, en este período se identificaron 45 nuevas especies virales en el jitomate (Rivarez et al., 2021).

Por su parte, los begomovirus mundialmente causan pérdidas económicas anualmente valuadas en mil millones de dólares e incluso la pérdida del 100% de los cultivos de jitomate en Nueva Dehli, India por infecciones de TYCLV (Prasad et al., 2020). Por otra parte, este último es el begomovirus transmitido por la mosca blanca más estudiado (Ghosh & Ghanim, 2021).

### **1.3 Vector: La mosca blanca**

La transmisión de la mayoría de los virus de las plantas depende de vectores como hongos, nematodos e insectos (Kil & Kim, 2015; Whitfield et al., 2015). Más del 75% de los virus de las plantas son transmitidos por insectos vectores, la mayoría de los cuales pertenecen a familias de hemípteros, como las moscas blancas, los pulgones y los saltamontes (T. Ding et al., 2019).

La transmisión del virus puede ser vertical en la progenie de plantas y horizontal por diferentes vectores. Otra clasificación acorde al tiempo de adquisición por el vector separa a los virus no persistentes cuando es un periodo corto (segundos) y virus persistentes si es un periodo largo (horas). La clasificación basada en la relación con el huésped designa como virus circulantes a los que entran a las células y se encuentran en el sistema digestivo, la hemolinfa y el canal salivar del insecto; y virus no circulantes a los que se mantienen en el estilete o en el intestino sin entrar a las células del insecto (Kachroo & Robin, 2013; Whitfield et al., 2015; Whitfield & Rotenberg, 2015).

La mosca blanca es una plaga que afecta a más de 250 especies de plantas, entre las cuales las más afectadas son frijol, aguacate, jitomate, papaya, melón, sandía, pepino y tabaco, tiene alta resistencia a numerosos insecticidas y transmite múltiples virus, hasta el momento se aproxima que son 457 especies virales (Tabla 3) (Ghosh & Ghanim, 2021).

Tabla 3. Otros virus transmitidos por la mosca blanca (modificado de Ghosh &amp; Ghanim, 2021).

Género	Familia	Material genético	Modo de transmisión	Número de especies
<b><i>Begomovirus</i></b>	<i>Geminiviridae</i>	ssDNA	Circulante, persistente	424
<b><i>Crinivirus</i></b>	<i>Closteroviridae</i>	ssRNA (+)	Semi-persistente	14
<b><i>Ipomovirus</i></b>	<i>Potyviridae</i>	ssRNA (+)	Semi-persistente	7
<b><i>Torradovirus</i></b>	<i>Secoviridae</i>	ssRNA (+)	Semi-persistente	5
<b><i>Carlavirus</i></b>	<i>Betaflexiviridae</i>	ssRNA (+)	No persistente	4
<b><i>Polerovirus</i></b>	<i>Luteoviridae</i>	ssRNA (+)	Circulante	2
<b><i>Cytorhabdovirus</i></b>	<i>Rhabdoviridae</i>	ssRNA (-)	Desconocido	1

Los geminivirus son transmitidos por la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) de forma circulante y persistente, ya que infectan a la mosca en períodos de aproximadamente 48 horas (Czosnek et al., 2017a; T. Ding et al., 2019; Ghosh & Ghanim, 2021; Rana et al., 2019; D. G. Riley & Srinivasan, 2019; Silva et al., 2019; Y.-C. Sun et al., 2017).

El ciclo de vida de la mosca blanca abarca seis estadios y viven entre 5 y 28 días, cuando es adulta: huevo (5 a 9 días), primer (“ninfa”, 3 días), segundo (3 días), tercer (3 días) y cuarto (“pupa”, 8 días) estadios larvales y adulto (Fig. 14).

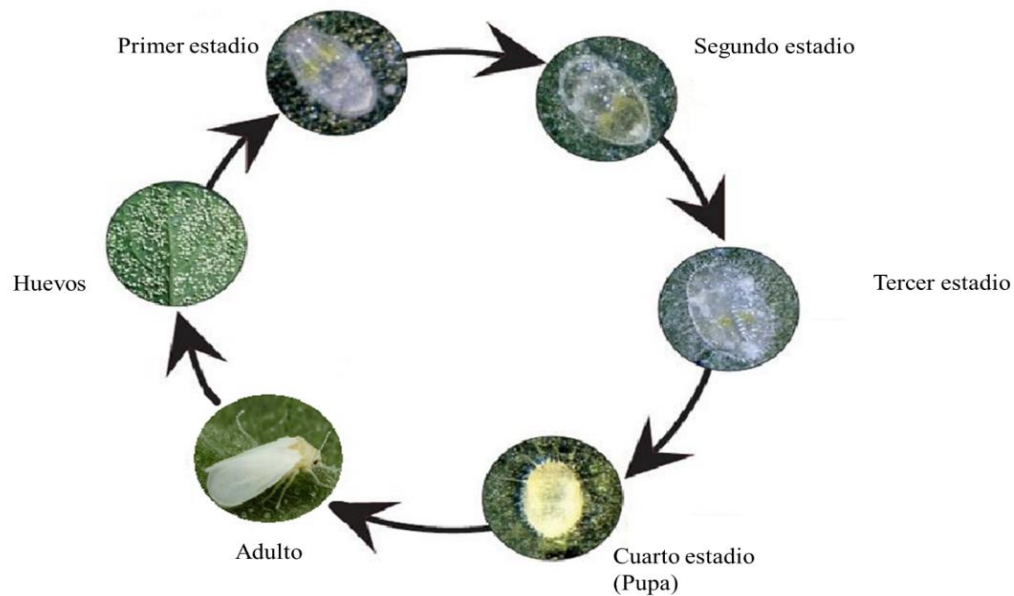


Figura 14. Ciclo de vida de la mosca blanca (DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL, 2020).

Los huevos se depositan en el envés de las hojas jóvenes de dos formas, aislados o en grupo; las larvas del primer estadio son móviles, el resto de los estadios permanecen suspendidas sobre la hoja. Aunque, durante el cuarto estadio larval, adquieren una forma casi redonda y amarilla denominada pupa, en la que se observan los ojos rojos y las alas blancas del adulto. Por último, el adulto se dispersa por toda la planta alimentándose y depositando sus huevos. Una hembra pone entre 80 y 300 huevos; en consecuencia, se pueden encontrar todos los estadios de la mosca en una misma hoja (Fig. 15) (DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL, 2020).



Figura 15. La mosca blanca en diferentes estadios en el envés de las hojas del jitomate.

### **1.3.1 Ciclo de replicación viral en la mosca blanca**

La vía circulatoria de los begomovirus en la mosca blanca (Fig. 16) inicia cuando se alimentan del floema y obtienen su alimento perforando con el estilete los tubos cribosos de las plantas, durante la alimentación de un floema infectado la mosca blanca ingiere viriones que entran en las células epiteliales del intestino, donde el reconocimiento exitoso de begomovirus desencadena la reorganización de los filamentos de actina del intestino medio de la mosca, por lo que se internalizan los virus en las células epiteliales del intestino medio por endocitosis mediada por clatrina en endosomas tempranos (Czosnek et al., 2017b).

Varias proteínas de la mosca blanca expresadas en las células del intestino medio interactúan con la proteína de la cápside del virus para facilitar o inhibir el movimiento intracelular del virus dentro de las células del intestino medio.

Recientemente, se ha descubierto en el virus TYLCV (virus de la hoja rizada amarilla del jitomate por sus siglas en inglés) que solo dos proteínas, cubilina y *amnionless*, forman un complejo receptor que se une a la membrana apical (Ghosh & Ghanim, 2021).

La unión específica del receptor de proteínas de la mosca blanca con las proteínas de la cápside del virus es crítica para la transmisión. Puesto que si hay saturación de los receptores del intestino medio por proteínas competidoras se perjudica la adquisición del virus, por el contrario, la falta de interacción entre el receptor del intestino medio y las proteínas de cápside virales impide la entrada del virus al citoplasma de las células del intestino medio de la mosca blanca (Ghosh & Ghanim, 2021).

Posteriormente, las partículas virales se transportan a la glándula salival a través de la hemolinfa hasta el canal salival, donde los viriones mezclados con saliva se secretan a través de los conductos salivales en el estilete y se segregan dentro de las células del floema de la planta mientras salivan. Sin embargo, las partículas virales que no llegan a la hemolinfa se secretan fuera del cuerpo con la ligamaza a través del intestino grueso (Ghosh & Ghanim, 2021).

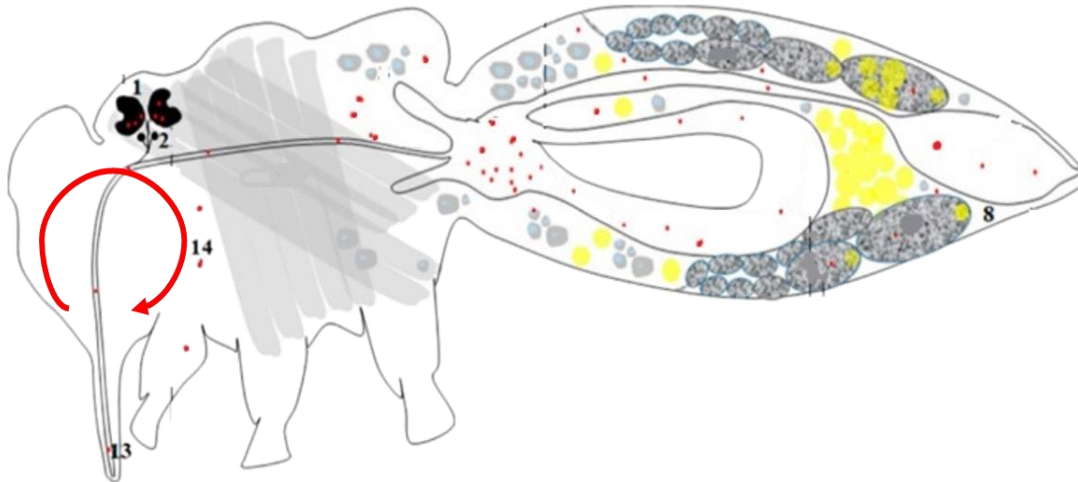


Figura 16. Ciclo de replicación viral en la mosca blanca. 1 y 2) Glándulas salivales, 8) hemolinfa, 13) estilete y 14) partículas virales (rojo) (modificado de Ghosh & Ghanim, 2021).

El TYLCV transita con la misma velocidad en hembras y machos. Se tarda un mínimo de 8 h (período latente) desde el comienzo de la ingestión hasta que el TYLCV puede transmitirse a las plantas de jitomate y producir síntomas de enfermedad 2 a 4 semanas después de ser adquirido, incluso es capaz de invadir tejidos distintos de los de la vía circulatoria, como el sistema reproductivo femenino y los adipocitos (Czosnek et al., 2017b). Además, se ha demostrado que el TYLCV entra en el desarrollo de ovocitos y óvulos de la mosca, lo que ha permitido su transmisión a la siguiente generación (Ghosh & Ghanim, 2021).

Sin embargo, la cantidad de virus adquirida depende de la concentración viral que haya dentro de la planta infectada, individualmente las moscas blancas pueden acumular diferentes niveles de partículas virales, incluso cuando se hayan alimentado del mismo tejido durante el mismo periodo de tiempo (Gupta et al., 2021; Rana et al., 2019). La cantidad de partículas de TYLCV acumuladas en moscas adultas de 4-7 días de edad durante la alimentación continua de plantas de jitomate

infectadas, alcanza un límite entre las 12 h y 48 h como mecanismo de control de las cantidades virales en el insecto que es aproximadamente de 600 millones de partículas virales cada 24 h mientras los insectos se alimentan (Czosnek et al., 2017b).



## 1.4 Ciencias ómicas

En ciencias biológicas, el sufijo -ómica se refiere al estudio de un conjunto de macromoléculas (Mayer, 2011a); y puede referirse al conjunto de genes dentro de un organismo (genómica), de transcritos en una célula o individuo (transcriptómica), de metabolitos en una célula, individuo o comunidad (metabolómica) o de genomas dentro de una comunidad o ambiente (metagenómica).

En las últimas décadas, el estudio de las ciencias ómicas ha sido posible debido al avance de la tecnología de secuenciación y al desarrollo de herramientas de análisis masivo de información (Fig.17) (Ricroch et al., 2022).

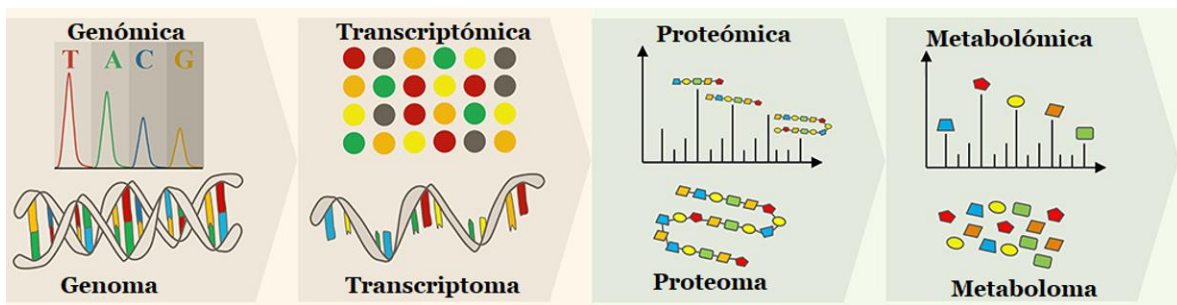


Figura 17. Ciencias ómicas y su objeto de estudio (modificada de Amer & Baidoo, 2021)

### 1.4.1 Genómica

La genómica es el estudio del conjunto de secuencias de DNA que componen el genoma de un organismo, esto permite conocer su estructura, funciones potenciales, evolución y mapeo de los genes. Fue la primera estrategia metodológica que hizo uso de datos masivos, y la que ha ido de la mano en el desarrollo de programas bioinformáticos que permiten su análisis (Amer & Baidoo, 2021b; Mayer, 2011b; Vailati-Riboni et al., 2017; Vischi Winck, 2021).

### **1.4.2 Transcriptómica**

Es el estudio de todo el contenido de RNA de un organismo. La información presente en el DNA se expresa a través de la transcripción, que representa la fotografía de la actividad de la célula en ese momento. Las técnicas actuales para estudiar el transcriptoma son los microarreglos y RNA-SEQ.

Los microarreglos son una herramienta para medir el perfil de expresión de múltiples genes simultáneamente de secuencias conocidas y fijadas en una superficie, mientras que RNA-SEQ permite obtener todos los transcritos de un organismo sin previo conocimiento de sus secuencias (Mueller et al., 2009).

### **1.4.3 Proteómica**

Los RNA tienen una regulación traduccional adicional, por lo que no todos se traducen a proteínas al mismo tiempo ni en la misma cantidad, por lo que al analizar a las proteínas se obtiene un perfil funcional, que es fundamental para conocer la actividad de la célula. La proteómica tiene como objetivo conocer todas aquellas proteínas presentes en un momento determinado a partir de la muestra de estudio, que puede ser un organismo o un conjunto de estos (Dalal et al., 2020).

### **1.4.4 Metagenómica**

La metagenómica es una estrategia metodológica que permite recuperar los genomas de microorganismos directamente de muestras ambientales, independientemente de la naturaleza de la muestra y la abundancia de los microorganismos, sin necesidad de realizar aislamiento a través de un cultivo, ni clonación de fragmentos de DNA (Dávila-Ramos et al., 2019).

La metagenómica se basa en la secuenciación masiva de múltiples genomas en un ambiente determinado. Existen dos estrategias de estudio:

La metagenómica tipo *metaprofiling*: son técnicas de secuenciación que exclusivamente secuencia fragmentos de DNA específicos conocidos como marcadores moleculares; la preparación de bibliotecas de marcadores como el rRNA 16S y se secuencia mediante plataformas como Illumina MiSeq o Ion Torrent PGM, aunque su principal inconveniente es que se limita a la comparación de la secuencia utilizada, esto permite conocer la estructura de la comunidad o la diversidad de las secuencias de los marcadores que se estén utilizando (Dávila-Ramos et al., 2019).

La metagenómica tipo *shotgun* es la secuenciación del DNA total de una muestra sin utilizar un marcador molecular en particular, por lo tanto, se puede recuperar genomas de especies cultivables y no cultivables, además de permitir inferir funciones de la comunidad, ya que se obtienen los genes de esta (Dávila-Ramos et al., 2019).

Las aplicaciones de la metagenómica van desde la identificación de patógenos, la seguridad alimentaria, el diagnóstico en muestras clínicas el conocimiento de la comunidad microbiana de muestras ambientales. Por otra parte, brinda información de la diversidad y la abundancia de microorganismos en estos tipos de muestras respondiendo las preguntas: “¿quiénes están allí?”, “¿qué están haciendo?”, y “¿qué funciones realizan?”.

#### **1.4.4.1 Metagenómica viral**

La colección de todas las secuencias virales presentes en la muestra ha sido definida como viroma (Zárate et al., 2017). La metagenómica viral es una estrategia que permite estudiar la diversidad viral y describir la estructura de las comunidades virales dentro de un ambiente, sin necesidad de hacer cultivos en el laboratorio. Incluso permite asignar posibles funciones de los genes que se obtienen, así como modelar las estructuras proteicas predichas para entender las funciones que podrían estar realizando.

## CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

En este capítulo se recopilan diferentes artículos para responder a las preguntas ¿qué mecanismos se conocen hasta el momento que las plantas utilizan para defenderse de los virus? De forma específica, ¿cuáles son los mecanismos de defensa presentes en el jitomate durante la infección por begomovirus?, y ¿cuáles son los viomas del jitomate que se conocen?

### 2.1 Mecanismos de defensa de plantas contra virus

Gupta y colaboradores en 2021, estudiaron la respuesta de las plantas contra geminivirus, con el objetivo de recopilar los mecanismos moleculares que definen la infección por geminivirus, generando antecedentes y por ende en un futuro se desarrollen plantas resistentes a los geminivirus con el fin de controlar los daños agrícolas globales.

Los estudios moleculares llevados a cabo para dilucidar las respuestas antivirales implican la caracterización de los posibles blancos celulares en el transcriptoma, el proteoma y el metaboloma, en el contexto de la interacción con los geminivirus.

En la actualidad se ha descrito que las plantas tienen 10 mecanismos de defensa contra la familia *Geminiviridae* que son: silenciamiento transcripcional de genes (TGS), silenciamiento postranscripcional de genes (PTGS), *cross talking* entre hormonas-MAPK, autofagia, non coding RNA (ncRNA), regulación epigenética, activación de genes R, ubiquitinación y respuesta hipersensibilizable (HR). Adicionalmente, los autores proponen emplear la técnica de CRISPR-CAS 9 para

desarrollar plantas libres de enfermedades y prevenir la infección por geminivirus (Gupta et al., 2021).

Hanley y colaboradores en 2013, resumen los mecanismos activados en la planta ante el ataque de los geminivirus usando diferentes tipos de ncRNA, como siRNA y miRNA; otra vía activada en las plantas es la ubiquitinación por vía del proteosoma y la cascada de cinasas GRIK-SNRK1 desencadenada por la proteína viral Rep (Hanley-Bowdoin et al., 2013).

En respuesta al ataque de patógenos, las plantas se protegen con la ayuda de sistemas inmunitarios dependientes de RNA que incluyen *small interfering RNA* (siRNA) y *micro RNA* (miRNA) que regulan activamente la inmunidad en respuesta al ataque de patógenos mediante el reconocimiento PAMPs y otros efectores (Islam et al., 2018).

### **2.1.1 Mecanismos de defensa del jitomate contra virus**

Gupta y colaboradores en 2021, especifica que en jitomate se encuentran presentes los siguientes mecanismos: TGS (bloqueo de la RNA polimerasa), PTGS, ncRNA (miRNA inhibiendo  $\beta$ C1, betasatélites; siRNA hipermetilado a C3), ubiquitinación por la vía de *SUMOylation* en respuesta a estrés biótico, abiótico y en el desarrollo, *cross talking* fitohormonas-MAPK (MAPK3-SA/JA), genes R (inhibiendo la síntesis de proteínas virales el ciclo de replicación viral Ty-loci del 1 al 6 sin activar la HR) (Verlaan et al., 2011) y activación de la HR (por proteínas virales Rep, PRE-CP, TrAP) (Gupta et al., 2021).

Zou y colaboradores en 2020, propusieron que el ácido jasmónico (JA), una de las hormonas vegetales más estudiadas, es una molécula importante de señalización que integra la información percibida en la interfase planta-insecto en respuestas de defensa de amplio espectro. El JA puede promover la acumulación de metabolitos como los indol-glucosinolatos, la camalexina, el aminoácido no proteico N-acetilornitina y los terpenos que son perjudiciales para los insectos que se alimentan del floema, como el pulgón verde del melocotón (GPA) y la mosca blanca. Por lo tanto, la aplicación de jasmonato de metilo (MeJA) en la pulverización foliar puede mejorar la resistencia de las plantas a la mosca blanca. Además, la proteína viral  $\beta$ C1 interactúa con una serie de proteínas del huésped para afectar las vías de fitohormona, metilación, ubiquitina y fotosíntesis en las plantas (Zou et al., 2020).

Wang y colaboradores en 2015, demostraron que la proteína  $\beta$ C1 del virus TYLCCNB interactuó con NtSKP1 para interrumpir la integralidad del complejo SCF (SKP1-CUL1-F-box), suprimiendo así la degradación de la proteína JAZ (Pauwels & Goossens, 2011). Se identificaron diferentes tipos de ncRNA, como lncRNA, miRNA y siRNA, en el virus TYLCV mediante RNA-SEQ. Estos ncRNA no solo inducen el silenciamiento de genes virales, sino que también participan en vías de respuesta a estrés biótico y abiótico. (J. Wang et al., 2015; H. Zeng et al., 2015).

El objetivo de Sun y colaboradores en 2017, fue investigar si la resistencia mediada por JA está implicada en las interacciones tripartitas entre las moscas blancas, los begomovirus y las plantas de jitomate posterior a la activación de las vías de señalización del JA. Concluyendo que el JA confiere resistencia a las plantas contra

las moscas blancas, por lo tanto, la supresión del JA en las plantas por los begomovirus ya no inhibe efectivamente el ataque del vector (T. Sun & Zhang, 2021; Y.-C. Sun et al., 2017).

### **2.1.2 *Begomovirus de jitomate***

Los geminivirus a menudo se presentan en complejos de enfermedades, diferentes especies de patógenos causan síntomas similares en una especie de planta huésped común, de igual manera las plantas individuales pueden estar infectadas con múltiples virus simultáneamente (Hanley-Bowdoin et al., 2013).

En las bases de datos se han reportado aproximadamente 136 begomovirus que infectan a los jitomates (Avedi et al., 2021). A continuación, se enlistan algunos begomovirus que infectan al jitomate causando pérdidas económicas significantes (Fig. 18):

- I. TYLCV (Cardenas-Conejo et al., 2010; Kil & Kim, 2015; Scholthof et al., 2011)
- II. ToCV (Ding et al., 2019)
- III. ToTV (Hanssen & Lapidot, 2012)
- IV. TSWV (Picó et al., 1996; D. G. Riley & Srinivasan, 2019; M. B. Riley et al., 2002; Roselló et al., 1996)
- V. ToLCV y ToLCV-sat (Lozano et al., 2016; Paraguison-Alili et al., 2020)
- VI. TGMV (Zhou, 2013)



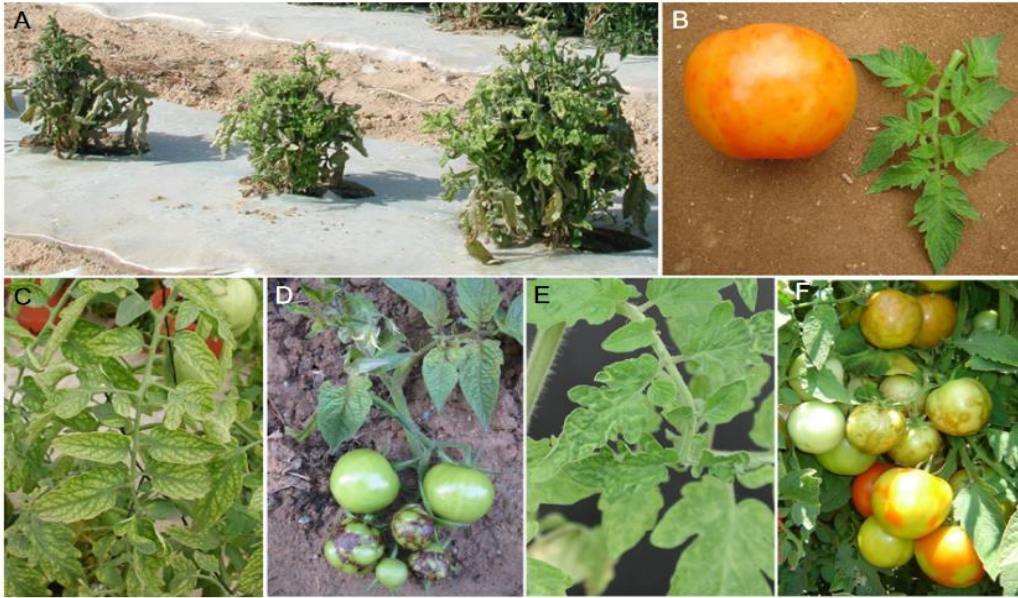


Figura 18. Plantas de jitomate infectadas por diferentes begomovirus. A) Virus de la hoja amarilla rizada del jitomate (TYLC). B) Virus del mosaico del pepino (CMV). C) Virus de la clorosis del jitomate (ToCV). D) Virus del torrado del jitomate (ToTV). E) Virus de las manchas por zonas del pelargonio (PZSV). F) Virus marchitez manchada del jitomate (TSWV) (Hanssen & Lapidot, 2012).

## 2.2 Análisis integrativo multi-ómico en jitomate

Dada su importancia alimenticia, el jitomate ha sido modificado con múltiples objetivos, como, mejorar la calidad de la fruta y aumentar la resistencia a los distintos tipos de estrés tanto bióticos como abióticos. Las ciencias ómicas han permitido la obtención de información a distintos niveles que, al correlacionarse, dan un panorama enriquecido de la relación del jitomate con la mosca blanca y los begomovirus.

Zhu y colaboradores en 2018, estudiaron el metaboloma de dos especies y una variedad de jitomate (*S. pimpinellifolium*, *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* y *S. lycopersicum*) con el objetivo de identificar los metabolitos implicados en el sabor

del jitomate rosa y conocer si estos influyen en el sabor, utilizando a la genómica, la transcriptómica, la metabolómica y la variómica. Concluyeron que la domesticación actuó sobre cinco loci principales que redujeron los compuestos anti-nutricionales en consecuencia, la selección para obtener jitomates rosados modificó el contenido de más de 100 metabolitos relacionados al sabor y que al reducirse la acumulación de glicoalcaloides esteroideos anti-nutricionales (SGA) en los frutos maduros los volvió más comestibles (Zhu et al., 2018). La relevancia de esta información en el presente estudio radica en la integración de datos obtenidos a través de diferentes ómicas. Al combinar estas fuentes de datos, se logra una complementación que enriquece el panorama de la pregunta biológica planteada.

## **CAPÍTULO III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

### **3.1 Justificación**

La importancia de los jitomates como modelo de estudio y fuente de alimentación es indudable, sin embargo, estas plantas son vulnerables a diferentes patógenos como los virus. Las infecciones virales ocasionan pérdidas económicas a nivel mundial en la industria, se estima que el costo anual de las pérdidas asciende a \$60 mil millones de dólares, mientras que las pérdidas anuales por infecciones virales en plantas de jitomate se calculan en \$1 mil millones de dólares.

Del mismo modo, la transmisión de enfermedades de una planta a otra a través del vector, la mosca blanca, es un problema complejo debido a que la mosca blanca transmite otros virus que afectan a una amplia variedad de cultivos, lo que aumenta el riesgo de propagación de enfermedades y la pérdida de cultivos en la agricultura.

Por esta razón, es fundamental conocer los mecanismos de defensa de las plantas de jitomate para poder protegerlas de los agentes patógenos. En este sentido, el uso de la bioinformática permite entender la defensa de las plantas de jitomate a nivel molecular mediante las tecnologías ómicas como la genómica, proteómica, metagenómica y transcriptómica, entre otras, dado que estos enfoques permiten identificar genes y proteínas que intervienen en los mecanismos de defensa y entender cómo interactúan con los virus.

Hasta el momento, los trabajos realizados se han enfocado en el estudio de especies virales que causan enfermedades en cultivos, en la identificación de la

interacción vector-virus o vector-planta y en los mecanismos de defensa de la planta (Rossouw et al., 2019). Sin embargo, poco se conoce sobre la conservación de los mecanismos de defensa entre las distintas variedades de jitomate y su potencial para lidiar contra las principales infecciones de patógenos como los virus. Otro punto es que no se ha explorado la capacidad genética, así como la organización genómica de los begomovirus silvestres de distintas regiones importantes en el cultivo de jitomate en México.

### **3.2 Hipótesis**

Al realizar un análisis multiómico del jitomate y su viroma, es posible identificar y comprender los mecanismos de defensa utilizados por la planta ante una infección por begomovirus.

### **3.3 Objetivos**

#### **3.3.1 General**

Conocer el potencial genético de defensa que existe dentro de las principales especies de jitomate y la diversidad genómica de begomovirus presentes en regiones de cultivo importantes en México, considerados como posibles causantes de infecciones latentes.

#### **3.3.2 Particulares**

- Determinar los genes involucrados en la defensa de las principales variedades económicas de jitomates mediante genómica comparativa.
- Evaluar el potencial genético de defensa específico y general en las distintas variedades de jitomate estudiadas mediante genómica comparativa.

- Comprender las estrategias evolutivas que han desarrollado los begomovirus para evadir los mecanismos de defensa en las plantas de jitomate mediante metagenómica.

## CAPÍTULO IV. METODOLOGÍA

Para alcanzar los objetivos planteados, se empleó una metodología que se dividió en dos enfoques: el genómico y el metagenómico.

### 4.1 Enfoque genómico

Inicialmente, se reconstruyó una filogenia, primero se realizó un alineamiento múltiple de la proteína F-box en el programa JALVIEW (versión 2.11.2.5) por MUSCLE (Edgar, 2004). Seguido del análisis en el servidor del software filogenético IQ-TREE (Nguyen et al., 2015; Trifinopoulos et al., 2016) para conocer el mejor modelo evolutivo acorde a los datos, además, se utilizó una robustez estadística de 1,000 réplicas de Bootstrap. Finalmente, se cargó el formato Newick de la predicción obtenida en IQ-TREE para reconstruir la filogenia por máxima verosimilitud (ML) en el programa FigTree (versión 1.4.4) (Rambaut, 2006). Posteriormente, se le agregaron las respectivas fotos de los jitomates a la filogenia.

Por otro lado, para la creación de la base de datos se seleccionaron los genomas de siete especies de jitomates, considerando como genoma de referencia al jitomate Heinz 1706 (Peters et al., 2009) y en junio, 2022 se descargaron los genomas disponibles en la base de datos Genome de NCBI.

Simultáneamente, para la identificación de los mecanismos de defensa utilizados por *S. lycopersicum* durante el ataque de geminivirus y begomovirus se recopilaron datos de diferentes fuentes, obteniendo a los genes implicados en estas vías, los cuáles se concentraron en un listado para su posterior búsqueda en la base de datos

Gene de NCBI, en la cual no todos los genes estaban disponibles para *S. lycopersicum* pero estaban descritos y accesibles para otras especies como *A. thaliana*, *N.attenuata* y *S. pennellii*.

Por lo que se descargaron un total de 109 genes implicados en los mecanismos de defensa en las plantas al ataque de begomovirus que estaban disponibles en la base de datos Gene de NCBI, para realizar la búsqueda de ortólogos. Los cuales se coleccionaron en una tabla con el identificador del gen, nombre del gen y nombre de la planta a la que cada uno pertenece (Tabla S6).

Para crear una base de datos local de nucleótidos primero se indexaron las secuencias de los genes, enseguida se creó la base de datos con BLASTn, por último, se realizó el alineamiento local contra los siete genomas de los jitomates seleccionados para identificar a los genes ortólogos en cada especie mediante el programa BLAST+ (versión 2.9.0).

Posteriormente, se consideraron como genes ortólogos aquellos que tuvieron un e-value máximo de  $1 \times 10^{-10}$  y un porcentaje de identidad superior al 95%. A los cuales se les realizó un análisis de frecuencias de los genes por cada genoma mediante el entorno de R (versión 4.2.1 "Funny-Looking Kid"), una vez parseados los datos se unificaron las siete tablas para identificar a los genes ortólogos presentes y ausentes en cada especie. Por último, para complementar, se investigaron en la base de datos KEGG las vías presentes para corroborar si estaba completa la vía o de lo contrario, qué porcentaje de esta lo estaba, en las especies de jitomates disponibles en esta base de datos (*S. lycopersicum* y *S. pennellii*).

## 4.2 Enfoque metagenómico

En 2019, Rodríguez-Negrete y colaboradores realizaron un análisis metagenómico *de novo* en cinco regiones de México: Baja California, Sonora, Sinaloa, Colima-Nayarit, y Coahuila-Durango en un periodo de 4 años (2012-2016). Los autores trabajaron con 422 plantas no cultivadas pertenecientes a 34 familias y 132 especies, de las cuales las familias más distribuidas fueron las *Asteraceae*, *Solanaceae*, *Malvaceae* y *Fabaceae*. Además, eran sintomáticas y asintomáticas a las infecciones de begomovirus.

Las secuencias virales obtenidas en este estudio se descargaron del enlace proporcionado por los autores en el material complementario de su artículo (Rodríguez-Negrete et al., 2019) y se verificó su calidad con el programa QUAST, opción para metagenomas METAQUAST en el servidor GALAXY.

A continuación, a estos datos se les asignó su taxonomía hasta el nivel de género con el programa para datos metagenómicos VirusTaxo (versión 0.2.5), este programa utiliza k-meros para la identificación viral con una precisión promedio del 93% a nivel de género en la predicción de virus de DNA y RNA (Raju et al., 2022). Consecutivamente, se extrajeron los *headers* y las secuencias que pertenecían a begomovirus mediante el programa better-fasta-grep (versión 1.0.3).

Una vez obtenidas las secuencias referentes a begomovirus de las cinco regiones del trabajo de Rodríguez-Negrete y colaboradores, se realizó una búsqueda con BLASTn para conocer a qué especie viral correspondía cada secuencia. Posteriormente, en las secuencias identificadas se recuperaron las proteínas



codificadas por el DNA-A en ambos tipos de begomovirus y en el DNA-B de los begomovirus bipartitas para construir árboles filogenéticos.

Para comenzar con las construcciones filogenéticas se descargaron las secuencias proteicas completas de las proteínas virales de diferentes especies de plantas infectadas que estaban disponibles en la base de datos Protein de NCBI, las cuales se recopilaron en archivos multifasta por cada proteína viral; seguidamente se realizó un alineamiento múltiple de los archivos multifasta en el programa JALVIEW (versión 2.11.2.5) por MUSCLE (Edgar, 2004).

Además, para conocer el mejor modelo evolutivo acorde a los datos, se utilizó el servidor del software filogenético IQ-TREE (Nguyen et al., 2015; Trifinopoulos et al., 2016) y para la robustez estadística de la topología filogenética se evaluó mediante un análisis de Bootstrap de 1,000 réplicas. Finalmente, se cargó el formato Newick de la predicción obtenida en IQ-TREE para reconstruir las filogenias por máxima verosimilitud (ML) en el programa FigTree (versión 1.4.4) (Rambaut, 2006).

Por último, en MEGA (versión X) (Stecher et al., 2020) se calcularon las matrices de divergencia, sugeridos en IQ-TREE (Trifinopoulos et al., 2016), para cada una de las proteínas virales y así conocer los índices de divergencia.

## CAPÍTULO V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 5.1 Resultados genómicos

Para reconstruir la filogenia de las especies de jitomates utilizadas en el presente trabajo (Fig. 19), se seleccionó la proteína F-box y se enraizó con *S. lycopersicoides*, por ser el ancestro más lejano. La presencia de un grupo monofilético entre estas especies indica que los jitomates probablemente tienen mecanismos de defensa similares ante las infecciones causadas por los begomovirus.

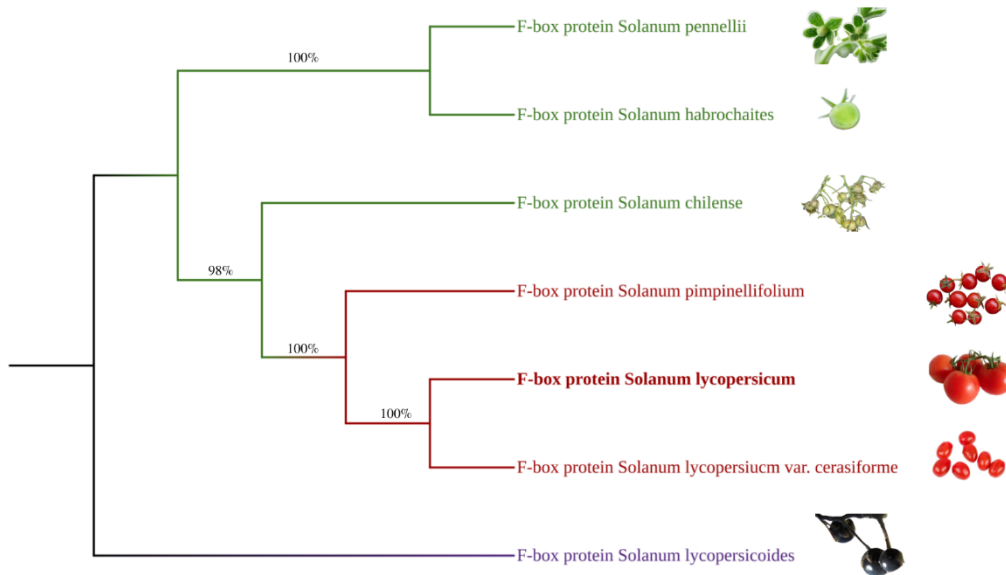


Figura 19. Árbol filogenético construido a partir de secuencias de la proteína F-Box de las siete especies de jitomates analizadas en el presente trabajo con su correspondiente foto al lado derecho. Los números en las ramas representan el porcentaje de Bootstrap obtenido a partir de 1000 repeticiones, el grupo externo es *S. lycopersicoides* (morado), se señala al organismo de referencia *S. lycopersicum* (negritas).

Por otra parte, para la creación de la base de datos se seleccionaron y descargaron los genomas disponibles y anotados en la base de datos Genome, NCBI de siete especies de jitomates (Tabla 4).

Tabla 4. Metada de los siete genomas de jitomates utilizados en el presente trabajo.

GenBank ID	Especie de jitomate	Total de lecturas	Tipo de datos	Plataforma de secuenciación
GCA_006013705.1	<i>Solanum chilense</i>	913,880,739	Genómicos	Illumina MiSeq; Illumina HiSeq
GCA_000577655.1	<i>Solanum habrochaites</i>	827,962,994	Genómicos	Illumina HiSeq 2000;454 FLX
GCA_022817965.1	<i>Solanum lycopersicoides</i>	1,287,236,262	Genómicos	PacBio
GCF_000188115.5	<i>Solanum lycopersicum</i> (jitomate)	827,962,994	Genómicos	454; Sanger; Illumina; SOLiD
GCA_016860505.2	<i>Solanum lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i> (jitomate cherry)	805,373,952	Genómicos	Sequel
GCF_001406875.1	<i>Solanum pennellii</i>	926,426,464	Genómicos	Genome Analyzer GAIIx Illumina;Illumina MiSeq;Illumina TruSeq
GCA_014964335.1	<i>Solanum pimpinellifolium</i> (jitomate grosella)	808,099,718	Genómicos	PacBio Sequel

La mayoría de los genomas recopilados contienen un promedio total de lecturas entre 800Mb y 900 Mb, que es cercano al tamaño esperado en jitomate, excepto por el genoma de *S. lycopersicoides* con un total de 1 Gb, sobresaliendo del promedio.

De igual modo, se recopilaron 109 genes (Tabla S6) que corresponden a las especies *S. lycopersicum*, *S. pennellii*, *A. thaliana* y *N. attenuata* que participan en las siguientes 9 vías: autofagia (8), hormonas (3), respuesta hipersensible (3), de las MAP kinasas (18), silenciamiento postranscripcional de genes (10), síntesis de proteínas (3), silenciamiento transcripcional de genes (32), ubiquitinación por proteosoma (23) y ubiquitinación por SUMOylation (9).

Con el conjunto de genomas y genes recopilados se creó la base de datos que fue utilizada para identificar a los genes ortólogos en cada especie de jitomate mediante el programa BLAST+, se obtuvieron como salida un total de siete tablas (Fig. 20) que proporcionan información detallada sobre el resultado del alineamiento, permitiendo evaluar la calidad de la alineación y la similitud entre las secuencias comparadas.

qseqid	sseqid	pident	length	mismatch	gapopen	qstart	qend	sstart	send	evalue	bitscore
CM040618.1	NC_015445.3:56268946-56317729	100	28	0	0	105010394	105010421	4328	4301	0.012	52.8
CM040618.1	NC_015443.3:c34472965-34444379	100	28	0	0	109281970	109281997	800	827	0.012	52.8
CM040618.1	NC_015443.3:c34472965-34444379	100	28	0	0	33052974	33053001	22072	22045	0.012	52.8
CM040618.1	NC_015443.3:c34472965-34444379	96.774	31	1	0	13651712	13651742	22043	22073	0.012	52.8
CM040618.1	NC_015443.3:c34472965-34444379	96.774	31	1	0	31334379	31334409	22043	22073	0.012	52.8
CM040618.1	NC_015443.3:c34472965-34444379	96.774	31	1	0	51233546	51233576	22073	22043	0.012	52.8
CM040618.1	NC_015443.3:c34472965-34444379	96.774	31	1	0	22854896	22854926	22073	22043	0.012	52.8
CM040618.1	NC_015443.3:c34472965-34444379	96.774	31	1	0	22462688	22462718	22073	22043	0.012	52.8
CM040626.1	NC_015443.3:c34472965-34444379	100	28	0	0	99391471	99391498	800	827	0.01	52.8
CM040626.1	NC_015443.3:c34472965-34444379	100	28	0	0	48416501	48416528	22070	22043	0.01	52.8
CM040626.1	NC_015443.3:c34472965-34444379	100	28	0	0	17847118	17847145	22045	22072	0.01	52.8
CM040626.1	NC_015443.3:c34472965-34444379	100	28	0	0	18591991	18592018	22046	22073	0.01	52.8
CM040626.1	NW_017670655.1:c461550-406518	100	28	0	0	2316482	2316509	50492	50465	0.01	52.8
CM040626.1	NC_015439.3:c38177022-38172644	100	28	0	0	35900037	35900064	3521	3494	0.01	52.8
CM040626.1	NC_015443.3:c34472965-34444379	96.774	31	1	0	80507907	80507937	22043	22073	0.01	52.8
CM040626.1	NC_015445.3:56268946-56317729	83.929	56	7	2	67910630	67910683	15541	15596	0.01	52.8
CM040622.1	NC_015443.3:c34472965-34444379	100	28	0	0	5173475	5173502	800	827	0.009	52.8
CM040622.1	NC_015443.3:c48998975-48994397	100	28	0	0	6414838	6414865	468	441	0.009	52.8
CM001064.3	NC_015443.3:c34472965-34444379	100	28	0	0	18401809	18401836	22046	22073	0.009	52.8
CM001064.3	NC_015443.3:c34472965-34444379	100	28	0	0	18401809	18401836	22046	22073	0.009	52.8
HC975440.1	NC_015445.3:56268946-56317729	100	28	0	0	85820817	85820844	4328	4301	0.009	52.8
HC975440.1	NC_015443.3:c34472965-34444379	100	28	0	0	28210169	28210196	22046	22073	0.009	52.8
HC975440.1	NC_015443.3:c34472965-34444379	100	28	0	0	30819753	30819780	22046	22073	0.009	52.8
HC975440.1	NC_015443.3:c34472965-34444379	100	28	0	0	14819346	14819373	22073	22046	0.009	52.8
HC975440.1	NW_017670655.1:c461550-406518	96.875	32	0	1	97969212	97969243	33078	33108	0.009	52.8
CM040622.1	NC_015443.3:c34472965-34444379	96.774	31	1	0	11706867	11706897	22043	22073	0.009	52.8
CM040622.1	NC_015443.3:c34472965-34444379	96.774	31	1	0	47567102	47567132	22073	22043	0.009	52.8
CM040622.1	NC_015443.3:c34472965-34444379	96.774	31	1	0	13083337	13083367	22073	22043	0.009	52.8
CM040629.1	NC_015443.3:c34472965-34444379	96.774	31	1	0	14820508	14820538	22043	22073	0.009	52.8
CM040629.1	NC_015443.3:c34472965-34444379	96.774	31	1	0	70127778	70127808	22043	22073	0.009	52.8
CM001064.3	NC_015443.3:c34472965-34444379	96.774	31	1	0	4365809	4365879	22043	22073	0.009	52.8
CM001064.3	NC_015443.3:c34472965-34444379	96.774	31	1	0	4498008	4498038	22043	22073	0.009	52.8
CM001064.3	NC_015443.3:c34472965-34444379	96.774	31	1	0	5896466	5896496	22043	22073	0.009	52.8
CM001064.3	NC_015443.3:c34472965-34444379	96.774	31	1	0	6093184	6093214	22043	22073	0.009	52.8
CM001064.3	NC_015443.3:c34472965-34444379	96.774	31	1	0	6922035	6922065	22043	22073	0.009	52.8
CM001064.3	NC_015443.3:c34472965-34444379	96.774	31	1	0	10302098	10302128	22043	22073	0.009	52.8
CM001064.3	NC_015443.3:c34472965-34444379	96.774	31	1	0	15293309	15293339	22043	22073	0.009	52.8
CM001064.3	NC_015443.3:c34472965-34444379	96.774	31	1	0	16068937	16068967	22043	22073	0.009	52.8

Figura 20. Tabla del BLAST correspondiente a *S. lycopersicum* var. *cerasiforme*.

Donde las columnas dan la siguiente información:

1. *Query ID*: identificador de la secuencia de consulta.
2. *Subject ID*: identificador de la secuencia en la base de datos que coincide con la consulta.
3. *% identity*: porcentaje de identidad entre la secuencia de consulta y la secuencia de la base de datos.
4. *Alignment length*: longitud de la alineación entre la secuencia de consulta y la secuencia de la base de datos.
5. *Mismatches*: número de desajustes (no coincidencias) entre la secuencia de consulta y la secuencia de la base de datos.
6. *Gap openings*: número de gaps en la alineación.
7. *Query start*: posición de inicio de la secuencia de consulta en la alineación.
8. *Query end*: posición final de la secuencia de consulta en la alineación.
9. *Subject start*: posición de inicio de la secuencia de la base de datos en la alineación.
10. *Subject end*: posición final de la secuencia de la base de datos en la alineación.
11. *E-value*: indica la probabilidad de encontrar una coincidencia con una puntuación dada por azar.

12. *Bit score*: puntaje de bits, que indica la calidad de la coincidencia entre la secuencia de consulta y la secuencia de la base de datos.

Con el alineamiento local se identificaron genes completos e incompletos y se contabilizaron individualmente. No obstante, para evitar sesgos en el análisis, se descartaron aquellos genes que presentaban menos de 100 nucleótidos de distancia en las regiones de solapamiento, y se contabilizaron como un solo gen. Finalmente, se encontraron 63 ortólogos presentes (Tabla S7) y 46 genes ausentes en todas las especies de jitomates estudiadas, la mayoría corresponden a *A. thaliana* (Tabla S8).

Los 46 genes ausentes en todas las especies de jitomates estudiadas corresponden a las vías de: autofagia (3), kinasas (11), PTGS (3), TGS (22), ubiquitinación por proteosoma (6) y ubiquitinación por SUMOylation (1).

Estos resultados sugieren que hay una alta conservación de genes entre las especies de jitomates, sin embargo, es importante destacar que la presencia o ausencia de estos genes puede estar relacionada con procesos evolutivos específicos en cada especie, y su análisis detallado puede proporcionar información valiosa sobre la evolución de estas plantas.

A su vez, las proteínas de RNA polimerasa nuclear D1B (NRPD1B), ubiquitina como enzima activadora modificadora 1 (UBA1) y la partícula reguladora triple-A ATPasa 4A (RPT4A) de *A. thaliana* están ausentes en *S. lycopersicum* y en *S. pimpinellifolium*, pero presentes en las otras cinco especies de jitomates.

Las vías con mayor potencial genético de ser utilizadas por todas las distintas especies en los jitomates son descritas a continuación.

La vía de síntesis de proteínas, hormonas y respuesta hipersensible están presentes en un 100% en todas las especies de jitomate estudiadas.

Los genes Pelota (Pelo) son una familia de genes conservados evolutivamente y tienen diversas funciones, tales como la participación en la fase de reciclaje de ribosomas de la síntesis de proteínas, la resistencia a enfermedades, el control del ciclo celular y la división celular meiótica (W. Ding et al., 2018; Gupta et al., 2021).

En las plantas susceptibles, las infecciones virales provocan alteraciones hormonales, que se manifiestan como la inducción simultánea de varias hormonas antagónicas.

El ácido jasmónico (JA) participa en la resistencia a patógenos necróticos e insectos. Por su parte, el ácido abscísico (ABA) cumple un papel central en la respuesta al estrés abiótico y en la defensa de las plantas en las primeras etapas de la infección, esto se logra mediante la difusión del cierre estomático contra los invasores o la inducción de otras vías si el patógeno evade la primera línea de defensa. Mientras tanto, el ácido salicílico (SA) activa la señal en el floema para inducir la resistencia local y sistémica adquirida (SAR por sus siglas en inglés), regula a los genes R además activa a la maquinaria antiviral (Alazem & Lin, 2015; Miozzi et al., 2014; Molesini et al., 2020).

Mientras que, los genes seleccionados de las vías de ubiquitinación (Friedrichsen et al., 2000; Hatfield et al., 1997; Jia et al., 2016) por proteosoma y SUMOylation están presentes en un 74% y 89% respectivamente. El 70% de los genes seleccionados de la vía de PTGS se encuentran presentes en los jitomates (Z. Li et al., 2020). Seguidos por los genes de la vía de autofagia en un 63% (Bu et al., 2020; Miozzi et al., 2014).

En contraste, las vías más incompletas son las kinasas (Fontes et al., 2004; Gish & Clark, 2011; Innes, 2001; Macho & Lozano-Duran, 2019a, 2019b; Nakagami et al., 2005; Smakowska-Luzan et al., 2018; Tang et al., 2017; R. Zeng et al., 2018) con 61% de ausencia y 69% en el TGS (Cao & Jacobsen, 2002; Carluccio et al., 2018; Chandan et al., 2019; Eun et al., 2011; F. Li et al., 2014; F. Li & Wang, 2022; Zhao et al., 2022).

Los genes más frecuentes en los jitomates son TY 1/3 de la vía HR, PELOTA1L de la vía de síntesis de proteínas y SNF1 en la vía de las kinasas en *S. lycopersicoides* que es el menos frecuente en las especies *S. lycopersicum* y *S. pimpinellifolium*.

Seguido por la proteína DCL3 de la vía TGS, NPR1 de la vía de las hormonas, AGO1L de la vía PTGS, RPT4a de la vía ubiquitinación por SUMOylation, RAD23c de la vía ubiquitinación por proteosoma dónde son más frecuente en *S.lycopersicoides* y menos frecuente *S.lycopersicum*. Por su parte, la CaM6 de la vía de autofagia es más frecuente en *S.lycopersicoides* y menos frecuente en *S.pimpinellifolium*.



Por último, de la base de datos KEGG se recuperaron las vías más conservadas y disponibles para dos especies (*S. lycopersicum* y *S. pennellii*) de las siete con las que se trabajaron. Se observó que entre los dos mapas no hay variaciones, por lo que se analizó únicamente en *S. lycopersicum*.

De las vías estudiadas, la vía más completa disponible en KEGG en *S. lycopersicum* es la de las hormonas (Fig. 21), en verde se resaltan los genes presentes en esta vía, en rojo el gen representativo que se seleccionó y descargó para la base de datos local, COL1 de la vía del ácido jasmónico, hormona del estrés que participa en la respuesta en defensa a patógenos; en naranja SNRK2 kinasa de señalización de la vía hormonal del ácido abscísico que activa el mecanismo antiviral y en azul un ejemplo de *cross talking* entre JA-ILE por NRPK (Gupta et al., 2021).

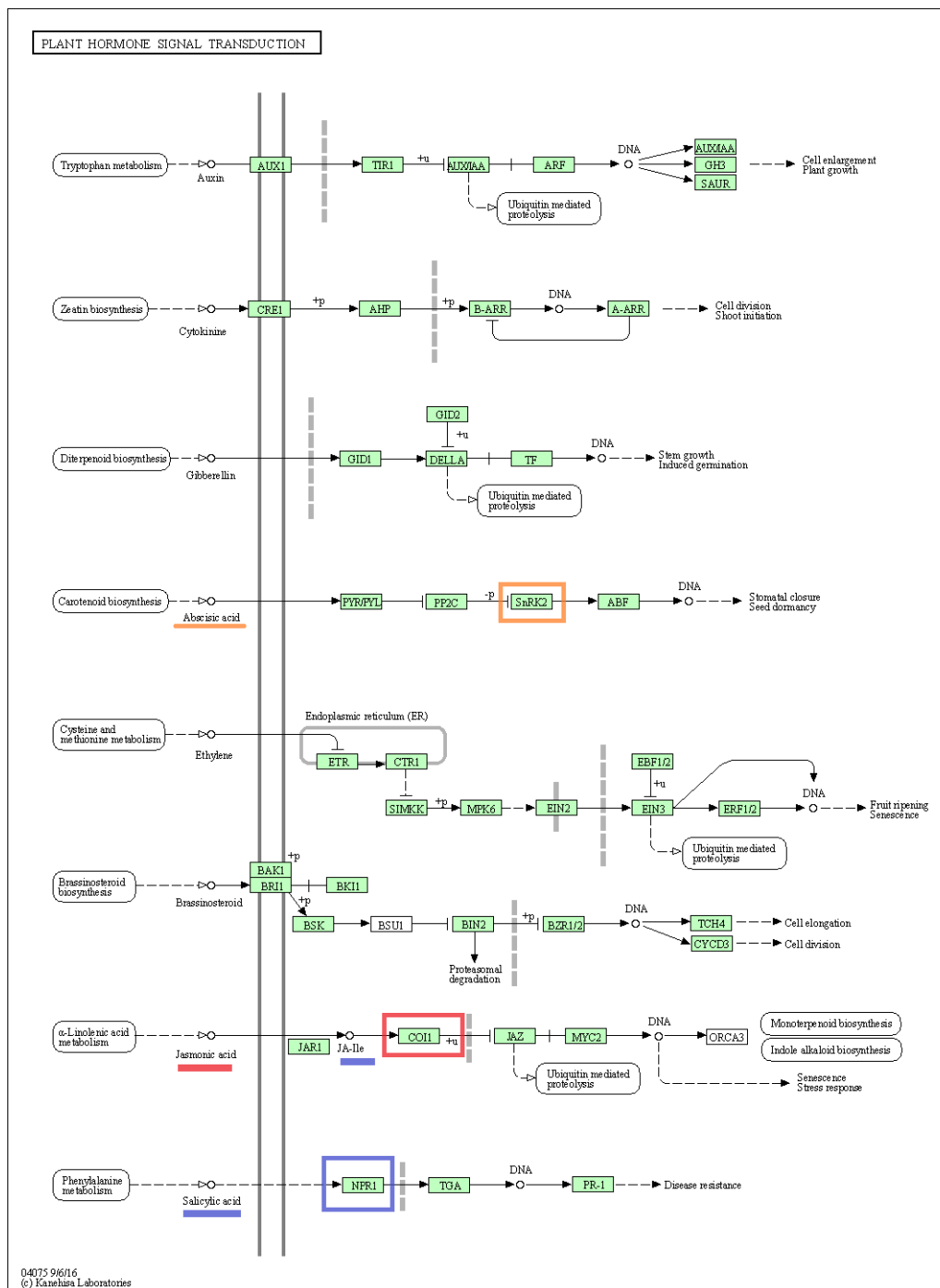


Figura 21. Mapa de KEGG de la vía de las hormonas en jitomate (*S. lycopersicum*).

## 5.2 Resultados metagenómicos

Los metagenomas recuperados del trabajo de Rodríguez-Negrete y colaboradores corresponden a las siguientes cinco regiones geográficas en México (Fig. 22): Baja California, Sonora, Sinaloa, Coahuila-Durango y Colima-Nayarit.

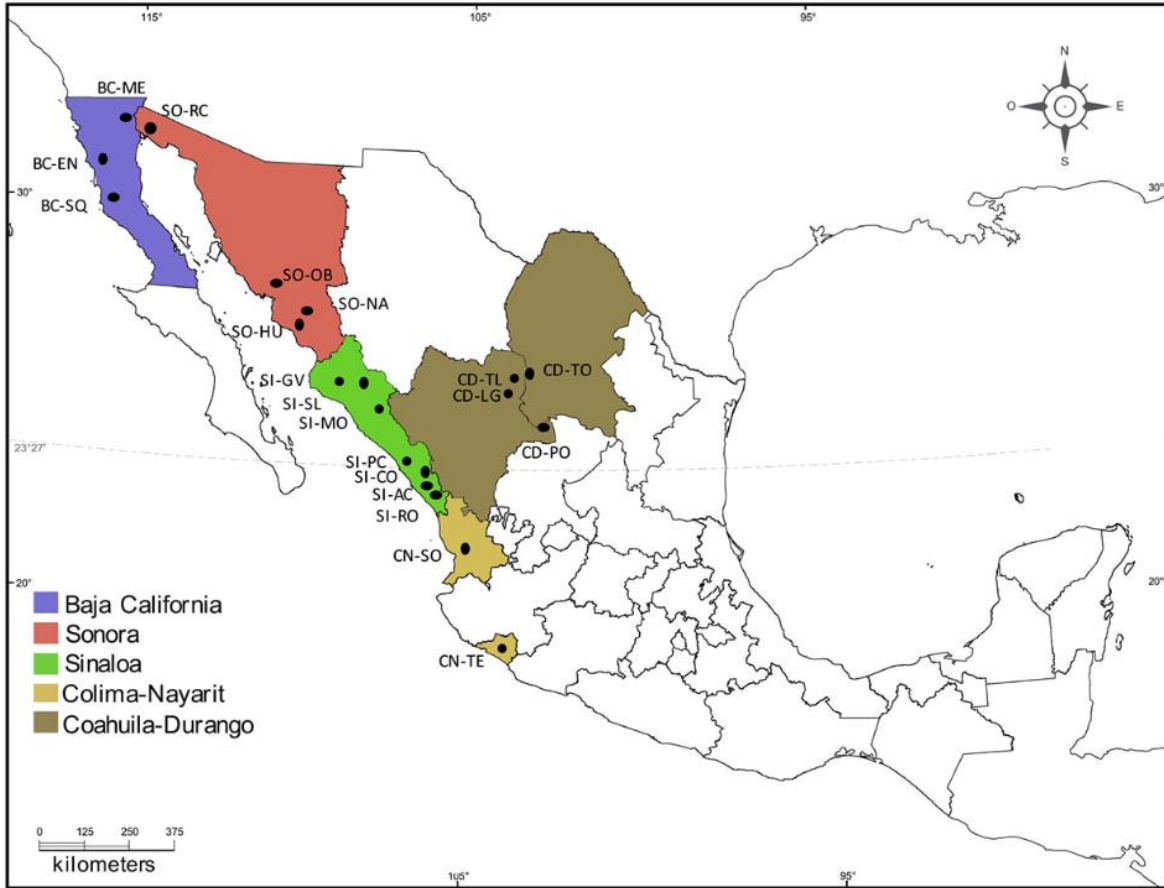


Figura 22. Mapa de las áreas de muestreo correspondientes a cinco regiones ubicadas en diferentes zonas biogeográficas, diferenciadas por colores: Baja California (BC), Sonora (SO), Sinaloa (SI), Colima-Nayarit (CN), y Coahuila-Durango (CD). BC-SQ: Baja California, San Quintín; BC-EN: Baja California, Ensenada; BC-ME: Baja California, Mexicali; SO-OB: Sonora, Obregón; SO-NA: Sonora, Navojoa; SO-HU: Sonora, Huatabampo; SO-RC: Sonora, Rio Colorado; SI-GV: Sinaloa, Guasave; SI-SL: Sinaloa, Sinaloa de Leyva; SI-MO: Sinaloa, Mocorito; SI-PC: Sinaloa, Playa Ceuta; SI-CO: Sinaloa, Concordia; SI-AC: Sinaloa, Agua Caliente; SI-RO: Sinaloa, El Rosario; CN-SO: Colima-Nayarit, Santa María del Oro; CN-TE: Colima-Nayarit, Tecomán; CD-TL: Coahuila-Durango, Tlahualilo; CD-LG: Coahuila-Durango, La Goma; CD-TO: Coahuila-Durango, Torreón; CD-PO: Coahuila-Durango, Poanas.

Rodríguez-Negrete y colaboradores compararon los *contigs* generados en su estudio contra secuencias de geminivirus en la base de datos GenBank de NCBI identificando hasta el nivel de especie obteniendo entre 6,000 y 4.6 millones de lecturas con mínimo el 80% de similitud, de las cuales más del 99% corresponden al género *Begomovirus*, y el 1% restante coincide con otros de los géneros de la familia *Geminiviridae* (*Curtovirus*, *Becurtovirus*, *Turncurtovirus*, *Topocuvirus* y *Mastrevirus*).

Posterior a la descarga de los metagenomas (Tabla 5), se evaluó la calidad de estos con el reporte de METQUAST (Fig. 23) y no se eliminaron secuencias de baja calidad porque los datos ya estaban pre-tratados.

Tabla 5. Metadatos de las secuencias del artículo de Rodríguez-Negrete et al., 2019.

Lugar	Total de lecturas	Número de contigs relacionados con Geminivirus	Contigs más cortos/largos de Geminivirus [pb]	Tipo de datos	Plataforma de secuenciación
Baja California	16,056,866	92	78/2437	Metagenómicos	Ilumina Nextera XT; MiSeq 500
Sonora	30,440,802	195	78/2293	Metagenómicos	Ilumina Nextera XT; MiSeq 500
Sinaloa	215,007,456	15,465	78/2723	Metagenómicos	Ilumina Nextera XT; MiSeq 500
Colima-Nayarit	33,159,620	8368	78/2775	Metagenómicos	Ilumina Nextera XT; MiSeq 500
Coahuila-Durango	70,782,034	169	78/2858	Metagenómicos	Ilumina Nextera XT; MiSeq 500
Total	365,446,778	24,289	78/2858		

Para evaluar la calidad de los metagenomas se consideraron los siguientes factores:

1. Longitud de lectura: Es el número máximo de bases que pueden ser secuenciadas de cada fragmento.

2. Número de contigs: La cantidad de fragmentos de secuencias superpuestas de DNA que reconstruyen una región determinada.
3. N50: Estadístico que indica en pb, el *scaffold* que abarca mínimo el 50% del ensamble (longitud normalizada del contig L50: contig más largo con el que se alcanza el 50% del genoma)
4. Número de N's: Errores en las lecturas o errores en el algoritmo de ensamblado.

	Sonora_SO_fasta	Baja_California_BC_fasta	Coahuila-Durango_CD_fasta	Colima-Nayarit_CN_fasta	Sinaloa_SI_fasta
# contigs (>= 0 bp)	195	92	143	8368	15465
# contigs (>= 1000 bp)	6	3	19	5	21
Total length (>= 0 bp)	53639	22738	60462	1096442	2152902
Total length (>= 1000 bp)	16000	4810	27279	10230	44339
# contigs	14	8	29	12	41
Largest contig	5293	2437	2858	2775	2844
Total length	21627	7892	34791	14961	58344
GC (%)	43.17	43.25	43.36	44.01	43.03
N50	2392	1109	1224	1525	2086
N90	676	526	746	599	674
auN	2600.5	1361.4	1434.1	1721.1	1916.7
L50	4	3	11	4	12
L90	11	7	24	10	31
# N's per 100 kbp	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Figura 23. Reporte de METQUAST de las secuencias del estudio realizado por Rodríguez-Negrete et al. en 2019.

En las lecturas reportadas se realizó una búsqueda de virus correspondientes al género *Begomovirus* mediante la página web del programa VirusTaxo (<https://omics-lab.com/virustaxo>). Se obtuvieron tablas que indican tamaño, género y entropía por nodo, de las cuales se seleccionaron los nodos de begomovirus con entropía negativa, puesto que este valor se utiliza para proporcionar certeza a nivel de género, donde a mayor entropía (>0.5) es más probable que sea un falso positivo, por ende, es menos confiable y a menor entropía ( $\leq 0.5$ ) esa probabilidad

disminuye y el dato es más confiable. Por esta razón se extrajeron los *headers* y las secuencias que cumplían con este criterio.

Finalmente, se obtuvieron más de 3,000 secuencias de begomovirus identificadas en estas cinco regiones. En Baja California se identificaron 7 begomovirus, en Sinaloa 2,418 begomovirus, en Sonora 28 begomovirus, en las regiones de Coahuila-Durango y Colima-Nayarit se identificaron 49 y 639 begomovirus respectivamente.

Rodríguez-Negrete y colaboradores reportaron a los begomovirus en plantas recolectadas en estas cinco regiones de México, que posteriormente secuenciaron, ensamblaron *de novo* y aislaron. Obteniendo los siguientes begomovirus: un begomovirus monopartita *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) y tres begomovirus bipartitas *Sida mosaic Sinaloa virus* (SiMSiV), *Rhynchosia golden mosaic virus* (RhGMV) y *Rhynchosia golden mosaic Sinaloa virus* (RhGMSV).

A estas secuencias se les realizó un BLASTn por cada región geográfica descrita anteriormente, y se recopilaron las especies virales de begomovirus monopartitas y bipartitas. Posteriormente, se analizó la diversidad genética en las proteínas virales para determinar la tasa de evolución en diferentes begomovirus monopartitas versus bipartitas.

Se recopilaron seis proteínas del DNA-A (CP, Rep, TrAP, C3/AC3, C4/AC4, C5/AC5) de los begomovirus monopartitas y bipartitas respectivamente. Además, de las dos proteínas del DNA-B (NSP y MV) de begomovirus bipartitas. La proteína

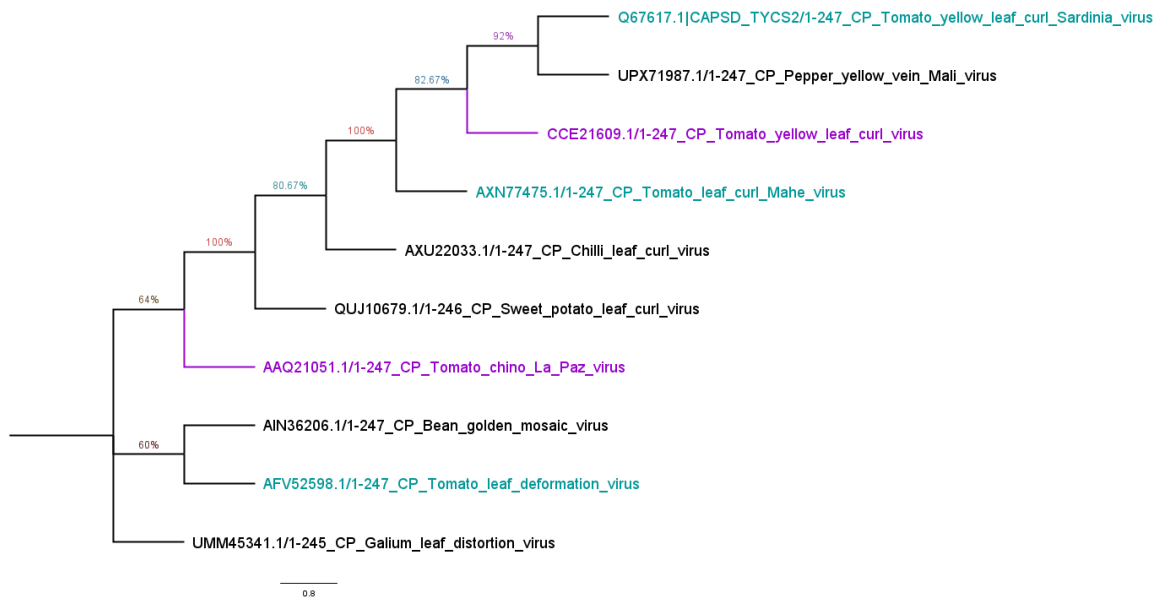
codificada en el ORF V2/AV2 del DNA-A no estaba presente en los datos de este estudio, como se esperaba ya que estas proteínas suelen no ser codificadas en begomovirus del nuevo mundo y México forma parte del nuevo mundo (Mondal et al., 2019).

Las secuencias completas de las proteínas virales se recopilaron en diferentes archivos multifasta divididos principalmente en dos grupos uno con las proteínas de begomovirus monopartitas y otro con las proteínas de begomovirus bipartitas. Para enraizar el árbol se utilizaron secuencias de las mismas proteínas de organismos externos, por lo que cada uno de los archivos multifasta contenían diez secuencias de begomovirus monopartitas y bipartitas respectivamente, con secuencias de begomovirus presentes en el estudio, el organismo para enraizar y de ser necesario, secuencias de otros begomovirus que infectan a otras plantas dentro de las familias *Asteraceae*, *Solanaceae*, *Malvaceae* y *Fabaceae*, familias más representadas reportadas en el estudio de Rodríguez-Negrete y colaboradores.

Continuando con el alineamiento, donde se observó que las proteínas de cápside en ambos begomovirus son conservadas, las proteínas Rep son conservadas entre bipartitas y no conservadas en los monopartitas, las proteínas TrAp son conservadas entre bipartitas y no conservadas en los monopartitas, las proteínas Ren son conservadas entre bipartitas y no conservadas en los monopartitas, las proteínas AC4 de begomovirus bipartitas están menos conservadas que las proteínas C4 de begomovirus monopartitas, las proteínas AC5 y C5 son conservadas en ambos begomovirus. Por su parte, las proteínas del DNA-B de los

begomovirus bipartitas, NSP y MV, están conservadas entre las diferentes especies de plantas.

La reconstrucción de las filogenias con el modelo de máxima verosimilitud (ML) (Fig. 24 a 31) donde se observó el mismo comportamiento que en el alineamiento para las proteínas virales; estos tienen el siguiente código de color: begomovirus recuperados del estudio mencionado (fucsia), begomovirus que infectan a jitomate (turquesa) y begomovirus que infectan a otras especies (negro). Asimismo, en la parte superior están los árboles filogenéticos de las proteínas de begomovirus monopartitas y en la parte inferior las proteínas de begomovirus bipartitas para las distintas proteínas seleccionadas.





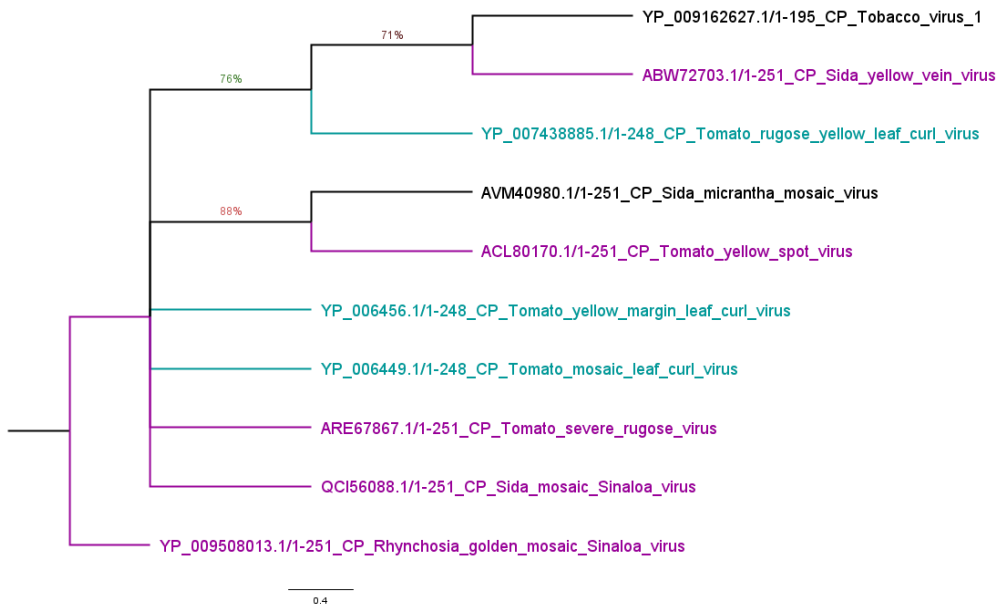


Figura 24. Árbol filogenético de máxima verosimilitud del ORF del DNA-A V1 y AV1 de los begomovirus monopartitas y bipartitas respectivamente que codifican a la proteína CP. Los números en las ramas representan el porcentaje de Bootstrap obtenido a partir de 1000 repeticiones y la barra de escala representa el número de sustituciones por sitio.

El árbol filogenético de la proteína CP de los begomovirus bipartita tienen varias ramas sin resolver, porque las tasas de evolución son muy diferentes entre sí, esto sugiere que divergieron en diferentes momentos y a diferentes tasas.

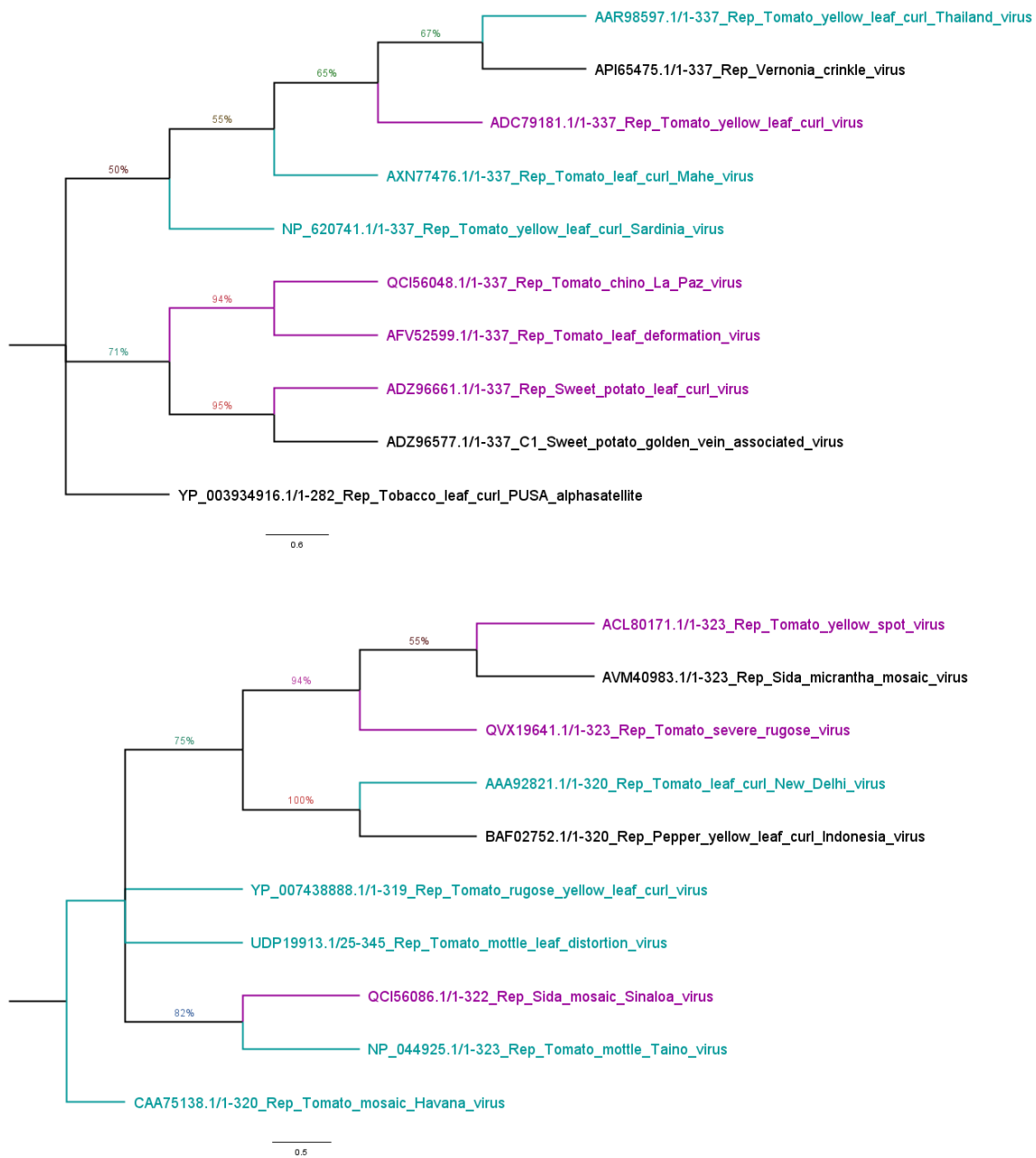


Figura 25. ORF del DNA-A C1 y AC1 que codifican a la proteína REP. Los números en las ramas representan el porcentaje de Bootstrap obtenido a partir de 1000 repeticiones y la barra de escala representa el número de sustituciones por sitio.

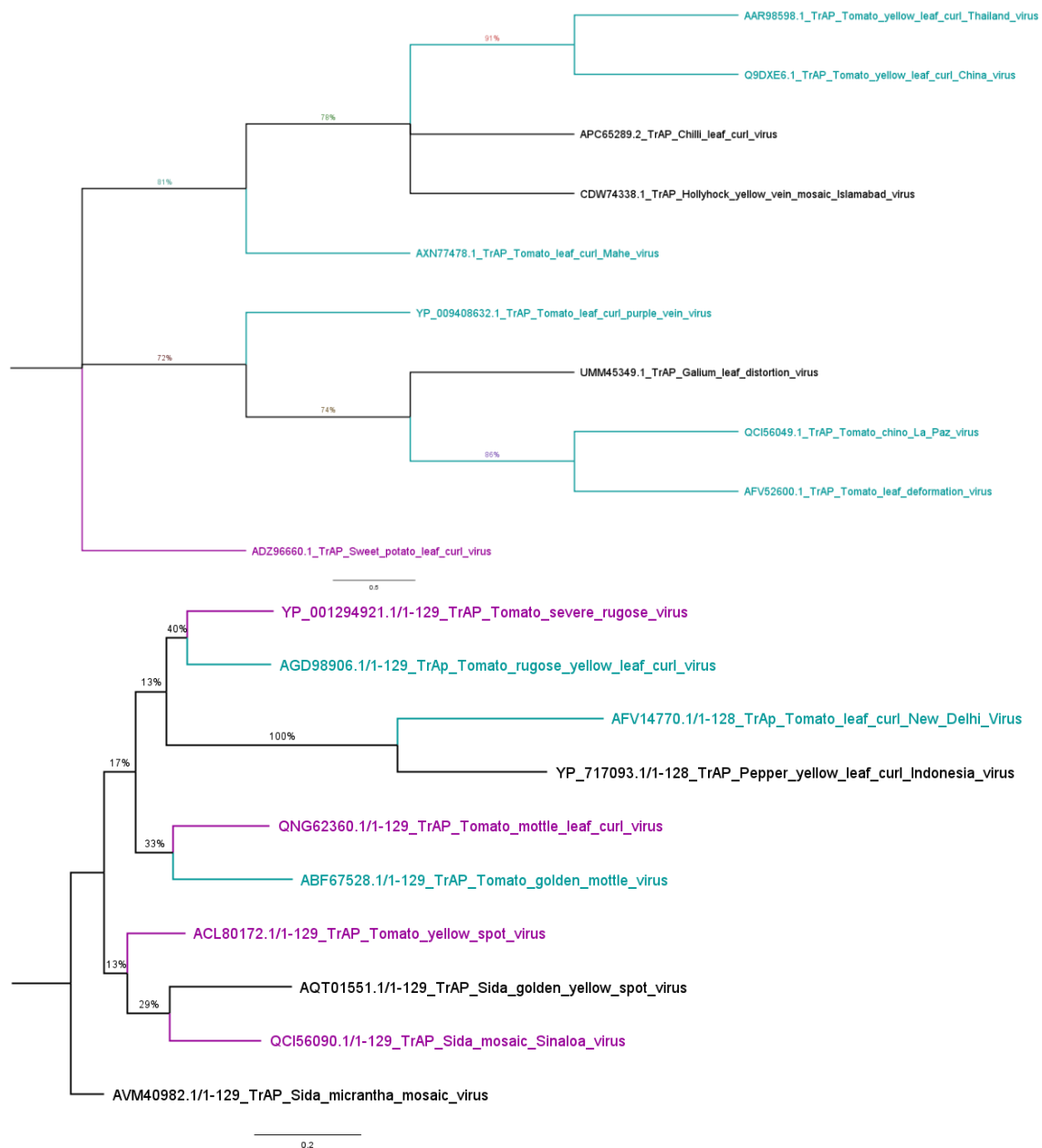


Figura 26. ORF del DNA-A C2 y AC2 que codifican a la proteína TrAP. Los números en las ramas representan el porcentaje de Bootstrap obtenido a partir de 1000 repeticiones y la barra de escala representa el número de sustituciones por sitio.

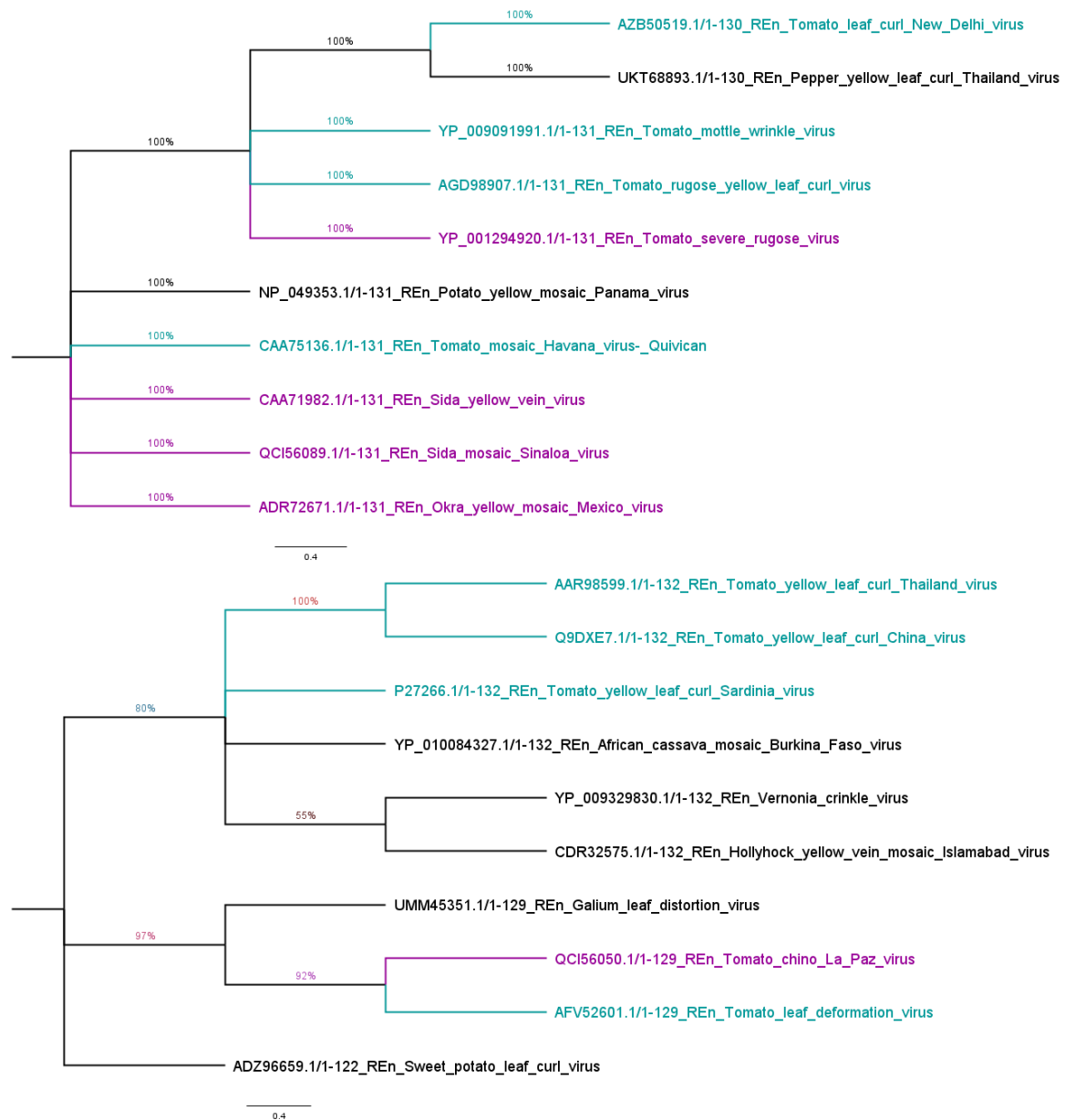


Figura 27. ORF del DNA-A C3 y AC3 que codifican a la proteína REn. Los números en las ramas representan el porcentaje de Bootstrap obtenido a partir de 1000 repeticiones y la barra de escala representa el número de sustituciones por sitio.

En la filogenia de la proteína REn, hay muchas ramas, los cuales no se enraízan porque son organismos muy distantes.

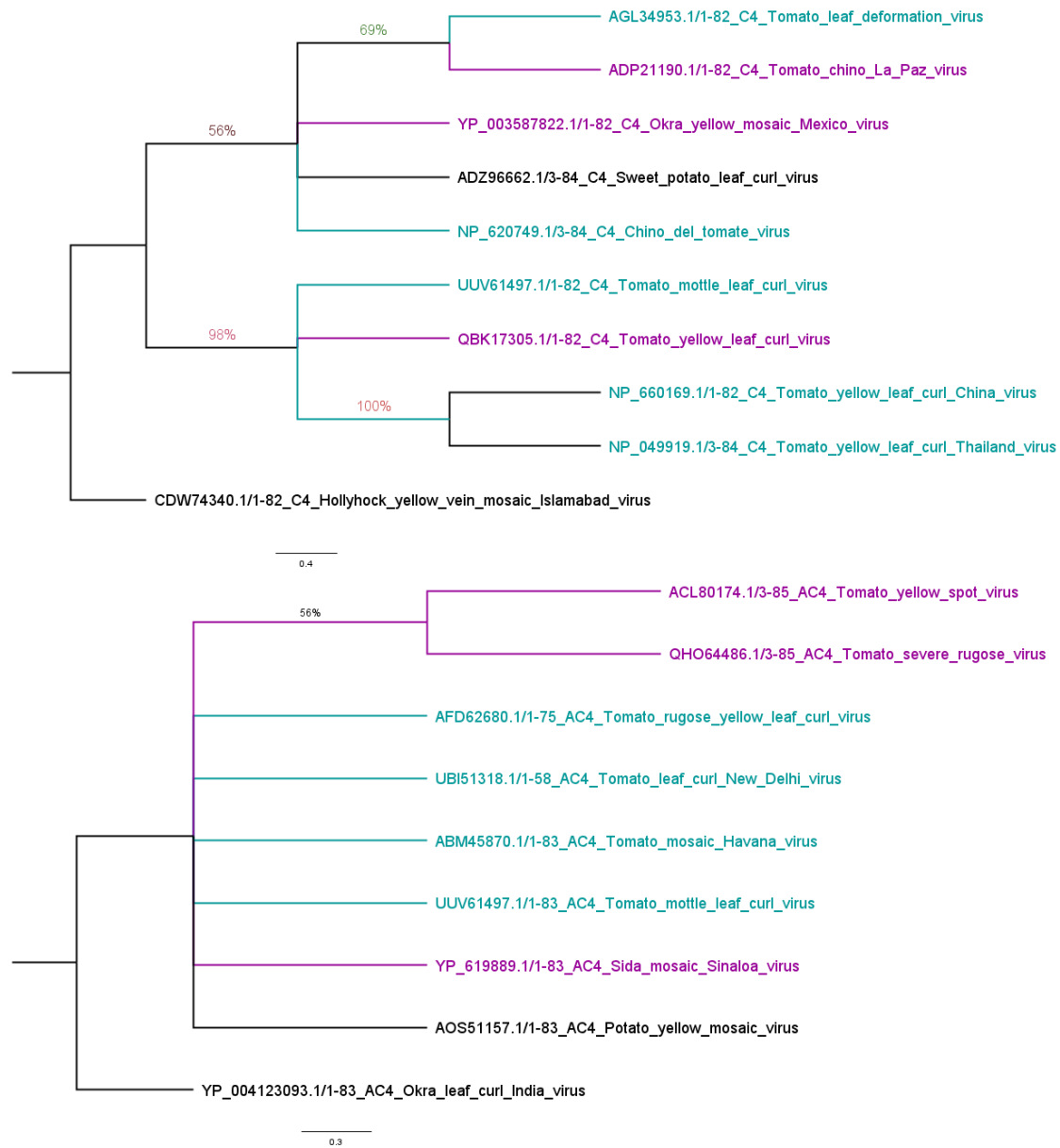


Figura 28. ORF del DNA-A C4 y AC4 que codifican a la proteína C4. Los números en las ramas representan el porcentaje de Bootstrap obtenido a partir de 1000 repeticiones y la barra de escala representa el número de sustituciones por sitio.

En la filogenia de la proteína C4 de begomovirus bipartita (Fig.28 inferior) hay una politomía, que ocurre ya que no hay suficiente información para determinar el orden de las ramas.

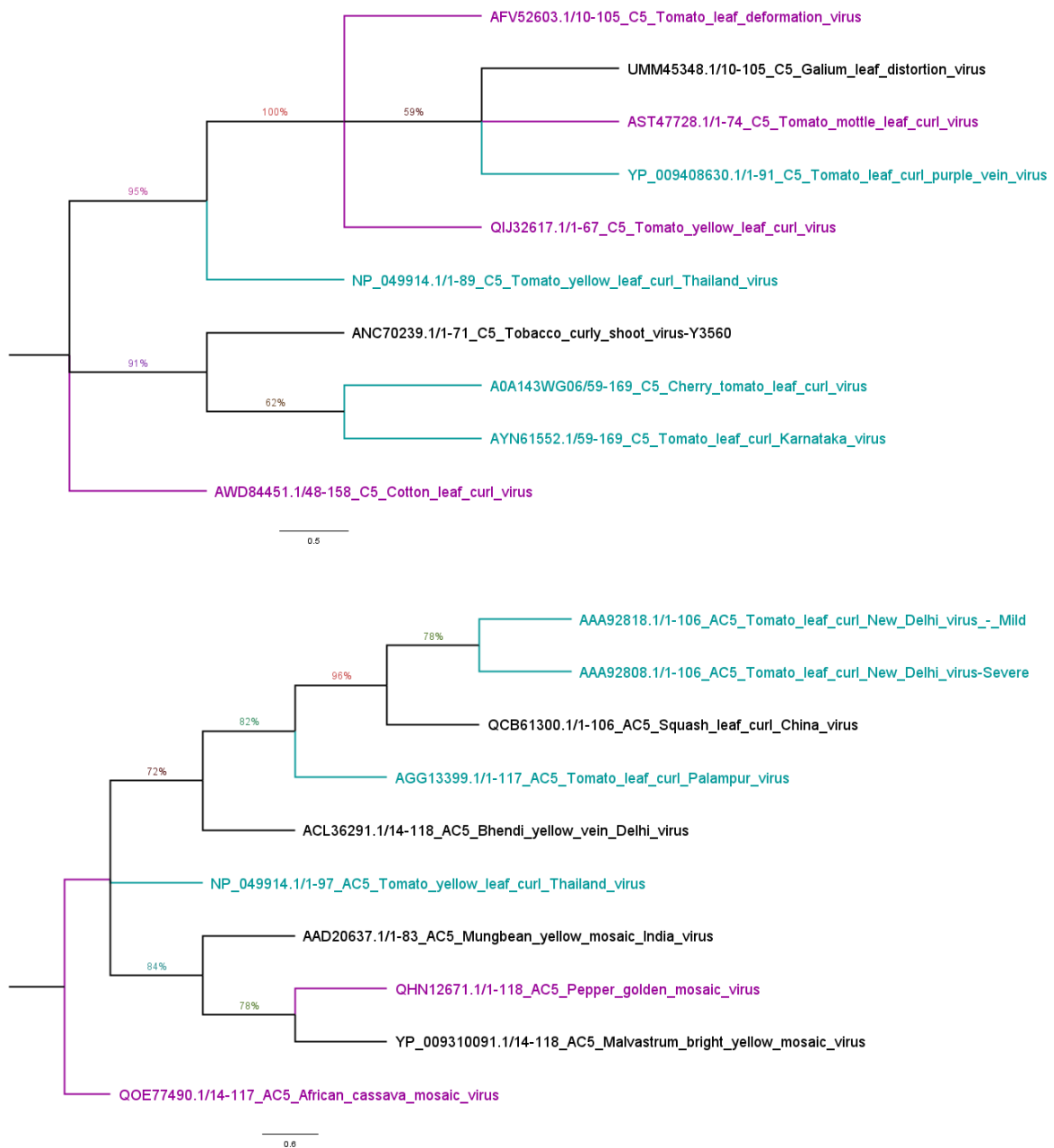


Figura 29. ORF del DNA-A C5 y AC5 que codifican a la proteína C5. Los números en las ramas representan el porcentaje de Bootstrap obtenido a partir de 1000 repeticiones y la barra de escala representa el número de sustituciones por sitio.

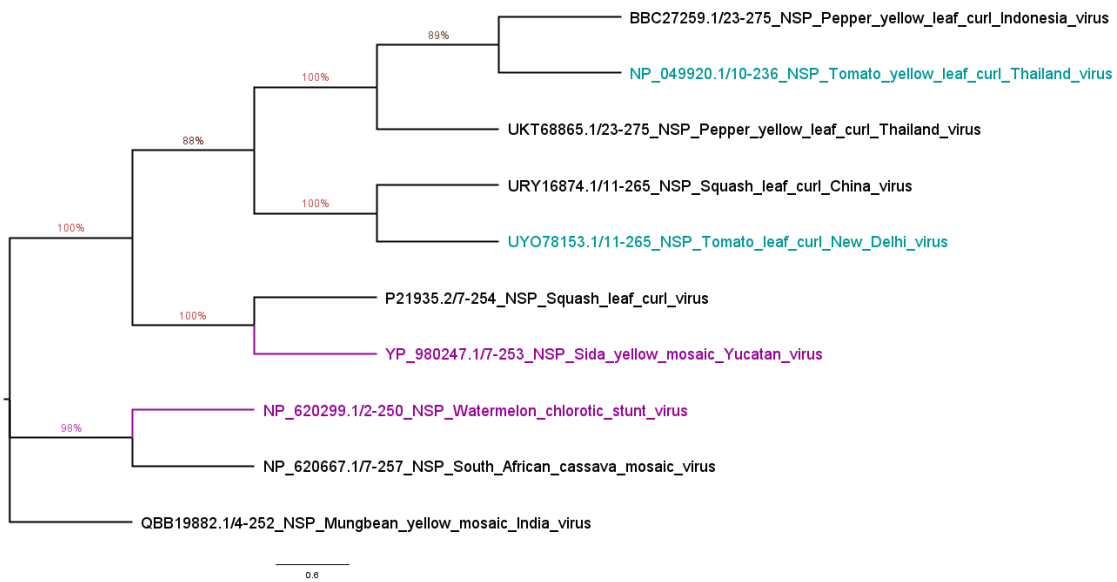


Figura 30. ORF  $\beta$ V1 del DNA-B que codifica a la proteína NSP. Los números en las ramas representan el porcentaje de Bootstrap obtenido a partir de 1000 repeticiones y la barra de escala representa el número de sustituciones por sitio.



Figura 31. ORF BC1 del DNA-B que codifica a la proteína MP. Los números en las ramas representan el porcentaje de Bootstrap obtenido a partir de 1000 repeticiones y la barra de escala representa el número de sustituciones por sitio.

En este estudio, se utilizó un enfoque metagenómico para identificar la diversidad de geminivirus en distintas familias de plantas y regiones geográficas además de los begomovirus de jitomate en México. Se observó que, aunque se detectaron begomovirus monopartitas en México, los begomovirus bipartitas fueron más abundantes que los monopartitas en estos datos. Por otro lado, en el Viejo Mundo se encontró una mayor abundancia de begomovirus monopartitas en comparación con los begomovirus bipartitas.

El servidor IQ-TREE, para los begomovirus monopartitas sugiere el modelo JTT y para los begomovirus bipartitas sugiere el modelo LG+G4. El modelo JTT (Jones, Taylor, Thornton) es un modelo evolutivo de sustitución de aminoácidos utilizado en análisis filogenéticos basados en secuencias de proteínas. Este modelo se basa en la idea de que diferentes aminoácidos tienen diferentes tasas de sustitución y que estas tasas se relacionan con la estructura y función de las proteínas. El modelo JTT utiliza una matriz de sustitución de aminoácidos empírica para estimar la probabilidad de que un aminoácido dado se sustituya por otro durante la evolución. Este modelo también incluye un componente de heterogeneidad de la tasa de sustitución (G), que permite que las tasas de sustitución varíen entre diferentes posiciones en la secuencia (D. T. Jones et al., 1992).

Por otro lado, el modelo LG+G4 es un modelo evolutivo utilizado en filogenética molecular para inferir las relaciones evolutivas entre diferentes especies o secuencias de DNA o proteínas. Este modelo incorpora la matriz de sustitución de aminoácidos de Le y Gascuel (LG) para modelar las sustituciones de aminoácidos,



así como un parámetro de tasa de variación gamma (G) para modelar la heterogeneidad de la tasa de sustitución en diferentes sitios del alineamiento. El número "4" en el nombre del modelo se refiere al número de categorías de la tasa de variación gamma utilizadas en el modelo. En resumen, el modelo LG+G4 es una herramienta útil para modelar la evolución molecular y estimar las relaciones filogenéticas entre diferentes secuencias (Le & Gascuel, 2008).

Se obtuvieron 14 matrices (Fig. 32), 7 matrices JTT para los begomovirus monopartitas y 7 matrices LG+G4 para los begomovirus bipartitas.

	83_AC4_Tomato_mosaic_Havana_virus	UBI61318 1/1-58_AC4_Tomato_leaf_curl_New_Delhi_virus	NP_620749 1/3-84_C4_Chino_del_tomate_virus	YP_619889 1/1-83_AC4_Sida_mosaic_Sinaloa_virus
ABM45870 1/1-83_AC4_Tomato_mosaic_Havana_virus	0.45910377			
UBI61318 1/1-58_AC4_Tomato_leaf_curl_New_Delhi_virus	0.44028215			
NP_620749 1/3-84_C4_Chino_del_tomate_virus	0.45912815	0.39531129		
YP_619889 1/1-83_AC4_Sida_mosaic_Sinaloa_virus	0.44896529	0.48026405	0.14686012	
YP_003587822 1/1-82_C4_Okra_yellow_mosaic_Mexico_virus	0.54042928	0.37536136	0.25535857	0.27943927
YP_004123093 1/1-83_AC4_Okra_leaf_curl_India_virus	0.55223707	0.44943239	0.35361758	0.41639909
ACL34953 1/1-82_C4_Tomato_leaf_deformation_virus	0.53796536	0.37099292	0.34416920	0.39735808
ADZ26662 1/3-84_C4_Sweet_potato_leaf_curl_virus	0.54541635	0.58877228	0.34953925	0.39218580
ACL80174 1/3-85_AC4_Tomato_yellow_spot_virus	0.61232134	0.49416248	0.36774780	0.41547539
UUV61497 1/1-82_C4_Tomato_mottle_leaf_curl_virus	0.5994052	0.51526956	0.43739838	0.48337829
ADP21190 1/1-82_C4_Tomato_chino_La_Paz_virus	0.59573674	0.40842547	0.32261559	0.36873602
QK064486 1/3-85_AC4_Tomato_severe rugose_virus	0.63839812	0.54932482	0.49532491	0.60826560
QBK17305 1/1-82_C4_Tomato_yellow_leaf_curl_virus	0.62386101	0.53713481	0.54506649	0.66577654
UUV61497 1/1-83_AC4_Tomato_mottle_leaf_curl_virus	0.65030023	0.51526956	0.43739838	0.47783852
CDW74340 1/1-82_C4_Hollyhock_yellow_vein_mosaic_Islamabad_virus	0.81199208	0.57411076	0.55523438	0.55383683
NP_660169 1/1-82_C4_Tomato_yellow_leaf_curl_China_virus	0.76496085	0.47957718	0.47691844	0.65407355
NP_049919 1/3-84_C4_Tomato_yellow_leaf_curl_Thailand_virus	0.80484400	0.38028918	0.53848638	0.66832499
AD551157 1/1-83_AC4_Potato_yellow_mosaic_virus	2.99754907	0.48852727	0.52869198	0.48794383
AFD62680 1/1-75_AC4_Tomato_rugose_yellow_leaf_curl_virus		2.55379149	4.43724703	3.59239482
Rango total	4.29038691			
% Divergencia	42.90386911			

Figura 32. Fragmento de una matriz de divergencia para la proteína AC4 de begomovirus bipartitas. Modelo LG+G4. Resaltando el valor mínimo (lila), valor máximo (azul), porcentaje de divergencia (gris).

La matriz de distancias proporciona información sobre la similitud o divergencia evolutiva entre especies. Los valores bajos de distancia en la matriz indican una mayor similitud entre especies, mientras que los valores altos indican una mayor divergencia evolutiva.

El porcentaje de divergencia de las proteínas de begomovirus monopartitas es 43% para las proteínas de cápside, 93% para las proteínas Rep, 71% para las proteínas

TrAp, 98% para las proteínas Ren, 35% para las proteínas C4 y 57% para las proteínas C5.

En cuanto al porcentaje de divergencia de las proteínas de begomovirus bipartitas, se encontró que la cápside presenta una divergencia del 40%, la proteína Rep del 52%, la proteína TrAp del 26%, la proteína Ren del 58%, la proteína AC4 del 78%, la proteína AC5 del 43%, la proteína NSP del 24%, y la proteína MV del 34%.

En conclusión, se puede observar que la mayoría de las proteínas de los begomovirus monopartitas presentan una alta divergencia, en contraste con las proteínas de los begomovirus bipartitas que se conservan. Por tanto, las proteínas multifuncionales codificadas en el genoma B de los begomovirus bipartitas les han conferido propiedades altamente eficientes para su transmisión entre diferentes plantas, lo que contribuye a su conservación evolutiva.

En este estudio se ha observado que los begomovirus encontrados en México tienen un amplio rango de huéspedes, incluyendo las cuatro familias más abundantes y cultivadas de plantas: *Asteraceae*, *Solanaceae*, *Malvaceae* y *Fabaceae*. Esto sugiere que estos virus son transmitidos por la mosca blanca, vector portador de más de 400 especies virales, lo que hace que la red de interacciones sea más compleja.

Además, es importante considerar que las plantas pueden estar siendo atacadas por otros patógenos al mismo tiempo que son infectadas por begomovirus, lo que hace que la situación sea aún más compleja para la planta.

## CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

El enfoque genómico permitió identificar los genes presentes en algunas variedades de jitomate y ausentes en otras, mientras que el enfoque metagenómico se enfocó en entender las estrategias evolutivas que han seguido los begomovirus para evadir los mecanismos de defensa de las plantas de jitomate.

Del enfoque genómico se concluye que, por la presencia de un grupo monofilético entre las siete especies de jitomates, indica que tienen mecanismos de defensa similares ante las infecciones causadas por los begomovirus. Además, se encontró que las vías más conservadas en todos los jitomates estudiados son la vía de síntesis de proteínas, hormonas y respuesta hipersensible. Por el contrario, las vías menos conservadas son MAPK y TGS.

Sin embargo, hay tres genes que están ausentes en *S. lycopersicum* y en *S. pimpinellifolium*, pero presentes en las otras cinco especies de jitomates, que son los genes que codifican para las proteínas de RNA polimerasa nuclear D1B (NRPD1B) en la vía de TGS, ubiquitina como enzima activadora modificadora 1 (UBA1) en la vía de ubiquitinación por proteosoma y la partícula reguladora triple-A ATPasa 4A (RPT4A) en la vía de ubiquitinación por SUMOylation.

Del enfoque metagenómico se concluye que, aunque se detectaron begomovirus monopartitas en México, los begomovirus bipartitas fueron más abundantes que los monopartitas en estos datos. Por otro lado, en el Viejo Mundo se encontró una mayor abundancia de begomovirus monopartitas en comparación con los begomovirus bipartitas.

Por su parte, los porcentajes de divergencia evolutivos y las filogenias obtenidas sustentan que las proteínas de cápside, C5 (monopartitas) y AC5 (bipartitas) en ambos begomovirus son conservadas. Las proteínas Rep, TrAp y Ren también son conservadas en los begomovirus bipartitas, pero no en los monopartitas. Se ha observado que tanto la proteína NSP como la proteína MV del DNA-B de los begomovirus bipartitas han conferido propiedades altamente eficientes para su transmisión entre diferentes plantas, lo que ha contribuido a su conservación evolutiva.

Por último, como perspectivas futuras, es importante seguir investigando no solo el sistema inmune de las plantas sino también otros mecanismos que se activan durante la defensa contra los begomovirus. Además, es fundamental comprender los mecanismos evolutivos de estos virus que les permiten disminuir e incluso inhibir los mecanismos de defensa de las plantas. De esta forma, se podrían aplicar los conocimientos adquiridos para diseñar plantas modificadas que puedan sobrevivir a las infecciones causadas por begomovirus sin morir, como es el caso actual de los cultivos de jitomate infectados con TYLCV.

## CAPÍTULO VII. REFERENCIAS

- Alazem, M., & Lin, N. S. (2015). Roles of plant hormones in the regulation of host–virus interactions. *Molecular Plant Pathology*, 16(5), 529. <https://doi.org/10.1111/MPP.12204>
- Amer, B., & Baidoo, E. E. K. (2021a). Omics-Driven Biotechnology for Industrial Applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fbioe.2021.613307>
- Amer, B., & Baidoo, E. E. K. (2021b). Omics-Driven Biotechnology for Industrial Applications. In *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* (Vol. 9). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.613307>
- Avedi, E. K., Adediji, A. O., Kilalo, D. C., Olubayo, F. M., Macharia, I., Ateka, E. M., Machuka, E. M., & Mutuku, J. M. (2021). Metagenomic analyses and genetic diversity of Tomato leaf curl Arusha virus affecting tomato plants in Kenya. *Virology Journal*, 18, 2. <https://doi.org/10.1186/s12985-020-01466-z>
- Bai, Y., & Lindhout, P. (2007). Domestication and Breeding of Tomatoes: What have We Gained and What Can We Gain in the Future? *Annals of Botany*, 100(5), 1085–1094. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm150>
- Barone, A., Chiusano, M. L., Ercolano, M. R., Giuliano, G., Grandillo, S., & Frusciante, L. (2008). Structural and Functional Genomics of Tomato. *International Journal of Plant Genomics*, 2008, 820274. <https://doi.org/10.1155/2008/820274>

- Beam, K., & Ascencio-Ibáñez, J. T. (2020). Geminivirus Resistance: A Minireview. *Frontiers in Plant Science*, 11. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2020.01131>
- Bergougnoux, V. (2014). The history of tomato: from domestication to biopharming. *Biotechnology Advances*, 32(1), 170–189. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.11.003>
- Bernardo, P., Golden, M., Akram, M., Nadarajan, N., Fernandez, E., Granier, M., Rebelo, A. G., Peterschmitt, M., Martin, D. P., Akram, M., Nadarajan, N., Rebelo, A. G., Martin, D. P., & Roumagnac, P. (2013). Identification and characterisation of a highly divergent geminivirus : evolutionary and taxonomic implications Identification and characterisation of a highly divergent geminivirus: Evolutionary and taxonomic implications. *Virus Research*, 177(1), 35–45. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.07.006>
- Bohs, L., & Olmstead, R. G. (1997). Phylogenetic Relationships in Solanum (Solanaceae) Based on ndhF Sequences. *Systematic Botany*, 22(1), 5–17. <https://doi.org/10.2307/2419674>
- Briddon, R. W., & Stanley, J. (2006). Subviral agents associated with plant single-stranded DNA viruses. *Virology*, 344(1), 198–210. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2005.09.042>

- Bu, F., Yang, M., Guo, X., Huang, W., & Chen, L. (2020). Multiple Functions of ATG8 Family Proteins in Plant Autophagy. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 466. <https://doi.org/10.3389/FCELL.2020.00466/BIBTEX>
- Buchanan, B. B., Gruissem, W., & Jones, R. L. (2015). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. John Wiley & Sons. <https://books.google.com.mx/books?id=F4AZCgAAQBAJ>
- Cao, X., & Jacobsen, S. E. (2002). Role of the arabidopsis DRM methyltransferases in de novo DNA methylation and gene silencing. *Current Biology : CB*, 12(13), 1138–1144. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(02\)00925-9](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(02)00925-9)
- Cardenas-Conejo, Y., Arguello-Astorga, G., Poghosyan, A., Hernandez-Gonzalez, J., Lebsky, V., Holguin-Peña, J., Medina-Hernandez, D., & Vega-Peña, S. (2010). First Report of Tomato yellow leaf curl virus Co-infecting Pepper with Tomato chino La Paz virus in Baja California Sur, Mexico. *Plant Disease*, 94(10), 1266. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-10-0444>
- Carluccio, A. V., Prigigallo, M. I., Rosas-Diaz, T., Lozano-Duran, R., & Stavolone, L. (2018). S-acylation mediates Mungbean yellow mosaic virus AC4 localization to the plasma membrane and in turns gene silencing suppression. *PLoS Pathogens*, 14(8). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1007207>
- Ceniceros-Ojeda, E. A., Rodríguez-Negrete, E. A., & Rivera-Bustamante, R. F. (2016). Two Populations of Viral Minichromosomes Are Present in a

- Geminivirus-Infected Plant Showing Symptom Remission (Recovery). *Journal of Virology*, 90(8), 3828–3838. <https://doi.org/10.1128/JVI.02385-15>
- Chaitanya, K. v. (2019). Structure and Organization of Virus Genomes. *Genome and Genomics*, 1–30. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-0702-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-981-15-0702-1_1)
- Chandan, R. K., Singh, A. K., Patel, S., Swain, D. M., Tuteja, N., & Jha, G. (2019). Silencing of tomato CTR1 provides enhanced tolerance against Tomato leaf curl virus infection. *Plant Signaling & Behavior*, 14(3), 1–7. <https://doi.org/10.1080/15592324.2019.1565595>
- Czosnek, H., Hariton-Shalev, A., Sobol, I., Gorovits, R., & Ghanim, M. (2017a). The Incredible Journey of Begomoviruses in Their Whitefly Vector. *Viruses*, 9(10), 273. <https://doi.org/10.3390/v9100273>
- Czosnek, H., Hariton-Shalev, A., Sobol, I., Gorovits, R., & Ghanim, M. (2017b). The Incredible Journey of Begomoviruses in Their Whitefly Vector. *Viruses*, 9(10). <https://doi.org/10.3390/V9100273>
- Dávila-Ramos, S., Castelán-Sánchez, H. G., Martínez-Ávila, L., Sánchez-Carbente, M. del R., Peralta, R., Hernández-Mendoza, A., Dobson, A. D. W., Gonzalez, R. A., Pastor, N., & Batista-García, R. A. (2019). A review on viral metagenomics in extreme environments. *Frontiers in Microbiology*, 2403.
- Dell'Amico-Rodríguez, J. M., Guillama, R., & González, M. C. (2018). Respuesta de cinco líneas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cultivadas en dos variantes de riego, en condiciones de campo. *Cultivos Tropicales*, 39(4), 78–85.



[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0258-](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0258-)

[59362018000400011&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0258-59362018000400011&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

Ding, T., Li, J., Chen, E. H., Niu, J. Z., & Chu, D. (2019). Transcriptome Profiling of the Whitefly *Bemisia tabaci* MED in Response to Single Infection of Tomato yellow leaf curl virus, Tomato chlorosis virus, and Their Co-infection. *Frontiers in Physiology*, 10(APR), 302. <https://doi.org/10.3389/FPHYS.2019.00302/BIBTEX>

Ding, W., Wu, J., Ye, J., Zheng, W., Wang, S., Zhu, X., Zhou, J., Pan, Z., Zhang, B., & Zhu, S. (2018). A Pelota-like gene regulates root development and defence responses in rice. *Annals of Botany*, 122(3), 359–371. <https://doi.org/10.1093/AOB/MCY075>

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL. (2020). *Ficha técnica: Mosquita blanca*.

[https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/600965/Mosquita\\_blanca.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/600965/Mosquita_blanca.pdf)

Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32(5), 1792–1797. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKH340>

Eun, C., Lorkovic, Z. J., Naumann, U., Long, Q., Havecker, E. R., Simon, S. A., Meyers, B. C., Matzke, A. J. M., & Matzke, M. (2011). AGO6 functions in RNA-mediated transcriptional gene silencing in shoot and root meristems in

*Arabidopsis thaliana*. *PLoS ONE*, 6(10).

<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0025730>

FAOSTAT. (2022). *FAOSTAT*. <https://www.fao.org/faostat/en/>

Fermin, G. (2018). Virion Structure, Genome Organization, and Taxonomy of Viruses. *Viruses*, 17–54. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811257-1.00002-4>

Fiallo-Olivé, E., Lett, J.-M., Martin, D. P., Roumagnac, P., Varsani, A., Zerbini, F. M., & Navas-Castillo, J. (2021). ICTV Virus Taxonomy Profile: Geminiviridae 2021. *Journal of General Virology*, 102(12). <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001696>

Fiallo-Olivé, E., Martínez-Zubiaur, Y., & Rivera-Bustamante, R. F. (2009). Tomato yellow leaf distortion virus, a new bipartite begomovirus infecting tomato in Cuba. *Plant Pathology*, 58(4), 785–785. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3059.2009.02077.X>

Fingu-Mabola, J. C., & Francis, F. (2021). Aphid–Plant–Phytovirus Pathosystems: Influencing Factors from Vector Behaviour to Virus Spread. *Agriculture*, 11(6), 502. <https://doi.org/10.3390/agriculture11060502>

FIRA. (2016). *Panorama Agroalimentario Tomate Rojo 2016*. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200635/Panorama\\_Agroalimentario\\_Tomate\\_Rojo\\_2016.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200635/Panorama_Agroalimentario_Tomate_Rojo_2016.pdf)

Flores, C., Buono, S., & Giorgini, S. (2012). *Enfermedades Tomate: guía de consulta* (1ra ed.). INTA.

<https://www.manualfitosanitario.com/InfoNews/GuiaConsultaEnfermedadesTo mateWeb.pdf>

Fondong, V. N. (2019). The Ever-Expanding Role of C4/AC4 in Geminivirus Infection: Punching above Its Weight? *Molecular Plant*, 12(2), 145–147. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2018.12.006>

Fontes, E. P. B., Santos, A. A., Luz, D. F., Waclawovsky, A. J., & Chory, J. (2004). The geminivirus nuclear shuttle protein is a virulence factor that suppresses transmembrane receptor kinase activity. *Genes & Development*, 18(20), 2545. <https://doi.org/10.1101/GAD.1245904>

Friedrichsen, D. M., Joazeiro, C. A. P., Li, J., Hunter, T., & Chory, J. (2000). Brassinosteroid-Insensitive-1 Is a Ubiquitously Expressed Leucine-Rich Repeat Receptor Serine/Threonine Kinase. *Plant Physiology*, 123(4), 1247. <https://doi.org/10.1104/PP.123.4.1247>

Gergerich, R. C., & Dolja, V. v. (2006). Introducción a los Virus Vegetales, el Enemigo Invisible. *Introducción a Los Virus Vegetales, El Enemigo Invisible*. <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2008-0122-01>

Ghosh, S., & Ghanim, M. (2021). Factors Determining Transmission of Persistent Viruses by Bemisia tabaci and Emergence of New Virus–Vector Relationships. *Viruses*, 13(9), 1808. <https://doi.org/10.3390/v13091808>

Gish, L. A., & Clark, S. E. (2011). The RLK/Pelle family of kinases. *Plant Journal*, 66(1), 117–127. <https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2011.04518.X>

- Griffiths, A. J. F., Wessler, S. R., Carroll, S. B., & Doebley, J. (2012). Introduction to genetic analysis, Tenth edition. *Livre*, 862.
- Guerrero, J., Regedanz, E., Lu, L., Ruan, J., Bisaro, D. M., & Sunter, G. (2020). Manipulation of the Plant Host by the Geminivirus AC2/C2 Protein, a Central Player in the Infection Cycle. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 591. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2020.00591/BIBTEX>
- Gupta, N., Reddy, K., Bhattacharyya, D., & Chakraborty, S. (2021). Plant responses to geminivirus infection: guardians of the plant immunity. *Virology Journal*, *18*(1), 143. <https://doi.org/10.1186/s12985-021-01612-1>
- Hanley-Bowdoin, L., Bejarano, E. R., Robertson, D., & Mansoor, S. (2013). Geminiviruses: masters at redirecting and reprogramming plant processes. *Nature Reviews. Microbiology*, *11*(11), 777–788. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3117>
- Hanssen, I. M., & Lapidot, M. (2012). Chapter 2 - Major Tomato Viruses in the Mediterranean Basin. In G. Loebenstein & H. Lecoq (Eds.), *Advances in Virus Research* (Vol. 84, pp. 31–66). Academic Press. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123943149000026>
- Hashmi, F., & Kumar, A. (2020). *Diversity of Cotton leaf Curl Virus and its Management Strategies* (pp. 36–61). [https://www.researchgate.net/publication/348221274\\_Diversity\\_of\\_Cotton\\_leaf\\_Curl\\_Virus\\_and\\_its\\_Management\\_Strategies](https://www.researchgate.net/publication/348221274_Diversity_of_Cotton_leaf_Curl_Virus_and_its_Management_Strategies)

- Hatfield, P. M., Gosink, M. M., Carpenter, T. B., & Vierstra, R. D. (1997). The ubiquitin-activating enzyme (E1) gene family in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology*, 11(2), 213–226. <https://doi.org/10.1046/J.1365-313X.1997.11020213.X>
- Hesketh, E. L., Saunders, K., Fisher, C., Potze, J., Stanley, J., Lomonossoff, G. P., & Ranson, N. A. (2018). The 3.3 Å structure of a plant geminivirus using cryo-EM. *Nature Communications*, 9(1), 2369. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04793-6>
- Innes, R. W. (2001). Mapping out the roles of MAP kinases in plant defense. *Trends in Plant Science*, 6(9), 392–394. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(01\)02058-1](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(01)02058-1)
- Islam, W., Noman, A., Qasim, M., & Wang, L. (2018). Plant Responses to Pathogen Attack: Small RNAs in Focus. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2), 515. <https://doi.org/10.3390/ijms19020515>
- Jia, Q., Liu, N., Xie, K., Dai, Y., Han, S., Zhao, X., Qian, L., Wang, Y., Zhao, J., Gorovits, R., Xie, D., Hong, Y., & Liu, Y. (2016). CLCuMuB βC1 Subverts Ubiquitination by Interacting with NbSKP1s to Enhance Geminivirus Infection in *Nicotiana benthamiana*. *PLoS Pathogens*, 12(6). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1005668>

- Jones, D. T., Taylor, W. R., & Thornton, J. M. (1992). The rapid generation of mutation data matrices from protein sequences. *Bioinformatics*, 8(3), 275–282. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/8.3.275>
- Jones, J. D. G., & Dangl, J. L. (2006). The plant immune system. *Nature*, 444(7117), 323–329. <https://doi.org/10.1038/nature05286>
- Jones, J., & Dangl, J. (2006). *The plant immune system | Nature*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/nature05286>
- Jones, R. (2021). Global Plant Virus Disease Pandemics and Epidemics. *Plants*, 10(2), 233. <https://doi.org/10.3390/plants10020233>
- Jones, R. L., Ougham, H., Thomas, H., & Waaland, S. (2012). *The Molecular Life of Plants*. <https://www.amazon.com.mx/Molecular-Life-Plants-Russell-Jones/dp/0470870125>
- K, S. Z., & semester Ed student St Joseph, th B. (2018). Short Day Effects on a Long Day Plant *Solanum Lycopersicum*. *International Journal of Innovative Science and Research Technology*, 3(5). [www.ijisrt.com](http://www.ijisrt.com)
- Kachroo, A., & Robin, G. P. (2013). Systemic signaling during plant defense. *Current Opinion in Plant Biology*, 16(4), 527–533. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2013.06.019>
- Kil, E.-J., & Kim, S. (2015). *Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV-IL): a seed-transmissible geminivirus in tomatoes*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/srep19013>

- Kimura, S., & Sinha, N. (2008). Tomato (*Solanum lycopersicum*): A Model Fruit-Bearing Crop. *CSH Protocols*, 2008, pdb.emo105. <https://doi.org/10.1101/pdb.emo105>
- Kreuze, J. F., & Valkonen, J. P. T. (2017). Utilization of engineered resistance to viruses in crops of the developing world, with emphasis on sub-Saharan Africa. *Current Opinion in Virology*, 26, 90–97. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2017.07.022>
- Le, S. Q., & Gascuel, O. (2008). An Improved General Amino Acid Replacement Matrix. *Molecular Biology and Evolution*, 25(7), 1307–1320. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSN067>
- Li, F., Huang, C., Li, Z., & Zhou, X. (2014). Suppression of RNA Silencing by a Plant DNA Virus Satellite Requires a Host Calmodulin-Like Protein to Repress RDR6 Expression. *PLoS Pathogens*, 10(2). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1003921>
- Li, F., & Wang, A. (2022). Transient Expression–Mediated Gene Silencing in Plants and Suppression of Gene Silencing with Viral Suppressors. *Methods in Molecular Biology*, 2400, 33–41. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1835-6\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1835-6_4)
- Li, Z., Du, Z., Tang, Y., She, X., Wang, X., Zhu, Y., Yu, L., Lan, G., & He, Z. (2020). C4, the Pathogenic Determinant of Tomato Leaf Curl Guangdong Virus, May Suppress Post-transcriptional Gene Silencing by Interacting With BAM1

Protein. *Frontiers in Microbiology*, 11, 851.

<https://doi.org/10.3389/FMICB.2020.00851/BIBTEX>

López Marin, L. M. (2017). *MANUAL TÉCNICO DEL CULTIVO DE TOMATE*

*Solanum lycopersicum*. <https://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/F01-10921.pdf>

Lozano, G., Trenado, H. P., Fiallo-Olivé, E., Chirinos, D., Geraud-Pouey, F., Briddon,

R. W., & Navas-Castillo, J. (2016). Characterization of Non-coding DNA Satellites Associated with Sweepoviruses (Genus Begomovirus, Geminiviridae)

- Definition of a Distinct Class of Begomovirus-Associated Satellites. *Frontiers in Microbiology*, 7, 162. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00162>

Macho, A. P., & Lozano-Duran, R. (2019a). Molecular dialogues between viruses

and receptor-like kinases in plants. *Molecular Plant Pathology*, 20(9), 1191.

<https://doi.org/10.1111/MPP.12812>

Macho, A. P., & Lozano-Duran, R. (2019b). Molecular dialogues between viruses

and receptor-like kinases in plants. *Molecular Plant Pathology*, 20(9), 1191–

1195. <https://doi.org/10.1111/MPP.12812>

Mayer, B. (2011a). *Bioinformatics for Omics Data*. Springer Protocols.

[https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-1-61779-027-0\\_1](https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-1-61779-027-0_1)

Mayer, B. (2011b). Bioinformatics for Omics Data: Methods and Protocols. In

*Methods in Molecular Biology* (Vol. 719). Humana Press.

<http://link.springer.com/10.1007/978-1-61779-027-0>



- Miozzi, L., Napoli, C., Sardo, L., & Accotto, G. P. (2014). Transcriptomics of the Interaction between the Monopartite Phloem-Limited Geminivirus Tomato Yellow Leaf Curl Sardinia Virus and *Solanum lycopersicum* Highlights a Role for Plant Hormones, Autophagy and Plant Immune System Fine Tuning during Infection. *PLOS ONE*, *9*(2), e89951. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0089951>
- Molesini, B., Dusi, V., Pennisi, F., & Pandolfini, T. (2020). How Hormones and MADS-Box Transcription Factors Are Involved in Controlling Fruit Set and Parthenocarpy in Tomato. *Genes*, *11*(12), 1441. <https://doi.org/10.3390/genes11121441>
- Mondal, D., Mandal, S., Shil, S., Sahana, N., Pandit, G. K., & Choudhury, A. (2019). Genome wide molecular evolution analysis of begomoviruses reveals unique diversification pattern in coat protein gene of Old World and New World viruses. *VirusDisease*, *30*(1), 74. <https://doi.org/10.1007/S13337-019-00524-7>
- Mubin, M., Ijaz, S., Nahid, N., Hassan, M., Younus, A., Qazi, J., & Nawaz-ul-Rehman, M. S. (2020). Journey of begomovirus betasatellite molecules: from satellites to indispensable partners. *Virus Genes*, *56*(1), 16–26. <https://doi.org/10.1007/s11262-019-01716-5>
- Mueller, L. A., Lankhorst, R. K., Tanksley, S. D., Giovannoni, J. J., White, R., Vrebalov, J., Fei, Z., Eck, J., Buels, R., Mills, A. A., Menda, N., Teclé, I. Y., Bombarely, A., Stack, S., Royer, S. M., Chang, S., Shearer, L. A., Kim, B. D.,

- Jo, S., ... Stiekema, W. (2009). A Snapshot of the Emerging Tomato Genome Sequence. *The Plant Genome*, 2(1).  
<https://doi.org/10.3835/PLANTGENOME2008.08.0005>
- Mueller, L. A., Tanskley, S. D., Giovannoni, J. J., van Eck, J., Stack, S., Choi, D., Kim, B. D., Chen, M., Cheng, Z., Li, C., Ling, H., Xue, Y., Seymour, G., Bishop, G., Bryan, G., Sharma, R., Khurana, J., Tyagi, A., Chattopadhyay, D., ... Zamir, D. (2005). The tomato sequencing project, the first cornerstone of the International Solanaceae Project (SOL). *Comparative and Functional Genomics*, 6(3), 153–158. <https://doi.org/10.1002/CFG.468>
- Nakagami, H., Pitzschke, A., & Hirt, H. (2005). Emerging MAP kinase pathways in plant stress signalling. *Trends in Plant Science*, 10(7), 339–346.  
<https://doi.org/10.1016/J.TPLANTS.2005.05.009>
- Nguyen, L. T., Schmidt, H. A., von Haeseler, A., & Minh, B. Q. (2015). IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 32(1), 268–274.  
<https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSU300>
- Ojito-Ramos, K., & Portal, O. (2010). Introducción al sistema inmune en plantas. *Bioteconología Vegetal*, 10(1).  
<https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/266>
- Paraguison-Alili, R., dela Cruz, R. M., Romero, E. S., Cruz, H. M., Padilla, C. O., & Porciuncula, F. L. (2020). Molecular tools in monitoring the outset of tomato leaf

- curl virus (ToLCV) Transmission in the Philippines. *Current Plant Biology*, 24, 100169. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2020.100169>
- Pauwels, L., & Goossens, A. (2011). The JAZ Proteins: A Crucial Interface in the Jasmonate Signaling Cascade. *The Plant Cell*, 23(9), 3089–3100. <https://doi.org/10.1105/TPC.111.089300>
- Pérez-Moreno, L., Santiago-Gómez, D., Rico-Jaramillo, E., Ramírez-Malagón, R., & Mendoza-Celedón, B. (2008). Efecto de Virus Fitopatógenos Sobre Características Agronómicas y Calidad del Ajo (*Allium sativum* L.), en el Estado de Guanajuato, México. *Revista mexicana de fitopatología*, 26(1), 40–48. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0185-33092008000100007&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0185-33092008000100007&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Picó, B., Díez, M. J., & Nuez, F. (1996). Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop. II. The Tomato yellow leaf curl virus — a review. *Scientia Horticulturae*, 67(3), 151–196. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(96\)00945-4](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(96)00945-4)
- Prasad, A., Sharma, N., Hari-Gowthem, G., Muthamilarasan, M., & Prasad, M. (2020). Tomato Yellow Leaf Curl Virus: Impact, Challenges, and Management. *Trends in Plant Science*, 25(9), 897–911. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.03.015>
- Raju, R. S., al Nahid, A., Chondrow Dev, P., & Islam, R. (2022). VirusTaxo: Taxonomic classification of viruses from the genome sequence using k-mer

- enrichment. *Genomics*, 114(4), 110414.  
<https://doi.org/10.1016/J.YGENO.2022.110414>
- Rambaut, Andrew. (2006). *FigTree* v1.0.  
[https://www.scirp.org/\(S\(lz5mqp453edsnp55rrgjt55\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1661474](https://www.scirp.org/(S(lz5mqp453edsnp55rrgjt55))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1661474)
- Rana, V. S., Popli, S., Saurav, G. K., Raina, H. S., Jamwal, R., Chaubey, R., Ramamurthy, V. v, Natarajan, K., & Rajagopal, R. (2019). Implication of the Whitefly, *Bemisia tabaci*, Collagen Protein in Begomoviruses Acquisition and Transmission. *Phytopathology*®, 109(8), 1481–1493.  
<https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-18-0082-R>
- Ranjan, A., Ichihashi, Y., & Sinha, N. R. (2012). The tomato genome: implications for plant breeding, genomics and evolution. *Genome Biology*, 13(8), 167.  
<https://doi.org/10.1186/gb-2012-13-8-167>
- Ricroch, A. E., Martin-Laffon, J., Rault, B., Pallares, V. C., & Kuntz, M. (2022). Next biotechnological plants for addressing global challenges: The contribution of transgenesis and new breeding techniques. In *New Biotechnology* (Vol. 66, pp. 25–35). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2021.09.001>
- Riley, D. G., & Srinivasan, R. (2019). Integrated Management of Tomato Yellow Leaf Curl Virus and its Whitefly Vector in Tomato. *Journal of Economic Entomology*, 112(4), 1526–1540. <https://doi.org/10.1093/jee/toz051>

- Riley, M. B., Williamson, M. R., & Maloy, O. (2002). Plant Disease Diagnosis (Diagnóstico De Enfermedades En Plantas) - Spanish Version. *Plant Disease Diagnosis (Diagnóstico De Enfermedades En Plantas) - Spanish Version*. <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2002-1021-01>
- Rivarez, M. P. S., Vučurović, A., Mehle, N., Ravnikar, M., & Kutnjak, D. (2021). Global Advances in Tomato Virome Research: Current Status and the Impact of High-Throughput Sequencing. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2021.671925>
- Rodríguez-Negrete, E. A., Morales-Aguilar, J. J., Domínguez-Duran, G., Torres-Devora, G., Camacho-Beltrán, E., Leyva-López, N. E., Voloudakis, A. E., Bejarano, E. R., & Méndez-Lozano, J. (2019). High-Throughput Sequencing Reveals Differential Begomovirus Species Diversity in Non-Cultivated Plants in Northern-Pacific Mexico. *Viruses*, 11(7), 594. <https://doi.org/10.3390/v11070594>
- Roossinck, M. J. (2012). Plant Virus Metagenomics: Biodiversity and Ecology. [Http://Dx.Doi.Org/10.1146/Annurev-Genet-110711-155600](http://Dx.Doi.Org/10.1146/Annurev-Genet-110711-155600), 46, 359–369. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-GENET-110711-155600>
- Roselló, S., Díez, M. J., & Nuez, F. (1996). Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop. I. The Tomato spotted wilt virus — a review. *Scientia Horticulturae*, 67(3), 117–150. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(96\)00946-6](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(96)00946-6)

- Rossouw, L. T., Madala, N. E., Tugizimana, F., Steenkamp, P. A., Esterhuizen, L. L., & Dubery, I. A. (2019). Deciphering the Resistance Mechanism of Tomato Plants Against Whitefly-Mediated Tomato Curly Stunt Virus Infection through Ultra-High-Performance Liquid Chromatography Coupled to Mass Spectrometry (UHPLC-MS)-Based Metabolomics Approaches. *Metabolites*, 9(4), 60. <https://doi.org/10.3390/metabo9040060>
- Rubio, L., Galipienso, L., & Ferriol, I. (2020). Detection of Plant Viruses and Disease Management: Relevance of Genetic Diversity and Evolution. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1092. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2020.01092/BIBTEX>
- SAGARPA. (2017). *Planeación Agrícola Nacional 2017-203*.
- SAGARPA. (2018). *Producción de tomate rojo (jitomate) por modalidad Sonora*.
- Sato, K., & Koyanagi, Y. (2008). [Sputnik sweetheart-virophage]. *Uirusu*, 58(2), 219–220. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19374201>
- Schoch, C. L., Ciufo, S., Domrachev, M., Hotton, C. L., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D., McVeigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Soussov, V., Sullivan, J. P., Sun, L., Turner, S., & Karsch-Mizrachi, I. (2020). NCBI Taxonomy: A comprehensive update on curation, resources and tools. *Database*, 2020. <https://doi.org/10.1093/DATABASE/BAAA062>
- Scholthof, K.-B. G., Adkins, S., Czosnek, H., Palukaitis, P., Jacquot, E., Hohn, T., Hohn, B., Saunders, K., Candresse, T., Ahlquist, P., Hemenway, C., & Foster,

- G. D. (2011). Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 12(9), 938–954. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00752.x>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2022). *Tomate rojo (Jitomate)*. [www.gob.mx/siap](http://www.gob.mx/siap)
- Sicard, A., Michalakis, Y., Gutiérrez, S., & Blanc, S. (2016). The Strange Lifestyle of Multipartite Viruses. *PLoS Pathogens*, 12(11), e1005819. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005819>
- Sicard, A., Pirolles, E., Gallet, R., Vernerey, M.-S., Yvon, M., Urbino, C., Peterschmitt, M., Gutierrez, S., Michalakis, Y., & Blanc, S. (2019). A multicellular way of life for a multipartite virus. *ELife*, 8, e43599. <https://doi.org/10.7554/eLife.43599>
- Silva, R. N., Monteiro, V. N., Steindorff, A. S., Gomes, E. V., Noronha, E. F., & Ulhoa, C. J. (2019). Trichoderma/pathogen/plant interaction in pre-harvest food security. *Fungal Biology*, 123(8), 565–583. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.06.010>
- Sistema Nacional de Vigilancia y Monitoreo de plagas. (2022). *Solanum lycopersicum*. <https://www.sinavimo.gob.ar/cultivo/solanum-lycopersicum>
- Smakowska-Luzan, E., Mott, G. A., Parys, K., Stegmann, M., Howton, T. C., Layeghifard, M., Neuhold, J., Lehner, A., Kong, J., Grünwald, K., Weinberger, N., Satbhai, S. B., Mayer, D., Busch, W., Madalinski, M., Stolt-Bergner, P., Provar, N. J., Mukhtar, M. S., Zipfel, C., ... Belkhadir, Y. (2018). An extracellular

network of Arabidopsis leucine-rich repeat receptor kinases. *Nature*, 553(7688), 342–346. <https://doi.org/10.1038/NATURE25184>

Stecher, G., Tamura, K., & Kumar, S. (2020). Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) for macOS. *Molecular Biology and Evolution*, 37(4), 1237–1239. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSZ312>

Sun, T., & Zhang, Y. (2021). Short- and long-distance signaling in plant defense. *Plant Journal*, 105(2), 505–517. <https://doi.org/10.1111/tpj.15068>

Sun, Y.-C., Pan, L.-L., Ying, F.-Z., Li, P., Wang, X.-W., & Liu, S.-S. (2017). Jasmonic acid-related resistance in tomato mediates interactions between whitefly and whitefly-transmitted virus. *Scientific Reports*, 7(1), 566. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00692-w>

Tang, D., Wang, G., & Zhou, J. M. (2017). Receptor kinases in plant-pathogen interactions: More than pattern recognition. *Plant Cell*, 29(4), 618–637. <https://doi.org/10.1105/TPC.16.00891>

Tao, Y., Jiang, L., Liu, Q., Zhang, Y., Zhang, R., Ingvarsdén, C. R., Frei, U. K., Wang, B., Lai, J., Lübberstedt, T., & Xu, M. (2013). Combined linkage and association mapping reveals candidates for Scmv1, a major locus involved in resistance to sugarcane mosaic virus (SCMV) in maize. *BMC Plant Biology*, 13(1), 162. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-13-162>



The Tomato Genome Consortium. (2012). The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. *Nature*, *485*(7400), 635–641. <https://doi.org/10.1038/nature11119>

Torres-Herrera, S. I., Romero-Osorio, A., Moreno-Valenzuela, O., Pastor-Palacios, G., Cardenas-Conejo, Y., Ramírez-Prado, J. H., Riego-Ruiz, L., Minero-García, Y., & Ambriz-Granados, S. (2019). A Lineage of Begomoviruses Encode Rep and AC4 Proteins of Enigmatic Ancestry: Hints on the Evolution of Geminiviruses in the New World. *Viruses* 2019, Vol. 11, Page 644, 11(7), 644. <https://doi.org/10.3390/V11070644>

Trifinopoulos, J., Nguyen, L. T., von Haeseler, A., & Minh, B. Q. (2016). W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. *Nucleic Acids Research*, *44*(W1), W232–W235. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKW256>

USDA. (2021). *Tomatoes*. <https://www.agmrc.org/commodities-products/vegetables/tomatoes>

Vailati-Riboni, M., Palombo, V., & Loor, J. J. (2017). What Are Omics Sciences? In B. N. Ametaj (Ed.), *Periparturient Diseases of Dairy Cows: A Systems Biology Approach* (pp. 1–7). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-43033-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-43033-1_1)

Verlaan, M. G., Szinay, D., Hutton, S. F., de Jong, H., Kormelink, R., Visser, R. G. F., Scott, J. W., & Bai, Y. (2011). Chromosomal rearrangements between tomato and *Solanum chilense* hamper mapping and breeding of the TYLCV

resistance gene Ty-1. *Plant Journal*, 68(6), 1093–1103.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04762.x>

Vischi Winck, F. (2021). Advances in Plant Omics and Systems Biology Approaches. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 1346). Springer International Publishing. <https://link.springer.com/10.1007/978-3-030-80352-0>

Walsh, D., Mathews, M. B., & Mohr, I. (2013). Tinkering with Translation: Protein Synthesis in Virus-Infected Cells. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(1). <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A012351>

Wang, J., Yu, W., Yang, Y., Li, X., Chen, T., Liu, T., Ma, N., Yang, X., Liu, R., & Zhang, B. (2015). Genome-wide analysis of tomato long non-coding RNAs and identification as endogenous target mimic for microRNA in response to TYLCV infection. *Scientific Reports*, 5(1), 16946. <https://doi.org/10.1038/srep16946>

Wang, X., Gao, L., Jiao, C., Stravoravdis, S., Hosmani, P. S., Saha, S., Zhang, J., Mainiero, S., Strickler, S. R., Catala, C., Martin, G. B., Mueller, L. A., Vrebalov, J., Giovannoni, J. J., Wu, S., & Fei, Z. (2020). Genome of *Solanum pimpinellifolium* provides insights into structural variants during tomato breeding. *Nature Communications*, 11(1), 5817. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19682-0>

Whitfield, A. E., Falk, B. W., & Rotenberg, D. (2015). Insect vector-mediated transmission of plant viruses. *Virology*, 479–480, 278–289. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.03.026>

- Whitfield, A. E., & Rotenberg, D. (2015). Disruption of insect transmission of plant viruses. *Current Opinion in Insect Science*, 8, 79–87. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2015.01.009>
- Yang, X., & Zhou, X. (2017). Betasatellites of Begomoviruses. *Viroids and Satellites*, 671–678. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801498-1.00062-0>
- Zárate, S., Taboada, B., Yocupicio-Monroy, M., & Arias, C. F. (2017). Human Virome. *Archives of Medical Research*, 48(8), 701–716. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2018.01.005>
- Zeng, H., Xu, L., Singh, A., Wang, H., Du, L., & Poovaiah, B. W. (2015). Involvement of calmodulin and calmodulin-like proteins in plant responses to abiotic stresses. *Frontiers in Plant Science*, 6(AUG), 600. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2015.00600/BIBTEX>
- Zeng, R., Liu, X., Yang, C., & Lai, J. (2018). Geminivirus C4: Interplaying with Receptor-like Kinases. *Trends in Plant Science*, 23(12), 1044–1046. <https://doi.org/10.1016/J.TPLANTS.2018.09.003>
- Zerbini, F. M., Briddon, R. W., Idris, A., Martin, D. P., Moriones, E., Navas-Castillo, J., Rivera-Bustamante, R., Roumagnac, P., Varsani, A., & 2017, I. R. C. (2017). ICTV Virus Taxonomy Profile: Geminiviridae. *Journal of General Virology*, 98(2), 131–133. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000738>
- Zhao, S., Gong, P., Ren, Y., Liu, H., Li, H., Li, F., & Zhou, X. (2022). The novel C5 protein from tomato yellow leaf curl virus is a virulence factor and suppressor of

gene silencing. *Stress Biology*, 2(1). <https://doi.org/10.1007/S44154-022-00044-3>

Zhou, X. (2013). Advances in understanding begomovirus satellites. *Annual Review of Phytopathology*, 51, 357–381. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102234>

Zhu, G., Wang, S., Huang, Z., Zhang, S., Liao, Q., Zhang, C., Lin, T., Qin, M., Peng, M., Yang, C., Cao, X., Han, X., Wang, X., Knaap, E. van der, Zhang, Z., Cui, X., Klee, H., Fernie, A. R., Luo, J., & Huang, S. (2018). Rewiring of the Fruit Metabolome in Tomato Breeding. *Cell*, 172(1), 249-261.e12. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.12.019>

Zou, C., Shu, Y.-N., Yang, J.-J., Pan, L.-L., Zhao, J., Chen, N., Liu, S.-S., & Wang, X.-W. (2020). Begomovirus-Associated Betasatellite Virulence Factor  $\beta$ C1 Attenuates Tobacco Defense to Whiteflies via Interacting With Plant SKP1. *Frontiers in Plant Science*, 11. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2020.574557>

## MATERIAL COMPLEMENTARIO

Donde la nomenclatura es: nombre del gen\_cromosoma\_organismo.

Las abreviaturas para los organismos son: *S. lycopersicum* (SLY), *N. attenuata* (N), *S. pennellii* (SPEN), *A. thaliana* (A), virus de jitomate (TYLV).

Las vías a las que corresponden los genes recopilados son: autofagia (8), hormonas (3), respuesta hipersensible (3), de las MAP kinasas (18), silenciamiento postranscripcional de genes (10), síntesis de proteínas (3), silenciamiento transcripcional de genes (32), ubiquitinación por proteosoma (23) y ubiquitinación por SUMOylation (9).

Tabla S6. Lista de genes con sus respectivas vías metabólicas a las que pertenecen, ordenados alfabéticamente por gen.

Vía	Genes
TGS	ABI3_3_A
TGS	ABI3_6_SLY
Ub_Proteosoma	ACA12_1_A
Ub_Proteosoma	ACA12_3_A
Kinasas	ADK1_A
Kinasas	ADK2_10_SLY
Kinasas	ADK2_9_SLY
PTGS	AGO1_6_SLY
PTGS	AGO1_A
PTGS	AGO1B_SLY
PTGS	AGO1L_6_SPEN
PTGS	AGO1L_SPEN
TGS	AGO4_A
TGS	AGO6_2_A
TGS	AGO6_7_SLY
Kinasas	AL2_TMV
Autofagia	APG5_A
Autofagia	APG7_A

Autofagia	ATG8H_A
TGS	AtREM4.1_A
TGS	AtREM4.2_A
Kinasas	BAM1_A
Kinasas	BAM2_A
Kinasas	BIN2_A
Autofagia	CAM_N
Autofagia	CaM6_SLY
TGS	CHR1_A
TGS	CHR38_A
TGS	CMT2_SLY
TGS	CMT3_A
TGS	CMT3_SLY
Ub_Proteosoma	COI1_A
Ub_Proteosoma	COP9_A
Ub_Proteosoma	CUL3_A
Ub_Proteosoma	CUL4_A
PTGS	DCL1_1_A
PTGS	DCL1_10_SLY
TGS	DCL3_3_A
TGS	DCL3_8_SLY
TGS	DCL3B_N
TGS	DMS3_A
TGS	DRM1_A
TGS	DRM2_A
PTGS	EML1_A
Kinasas	GRIK1_SLY
Kinasas	GRIK2_A
TGS	HDA6_A
TGS	Henmt1_N
Ub_Proteosoma	krp1_SLY
Ub_Proteosoma	krp2_SLY
TGS	KTF1_A
TGS	MET1_SLY
Kinasas	NIK1_A
Kinasas	NIK2_A
Kinasas	NIK3_A
Hormonas:JA	NPR1_SLY

Hormonas:SA	NPR2-like_SPEN
Hormonas:JA-SA	NPR3_SPEN
TGS	NRPD1B_A
PTGS	nsp_TMLCV
PTGS	nsp_TYMGLCV
Ub_SUMOylation	pcna_SLY
Ub_SUMOylation	PCNA1_A
Síntesis de proteínas	PELOTA_SLY
Síntesis de proteínas	PELOTA1L_10_SPEN
Síntesis de proteínas	PELOTA1L_4_SPEN
Kinasas	PEPR1_A
Kinasas	PEPR2_A
Autofagia	PICBPL_4_SLY
Autofagia	PICBPL_4_SPEN
Kinasas	PXY_A
Ub_Proteosoma	RAD23b_SPEN
Ub_Proteosoma	RAD23c_2_SLY
Ub_Proteosoma	RAD23c_3_SPEN
Ub_Proteosoma	RAD23d_SLY
TGS	RAV2_1_A
TGS	RAV2_5_SLY
Ub_Proteosoma	RBX1_SLY
TGS	RDM1_A
TGS	RDM4_A
TGS	RDR1_A
TGS	RDR2_A
TGS	RDR2_N
Ub_SUMOylation	RPT4A_A
Ub_SUMOylation	RPT4a_SLY
Ub_SUMOylation	SCE1_2_SLY
Ub_SUMOylation	SCE1_3_A
Ub_SUMOylation	SCE1_3_SLY
Ub_SUMOylation	SCE1_N
TGS	SDN1_A
Autofagia	SGS3_3_N
Kinasas	SHAGGY_SLY
Ub_Proteosoma	SIZ1_SLY

Ub_Proteosoma	SIZL1_SLY
Ub_Proteosoma	SKdZeta_A
Ub_Proteosoma	SKP1B_A
Kinasas	SNF1_SLY
Kinasas	SnRK1_A
Ub_SUMOylation	sumo_SLY
TGS	SUVH4_A
Ub_Proteosoma	TIR1_A
HR	Ty-1/Ty-3_SLY
HR	Ty-6_SLY
HR	TYNBS1_SLY
Ub_Proteosoma	UBA1_A
Ub_Proteosoma	UBC3_2_SLY
Ub_Proteosoma	UBC3_5_A
Ub_Proteosoma	UBC3_6_SLY
Ub_Proteosoma	ZCF61_A



Tabla S7. Tabla de frecuencia de los 63 genes ortólogos presentes en las siete especies de jitomates.

Vía	Gen	<i>S. lycopersicum</i>	<i>S. pimpinellifolium</i>	<i>Sly var. cerasifforme</i>	<i>S. chilense</i>	<i>S. pennellii</i>	<i>S. habrochaites</i>	<i>S. lycopersicoides</i>
TGS	ABI3_6_SLY	1	2	1	2	2	1	1
Ub_Proteosoma	ACA12_1_A	1	1	1	1	1	2	1
Kinasas	ADK2_10_SLY	1	1	1	1	1	2	1
Kinasas	ADK2_9_SLY	2	1	1	1	1	1	1
PTGS	AGO1_6_SLY	1	1	1	1	2	1	1
PTGS	AGO1_A	1	1	1	1	1	1	1
PTGS	AGO1B_SLY	1	2	1	2	1	2	2
PTGS	AGO1L_6_SPEN	1	2	1	2	1	1	1
PTGS	AGO1L_SPEN	1	2	1	2	2	2	2
TGS	AGO6_7_SLY	1	1	1	1	2	1	1
Kinasas	BAM2_A	1	1	1	1	2	1	1
Autofagia	CAM_N	1	2	1	2	1	1	1
Autofagia	CaM6_SLY	1	1	1	1	1	2	1
TGS	CMT2_SLY	1	1	1	1	2	1	1
TGS	CMT3_SLY	1	1	1	1	2	2	1
Ub_Proteosoma	CUL3_A	2	2	1	2	2	1	1
Ub_Proteosoma	CUL4_A	2	2	1	2	2	1	1
PTGS	DCL1_10_SLY	2	2	1	2	2	1	1
TGS	DCL3_8_SLY	2	1	1	1	1	1	1
TGS	DCL3B_N	1	2	1	2	2	2	2
PTGS	EML1_A	1	1	1	1	2	1	1
Kinasas	GRIK1_SLY	1	1	1	1	2	2	1
Ub_Proteosoma	krp1_SLY	1	2	1	2	1	1	1
Ub_Proteosoma	krp2_SLY	1	2	1	1	1	1	1
TGS	MET1_SLY	1	2	1	2	2	2	1
Kinasas	NIK1_A	1	2	2	2	1	2	2
Hormonas:JA	NPR1_SLY	1	1	1	1	1	2	2
Hormonas:SA	NPR2-like_SPEN	1	1	1	1	1	1	1
Hormonas:JA-SA	NPR3_SPEN	1	2	1	2	2	2	1
TGS	NRPD1B_A	0	0	1	1	1	1	1
Ub_SUMOylation	pcna_SLY	1	2	1	2	2	1	1
Ub_SUMOylation	PCNA1_A	1	1	1	1	2	1	1
Síntesis de proteínas	PELOTA_SLY	1	1	1	1	2	1	1
Síntesis de proteínas	PELOTA1L_10_SPEN	1	1	1	1	1	1	1
Síntesis de proteínas	PELOTA1L_4_SPEN	1	1	2	1	2	2	2
Autofagia	PICBPL_4_SLY	1	2	1	2	2	2	2

Autofagia	PICBPL_4_SP EN	1	2	2	2	1	1	1
Ub_Proteosoma	RAD23b_SPE N	1	1	1	1	1	2	2
Ub_Proteosoma	RAD23c_2_SLY	1	1	1	1	1	2	2
Ub_Proteosoma	RAD23c_3_SP EN	1	1	1	1	1	1	1
Ub_Proteosoma	RAD23d_SLY	1	2	2	2	1	2	2
TGS	RAV2_5_SLY	1	1	1	1	2	2	2
Ub_Proteosoma	RBX1_SLY	1	1	1	1	1	1	1
TGS	RDR2_N	1	2	1	1	2	2	1
Ub_SUMOylation	RPT4A_A	0	0	1	1	1	1	1
Ub_SUMOylation	RPT4a_SLY	1	1	1	1	1	2	1
Ub_SUMOylation	SCE1_2_SLY	1	1	1	1	1	1	1
Ub_SUMOylation	SCE1_3_SLY	1	2	1	2	1	1	1
Ub_SUMOylation	SCE1_N	1	2	1	2	1	1	1
Autofagia	SGS3_3_N	1	1	1	1	2	1	1
Kinasas	SHAGGY_SLY	1	1	1	1	1	1	1
Ub_Proteosoma	SIZ1_SLY	1	2	1	2	2	1	1
Ub_Proteosoma	SIZL1_SLY	1	2	1	2	1	1	1
Ub_Proteosoma	SKdZeta_A	1	2	1	2	1	1	1
Kinasas	SNF1_SLY	1	2	1	2	2	2	2
Ub_SUMOylation	sumo_SLY	1	1	1	1	1	2	1
Ub_Proteosoma	TIR1_A	1	1	1	1	2	1	1
HR	Ty-1/Ty- 3_SLY	2	2	1	2	1	1	1
HR	Ty-6_SLY	2	1	1	1	1	1	1
HR	TYNBS1_SLY	1	2	1	2	1	1	1
Ub_Proteosoma	UBA1_A	0	0	1	1	1	1	1
Ub_Proteosoma	UBC3_2_SLY	1	1	1	1	2	2	2
Ub_Proteosoma	UBC3_6_SLY	1	1	2	1	1	1	1

Tabla S8. Tabla de los 46 genes ausentes en las siete especies de jitomates.

Vía	Gen	Vía	Gen
Autofagia	APG5_A	TGS	CHR38_A
Autofagia	APG7_A	TGS	CMT3_A
Autofagia	ATG8H_A	TGS	DCL3_3_A
Kinasas	ADK1_A	TGS	DMS3_A
Kinasas	AL2_TMV	TGS	DRM1_A
Kinasas	BAM1_A	TGS	DRM2_A
Kinasas	BIN2_A	TGS	HDA6_A
Kinasas	GRIK2_A	TGS	Henmt1_M
Kinasas	NIK2_A	TGS	KTF1_A
Kinasas	NIK3_A	TGS	RAV2_1_A
Kinasas	PEPR1_A	TGS	RDM1_A
Kinasas	PEPR2_A	TGS	RDM4_A
Kinasas	PXY_A	TGS	RDR1_A
Kinasas	SnRK1.3_A	TGS	RDR2_A
PTGS	DCL1_1_A	TGS	SDN1_A
PTGS	nsp_TMLCV	TGS	SUVH4_A
PTGS	nsp_TYMGLCV	Ub_Proteosoma	ACA12_3_A
TGS	ABI3_3_A	Ub_Proteosoma	COI1_A
TGS	AGO4_A	Ub_Proteosoma	COP9_A
TGS	AGO6_2_A	Ub_Proteosoma	SKP1B_A
TGS	AtREM4.1_A	Ub_Proteosoma	UBC3_5_A
TGS	AtREM4.2_A	Ub_Proteosoma	ZCF61_A
TGS	CHR1_A	Ub_SUMOylation	SCE1_3_A



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS



Control Escolar de Licenciatura

### VOTOS DE APROBATORIOS

Secretaria ejecutiva del Instituto de Investigación en Ciencias Básicas Aplicadas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.  
P r e s e n t e .

Por medio de la presente le informamos que después de revisar la versión escrita de la tesis que realizó la C. **CINTIA BEATRÍZ PÉREZ LÓPEZ** con número de matrícula **10018453** cuyo título es:

**“Estudio integral ómico de los mecanismos de defensa en *Solanum lycopersicum* durante la infección por Begomovirus”**

Consideramos que **SI** reúne los méritos que son necesarios para continuar los trámites para obtener el título de **LICENCIADO EN CIENCIAS AREA TERMINAL DE BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR.**

Cuernavaca, Mor a 16 de mayo del 2023

Atentamente  
Por una universidad culta

Se adiciona página con la e-firma UAEM de los siguientes:

<b>Dr. Ramón Antonio González García-Conde</b>	<b>(Presidente).</b>
<b>Dra. Verónica Lira Ruan</b>	<b>(Secretario).</b>
<b>Dra. Sonia Dávila Ramos</b>	<b>(Vocal).</b>
<b>Dr. Hugo Gildardo Castelán Sánchez</b>	<b>(Suplente).</b>
<b>Dr. Adrián Ochoa Leyva</b>	<b>(Suplente. NO PARTICIPA)</b>



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**SONIA DAVILA RAMOS** | Fecha:2023-05-16 11:27:46 | Firmante

YaNtEThRk0qMRFBYoSi5dZeCfj3rSG7B9SP4oPWq2PwfbIkg88bW9vtX9tfQa7xObQ0n8yfMYPYOk34xE8qD9aogj9yiXxFIvknG7bx7HubFB/BzV4KnlR2hmfymEgGEUeHAtIJK  
E7z6cpZW8f+Zbx2XDjL6T3CHp3C9WSDVicaovrzeIDVUFBIcSAhQaCmg6cveYUxCO8J1s0V72jbmeXhqMwhfU+PYaipzaZWaSGR63qQLbE17wPa9cCgo2j6ecw0nyy/H0idw3n7a  
6VgRISII5CaK8zLhsju++W11oL7dwCCrbC6Kt8MoNCDasl2m4BmIoF7AyBb02GzIKAA==

**HUGO GILDARDO CASTELÁN SÁNCHEZ** | Fecha:2023-05-16 11:46:07 | Firmante

JTNnPUmD6BqOpdyKNjmQD72IBriJOJfKaxMFzsrSycXU1jVZz23GWtZVdhQjAtPd6hJ4r03MmuldHv1SrZjeuaeVn005m0I2tL7f5T96gWveX+k0wc8EzxK3xvdO23w7DB5Q/FXTv  
beTyMUfg57fFSptf2pmpyxfZC87S56YTDIw/5xrY+4fQYslquUwMiS7mdnKD5p5jB1d8Yc35OcTVzEiB7iENfKp8NOK0D3qEwKfXPHxVMBsiGr6kJHRouQe/nltACavguztFvZnwa  
ex5+vhzB7BvLHJha9pvzbgSKSIC+3brbYnyXi4TCXuLcWoS20/BVnV0S4QkGD+k7g==

**RAMON ANTONIO GONZALEZ GARCIA CONDE** | Fecha:2023-05-16 11:51:40 | Firmante

m+z8pLXhZqCDUsWtDuOIYYDqNRB9q+xQXYJMm5BcRA/F6tYJ8DtoM1giY0VYse0ZPTsY4pYD00gQHPfc61rx3c0WInEzFSXo9uhhmVn5bSANZ2foemRrWj/rWD5JzhygUQ++  
pV1bCDk1RggFmluENMKYZ9DFDnAc6wDqPnZG1/EC93BSYbgeug3+tgEAv24olB6ws7cvyn7OBISyCoAXoQi/fzO7Dtpic1c0ACwZgzCUX36bkRkVWB/mF3Tvxnc2/76O6u8sbT  
1R59nZNblenePkwPBPr2cG5win+NDwNwB8oQfkOoj9hguKxyAzq2CFVP2fmGmK/qZD+RQmU6ge6w==

**VERONICA LIRA RUAN** | Fecha:2023-05-17 09:09:25 | Firmante

rWmM0z0T9gJY7dzLn1RKWTjof+7CUwupsfJSu67RIJYIE50hDp2S8pRIZN7Dh7+qEcMzwXeZVYs6jrgDTueaU3IOekqN7k6IQ+Dr5fy2cwbwBrKcuiY3IGmeszOav9qXMdyRBI6Vt  
ewK0thx6j+DU5wyBPX8mgC3qfLe3gLnOxHP23wDe+HJQCqLZ5Odd9zQCbWN5KF03FjpFe9p1lojzqEbr2LUZgMzqHkG13Eza7bmbJb2xl49gm7onwnr7f00pZ/Ov6KMr06zX3nDlc  
9ccohQMfVkiHtzZjYp2nUWseTW8rdoA2a7cR5dqjic4n/q/PQH6RrM2NNDYxmR+u1h7w==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



1rspGZQNS

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/bQXodY6TW6TueflnE1Tjv0WlrlcIsgKy>

