



**Universidad Autónoma de Sinaloa**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS**  
**MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**Identificación y prevalencia de una nueva bacteria  
endosimbiótica en *Bemisia tabaci* Genn. asociada a  
la madurez irregular en el fruto de tomate**

**TESIS**

Que presenta

LBG. LEONELA EDEZA SOTO

Para obtener el Grado de

MAESTRA EN CIENCIA

Y

TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Directores

DR. JOSÉ ANGEL LÓPEZ VALENZUELA

DR. JOSÉ ANTONIO GARZÓN TIZNADO



**Universidad Autónoma de Sinaloa**

**Dirección General de Bibliotecas**

**Repositorio Institucional Buelna**

**Restricciones de uso**



Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia [Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)



Dirección General de Bibliotecas  
Ciudad Universitaria  
Av. de las Américas y Blvd.  
Universitarios  
C.P. 80010 Culiacán Sin. Méx.  
Tel (667) 713 78 32 y  
(667) 712 50 57  
dgbuas@uas.edu.mx

Este trabajo titulado “Identificación y prevalencia de una nueva bacteria endosimbiótica en *Bemisia tabaci* Genn. asociada a la madurez irregular en el fruto de tomate” fue realizado en el Laboratorio de Biología Molecular y Fisiopatología Vegetal de la Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa, bajo la dirección del Dr. José Angel López Valenzuela y el Dr. José Antonio Garzón Tiznado, así como la asesoría del Dr. Roberto Gutiérrez Dorado y la Dra. Claudia del Rosario León Sicairos. Leonela Edeza Soto recibió beca por parte de la Secretaría de Ciencia, Humanidades Tecnología e Innovación (SECIHTI) durante el desarrollo de sus estudios de posgrado.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Autónoma de Sinaloa, en especial a la Facultad de Ciencias Químico Biológicas y al posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos por mi formación académica, por permitirme realizar esta maestría.

A mis directores, Dr. José Angel López Valenzuela, por sus acertadas revisiones, por su dedicación en este trabajo y el tiempo concedido para lograr la realización de este proyecto; Dr. José Antonio Garzón Tiznado, por la oportunidad de integrarme en su equipo, por darme las bases necesarias para desarrollar este trabajo, y por la confianza que depositó en mí al brindarme independencia en el laboratorio.

A mis asesores, Dr. Roberto Gutiérrez Dorado y Dra. Claudia del Rosario León Sicaños, por su disponibilidad para orientarme cuando más lo necesitaba durante esta investigación, por sus revisiones y su buena disposición. Valoro el tiempo que cada uno dedicó para revisar este trabajo, gracias por sus correcciones y sugerencias. A la Dra. Karen Pineda, siempre dispuesta a apoyar, muchas gracias.

A mis compañeros de laboratorio que se volvieron amigos, Gabriel León y Guillermo Domínguez, con ustedes las pláticas y cafés vuelven todo más sencillo; que los planes sin motivo sigan sucediendo, lo mejor es compartir. Les deseo mucho éxito en su camino. A los amigos que me brindó la biotecnología, Lucía Alarcón, Carmen Nava, Lucía Padilla, Felipe Rodríguez, Octavio Zambada, que la vida nos siga permitiendo reencontrarnos y el éxito de uno sea la felicidad de los demás.

A ti, Carlos, que llegaste a mis días en los momentos más críticos de este proceso y has estado conmigo para apoyarme y motivarme. Gracias por estar presente y regalarme felicidad, por tu paciencia y comprensión. Yo quiero ser ese apoyo para ti y estar a tu lado para verte cumplir tus objetivos; sé que puedes lograr muchas cosas, eres muy inteligente y capaz. Te amo.

A mis padres, Cecilia Soto y Manuel Edeza, por su esfuerzo y apoyo incondicional, por darme todo para permitirme llegar hasta este momento, todo se lo debo a ustedes, los quiero. Este logro es de ustedes. Y para ti, Vicente, el hermano que necesitaba para acompañarme y darle emoción a la vida; al fin entenderás porqué dedicaba tantas horas en la computadora.

## ÍNDICE

	Pág
ÍNDICE DE FIGURAS .....	iii
ÍNDICE DE CUADROS .....	v
I RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	3
II INTRODUCCIÓN.....	5
III REVISIÓN DE LITERATURA .....	7
A TOMATE .....	7
B <i>BEMISIA TABACI</i> .....	8
1 Desarrollo del insecto .....	10
2 Daños en cultivos .....	13
C BACTERIAS ENDOSIMBIÓTICAS.....	14
1 Endosimbiontes primarios .....	16
2 Endosimbiontes secundarios.....	20
D MADUREZ IRREGULAR DEL FRUTO DE TOMATE.....	26
IV JUSTIFICACIÓN .....	30
V HIPÓTESIS.....	31
VI OBJETIVOS.....	32
A OBJETIVO GENERAL.....	32
B OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	32
VII MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
A MATERIALES.....	33
1 Obtención de material vegetal.....	33
2 Recolección de <i>B. tabaci</i> .....	33

B MÉTODOS .....	34
1 Análisis filogenético.....	34
2 Diseño y validación <i>in silico</i> de oligonucleótidos .....	36
3 Estandarización de PCR punto final.....	38
a Extracción de ADN .....	38
b Condiciones de reacción de la PCR .....	39
c Sensibilidad y especificidad de detección.....	40
4 Frecuencia de detección de la secuencia procarionte.....	41
5 Análisis estadístico.....	42
VIII RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	43
A Reconstrucción filogenética.....	43
B Detección específica de la secuencia procarionte.....	52
1 Características de los oligonucleótidos .....	52
2 Estandarización de la PCR punto final.....	58
C Frecuencia de infección .....	60
1 <i>B. tabaci</i> .....	62
2 Frutos de tomate .....	69
IX CONCLUSIONES .....	72
X BIBLIOGRAFÍA.....	74
ABREVIATURAS .....	90

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Presencia de <i>B. tabaci</i> a nivel mundial.	9
2	Morfología y ciclo de vida de <i>B. tabaci</i> .	12
3	Mecanismos modificadores de la reproducción inducidos por endosimbiontes.	23
4	Relación evolutiva de la secuencia UAS_511 con endosimbiontes de <i>B. tabaci</i> .	45
5	Relación evolutiva de la secuencia UAS_511 con endosimbiontes de insectos fitófagos.	48
6	Relación evolutiva de la secuencia UAS_511 con endosimbiontes de mosca blanca, áfidos y psílidos, y bacterias fitopatógenas.	51
7	Posición de la secuencia de oligonucleótidos con respecto a la secuencia consenso UAS_511.	55
8	Separación electroforética de productos de PCR amplificados bajo diferentes temperaturas de alineamiento y concentración.	59
9	Similitud de las secuencias de los productos amplificados por PCR en <i>B. tabaci</i> y fruto de tomate con madurez irregular.	61
10	Proporción de biotipos (A) y frecuencia de detección (B) de UAS_511 en <i>B. tabaci</i> .	63
11	Frecuencia de detección de UAS_511 en los biotipos MEAM1 y MED.	67

12	Presencia de UAS_511 en frutos de tomate con síntomas de madurez irregular.	70
----	---	----

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pág
1	Bacterias endosimbióticas de <i>Bemisia tabaci</i> .	17
2	Bacterias endosimbióticas de áfidos y psílidos.	18
3	Criterio para el diseño y selección de oligonucleótidos.	37
4	Homología de las secuencias 16S de endosimbiontes primarios y secundarios de <i>B. tabaci</i> con la secuencia procarionte UAS_511.	44
5	Homología de las secuencias 16S de endosimbiontes de mosca blanca, pulgones y psílidos con la secuencia procarionte UAS_511.	47
6	Homología de las secuencias 16S de bacterias fitopatógenas con la secuencia procarionte UAS_511.	50
7	Características de los oligonucleótidos diseñados para la amplificación específica de la secuencia procarionte UAS_511.	54
8	Estructuras secundarias y propiedades fisicoquímicas de U511F/U511R.	56
9	Homodímeros y heterodímeros de U511F/U511R.	57
10	Prevalencia de la secuencia UAS_511 en biotipos de <i>B. tabaci</i> recolectados en cultivos de tomate.	68

## I RESUMEN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es una de las hortalizas de mayor producción y exportación en el estado de Sinaloa. Sin embargo, este cultivo es susceptible a diversas plagas y enfermedades que ocasionan pérdidas considerables. En los últimos años la productividad del tomate se ha visto reducida por una enfermedad denominada madurez irregular del fruto, la cual disminuye la calidad del fruto al afectar el desarrollo uniforme de color y el ablandamiento. Esta enfermedad se ha asociado con el insecto fitófago *Bemisia tabaci*, pero no se ha determinado su etiología. Los insectos que se alimentan del floema, como *B. tabaci*, han establecido simbiosis con procariontes intracelulares que participan en el suministro de nutrientes limitados en su dieta, en la reproducción y en la resiliencia de éstos al cambio climático e insecticidas. Los endosimbiontes se clasifican en primarios (obligados) o secundarios (facultativos), siguiendo un mecanismo de transmisión vertical y/o horizontal, lo que hace dispensable la adquisición de la bacteria en la planta hospedante. Estudios previos en nuestro laboratorio confirmaron la diversidad de endosimbiontes en *B. tabaci* (*Portiera*, *Hamiltonella*, *Rickettsia*, *Hemipteriphilus* y *Wolbachia*). Recientemente se encontró una secuencia del gen ribosomal 16S (ADNr 16S) correspondiente a un procarionte no descrito en la microbiota de *B. tabaci* recolectadas en cultivos de tomate con síntomas de madurez irregular en fruto. El objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia y prevalencia de esta secuencia procarionte en *B. tabaci* y en frutos de tomate con síntomas de madurez irregular. Para ello, se estandarizó un protocolo de PCR punto final para la amplificación de esta secuencia parcial del gen ADNr 16S en insecto y fruto; las secuencias obtenidas se analizaron en ClustalW y se determinó el porcentaje de similitud. Se logró la identificación homóloga de la secuencia en insectos

y frutos con madurez irregular, estando ausente en frutos sanos. La incidencia en fruto fue del 62.5% y en insecto del 76%. En insectos, la secuencia se detectó en los biotipos MEAM1 y MED que son los de mayor distribución en la región, sin encontrar una asociación con alguno de ellos ( $\chi^2= 1.606$ ,  $p=0.2050$ ). La detección homóloga de la secuencia procarionte en el vector *B. tabaci* y en fruto de tomate, es consistente con la transmisión horizontal entre insecto y planta. Su detección en un alto porcentaje de los frutos enfermos sugiere la presencia de una bacteria endosimbiótica con posible capacidad patogénica en planta y que podría relacionarse con el desarrollo de la madurez irregular del fruto. Sin embargo, se requieren estudios donde se tenga un buen control del vector y la transmisión de la bacteria para establecer dicha asociación.

## ABSTRACT

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is one of the most widely produced and exported vegetables in the state of Sinaloa. This crop is susceptible to various pests and diseases that cause considerable losses. In recent years, tomato productivity has been reduced by a disease called tomato irregular ripening, which decreases fruit quality by affecting uniform color development and softening. This disease has been associated with the phytophagous insect *Bemisia tabaci*, but its etiology has not been determined. Phloem-feeding insects, such as *B. tabaci*, have established symbiotic relationships with intracellular prokaryotes that participate in the supply of limited nutrients in their diet, in reproduction, and in their resilience to climate change and insecticides. Endosymbionts are classified as primary (obligate) or secondary (facultative), following a vertical and/or horizontal transmission mechanism, which makes the acquisition of the bacteria in the host plant dispensable. Previous studies in our laboratory confirmed the diversity of endosymbionts in *B. tabaci* (*Portiera*, *Hamiltonella*, *Rickettsia*, *Hemipteriphilus* and *Wolbachia*). Recently, a 16S ribosomal gene (rDNA 16S) sequence corresponding to a previously undescribed prokaryote was found in the microbiota of *B. tabaci* collected from tomato crops with symptoms of irregular fruit ripening. The objective of this work was to determine the presence and prevalence of this prokaryotic sequence in *B. tabaci* and in tomato fruit with symptoms of irregular ripening. To this end, an endpoint PCR protocol was standardized for the amplification of this partial sequence of ADNr 16S in insect and fruit; the sequences obtained were analyzed in ClustalW, and the percentage of similarity was determined. Homologous identification of the sequence was achieved in insects and fruits with irregular ripening, being absent in healthy fruits. The incidence of this sequence in fruit

and insects was 62.5% and 76%, respectively. In insects, the sequence was detected in the biotypes MEAM1 and MED, which have the greatest distribution in the region, without finding an association with any of them ( $\chi^2= 1.606$ ,  $p=0.2050$ ). The homologous detection of the prokaryotic sequence in the vector *B. tabaci* and tomato fruit is consistent with horizontal transmission between insect and plant. Its detection in a high percentage of diseased fruit suggests the presence of an endosymbiotic bacterium with potential pathogenic capacity in the plant that could be related with the development of tomato irregular ripening. However, additional studies with good control of the vector and the transmission of the bacteria are required to establish this association.

## II INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) encabeza la lista de los cultivos hortofrutícolas con mayor producción a nivel mundial. En 2023 se produjeron más de 192 millones de toneladas de este producto (FOASTAT 2025). En México, Sinaloa fue el mayor productor y exportador de tomate con un volumen de 800,115 toneladas (SIAP 2024).

El cultivo de tomate se puede ver afectado por diversos factores bióticos que conducen a pérdidas hasta del 100%; los daños son causados por plagas como insectos y nemátodos, así como enfermedades ocasionadas por microorganismos como hongos, virus, viroides, bacterias y fitoplasmas, cuyo desarrollo y supervivencia está determinado por las condiciones ambientales (Salas Gómez y col 2022).

En las últimas décadas, la comercialización del tomate se ha visto reducida por la presencia de la enfermedad denominada madurez irregular del fruto (MIF), la cual se manifiesta cuando el fruto llega a la etapa de maduración, presentándose como síntoma principal un color rojo no uniforme con sectores verdes (Hanif y col 1997). El agente causal de esta alteración fisiológica no se ha identificado con certeza, pero se ha atribuido al proceso de alimentación de mosca blanca (*Bemisia tabaci*).

En cultivos con altas densidades de *B. tabaci* y en cultivos infestados en etapas tempranas se reportan los mayores daños por MIF (McKenzie y Albano 2009; Ascencio-Alvarez y col 2018). Se ha sugerido que los síntomas internos y externos en el fruto sean causados por el efecto toxinífero de este insecto, es decir, la deposición de una toxina de origen bacteriano por parte del insecto durante su alimentación directa de la planta (Hanif y col 1997).

Al igual que otros insectos que se alimentan del floema, *B. tabaci* ha establecido simbiosis con procariontes que le confieren beneficios nutrimentales y de adaptación. Estudios en nuestro laboratorio han confirmado la diversidad de endosimbiontes en *B. tabaci* (*Portiera*, *Hamiltonella*, *Rickettsia*, *Hemipteriphilus* y *Wolbachia*) y particularmente, al analizar insectos recolectados en cultivos de tomate con síntomas de madurez irregular se descubrió una secuencia procarionte no descrita previamente en *B. tabaci*, esta secuencia 16S (preliminarmente llamada UAS\_511) no presentó homología con la secuencia mitocondrial de los endosimbiontes conocidos en *B. tabaci*.

A partir de estos resultados se ha hipotetizado que este problema de coloración no uniforme del fruto está relacionado con el proceso de alimentación de *B. tabaci* en tomate, donde es posible la intervención de una bacteria endosimbionte en el insecto que puede transferirse horizontalmente a la planta; es decir, endosimbionte en el insecto y patogénica en la planta. A la fecha solo se ha publicado un evento de este tipo: la bacteria endosimbiótica del insecto *Bactericera cockerelli*, descrita como *Ca. Liberibacter solanacearum*, ha desarrollado la capacidad de ser patogénica en diferentes especies de solanáceas como tomate, papa, chile y tomatillo (Kwat y col 2025).

Por lo anteriormente expuesto, en el presente estudio se analizó la presencia de la secuencia procarionte UAS\_511 en individuos de *B. tabaci* y en frutos de tomate con madurez irregular; se realizó un análisis comparativo determinando la similitud de las secuencias amplificadas mediante PCR en ambos organismos; finalmente se estableció la prevalencia o frecuencia de detección en insecto y fruto de tomate.

### III REVISIÓN DE LITERATURA

#### A TOMATE

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es una especie dicotiledónea perteneciente a la familia de las solanáceas. Su tiempo de generación es relativamente corto, de cuatro a seis meses, y se ha posicionado como uno de los cultivos de mayor relevancia agronómica y alimenticia debido a su valor nutricional (Kimura y Sinha 2008). Es buena fuente de minerales, vitamina C, ácido fólico, licopeno,  $\beta$ -caroteno y flavonoides (Ali y col 2020).

El fruto de tomate es un producto muy versátil, se consume en fresco o se procesa para obtener derivados como purés, salsas, zumos, o enlatados. Aproximadamente la cuarta parte de la producción mundial de tomate se destina a la industria de procesados. Su consumo se ha relacionado con grandes beneficios para la salud debido al alto contenido de componentes bioactivos, formando parte integral de la dieta (Pinela y col 2016; Li y col 2018).

En 2023, el tomate fue el segundo producto hortofrutícola más cultivado a nivel mundial, con una producción superior a los 192 millones de toneladas. De acuerdo con los datos oficiales de FAOSTAT (2025), la lista de países productores es encabezada por China (70.1 millones de t), India (20.4 millones de t) y Turquía (13.3 millones de t). México se posicionó como el séptimo mayor productor, con más de 4 millones de toneladas, destinando 90 mil hectáreas de suelo para su siembra.

En México, el tomate es el producto agrícola que más se exporta, con un crecimiento constante en los últimos años. En 2024, Sinaloa se mantuvo liderando la

producción con un volumen de 800,115 t, produciendo el 21.48% del total nacional, seguido de San Luis Potosí (12.30%) y Michoacán (9.11%) (SIAP 2024).

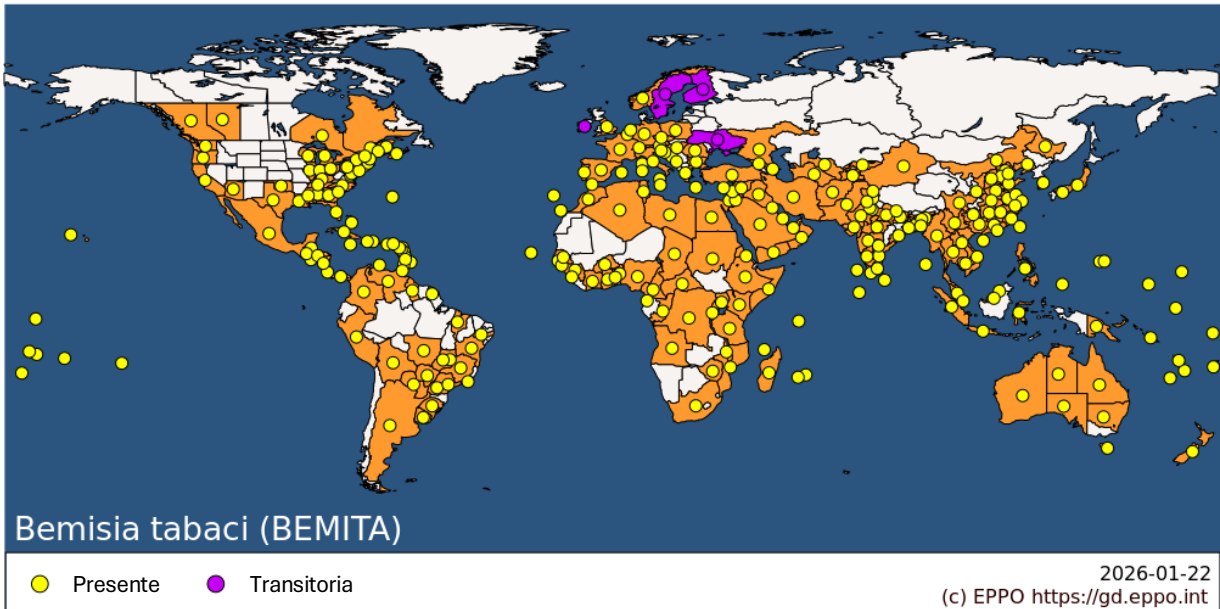
El rendimiento del cultivo se puede ver afectado al ser susceptible a plagas y enfermedades que llegan a generar pérdidas hasta del 100% si no se identifican y controlan oportunamente. Las bacterias, virus, nemátodos, fitoplasmas, hongos e insectos (mosca blanca, por ejemplo), son algunos de estos agentes bióticos responsables del daño en las plantas a distintos niveles (Salas Gómez y col 2022).

## **B BEMISIA TABACI**

La mosca blanca, *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae), es una de las plagas más amenazantes en la agricultura, particularmente en cultivos como el tomate y el pimiento que se desarrollan a campo abierto. *B. tabaci* fue la primera plaga invasora de importancia en el Medio Oriente durante la década de 1980, y rápidamente se extendió a otras regiones favorecida por el comercio (Kanakala y Ghanim 2019).

*B. tabaci* es cosmopolita, se ha registrado su presencia en todos los continentes, con excepción de la Antártida. Actualmente está presente en más de 160 países, incluyendo México (Figura 1); esta plaga se encuentra catalogada como cuarentenaria A2, por lo que se encuentra bajo regulación estrictamente para evitar su establecimiento o propagación (Kanakala y Ghanim 2019; EPPO 2026).

*B. tabaci* es una plaga polífaga, se alimenta de más de 600 especies vegetales, incluyendo hortalizas, plantas ornamentales, cultivos de fibras y numerosas especies silvestres. Dentro de los cultivos de importancia agronómica que ataca están los de las familias *Cruciferae*, *Cucurbitaceae*, *Solanaceae* y *Leguminosae* (Brown 2000).



**Figura 1.** Presencia de *B. tabaci* a nivel mundial. La mosca blanca se ha reportado en todos los continentes cultivables. Su distribución se ve favorecida por el comercio internacional y las malas prácticas en campo. Tomado de EPPO (2026).

*B. tabaci* representa un complejo de especies, bien caracterizado, de al menos 34 especies crípticas (Dinsdale y col 2010), donde los biotipos MEAM1 (Middle East-Asia Minor 1) y MED (Mediterranean) son las especies más invasivas y destructivas (Luo y col 2010). Estas especies se han descrito gracias a características biológicas y moleculares, debido a que a nivel morfológico son indistinguibles (Luo y col 2010; Wang y col 2019).

Las especies crípticas difieren con respecto al rango de hospedadores, fecundidad, dispersión, capacidad de alimentación, resistencia a insecticidas y transmisión de virus a la planta. A nivel molecular, la identificación de biotipos se centra en el análisis filogenético de la secuencia nucleotídica del gen de la subunidad I de citocromo oxidasa (*mtCOI*), con un límite de divergencia del 3.5% para la separación de especies (Dinsdale y col 2010; Horowitz y col 2005).

En 2012, Kang y col diseñaron una estrategia para la detección en un solo paso de los biotipos MEAM1 y MED mediante el análisis de las variaciones de secuencia y longitud de intrones en el gen de la carboxilesterasa 2 (*coe2*), donde la diferencia de tamaño del intrón entre estas dos especies crípticas es de 100 pb.

## **1 Desarrollo del insecto**

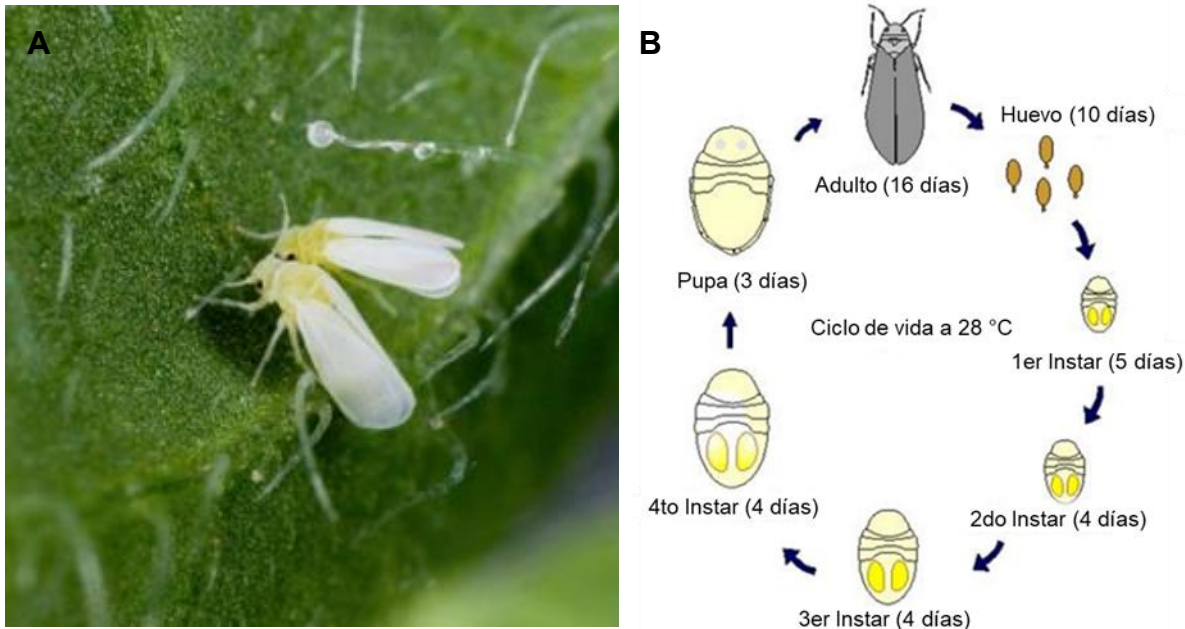
Los individuos de *B. tabaci* son haplodiploides y se reproducen por partenogénesis arrenotómica, produciendo descendencia femenina diploide a partir de huevos fecundados y descendencia masculina haploide cuando los huevos no son fecundados (Liu y col 2007). El ciclo de vida del insecto consta de seis etapas, desde el huevo hasta el adulto, incluyendo cuatro estadios ninfales.

De acuerdo con Carapia-Ruiz y Castillo-Gutiérrez (2013), los adultos de mosca blanca depositan en grandes cantidades los huevos en el envés de la hoja, de forma dispersa o en círculos; los huevos presentan forma elíptica y miden de 190 a 200  $\mu\text{m}$  de longitud y 100 a 129  $\mu\text{m}$  de ancho, son de color blanco amarillento y cuando están próximos a eclosionar se tornan marrón. Los huevos poseen en su extremo un pedicelo, una estructura en forma de tallo que permite el anclaje a la hoja y la absorción de agua (Walker y col 2010).

Las ninfas son ovaladas aplanadas, con colores blancos amarillento y translúcidos (Perring y col 2018). En el primer estadio ninfal se presenta un estado de desarrollo activo: se desplaza sobre la superficie foliar en busca de alimento e inserta su estilete cuando encuentra el lugar adecuado. La ninfa queda inmóvil en el lugar y progresa a los siguientes estadios, los cuales son sésiles. En el cuarto estadio, antes de llegar a la adultez, la ninfa presenta ojos rojos visibles (Carapia-Ruiz y Castillo-Gutiérrez 2013).

Los adultos son pequeños, miden de 1 a 3 mm de largo, y se caracterizan por tener el cuerpo amarillo con dos pares de alas blancas, cubiertas con una cera blanquecina. Las alas se mantienen ligeramente separadas, formando una especie de techo a dos aguas muy inclinadas sobre el abdomen, dejando parte del abdomen visible (Figura 2a). Los ojos son color oscuro, con dos grupos de omatidias unidas en el centro con un omatidio (Perring y col 2018).

La fecundidad y el ciclo de vida del insecto depende de la temperatura, humedad relativa y planta hospedera donde se desarrolla. En promedio, *B. tabaci* produce 15 generaciones por año, donde cada hembra deposita alrededor de 200 huevos en un lapso de 3 a 6 semanas (Figura 2b). En climas cálidos el insecto se desarrolla con



**Figura 2.** Morfología y ciclo de vida de *B. tabaci*. (A) La mosca blanca se caracteriza por tener el cuerpo amarillo y dos pares de alas blancas que forman una especie de techo a dos aguas muy inclinadas sobre el abdomen. (B) En promedio, el ciclo de vida de *B. tabaci* se desarrolla en un lapso de 3 a 6 semanas, según las condiciones ambientales. Tomado de: Prota (2015).

mayor rapidez y el ciclo de vida (huevo a adulto) requiere solamente de 2 a 3 semanas (Curnutte y col 2014). *B. tabaci* tiene buena adaptabilidad al incremento de temperaturas, presentando una temperatura óptima de desarrollo de 20 °C a 33 °C; en temperaturas superiores a 35 °C se reduce la supervivencia y fecundidad (Guo y col 2013).

## **2 Daños en cultivos**

*B. tabaci* es de las plagas más dañinas en la agricultura, reportando daños directos e indirectos en cultivos de relevancia económica. Las ninfas y adultos causan daños directos al tomar los nutrientes de la savia, e indirectos debido a la excreción de melaza sobre la superficie de hojas y frutos (Cañas y col 2004). La melaza es utilizada como sustrato por los hongos de la fumagina, los cuales colonizan la superficie e interfieren con la fotosíntesis, provocando la reducción de la calidad de la fruta (Shi y col 2024).

Durante su alimentación, los insectos succionan la savia e inyectan fluidos salivales causando el debilitamiento de las plantas, los daños fisiológicos se presentan como madurez irregular en tomate o como plateado fitotóxico en calabaza. Aunado a esto, *B. tabaci* actúa como vector predominante de virus vegetales, principalmente *Begomovirus* (*Geminiviridae*), *Crinivirus* (*Closteroviridae*), *Carlavirus* (*Betaflexiviridae*), *Torradovirus* (*Secoviridae*) e *Ipomovirus* (*Potyviridae*) (Fiallo-Olivé y col 2020; Naveed 2023).

Las enfermedades virales son un factor limitante en muchos sistemas de producción de cultivos al no existir antivirales para su control y a su efectividad de diseminación mediante vectores. Las virosis causan síntomas foliares y afectaciones en flores y frutos. Los daños fisiológicos y las pérdidas económicas son significativas,

desde 20% al 100%, dependiendo del estado de desarrollo en que el cultivo es infectado (Navas-Castillo y col 2011; Gangwar y Gangwar 2018).

Las características del vector *B. tabaci*, incluida la rápida reproducción y el rápido desarrollo de resistencia química, dificulta su control en campo. El biotipo MEAM1 tiene un rango de hospederos más amplio, lo que ha favorecido la propagación de virus a especies cultivadas adyacentes que previamente no estaban afectadas. Por su parte, el biotipo MED se ha asociado con resistencia a insecticidas neonicotinoides, que son aplicados de manera general para el control de mosca blanca porque actúan en el sistema nervioso central del insecto (Horowitz y col 2005).

La dinámica poblacional de *B. tabaci* depende de distintos factores, entre los que se incluyen la ubicación geográfica, la temperatura ambiental, el cultivo hospedero, el manejo en campo, el biotipo y su relación con endosimbiontes bacterianos (Lobin y col 2022; Li y col 2023). Estos últimos toman relevancia por ser bacterias intracelulares en el insecto que mejoran su resiliencia ante factores ambientales.

## **C BACTERIAS ENDOSIMBIÓTICAS**

Los insectos que se alimentan del floema, como los áfidos (Aphididae), los psílidos (Psyllidae) y las moscas blancas (Aleyrodidae) han establecido simbiosis con procariontes intracelulares que juegan un papel esencial en la biología, fisiología e inmunología de éstos, asegurando de esta forma su desarrollo, viabilidad y adaptación (Baumann 2005).

Aunque los insectos son polívoros su dieta es pobre: la savia del floema presenta un desbalance de nutrientes, es rico en carbohidratos, pero deficiente en nitrógeno y

aminoácidos esenciales como metionina y leucina. La simbiosis insecto-bacteria es clave para la obtención de todos los compuestos necesarios para su supervivencia y su adaptación a condiciones ambientales no favorables (Sandström y Moran 1999).

La relación mutualista entre los insectos hospederos y sus bacterias endosimbióticas ha evolucionado por millones de años (Baumann 2005). A diferencia de las bacterias de vida libre, los endosimbiontes presentan un genoma reducido (<1 Mb); han perdido grupos de genes en un proceso de erosión genómica y conservado selectivamente solo aquellos genes para funciones esenciales y que benefician a sus hospedadores. En consecuencia, estos procariontes son simples, dependen de su hospedador para la mayoría de sus metabolitos y no se pueden cultivar *in vitro* (McCutcheon y Moran 2012).

De acuerdo con sus características y la interacción con su hospedador, los endosimbiontes se clasifican en primarios (P-endosimbionte, obligados) y secundarios (S-endosimbionte, facultativos). Los endosimbiontes primarios son indispensables para el hospedador, sin ellos el insecto no tiene la capacidad de supervivencia; mientras que los endosimbiontes secundarios no son esenciales, pero cuando están presentes cumplen roles específicos para el insecto (Andreason y col 2020).

Los insectos de una misma familia albergan a un endosimbionte primario común, y pueden presentar al menos un endosimbionte secundario en coexistencia. En el caso de mosca blanca, se han descrito al menos siete especies de endosimbiontes presentes en los diferentes complejos. Los estudios señalan que *B. tabaci* alberga al P-endosimbionte *Portiera aleyrodidarum*, que puede coexistir con S-endosimbiontes como *Hamiltonella defensa*, *Hemipteriphilus asiaticus*, *Arsenophonus* spp, *Cardinium*

*hertigii*, *Fritschea bemisiae*, *Rickettsia* spp y *Wolbachia* spp (Cuadro 1) (Chiel y col 2007; Bing y col 2013).

En *B. tabaci* todos los endosimbiontes se transmiten de forma vertical o transovárica. La transmisión de los endosimbiontes a la descendencia ocurre durante el desarrollo del ovocito, durante este proceso un bacteriocito individual se transfiere al ovocito, y una vez ubicado en el centro del huevo, el endosimbionte sale del bacteriocito y ocupa la cavidad del huevo. En algunos simbioses secundarios se ha reportado además transmisión horizontal entre planta e insecto durante la alimentación (Andreason y col 2020).

Las relaciones mutualistas que se han reportado en otros insectos fitófagos son diversas (Cuadro 2). Los endosimbiontes pueden tener un fuerte impacto en la dinámica poblacional y demográfica, así como en la diversidad genética de las especies hospedadoras. Es importante explorar tanto las ventajas como las desventajas de la relación mutualista entre insectos y simbioses, ya que estas relaciones podrían ayudar o reducir significativamente la efectividad de una determinada estrategia de manejo de plagas de insectos (Fan y col 2022).

## **1 Endosimbiontes primarios**

La relación mutualista entre los endosimbiontes primarios y su insecto hospedador es de carácter obligatorio, ya que estos procariontes tienen la capacidad de sintetizar y proporcionar los nutrientes deficientes en la alimentación mientras que los insectos hospedadores proporcionan un refugio a sus endosimbiontes (Baumann 2005; Gottlieb y col 2008).

**Cuadro 1.** Bacterias endosimbióticas de *Bemisia tabaci*.

<b>Endosimbionte</b>	<b>Simbiosis / Clase</b>	<b>Rol mutualista</b>	<b>Referencia</b>
<i>Portiera aleyrodidarum</i>	Primaria γ-proteobacteria	Provee aminoácidos y carotenoides.	Santos-Garcia 2012; Sloan y Moran 2012
<i>Hamiltonella defensa</i>	Secundaria γ-proteobacteria	Aumenta la tasa de crecimiento en periodos de estrés nutricional.	Su y col 2014
<i>Arsenophonus</i>	Secundaria γ-proteobacteria	Suministra vitamina B y manipula la reproducción.	Santos-Garcia y col 2018; Wang y col 2020
<i>Rickettsia</i> spp	Secundaria α-proteobacteria	Tolerancia térmica y ante insecticidas, manipula la reproducción.	Brumin y col 2011; Himler y col 2011; Fan y col 2022
<i>Wolbachia</i> spp	Secundaria α-proteobacteria	Manipula la reproducción.	Hornett y col 2010
<i>Cardinium hertigii</i>	Secundaria Bacteroidetes	Aumenta la tolerancia térmica y manipula la reproducción.	Yang y col 2021; Mathieson y col 2025
<i>Hemipteriphilus asiaticus</i>	Secundaria α-proteobacteria	Desconocido	-
<i>Fritschea bemisiae</i>	Secundaria Clamydiales	Desconocido	-

**Cuadro 2.** Bacterias endosimbióticas de áfidos y psílidos.

<b>Endosimbionte</b>	<b>Simbiosis</b>	<b>Clase</b>	<b>Orden</b>
<i>Buchnera aphidicola</i>	Primaria	$\gamma$ -proteobacteria	Enterobacteriales
<i>Carsonella ruddii</i>	Primaria	$\gamma$ -proteobacteria	Oceanospirillales
<i>Erwinia dacicola</i>	Primaria	$\gamma$ -proteobacteria	Enterobacteriales
<i>Hamiltonella defensa</i>	Secundaria	$\gamma$ -proteobacteria	Enterobacteriales
<i>Arsenophonus</i>	Secundaria	$\gamma$ -proteobacteria	Enterobacteriales
<i>S. purcelli</i>	Secundaria	$\gamma$ -proteobacteria	Enterobacteriales
<i>Serratia symbiotica</i>	Secundaria	$\gamma$ -proteobacteria	Enterobacteriales
<i>Regiella insecticola</i>	Secundaria	$\gamma$ -proteobacteria	Enterobacteriales
<i>Fukatsuia symbiotica</i>	Secundaria	$\gamma$ -proteobacteria	Enterobacteriales
<i>Hemipteriphilus asiaticus</i>	Secundaria	$\alpha$ -proteobacteria	Rickettsiales
<i>Rickettsia</i> spp.	Secundaria	$\alpha$ -proteobacteria	Rickettsiales
<i>Wolbachia</i> spp.	Secundaria	$\alpha$ -proteobacteria	Rickettsiales
<i>Ca. Liberibacter</i> spp.	Secundaria	$\alpha$ -proteobacteria	Rhizobiales
<i>Cardinium hertigii</i>	Secundaria	Cytophagia	Cytophagales

Los endosimbiontes primarios están presentes en todos los insectos del grupo y residen en células especializadas llamadas bacteriocitos. Su patrón de transmisión estrictamente materna (vertical) les asegura estar presente en la descendencia del insecto; codivergen con sus huéspedes y reflejan la historia evolutiva de éstos (Thao y col 2000; Lei y col 2023).

*Ca. Portiera aleyrodidarum* ( $\gamma$ -proteobacteria, Oceanospirillales) es la única bacteria endosimbionte primaria presente en todas las especies de mosca blanca, incluyendo a *B. tabaci*. Con un genoma altamente reducido de 357,472 pb (Santos-García 2012), *Portiera* tiene un rol importante como mutualista para su huésped: tiene la capacidad de síntesis de los aminoácidos esenciales treonina y triptófano, además, es el primer endosimbionte reportado con capacidad de producir carotenoides (Sloan y Moran 2012). *Portiera* ha demostrado participar en la aclimatación de *B. tabaci* a otros cultivos (Hu y Tsai 2020).

Otros insectos que se alimentan del floema también tienen relación con endosimbiontes primarios. En áfidos, *Ca. Buchnera aphidicola* ( $\gamma$ -proteobacteria, Enterobacteriales), con un genoma de 640,681 pb, ha sido reportada con capacidad de sintetizar y proveer los aminoácidos esenciales (Akman y Douglas 2009). En psílidos, *Ca. Carsonella ruddii* ( $\gamma$ -proteobacteria, Oceanospirillales) es el procarionte que además de suplementar aminoácidos puede sintetizar riboflavina (Nakabachi y Ishikawa 1999; Thao y col 2000).

La relación entre los individuos polífagos y su endosimbionte primario es interdependiente: sin su endosimbionte primario el insecto no es funcional ni viable, por su parte el endosimbionte solo sobrevive en el hospedador porque requiere de los

compuestos que éste le proporciona debido a su bajo repertorio de genes y a vías metabólicas incompletas, de modo que no es posible su aislamiento y crecimiento *in vitro* (Brinza y col 2009).

## **2 Endosimbiontes secundarios**

Los endosimbiontes secundarios son facultativos desde la perspectiva del hospedador, es decir, no son críticos para la supervivencia del insecto, pero cuando están presentes influyen en la ecología y evolución del hospedador al brindar protección o manipular su reproducción (Andreason y col 2020).

Estos endosimbiontes residen en diversas partes del insecto: bacteriocitos, glándulas salivales, hemolinfa, tejidos intestinales y órganos reproductivos. Se transmiten habitualmente de forma vertical, pero se ha reportado cierta transmisión horizontal (Caspi-Fluger y col 2012; Li y col 2017; Shi y col 2018), lo que implica que no se requiere de una adaptación previa del hospedador para la infección (por ejemplo, la presencia de bacteriocitos), característica que comparte con las bacterias fitopatógenas (Feldhaar 2011).

La diversidad de endosimbiontes secundarios es amplia. *B. tabaci* puede albergar a *Ca. Hamiltonella defensa* ( $\gamma$ -proteobacteria, Enterobacteriales), una bacteria que tiene una alta prevalencia y frecuencia de infección en insectos. Con un genoma de 1.84 Mb (Rao y col 2012), esta bacteria participa en la protección contra parasitoides y posee la maquinaria metabólica para producir energía al fermentar piruvato a lactato y acetil-CoA a acetato (Degnan y col 2009).

Su y col (2014) señalan que *Hamiltonella* aumenta la tasa de crecimiento del insecto durante periodos de estrés nutricional, como es el caso de dietas bajas en nitrógeno. Además, Su y col (2013) reportaron que los individuos portadores presentaron mejores habilidades: produjeron significativamente más huevos, la supervivencia ninfal fue mayor y el tiempo de desarrollo se aceleró.

El papel mutualista de *Ca. Arsenophonus* ( $\gamma$ -proteobacteria, Enterobacteriales) es muy importante en el desarrollo del insecto. Tian y col (2019) refieren que este procarionte podría mediar la adaptación del insecto a la planta hospedera al regular la necesidad por los aminoácidos fenilalanina y leucina, además, participa en la tolerancia a enemigos naturales.

Al igual que *Hamiltonella*, *Arsenophonus* tiene una prevalencia muy alta en *B. tabaci*, ambos coexisten con *Portiera* en los bacteriocitos de mosca blanca en etapa de huevo, ninfa y adulto, y se transmiten por vía materna (Wang y col 2020). Santos-Garcia y col (2018) y Wang y col (2020) reportaron que estos endosimbiontes suministran vitaminas B, regulan la fecundación alterando la proporción de machos y hembras; cuando la carga bacteriana es baja impiden la fecundación de los huevos.

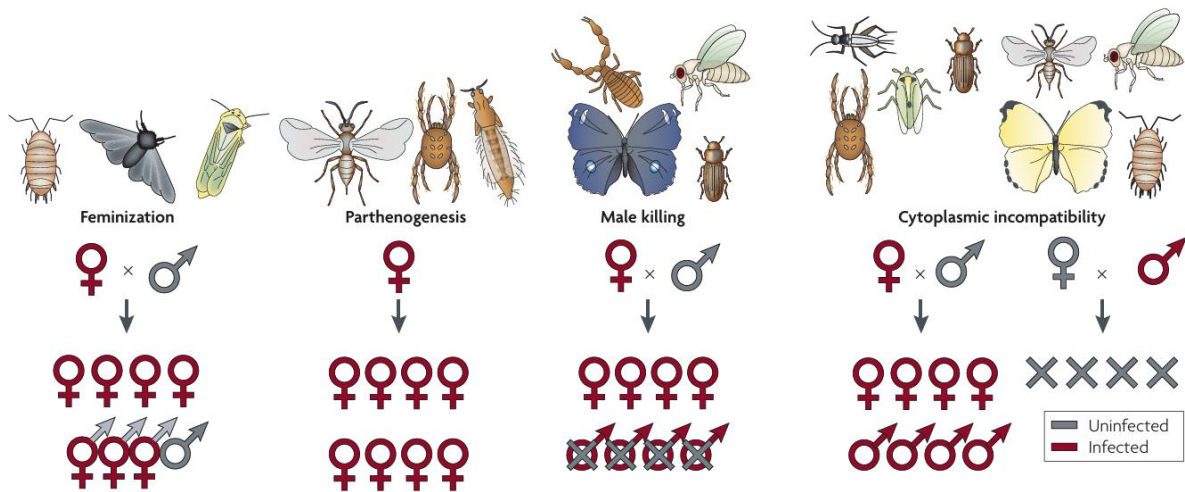
La infección con *Rickettsia* ( $\alpha$ -proteobacteria, Rickettsiales) protege a su hospedador al intervenir en su nutrición y defensa. En el biotipo MEAM1, esta bacteria induce la expresión de genes requeridos para la termotolerancia (Brumin y col 2011). Además, Fan y col (2022) reportan que la infección con *Rickettsia* aumentó la fertilidad, la supervivencia y acortó la duración del desarrollo ninfal de *B. tabaci*. En los insectos positivos a esta bacteria, se encontró mayor contenido de azúcar soluble, trehalosa y

glucógeno; estos insectos presentaron tasas de mortalidad más bajas al exponerse a los insecticidas imidacloprid y spirotetramat (Fan y col 2022).

*Rickettsia* y *Wolbachia* ( $\alpha$ -proteobacteria, Rickettsiales) son simbioses relacionados con la modificación de la reproducción de los insectos y la resistencia a los insecticidas, esto último depende de la especie del huésped y el tipo de sustancia química (Werren y col 2008; Liu y Guo 2019). En el caso de *Wolbachia*, se ha informado que presenta al menos cuatro mecanismos distintos para alterar la reproducción de los insectos (Figura 3): feminización, partenogénesis, matanza de macho e incompatibilidad citoplasmática (IC) (Hochstrasser 2023).

Estos simbioses manipulan la reproducción del hospedador para favorecer su propia transmisión vertical. La IC es de los mecanismos más observados en mosca blanca, involucra la modificación del espermatozoides en los machos infectados, de modo que solo se obtiene descendencia si se fecunda un óvulo que contenga la misma bacteria, en caso de que la hembra no esté infectada el espermatozoides es incompatible con el óvulo y el embrión es inviable (Werren y col 2008).

Con los otros mecanismos, la proporción de sexos de la descendencia se desplaza hacia las hembras; en la partenogénesis se interrumpe el ciclo celular durante el desarrollo embrionario, de modo que los huevos no fecundados dan origen solo a hembras; en la feminización inducida, la determinación sexual se ve alterada favoreciendo la producción de hembras; mientras que en la matanza de machos se provoca la muerte selectiva de los embriones masculinos (Werren y col 2008).



**Figura 3.** Mecanismos modificadores de la reproducción inducidos por endosimbiontes. *Wolbachia* y *Rickettsia* alteran la reproducción en insectos favoreciendo su transmisión a la descendencia. En *B. tabaci* se han descrito cuatro mecanismos. La feminización produce machos genéticos que se desarrollan como hembras. La partenogénesis elimina a los machos de la reproducción, dando origen solo a hembras. La matanza de machos provoca la muerte selectiva de los embriones masculinos, favoreciendo a las hembras infectadas supervivientes. La incompatibilidad citoplasmática impide que los machos infectados se apareen con éxito con hembras que carecen de los mismos tipos de endosimbiontes. Tomado de Werren y col (2008).

En ambos endosimbiontes (*Rickettsia* y *Wolbachia*) se ha reportado transmisión horizontal mediada por plantas; los procariontes se transfirieron de mosca blanca al floema de la planta y los insectos que se alimentaron de dichas plantas adquirieron el endosimbionte, de modo que las plantas pueden actuar como reservorio, explicando la presencia de *Rickettsia* y *Wolbachia* en diferentes especies fitófagas (Caspi-Fluger y col 2012; Li y col 2017). Karut y col (2020) reportaron transmisión horizontal a los parasitoides de *B. tabaci*: *Encarsia lutea* y *Eretmocerus*.

*Ca. Cardinium hertigii* (Cytophagia, Cytophagales) posee un genoma cercano a 1 Mb; recientemente se ha reportado que este endosimbionte mejora la tolerancia térmica de *B. tabaci* permitiendo el desarrollo del insecto en climas con temperaturas en incremento (Yang y col 2021). El rol mutualista de *Ca. Fritschea bemisiae* (Clamydiales, Parachlamydiales) y *Ca. Hemipteriphilus asiaticus* ( $\alpha$ -proteobacteria, Rickettsiales) en *B. tabaci* no se ha determinado con certeza.

Algunos de los endosimbiontes de *B. tabaci* se encuentran ampliamente distribuidos en áfidos y psílidos, como es el caso de *Hamiltonella defensa*, *Arsenophonus*, *Rickettsia* y *Wolbachia* (Cuadro 2), previamente descritos. En áfidos, además, se ha reportado la presencia de *Ca. Regiella insecticola* y *Ca. Serratia symbiotica* (Brinza y col 2009), mientras que en psílidos, los procariontes descritos incluyen a *Ca. Fukatsuia symbiotica*, *Ca. Serratia symbiotica*, y *Ca. Liberibacter* (Nakabachi y col 2022).

En su hospedador, *Ca. Serratia symbiotica* ( $\gamma$ -proteobacteria, Enterobacteriales) juega un papel importante en la adaptación a factores ambientales, ya que se ha reportado que brinda protección ante el estrés térmico (Russell y Moran 2005).

Mientras que *Ca. Regiella insecticola* ( $\gamma$ -proteobacteria, Enterobacteriales) destaca por su capacidad protectora ante el ataque de parasitoides y patógenos fúngicos (Vorburger y col 2010).

Un comportamiento característico se ha descrito en el endosimbionte *Ca. Liberibacter solanacearum*, que además de ser intracelular en insecto ha adquirido la capacidad de infectar y multiplicarse en células vegetales. Kwak y col (2025) señalan que presenta rutas metabólicas completas para la síntesis de los aminoácidos esenciales arginina, lisina y treonina, por lo que mejora la capacidad biológica del psílido en dietas deficientes, reduciendo el tiempo de desarrollo y aumentando el peso del adulto. Mientras que en cultivo de papa y tomate induce la enfermedad “zebra chip” y “permanente del tomate”, respectivamente, actuando como bacteria fitopatogena.

A diferencia de los endosimbiontes primarios, la presencia y prevalencia de los endosimbiontes secundarios depende de diversos factores, entre ellos, la planta hospedadora y la ubicación geográfica (Pan y col 2012). Estudios de dinámica en insectos señalan que la carga endosimbiótica difiere entre poblaciones, y en el caso de *B. tabaci*, entre biotipos (Chiel y col 2007).

En Sinaloa, Linares-Flores y col (2020) analizaron la diversidad de endosimbiontes en *B. tabaci*, los autores reportaron que *Hamiltonella* se detectó en el 46% de los individuos analizados, con mayor prevalencia en el biotipo MEAM1 (72%) que en MED (13%); *Rickettsia* se detectó en el 28% de la población, con presencia en el 57% de MEAM1 y un 24% en MED; la menor incidencia se observó en *Wolbachia* y *Cardinium*, que se detectaron en el 9% y 13% de la población, respectivamente; *Arsenophonus* y *Fritschea bemisiae* no fueron identificadas en los individuos muestreados.

En ese mismo análisis se detectó una secuencia ribosomal 16S (GenBank MH025484) relacionada a endosimbiontes pero que filogenéticamente no corresponde a los endosimbiontes conocidos de *B. tabaci*. Esta secuencia procarionte se encontró en insectos recolectados en cultivos de tomate con síntomas de madurez irregular. Los autores plantearon la transferencia horizontal de un endosimbionte (no descrito previamente en mosca blanca) que podría estar relacionado con la madurez irregular del fruto de tomate observado en campo.

## **D MADUREZ IRREGULAR DEL FRUTO DE TOMATE**

En las últimas décadas se ha reportado en tomate una fisiopatía que afecta la maduración, calidad y aceptabilidad comercial del fruto. La madurez irregular del fruto de tomate (MIF), como se le ha denominado, es un trastorno que se hace evidente cuando el fruto llega a la etapa de maduración, desarrollando un color rojo no uniforme. El fruto es la única parte afectada de la planta, por lo que no se manifiestan síntomas foliares (Hanif-Khan y col 1997).

Los frutos con MIF se caracterizan por presentar patrones de pigmentación irregulares en la superficie. Los síntomas incluyen franjas o manchas verdes, blancas o rosadas en la capa interna y externa del pericarpio. En algunos casos puede aparecer una decoloración blanca o amarilla en forma de estrella en el extremo de la fruta, mientras que en casos severos todo el interior del fruto aparece blanco (Ascencio-Alvarez y col 2018).

Además de la irregularidad en la pigmentación, Hanif-Khan y col (1999) reportaron que el ablandamiento del fruto también se ve comprometido con esta enfermedad debido a la inhibición del ablandamiento natural. Tratamientos postcosecha como la

aplicación de etileno no tienen efecto significativo, los frutos no logran la maduración adecuada (Maynard y Cantliffe 1989), lo que indica que dichos frutos no son capaces de responder al etileno y sugiere un problema que afecta la señalización de esta hormona de la maduración.

En los cultivos afectados, más del 50% de los frutos presentan síntomas internos y/o externos de madurez irregular. Los frutos afectados se vuelven no deseables en apariencia y sabor, lo que le confiere escaso o nulo valor económico en el mercado nacional y de exportación. A la fecha no se conoce con certeza el mecanismo involucrado en la aparición de estos síntomas en tomate, pero se ha asociado a factores como la temperatura y la alimentación de mosca blanca en la planta (Powell y Stoffella 1995).

En este sentido, McCollum y col (2004) señalaron que en tomate infestado con mosca blanca se observó una desregulación en el desarrollo del color y el ablandamiento del fruto, procesos dependientes de la vía del etileno, siendo este insecto el responsable de inducir el daño.

La incidencia y gravedad de MIF se correlaciona positivamente con la densidad poblacional de mosca blanca (Schuster 2001). Ascencio-Alvarez y col (2018) reportaron que los daños por MIF fueron mayores en altas densidades de población de mosca blanca (0.77 a 0.93 adultos  $\text{cm}^{-2}$ ) cuando se presentaron altas temperaturas durante la cosecha (10 °C a 32 °C).

McKenzie y Albano (2009) evaluaron el efecto de la presencia de moscas blancas en las distintas etapas de desarrollo del tomate; en plantas infestadas en etapas tempranas de desarrollo, el 99% de los frutos desarrollaron maduración irregular.

Cuando las plantas fueron infestadas en la etapa de fruto verde, el 79% de los frutos desarrollaron maduración irregular, mientras que, el 58% de los frutos de plantas infestadas en la etapa de rompimiento desarrollaron el trastorno. Estos resultados demuestran que *B. tabaci* puede ocasionar los síntomas de madurez irregular en tomate en cualquier etapa de desarrollo del cultivo, aunque la prevalencia del trastorno disminuye conforme avanza el estado de madurez del fruto. El efecto adverso de *B. tabaci* es más pronunciado en etapas tempranas de desarrollo del fruto, lo que sugiere que le impide alcanzar la madurez fisiológica en forma uniforme y que a su vez le impide en algunas partes adquirir la competencia para responder al etileno.

Hanif y col (1997) señalaron que el desarrollo de síntomas externos e internos puede deberse a una alteración de los niveles normales de la hormona vegetal GA3 debido a la deposición de una toxina por parte del insecto durante su alimentación directa de la planta. Esta toxina podría ser producida por bacterias endosimbióticas presentes en la mosca blanca y que al llegar a la planta ésta responda produciendo proteínas o fitoalexinas como mecanismo de defensa, y, en consecuencia, estos factores podrían inducir que la planta sintetice niveles anormales de GA, lo que resultaría en patrones de maduración anormales en el fruto.

A la fecha, los endosimbiontes de mosca blanca no se han reportado siendo patogénicos. El único caso reportado de un endosimbionte secundario que ha desarrollado la capacidad de infectar a plantas es *Ca. Liberibacter solanacearum*: endosimbionte del psílido *Bactericera cockerilli* y patógeno en solanáceas. La secuencia bacteriana detectada en nuestro equipo de trabajo (MH025484) (Linares-

Flores y col 2020) en *B. tabaci* en campos de tomate con madurez irregular podría aportar información sobre la etiología de esta enfermedad en fruto de tomate.

#### IV JUSTIFICACIÓN

Sinaloa es el principal estado productor de tomate en México. Este cultivo se ve afectado por diversas plagas y enfermedades que reducen la producción e incluso, pueden ocasionar pérdidas totales, representando un problema económico y alimentario. Un fenómeno observado en campo y que se ha relacionado al efecto toxinífero de *B. tabaci* es la madurez irregular del fruto (MIF), enfermedad que afecta el desarrollo del color uniforme y el ablandamiento del tomate. En moscas blancas recolectadas de cultivos de tomate con presencia de frutos con madurez irregular, se reportó una secuencia procarionte que difiere de los endosimbiontes conocidos para este insecto, lo que podría explicar la relación entre un endosimbionte no cultivable de *B. tabaci* y su comportamiento patogénico en plantas de tomate. Por ello, en el presente estudio se analizaron frutos de tomate con madurez irregular y especímenes de *B. tabaci* para determinar la presencia homóloga de una secuencia bacteriana en ambos organismos y la prevalencia en cada uno. De confirmarse la presencia de una secuencia bacteriana en común en frutos enfermos y en mosca blanca, se podría establecer la etiología de esta enfermedad, atendiendo una de las problemáticas en campo.

## V HIPÓTESIS

La secuencia procarionte asociada a un nuevo endosimbionte de mosca blanca está presente en plantas de tomate con madurez irregular y en individuos de *B. tabaci*.

## VI OBJETIVOS

### A OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia y prevalencia de una secuencia de ADN procarionte asociada a un nuevo endosimbionte en el insecto *Bemisia tabaci* y en frutos de tomate con síntomas de madurez irregular.

### B OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1 Establecer las relaciones filogenéticas entre la secuencia bacteriana obtenida y otras reportadas en bancos de datos para insectos y plantas.
- 2 Estandarizar un protocolo para la detección específica de la secuencia bacteriana de *B. tabaci* mediante la amplificación por PCR del gen ribosomal 16S.
- 3 Determinar la frecuencia de detección de la secuencia bacteriana en insecto y fruto de plantas de tomate con madurez irregular.
- 4 Determinar la frecuencia de detección de la secuencia bacteriana en los biotipos MEAM1 y MED de *B. tabaci*.
- 5 Establecer la asociación entre la detección de la secuencia bacteriana y el biotipo del vector *B. tabaci*.

## VII MATERIALES Y MÉTODOS

### A MATERIALES

#### 1 Obtención de material vegetal

Se analizaron frutos de tomate recolectados completamente al azar en cultivos de tomate en los que se presentaron daños por maduración irregular. El muestreo se realizó en tres regiones agrícolas del estado de Sinaloa, México: Guasave, Concordia y Culiacán. Los frutos presentaban síntomas de madurez irregular (MIF) caracterizados por una coloración verde en el pericarpio. Se colectaron en total 40 frutos (n=40), los cuales se conservaron a -20 °C hasta su procesamiento en el laboratorio.

#### 2 Recolección de *B. tabaci*

Los insectos en etapa adulta fueron capturados en campo directamente del envés de los folíolos de tomate utilizando un succionador entomológico e inmediatamente se almacenaron a -20 °C hasta su procesamiento. Los especímenes de *B. tabaci* fueron identificados con base en sus características morfológicas (Carapia 2013) empleando un estereomicroscopio Luxeo 2S (Labomed, Fremont, CA, EUA).

El biotipo de *B. tabaci* se determinó mediante el análisis del gen nuclear *coe2* (Kang y col 2012), empleando los oligonucleótidos 5'-CAGTCTAGGTAAGTTTTC-'3 y 5'-CTTCRGGCGTTGCCAAATTTAC-'3, con los cuales se obtienen amplicones de 292 pb correspondientes al biotipo MEAM1 y de 394 pb para el biotipo MED; los biotipos de mayor distribución y agresividad con presencia en el país. Se analizaron en total 100 individuos (n=100).

## B MÉTODOS

### 1 Análisis filogenético

Las secuencias nucleotídicas pertenecientes a UAS\_511 ( $n = 7$ ) obtenidas en fruto de tomate (MH025483, MH025484, MH025485, MH025486, MH025487, MH025488) y en *B. tabaci* (MH025482) (Linares-Flores y col 2020) se recuperaron de la base de datos del Centro Nacional de Biotecnología e Información (NCBI) ([www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/)) para el análisis bioinformático y filogenético.

Las secuencias UAS\_511 se procesaron en BioEdit 7.2.5 (Hall 1999), donde se alinearon localmente implementando el algoritmo de ClustalW y se generó una secuencia consenso a partir de la región conservada. Al ser detectada en *B. tabaci*, esta secuencia procarionte se comparó en BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) para detectar el grupo de bacterias endosimbióticas de *B. tabaci* con el que más similitud comparte, empleando la base de datos rRNA/ITS que contiene secuencias 16S bacterianas.

Se realizó una segunda búsqueda más amplia en BLAST para endosimbiontes primarios y secundarios de mosca blanca, áfidos y psílidos, así como para bacterias fitopatógenas que pueden diseminarse por medio de insectos. Las secuencias 16S de endosimbiontes y bacterias fitopatógenas con mayor similitud se utilizaron para la reconstrucción filogenética, incluyendo en cada especie al menos una secuencia con una longitud superior a 1,100 pb para una mejor reconstrucción.

Como endosimbiontes primarios se incluyó a *Portiera aleyrodidarum* (AY266103, MG840326), *Buchnera aphidicola* (JX998118, KP866416), *Erwinia dadicola*

(AJ586620, HQ667588) y *Carsonella ruddii* (KT273280, KY427941); en los endosimbiontes secundarios se incluyó a *Hamiltonella defensa* (MK388286, MK388289, MN238871), *Hemipteriphilus asiaticus* (JX042442, LC159288), *Arsenophonus* (CP158507, JN204476, KM197202, PP982957), *Rickettsia* (LR800050, MH411614, OQ099632), *Fritschea bemisiae* (JQ009299, PP600138), *Wolbachia* (JN204504, KF454771), *Cardinium* (HG421084, KP310173), *Regiella insecticola* (HM156646, MN555712), *Symbiopectobacterium purcelli* (MW936016, Z14096), *Serratia symbiotica* (FJ655527, KP866578), *Fukatsuia symbiotica* (LT600381), y *Ca. Liberibacter* (FN678792, KF776423, MN203627).

En el caso de bacterias fitopatógenas se incluyeron bacterias del género *Pectobacterium* (EU490607, KF926435, MT579574, MW453066, NR\_116341), *Brenneria* (EU490601, EU490602), *Dickeya* (KJ818367, LT592258, LT592259), *Erwinia* (AB242904, AB242906), *Xylella* (CP044352, KJ596675) y *Ca. Phytoplasma* (KP027511, PV129910).

Todas las secuencias se recuperaron de GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) y se alinearon con Clustal W implementado en BioEdit 7.2.5 (Hall 1999). El análisis filogenético se realizó en MEGA 11 (Tamura y col 2021) empleando el método *Maximum likelihood* (ML) y seleccionando el mejor modelo de sustitución, con 1500 repeticiones de *bootstrap*. Los árboles iniciales para la búsqueda heurística se generaron automáticamente a partir de una matriz de distancias por pares utilizando el enfoque *Maximum Composite Likelihood* (MCL), a partir de esta matriz se aplicaron los algoritmos Neighbor-Join y BioNJ para inferir

topologías iniciales, seleccionando la topología con mayor valor de verosimilitud logarítmica.

## **2 Diseño y validación *in silico* de oligonucleótidos**

El diseño de oligonucleótidos específicos se realizó a partir de la secuencia consenso UAS\_511 obtenida previamente. Para el diseño se empleó la herramienta Primer-BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>), y para la selección de la pareja de iniciadores se tomaron en cuenta los parámetros correspondientes a la especificidad, temperatura de fusión, contenido de GC, formación de estructuras secundarias y tamaño del amplicón (Cuadro 3).

Los oligonucleótidos se analizaron *in silico* usando el programa OligoAnalyzer 3.1 de Integrated DNA Technologies (<http://www.idtdna.com/analyzer/Applications/OligoAnalyzer>) para la predicción de sus propiedades fisicoquímicas, de esta forma se obtuvieron los valores de estabilidad termodinámica (energía libre de Gibbs;  $\Delta G$ ) de las interacciones detectadas entre oligonucleótidos (formación de horquillas, homodímeros o heterodímeros).

La especificidad de los oligonucleótidos se verificó mediante Primer-BLAST de NCBI y Primer3Plus (Untergasser y col 2012), para determinar la complementariedad de las bases nucleotídicas del gen y las secuencias de los oligonucleótidos. Mediante PCR *in silico* ([https://www.bioinformatics.org/sms2/pcr\\_products.html](https://www.bioinformatics.org/sms2/pcr_products.html)) (Stothard 2020) se verificó la amplificación de la secuencia diana, el tamaño del producto y la secuencia de ADN. Finalmente, los oligonucleótidos fueron sintetizados por la empresa T4 Oligo (Guanajuato, México).

**Cuadro 3.** Criterio para el diseño y selección de oligonucleótidos.

Características	Valor
Longitud	18 - 24 nt
Contenido GC	40% - 60%
Temperatura de fusión (T <sub>m</sub> )	56 °C - 62 °C <sup>b</sup>
Estructuras secundarias <sup>a</sup>	≥-9 Kcal/mol
Similitud	100% con el molde

Tomado de: Dieffenbach y col (1993) y Orozco-Ugarriza y col (2016).

<sup>a</sup>Horquillas, homodímeros, heterodímeros

<sup>b</sup> Diferencia de 2 - 3 unidades

### **3 Estandarización de PCR punto final**

Una vez sintetizados, los oligonucleótidos se evaluaron en el laboratorio para determinar su especificidad de detección y establecer las condiciones de amplificación óptimas. Los ensayos PCR se realizaron con ADN obtenido de *B. tabaci* y de fruto de tomate.

#### **a Extracción de ADN**

Se realizó la extracción del ADN total de frutos de tomate e insectos empleando la metodología de Doyle y Doyle (1990) con modificaciones. Los insectos se procesaron individualmente, y en el caso de tomate se tomaron muestras de 1 cm<sup>3</sup> de la pulpa de cada fruto.

Cada muestra se maceró en presencia de buffer de lisis [CTAB 2% (p/v), Tris-HCl 100 mM, EDTA 20 mM, NaCl 1.4 M, β-mercaptoetanol 0.2% (v/v)] con ayuda de un mortero y pistilo. El macerado se transfirió a un tubo de 2.0 mL y se incubó en baño maría W1106A (Labnet, Edison, Nueva Jersey, EUA) por 30 min a 65 °C, y posteriormente se le añadió acetato de amonio 10 M. Posteriormente se agregó 1 volumen de fenol:cloroformo:isoamílico (25:24:1) frío y se centrifugó a 12,000 rpm por 10 min a 4 °C. Se recuperó la fase acuosa y el ADN se precipitó agregando 0.6 volúmenes de isopropanol e incubando durante 1 h a -20 °C. Después de centrifugar a 12,000 por 20 min a 4 °C, la pastilla de ADN obtenida se lavó dos veces con 200 µL de etanol al 70%, el solvente se eliminó por decantación después de centrifugar a 12,000 rpm por 5 min, y se dejó secar a temperatura ambiente hasta evaporar el etanol por completo. La pastilla de ADN se resuspendió en 30 µL de agua inyectable.

La integridad del ADN extraído se analizó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%, utilizando una cámara de electroforesis horizontal Sub-Cell GT (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA) y una fuente de poder Enduro E0303 (Labnet, Edison, Nueva Jersey, EUA) que se programó por 30 min a 90 V. Finalmente, se determinó la concentración y pureza midiendo la absorbancia a 260 nm y 280 nm con un espectrofotómetro BioMate 3S (Thermo-Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA).

### **b Condiciones de reacción de la PCR**

Con el ADN de insecto y tomate se realizaron diferentes ensayos de PCR hasta establecer las condiciones de reacción para la amplificación de una porción del gen ADNr 16S con los oligonucleótidos diseñados. La temperatura de alineamiento ( $T_a$ ) óptima se determinó probando diferentes temperaturas (50 °C, 54 °C, 56 °C, 60 °C) en la etapa de alineamiento mediante una PCR de gradiente de temperatura.

La mezcla de reacción de PCR se ajustó a un volumen final de 25  $\mu$ L; la concentración final de los componentes fue de 1.5 mM de  $MgCl_2$ , 0.2 mM de dNTPs, 1X de buffer de reacción, 0.2  $\mu$ M de cada oligonucleótido, 1 U de Taq polimerasa (GeneDireX, New Taipei City, Taiwán) y 2  $\mu$ L del templado como molde. Como control positivo se empleó ADN obtenido de un fruto con madurez irregular reportado por Linares-Flores y col (2020), y como control negativo de PCR se preparó la mezcla de reacción añadiendo agua en sustitución del ADN.

La amplificación se llevó a cabo en un termociclador T100 (BioRad, Hercules, CA, EUA), bajo las siguientes condiciones: 94 °C durante 4 min, seguido de 35 ciclos de 94 °C durante 30 s, 50 °C - 60 °C durante 1 min y 72 °C durante 2 min. Los productos de la reacción PCR fueron visualizados por electroforesis en gel de agarosa al 1.8%

para comprobar la presencia de un único amplicón, correspondiente al tamaño esperado.

Se cargaron 2.0  $\mu$ L de ADN mezclado con 1.0  $\mu$ L de GelRed (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) y 2.0  $\mu$ L de buffer de carga (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA) en el gel de agarosa y se corrieron en una cámara de electroforesis Sub-Cell GT (BioRad, Hercules, CA, EUA) usando buffer TAE 1X (Tris-acetato 0,04 M, EDTA 1mM, pH 8.0) para la corrida. La fuente de poder se ajustó a 90 V por 45 min y los amplicones se visualizaron en un transiluminador de luz ultravioleta MiniBIS Pro (DNR Bio-Imaging Systems, Maale Hahamisha, Jerusalem, Israel), el tamaño fue verificado por comparación con un marcador de peso molecular de 100 pb Bio-Helix (GeneDireX, New Taipei City, Taiwán).

### **c Sensibilidad y especificidad de detección**

La sensibilidad de la técnica se evaluó empleando diferentes concentraciones de ADN molde (10-70 ng) para la amplificación. Los componentes de la mezcla de reacción y las condiciones de amplificación fueron las mismas que en el ensayo anterior, variando únicamente la concentración del ADN molde y utilizando la temperatura de alineamiento óptima determinada. Se incluyeron los controles positivo y negativo. Los productos de amplificación fueron visualizados por electroforesis en gel de agarosa al 1.8%.

Los productos amplificados en fruto e insecto se secuenciaron para confirmar su identidad y la especificidad de los oligonucleótidos diseñados. Los productos se purificaron con el kit PCR Purification – Column (Jena Bioscience, Jena, Turingia, Alemania) siguiendo el protocolo señalado por el fabricante, adicionando a cada

muestra 3 volúmenes de buffer de unión y 2 volúmenes de isopropanol correspondiente a la purificación de fragmentos de tamaño pequeño.

La concentración y pureza del ADN obtenido se verificó con un espectrofotómetro BioMate 3S (Thermo-Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA) midiendo las absorbancias a 260 nm y 280 nm. Las muestras fueron secuenciadas en ambos sentidos en el Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT) con el método Sanger, utilizando los mismos oligonucleótidos de la PCR.

Las secuencias resultantes se editaron y ensamblaron en el software BioEdit 7.2.5. Una vez procesadas, las secuencias fueron alineadas con la herramienta Clustal W determinando el porcentaje de similitud entre las secuencias obtenidas en *B. tabaci*, en fruto y la secuencia UAS\_511 a partir de la cual se realizó el diseño de los oligonucleótidos.

#### **4 Frecuencia de detección de la secuencia procarionte**

Los oligonucleótidos y el protocolo de PCR estandarizado en este estudio se aplicaron en el análisis individual de los frutos de tomate y los insectos (*B. tabaci*) recolectados en campo para determinar la presencia o ausencia de la secuencia bacteriana en cada muestra y establecer la incidencia. Se analizaron un total de 40 frutos y 100 insectos, en los que previamente se determinó el biotipo con el análisis del gen nuclear *coe2* (Kang y col 2012).

Para cada una de las muestras se realizó la extracción de ADN total (Doyle y Doyle 1990), el material genómico se cuantificó por espectrofotometría, y se sometió a amplificación bajo las condiciones de PCR estandarizadas empleando los

oligonucleótidos diseñados. Los amplicones se observaron mediante electroforesis al 1.8%. Cada amplicón obtenido fue considerado como un resultado positivo, reportando la prevalencia como el número de muestras positivas respecto al total de muestras procesadas.

## **5 Análisis estadístico**

Se realizó un análisis de asociación donde se determinó la proporción de insectos positivos a la secuencia procarionte por biotipo y la proporción de plantas infectadas, a nivel fruto. En el caso de insectos, se estudiaron 100 individuos ( $n=100$ ), mientras que para fruto se analizaron 40 unidades ( $n=40$ ) seleccionadas al azar. Los datos obtenidos tras los ensayos de detección en *B. tabaci* se analizaron empleando el estadístico  $\chi^2$ , con  $p \leq 0.05$ . Los datos se alimentaron y fueron procesados en el programa Statgraphics 16 (StatPoint Technologies, Warrenton, VA, EUA).

## VIII RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### A Reconstrucción filogenética

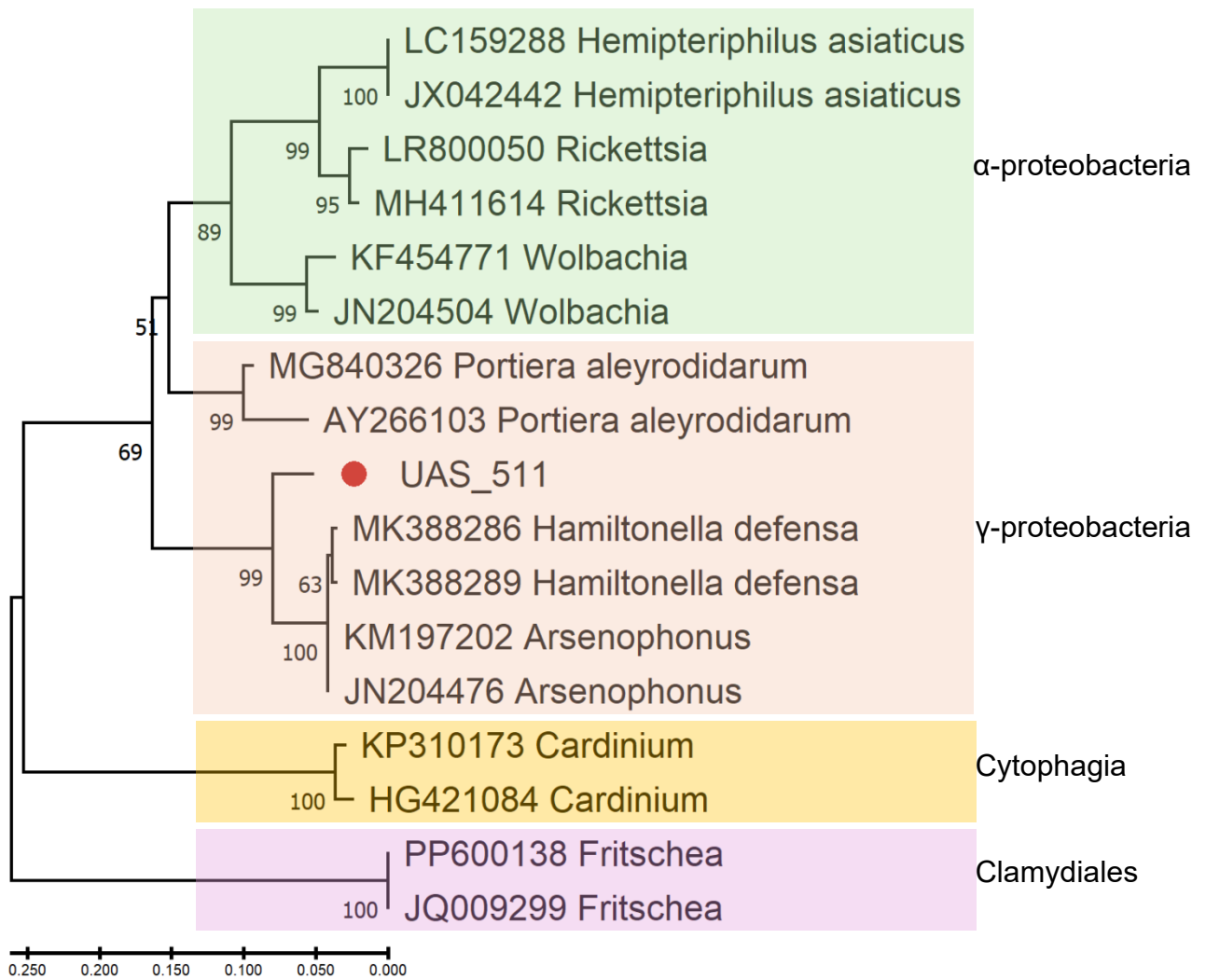
Las relaciones evolutivas de la secuencia ribosomal UAS\_511 se reconstruyeron mediante filogenia. En el análisis se incluyeron las secuencias de los endosimbiontes descritos en *B. tabaci*, especie donde se reportó por primera vez esta secuencia, así como las secuencias nucleotídicas de los endosimbiontes de áfidos y psílidos debido a que se encuentran ampliamente distribuidos en insectos polífagos.

En el análisis bioinformático realizado en Clustal W se observó una baja similitud de la secuencia procarionte UAS\_511 con las secuencias de endosimbiontes de *B. tabaci* disponibles en la base de datos NCBI (Cuadro 4). Con una cobertura del 99%, el máximo porcentaje de similitud que presentó fue de 92.90% con *Arsenophonus* (KM197202, JN204476) y de 92.62% con *Hamiltonella defensa* (MK388286), simbiontes secundarios. La similitud con el endosimbionte primario *Portiera aleyrodidarum* (MG840326) fue solo del 87.13%.

En el análisis filogenético realizado con secuencias representativas de endosimbiontes de *B. tabaci* (Figura 4), la secuencia procarionte objetivo se agrupó con una alta confiabilidad en el grupo de las gamma-proteobacterias ( $\gamma$ -proteobacterias), localizándose específicamente en una rama externa al clado de *Hamiltonella defensa* y *Arsenophonus*. El porcentaje de similitud (inferior a 97%) y la distribución observada en el árbol filogenético sugieren que la secuencia procarionte en estudio podría corresponder a una bacteria de la clase  $\gamma$ , perteneciente a un género diferente de los endosimbiontes reportados en *B. tabaci* (Drancourt y col 2000).

**Cuadro 4.** Homología de las secuencias del gen ADNr 16S de endosimbiontes primarios y secundarios de *B. tabaci* con la secuencia procarionte UAS\_511.

Espece	GenBank	Longitud	Cobertura	Identidad
<i>Arsenophonus</i>	KM197202	1292 pb	99%	92.90%
	JN204476	1436 pb	99%	92.90%
<i>Hamiltonella</i>	MK388286	736 pb	99%	92.62%
	<i>defensa</i>	MK388289	736 pb	99%
<i>Portiera aleyrodidarum</i>	MG840326	761 pb	92%	87.13%
	AY266103	4184 pb	92%	87.10%
<i>Rickettsia</i>	LR800050	1241 pb	90%	82.93%
	MH411614	925 pb	90%	82.34%
<i>Wolbachia</i>	JN204504	1399 pb	99%	80.71%
	KF454771	1461 pb	99%	80.71%
<i>Hemipteriphilus asiaticus</i>	LC159288	1423 pb	90%	80.24%
	JX042442	1426 pb	90%	80.24%
<i>Fritschea bemisiae</i>	PP600138	1303 pb	92%	80%
	JQ009299	1319 pb	92%	80%
<i>Cardinium</i>	KP310173	655 pb	90%	77.61%
	HG421084	1227 pb	90%	76.42%



**Figura 4.** Relación evolutiva de la secuencia UAS\_511 con endosimbiontes de *B. tabaci*. El árbol filogenético se realizó con base en el gen ADNr 16S y las secuencias se obtuvieron de NCBI. El análisis se realizó en Mega 11 con el método *Maximum likelihood* (ML), basado en el modelo K2 + G con 1500 repeticiones. Solo los nodos soportados por un 50% o más son mostrados.

La búsqueda en BLAST dirigida a endosimbiontes primarios y secundarios de insectos alimentados del floema (mosca blanca, áfidos y psílidos) mostró porcentajes de similitud más altos. La secuencia UAS\_511 se alineó con un 100% de similitud a una región del gen ADNr 16S de *Buchnera aphidicola* (JX998118), endosimbionte primario de áfidos. También presentó un 96.47% de similitud con *Erwinia dasicola* (HQ667588), endosimbionte primario de la mosca del olivo (*Bactrocera oleae*) (Cuadro 5).

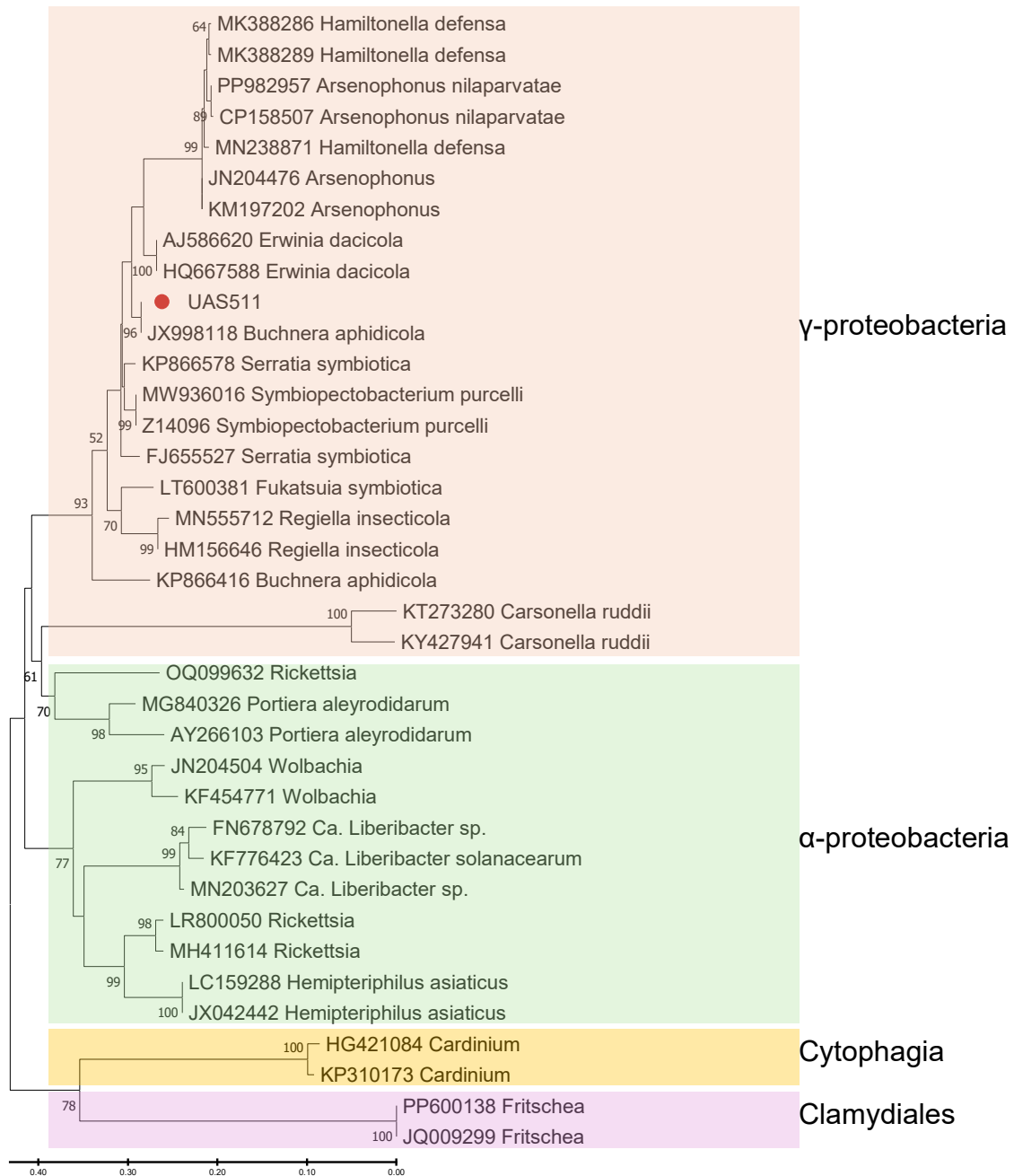
En relación con los endosimbiontes secundarios de áfidos y psílidos, la secuencia presentó un 96.99% de similitud con *Symbiopectobacterium purcellii* (MW936016, Z14096), 95.41% con *Serratia symbiotica* (KP866578) y 93.39% con *Arsenophonus nilaparvatae*. Estos porcentajes de similitud fueron superiores a los obtenidos con los procariontes de *B. tabaci*, donde los valores máximos no superaron el 93%.

La reconstrucción filogenética, integrando las secuencias de endosimbiontes de áfidos y psílidos, permitió ubicar a la secuencia procarionte UAS\_511 en el clado de las bacterias de clase  $\gamma$ , mostrando cercanía evolutiva con bacterias reportadas en áfidos y psílidos como *Buchnera aphidicola*, *Erwinia dasicola*, *Serratia symbiotica* y *Symbiopectobacterium purcellii*; evidenciando una mayor divergencia con las secuencias de los endosimbiontes de *B. tabaci* (Figura 5).

Los insectos pueden actuar como vectores de bacterias fitopatógenas, que al colonizar plantas hospederas causan enfermedades. Durante la alimentación, las bacterias llegan al aparato bucal y glándulas salivales del insecto, donde posteriormente son transferidas a otras plantas al alimentarse. Esta interacción insecto-bacteria es temporal, y al llegar a la planta, la bacteria induce daños (Huang y

**Cuadro 5.** Homología de las secuencias de ADNr 16S de endosimbiontes de mosca blanca, pulgones y psílicos con la secuencia procarionte UAS\_511.

Especie	GenBank	Longitud	Cobertura	Identidad
<i>Buchnera aphidicola</i>	JX998118	1391 pb	100%	100%
	KP866416	1346 pb	99%	91.85%
<i>Symbiopectobacterium purcelli</i>	MW936016	1563 pb	99%	96.99%
	Z14096	1498 pb	99%	96.99%
<i>Erwinia dacicola</i>	HQ667588	1280 pb	99%	96.47%
	AJ586620	1482 pb	99%	96.46%
<i>Serratia symbiotica</i>	KP866578	1450 pb	99%	95.41%
	FJ655527	1467 pb	100%	94.89%
<i>Arsenophonus nilaparvatae</i>	CP158507	1541 pb	99%	93.39%
	PP982957	1405 pb	99%	93.17%
<i>Regiella insecticola</i>	MN555712	1254 pb	97%	92.97%
	HM156646	1402 pb	97%	92.97%
<i>Fukatsuia symbiotica</i>	LT600381	1473 pb	99%	92.35%
<i>H. defensa</i>	MN238871	695 pb	99%	92.35%
	KF776423	1114 pb	93%	91.98%
<i>Ca. Liberibacter sp</i>	MN203627	1191 pb	93%	83.19%
	FN678792	1410 pb	93%	82.90%
<i>Rickettsia</i>	OQ099632	1558 pb	91%	88.13%
<i>Carsonela rudii</i>	KY427941	1527 pb	91%	78.13%
	KT273280	1441 pb	91%	78.13%



**Figura 5.** Relación evolutiva de la secuencia UAS\_511 con endosimbiontes de insectos fitófagos. El árbol filogenético se realizó con base en el gen ADNr 16S y las secuencias se obtuvieron de NCBI. El análisis se realizó en Mega 11 con el método *Maximum likelihood* (ML), basado en el modelo K2 + G con 1500 repeticiones, solo los nodos soportados por un 50% o más son mostrados.

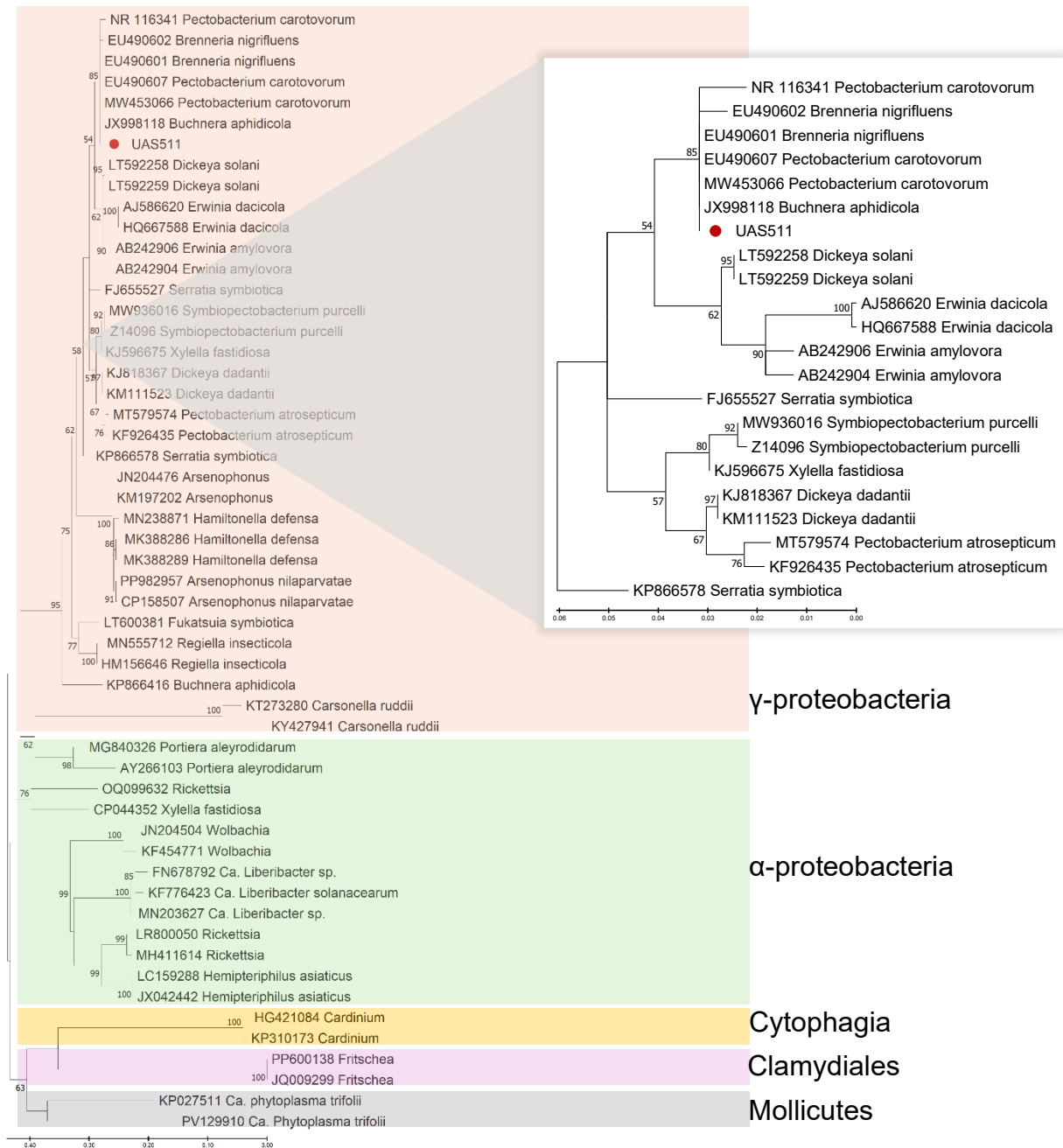
col 2020). Las bacterias fitopatógenas son intracelulares en plantas y pueden ser transportadas por los insectos que se alimentan del floema, por lo que pueden ser detectadas en las poblaciones de insecto plaga. La secuencia UAS\_511 fue comparada con las principales bacterias fitopatógenas en cultivos de interés alimentarios, incluyendo aquellas que afectan solanáceas.

La secuencia procarionte mostró un 100% de similitud con la secuencia de ADN<sub>r</sub> 16S de *Pectobacterium carotovorum* (MW453066, EU490607) y *Brenneria nigrifluens* (EU490601), un 98.36% con *Erwinia amylovora* (AB242906, AB242904) y 98.11% con *Dickeya solani* (LT592259, LT592258) (Cuadro 6); valores de similitud superiores a la presentada con los endosimbiontes de *B. tabaci*. *Pectobacterium* y *Dickeya* son los patógenos más estudiados como responsables de causar la pudrición blanda en papa y otros tubérculos. Estas bacterias rompen las paredes celulares mediante la secreción de pectinasas que degradan la pectina de la lámina media y el tubérculo adquiere una consistencia cremosa (Amaya-Guerrero y col 2021).

Estos resultados se corroboraron al realizar la reconstrucción filogenética incluyendo las secuencias relacionadas con endosimbiontes de insectos y bacterias fitopatógenas obtenidas en las búsquedas de BLAST mencionadas anteriormente. La reconstrucción filogenética se realizó con el método *Maximum likelihood* (ML) basado en el modelo *Kimura-2 parameter* (K2+G) (Kimura 1980). En el árbol filogenético con mayor probabilidad de registro (-6352.09) se observó que la secuencia correspondiente a UAS\_511 se agrupó en el mismo clado que las bacterias fitopatógenas *Pectobacterium carotovorum*, *Brenneria nigrifluens*, *Dickeya sonani*. y *Erwinia amylovora* (Figura 6), bacterias de la clase  $\gamma$ -proteobacteria.

**Cuadro 6.** Homología de las secuencias ADNr 16S de bacterias fitopatógenas con la secuencia procarionte UAS\_511.

Espece	GenBank	Longitud	Cobertura	Identidad
<i>Pectobacterium carotovorum</i>	MW453066	1224 pb	100%	100%
	EU490607	1223 pb	100%	100%
<i>Brenneria nigrifluens</i>	NR_116341	1391 pb	100%	98.65%
	EU490601	1225 pb	100%	100%
	EU490602	1220 pb	100%	99.19%
<i>Erwinia amylovora</i>	AB242906	1111 pb	99%	98.36%
	AB242904	1111 pb	99%	98.36%
<i>Dickeya solani</i>	LT592259	1121 pb	100%	98.11%
	LT592258	1113 pb	100%	98.11%
<i>Dickeya dadantii</i>	KJ818367	1384 pb	100%	97.84%
<i>Pectobacterium atrosepticum</i>	KF926435	980 pb	100%	97.03%
<i>Xylella fastidiosa</i>	MT579574	1412 pb	100%	96.76%
	KJ596675	1050 pb	99%	96.72%
	CP044352	1544 pb	90%	88.72%
<i>Ca. Phytoplasma</i>	KP027511	1376 pb	93%	83.53%
	PV129910	1268 pb	93%	83.43%



**Figura 6.** Relación evolutiva de la secuencia UAS\_511 con endosimbiontes de mosca blanca, áfidos y psílidos, y bacterias fitopatógenas. El árbol filogenético se realizó con base en el gen ADN<sub>r</sub> 16S y las secuencias se obtuvieron de NCBI. El análisis se realizó en Mega 11 con el método *Maximum likelihood* (ML), basado en el modelo K2 + G con 1500 repeticiones, solo los nodos soportados por un 50% o más son mostrados.

Con base en el análisis del gen ADNr 16S, se determinó que la secuencia UAS\_511 detectada en individuos de *B. tabaci* recolectados en tomate con madurez irregular no corresponde a las bacterias endosimbiontes conocidas de este insecto, y podría tratarse de una bacteria no descrita anteriormente en *B. tabaci*, de la subdivisión gamma de las proteobacterias.

En resumen, la búsqueda de homología en BLAST resultó en valores máximos de similitud de 92.90% para endosimbiontes de *B. tabaci*, y una concordancia local del 100% con el endosimbionte *Buchnera aphidicola* y las bacterias fitopatógenas *Pectobacterium carotovorum* y *Brenneria nigrifluens*. La secuencia UAS\_511 se agrupó en el clado de las bacterias fitopatógenas. La búsqueda en BLAST la relacionó con bacterias del género *Pectobacterium*, *Brenneria*, y *Dickeya*, con una cobertura del 100%, y porcentajes de identidad desde 98% hasta el 100%.

## **B Detección específica de la secuencia procarionte**

Se estandarizó una metodología de PCR punto final para la búsqueda específica de la secuencia procarionte UAS\_511 en el insecto *B. tabaci* y en fruto de tomate, mediante la amplificación de una región de 180 pb del gen ADNr 16S.

### **1 Características de los oligonucleótidos**

La secuencia consenso de 370 pb representativa de los aislados UAS\_511 detectados en *B. tabaci* y en fruto de tomate fue utilizada para el diseño de los oligonucleótidos. De las diez parejas candidatas sugeridas por el programa Primer-BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>), se seleccionó una con base

en sus características termodinámicas y composición. Las características de la pareja de oligonucleótidos seleccionados se muestran en el Cuadro 7.

Los oligonucleótidos U511F y U511R de 20 y 21 nt respectivamente, presentan un % de CG adecuado para la hibridación con la secuencia objetivo, manteniendo una  $T_m$  cercana a 60 °C. Los oligonucleótidos presentan un 100% de similitud con la secuencia objetivo; U511F se une en el nucleótido 97 a 116, mientras que U511R cubre los nucleótidos 256 a 276, generando un amplicón específico de 180 pb (Figura 7) de acuerdo con el análisis *in silico*.

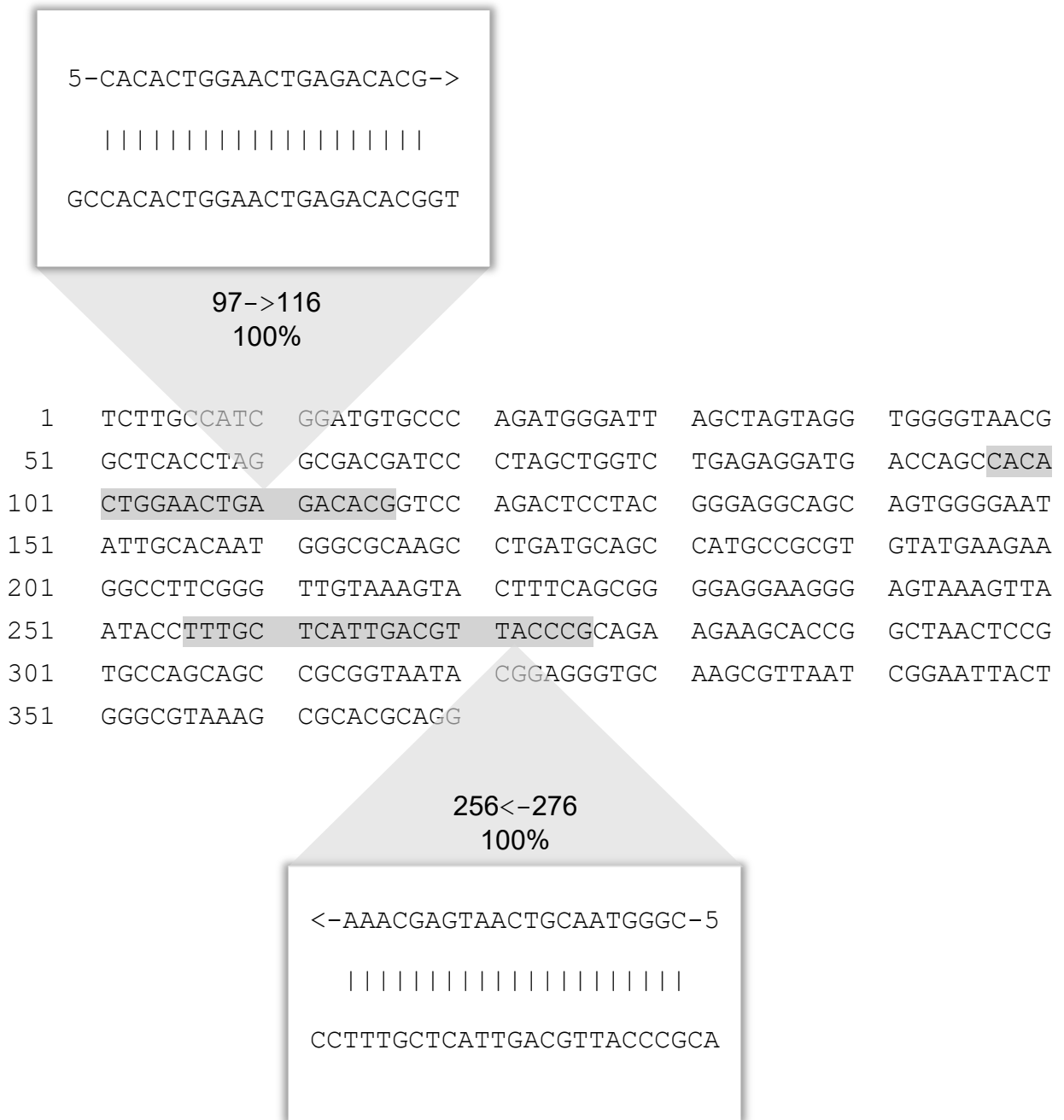
En la predicción de estructuras secundarias, estos iniciadores presentaron valores aceptables de  $\Delta G$  para la formación de horquillas (Cuadro 8); estas estructuras se forman a temperaturas menores de 35 °C, lo cual no ocurre durante el ciclaje por lo que no se permite su formación. En cuanto a la formación de homodímeros o heterodímeros, los oligonucleótidos sentido y antisentido presentaron valores de  $\Delta G$  en el rango de  $-0.96 \text{ kcal mol}^{-1}$  a  $-6.3 \text{ kcal mol}^{-1}$  (Cuadro 9), presentando una baja formación de estos dímeros. El valor límite para dímeros u horquillas es de  $-9 \text{ kcal mol}^{-1}$ , valores más negativos indican alta espontaneidad y estabilidad de las estructuras no deseadas, disminuyendo la eficiencia de la reacción PCR.

El análisis *in silico* mostró que U511F y U511R presentan especificidad de unión a la región de interés del gen ADN<sub>r</sub> 16S en UAS<sub>511</sub>, y de acuerdo con las propiedades fisicoquímicas predichas, los oligonucleótidos son estables a las condiciones de PCR.

**Cuadro 7.** Características de los oligonucleótidos diseñados para la amplificación específica de la secuencia procarionte UAS\_511.

Nombre	Secuencia 5' - 3'	Tamaño	% GC	Tm	Producto esperado
U511F	CACACTGGAACTGAGACACG	20 nt	55	60.5	180 pb
U511R	CGGGTAACGTCAATGAGCAAA	21 nt	47.6	59.8	

Tm predicha con OligoAnalyzer.



**Figura 7.** Posición de la secuencia de oligonucleótidos con respecto a la secuencia consenso UAS\_511. Los oligonucleótidos presentan un 100% de similitud con la secuencia objetivo. U511F se une en el nucleótido 97 a 116, mientras que U511R cubre los nucleótidos 256 a 276, generando un amplicón de 180 pb. Posición determinada con Primer3Plus.

**Cuadro 8.** Estructuras secundarias y propiedades fisicoquímicas de U511F/U511R.

Las características fueron determinadas con la herramienta OligoAnalyzer.

Estructura	$\Delta G$ (kcal mol <sup>-1</sup> )	T <sub>m</sub> (°C)	$\Delta H$ (kcal mol <sup>-1</sup> )	$\Delta S$ (cal K <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup> )
Oligonucleótido U511F				
A	0.41	18.3	-17.7	-60.72
B	0.45	17.6	-17.4	-59.85
C	1.26	0.6	-14.1	-51.51
Oligonucleótido U511R				
A	-0.61	34.9	-19	-61.69

**Cuadro 9.** Homodímeros y heterodímeros de U511F/U511R. La predicción de la formación de estructuras no deseadas fue realizada con la herramienta OligoAnalyzer.

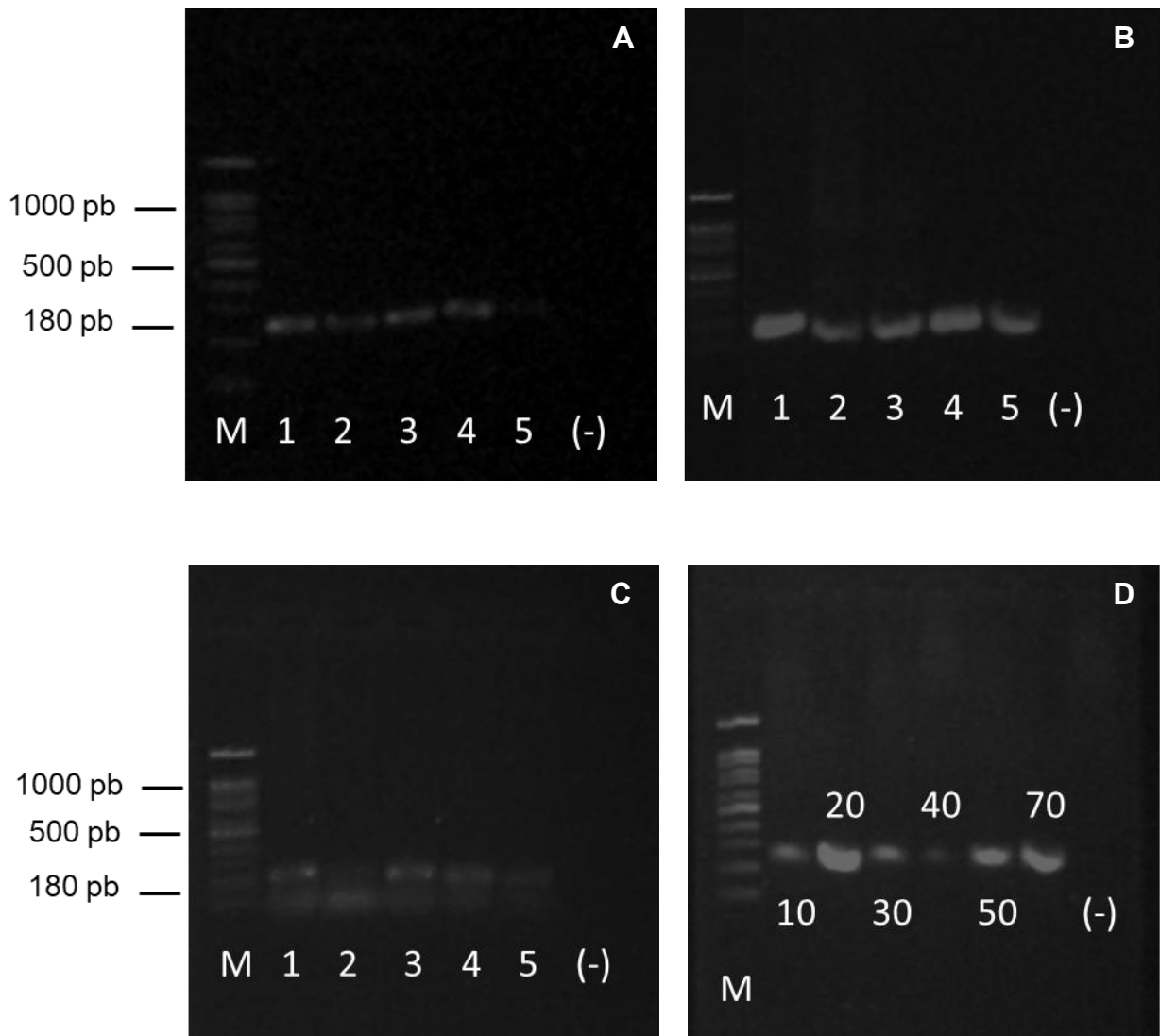
Estructura	$\Delta G$ (kcal mol <sup>-1</sup> )
Homodímeros del oligonucleótido U511F	
5' CACACTGGAAGTGAACACAG	
3' GCACAGAGTCAAGGTCACAC	-3.61
5' CACACTGGAAGTGAACACAG	
:    :: :	
3' GCACAGAGTCAAGGTCACAC	-1.6
Homodímeros del oligonucleótido U511R	
5' CGGGTAACGTCAATGAGCAA	
:     :	
3' AAACGAGTAACTGCAATGGGC	-6.3
5' CGGGTAACGTCAATGAGCAA	
:    :	
3' AAACGAGTAACTGCAATGGGC	-0.96
Heterodímeros de los oligonucleótidos U511F/U511R	
5' CACACTGGAAGTGAACACAG	
:: :	
3' AAACGAGTAACTGCAATGGGC	-4.95
5' CACACTGGAAGTGAACACAG	
: :    :	
3' AAACGAGTAACTGCAATGGGC	-1.34

## 2 Estandarización de la PCR punto final

Se obtuvo ADN en muestras de insecto (*B. tabaci*) y de tomate con una calidad adecuada para llevar a cabo los ensayos de estandarización de PCR. La concentración de ADN en muestras individuales de *B. tabaci* varió de 5 ng/μL a 85 ng/μL, mientras que en tomate los valores variaron entre 2035 ng/μL y 2075 ng/μL.

En todas las temperaturas de alineamiento evaluadas se obtuvieron amplicones del tamaño esperado (180 pb), sin embargo, la eficiencia de la reacción varió. En la temperatura más baja y alta se presentaron en algunas reacciones no favorables. A 50 °C, la temperatura más baja, se presentaron bandeos de baja definición y no específicas (Figura 8a). En la temperatura más alta, 60 °C, se presentó mayor astringencia en el alineamiento y en algunas reacciones no se logró la unión de los oligonucleótidos a la secuencia blanco, mostrando un falso negativo (Figura 8c). La temperatura óptima para las amplificaciones se estableció en 54 °C, donde no se observaron falsos positivos ni negativos, ni interacciones no deseadas (Figura 8b); esta temperatura es con la que se realizaron los ensayos PCR a partir de ahora.

Bajo las condiciones de termociclado preestablecidas y la temperatura de alineamiento óptima determinada, la metodología establecida es eficiente para la detección y amplificación de la secuencia objetivo; se logró obtener el fragmento de 180 pb en cada una de las concentraciones de ADN evaluado, desde los 10 ng hasta los 70 ng (Figura 8d), mostrando buena sensibilidad. De acuerdo con el rendimiento obtenido en el proceso de extracción de ADN, este protocolo de PCR se logró implementar sin problema en ADN proveniente de insectos y de tejido vegetal.



**Figura 8.** Separación electroforética de productos de PCR amplificados bajo diferentes temperaturas de alineamiento y concentración. Productos amplificados a (A) 50 °C, (B) 54 °C y (C) 60 °C; (D) Productos amplificados empleando diferente concentración de ADN total (10 a 70 ng) como molde.

Los productos amplificados a partir de ADN de insecto y de fruto de tomate fueron secuenciados y procesados para determinar la especificidad de la reacción. Se analizaron tres productos de muestras correspondientes a *B. tabaci* (MI06, MI71 y MI72) y tres correspondientes a fruto (MF90, MF92 y MF95). Las tres secuencias analizadas de *B. tabaci* presentaron un 100% de similitud entre ellas y la secuencia consenso a partir de la cual se diseñaron los oligonucleótidos (Figura 9).

En el caso de fruto, el porcentaje de similitud presentado entre las tres secuencias y la secuencia consenso fue del 97% al 99%; como se observa en el alineamiento múltiple, el cambio en solo dos nucleótidos (región 201-202) en las secuencias MF92 y MF95 impidió que el porcentaje de similitud fuera mayor. Estos cambios pueden deberse a errores intrínsecos durante el proceso de PCR o durante la secuenciación, atribuido a la baja resolución o calidad de la muestra. La similitud obtenida al comparar las secuencias amplificadas en *B. tabaci* con las obtenidas en tomate indican que la misma secuencia puede estar presente en ambos organismos.

De acuerdo con las secuencias del gen ADNr 16S de endosimbiontes disponibles en la base datos, los oligonucleótidos propuestos son capaces de amplificar específicamente la región de interés a partir de la cual fueron diseñados, generando un amplicón de 180 nt.

### **C Frecuencia de infección**

El protocolo estandarizado se empleó en el análisis individual de *B. tabaci* y frutos de tomate con madurez irregular para determinar la presencia o ausencia de la secuencia procarionte asociado a un endosimbionte no descrito.

```

          90      100      110      120      130      140      150      160      170      180
UAS511 | GAGAGGATGACCCAGCCACACTGGAAC TGAGACCGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCC
MI71   |          TGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCC
MI06   |          TGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCC
MI72   |          GGAAC TGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCC
MF90   |          CACACTGGAAC TGAGACCGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCC
MF95   |          GGAAC TGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCC
MF92   |          CACACTGGAAC TGAGACCGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCC
          *

```

```

          190      200      210      220      230      240      250      260      270      280
UAS511 | ATGCCGCGTGTATGAAGAA GGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTACGCGGGGAGGAAGGGAGTAAAGTTAATACCTTTGCTCATTGACGTTACCCGAGA
MI71   | ATGCCGCGTGTATGAAGAA GGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTACGCGGGGAGGAAGGGAGTAAAGTTAATACCTTTGCTCATTGAC
MI06   | ATGCCGCGTGTATGAAGAA GGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTACGCGGGGAGGAAGGGAGTAAAGTTAATACCTTTGCTCATTGAC
MI72   | ATGCCGCGTGTATGAAGAA GGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTACGCGGGGAGGAAGGGAGTAAAGTTAATACCTTTGCTCATTGAC
MF90   | ATGCCGCGTGTATGAAGAA GGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTACGCGGGGAGGAAGGGAGTAAAGTTAATACCTTTGCTCATTGACGTTACCCGA
MF95   | ATGCCGCGTGTATGAAGAA GGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTACGCGGGGAGGAAGGGAGTAAAGTTAATACCTTTGCTCATTGACGTTACCCGA
MF92   | ATGCCGCGTGTATGAAGAA GGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTACGCGGGGAGGAAGGGAGTAAAGTTAATACCTTTGCTCATTGACGTTACCCGA
          *

```

Sequence 1: UAS511	(1:2) Aligned. Score: 100	(2:4) Aligned. Score: 100	(3:7) Aligned. Score: 98.6301
Sequence 2: MI06	(1:3) Aligned. Score: 100	(2:5) Aligned. Score: 100	(4:5) Aligned. Score: 100
Sequence 3: MI71	(1:4) Aligned. Score: 100	(2:6) Aligned. Score: 97.006	(4:6) Aligned. Score: 96.988
Sequence 4: MI72	(1:5) Aligned. Score: 99.4475	(2:7) Aligned. Score: 98.8024	(4:7) Aligned. Score: 99.3976
Sequence 5: MF90	(1:6) Aligned. Score: 96.1538	(3:4) Aligned. Score: 99.3151	(5:6) Aligned. Score: 97.2376
Sequence 6: MF92	(1:7) Aligned. Score: 98.8571	(3:5) Aligned. Score: 100	(5:7) Aligned. Score: 99.4286
Sequence 7: MF95	(2:3) Aligned. Score: 100	(3:6) Aligned. Score: 96.5753	(6:7) Aligned. Score: 97.1429

**Figura 9.** Similitud de las secuencias de los productos amplificados por PCR en *B. tabaci* y fruto de tomate con madurez irregular. Para la amplificación se utilizaron los oligonucleótidos U511F/U511R. La secuencia UAS\_511 se obtuvo de NCBI. Las secuencias MI06, MI71 y MI72 se obtuvieron en *B. tabaci*; MF90, MF92 y MF95 se obtuvieron de fruto de tomate. Las regiones donde las siete secuencias son idénticas están marcadas con un asterisco (\*). El alineamiento fue realizado con el software Clustal W.

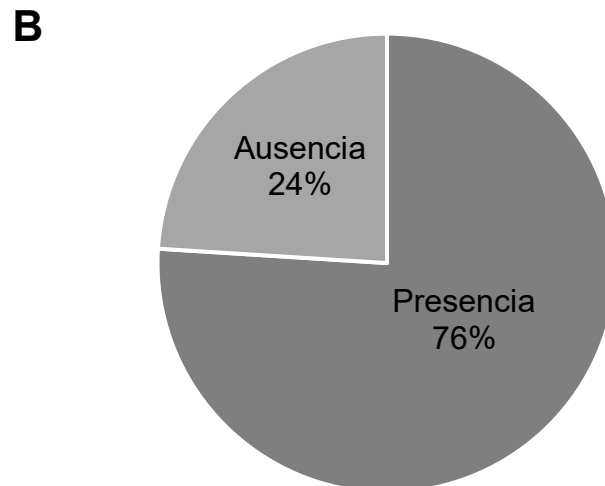
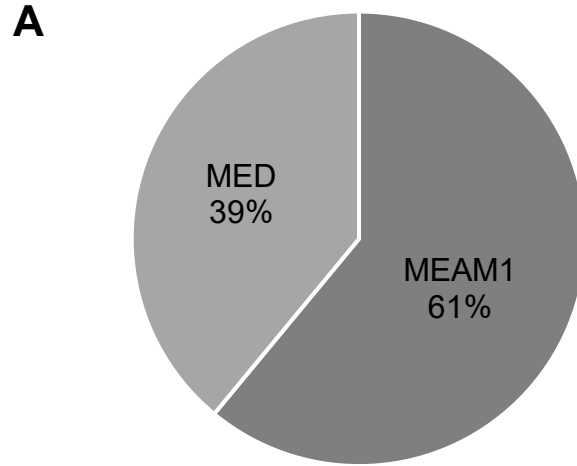
A partir del ADN total obtenido de cada uno de los individuos de *B. tabaci* y de los frutos de tomate se realizaron ensayos de PCR para la detección de la secuencia procarionte UAS\_511. El ADN total extraído de cada muestra se cuantificó y ajustó a una concentración de 20 ng/μL. La amplificación de la región de 180 pb del gen ADNr 16S se realizó con los oligonucleótidos específicos 5'-CACACTGGAAGTGGAGACACG-3' y 5'-CGGGTAACGTCAATGAGCAAA-3', desarrollados en el presente trabajo.

Las condiciones para la PCR punto final fueron las siguientes: 1X de buffer de reacción, 1.5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM de dNTPs, 0.2 μM de cada oligonucleótido y 1 U de Taq polimerasa Bio-Helix (GeneDireX, New Taipei City, Taiwán). La temperatura óptima de alineamiento se mantuvo en 54 °C.

### **1 *B. tabaci***

Todos los individuos de *B. tabaci* fueron analizados genéticamente para la determinación de biotipos. Con base en el gen nuclear *coe2* se detectó la presencia de los biotipos MEAM1 y MED en los cultivos de tomate muestreados en Sinaloa. El biotipo MEAM1 fue el más común, con una prevalencia del 61%, mientras que el biotipo MED se encontró en el 39% de la población de *B. tabaci* (Figura 10a). El biotipo dominante en esta región fue MEAM1, sin embargo, la presencia del biotipo MED es de relevancia debido a su tolerancia a los insecticidas que se aplican para el control de la mosca blanca (Luo y col 2010).

La distribución de los biotipos coincide con reportes previos en la región para el mismo cultivo. Heras-Gaspar y Garzón-Tiznado (2014) reportaron en el Valle de Culiacán una mayor prevalencia del biotipo MEAM1 sobre el MED; a lo largo del ciclo



**Figura 10.** Proporción de biotipos (A) y frecuencia de detección (B) de UAS\_511 en *B. tabaci*. (A) El 61% de los 100 individuos de *B. tabaci* analizados correspondieron al biotipo MEAM1 y el 39% al biotipo MED. (B) La secuencia UAS\_511 estuvo presente en el 76% de los individuos recolectados.

2013-2014 la incidencia del biotipo MEAM1 fluctuó entre el 50% y 70%, mientras que el biotipo MED varió entre 10% y 40%.

La dinámica de *B. tabaci* es variable, la prevalencia de un biotipo sobre otro depende de diversos factores, desde los biológicos hasta la selectividad por insecticidas derivado del control cultural (Lobin y col 2022). El predominio de MEAM1 en la región de Sinaloa puede deberse a la biología de los biotipos y su comportamiento reproductivo; se ha observado que en poblaciones mixtas los machos MEAM1 se reproducen con mayor eficacia que los MED por su habilidad de localizar a las hembras de su propio tipo (Crowder y col 2010).

En cambio, en sistemas intensivos de aplicación de insecticidas, el biotipo MED tiende a desplazar al biotipo MEAM1 (Sun y col 2013). En China, el biotipo MED ha desplazado gradualmente al biotipo MEAM1, favorecido por su mayor tolerancia a temperaturas extremas y resistencia a insecticidas como el imidacloprid; en 2006, el biotipo MED ocupaba el 15.2% de la población, dos años después la incidencia aumentó a 60.9%, y para 2008 ocupaba el 95.2%.

La carga endosimbiótica en *B. tabaci* también varía entre los biotipos y poblaciones. Los insectos recolectados en la región de Sinaloa fueron analizados individualmente para determinar la frecuencia de infección de la secuencia procarionte UAS\_511. El análisis mediante PCR punto final permitió la detección de la secuencia objetivo en el 76% de los individuos de la población (Figura 10b), incluyendo los dos biotipos presentes en campo.

Mientras que los endosimbiontes primarios de insectos polívoros presentan un 100% de incidencia debido a que son esenciales para la supervivencia del hospedador,

la frecuencia de infección de los endosimbiontes secundarios fluctúa y no necesariamente están presentes en todos los individuos (Pan y col 2012). La tasa de detección de la secuencia UAS\_511 en *B. tabaci* es característica de los endosimbiontes secundarios, siendo dispensables para el desarrollo del insecto.

En este sentido, Shi y col (2018) reportaron que el porcentaje de infección de los endosimbiontes secundarios *Rickettsia*, *Hamiltonella* y *Hemipteriphilus* en *B. tabaci* en cultivos de berenjena fue de 32.6%, 93.8% y 97.9%. En campos de algodón, Singla y col (2025) identificaron la presencia del endosimbionte primario *Portiera*, en todos los individuos, en cambio *Arsenophonus* se encontró en el 88%, *Cardinium* en el 92% y *Rickettsia* en el 96%.

Ahmed y col (2010a) reportaron que el 89% de los insectos de *B. tabaci* estaban infectados por el modificador reproductivo *Wolbachia*, mientras que Nirgianaki y col (2003) señalaron que la incidencia fue del 28%. La dinámica de infección de los endosimbiontes difiere entre poblaciones y se encuentra en función de las relaciones de los insectos con su ambiente. Pan y col (2012) afirmaron que la frecuencia de infección de los endosimbiontes secundarios depende de la interacción de distintos factores: la ubicación geográfica, la planta hospedadora, el sexo e incluso el biotipo.

De igual manera, se ha reportado que la frecuencia de infección de los endosimbiontes varía entre los biotipos de *B. tabaci*, reportando en algunos casos diferencias significativas. En este caso, se analizó la prevalencia de la secuencia UAS\_511 en cada individuo por biotipo para determinar alguna asociación entre ambas variables (detección positiva y biotipo). La detección positiva se obtuvo para los biotipos MEAM1 y MED, en diferente proporción. El análisis por biotipo mostró una alta

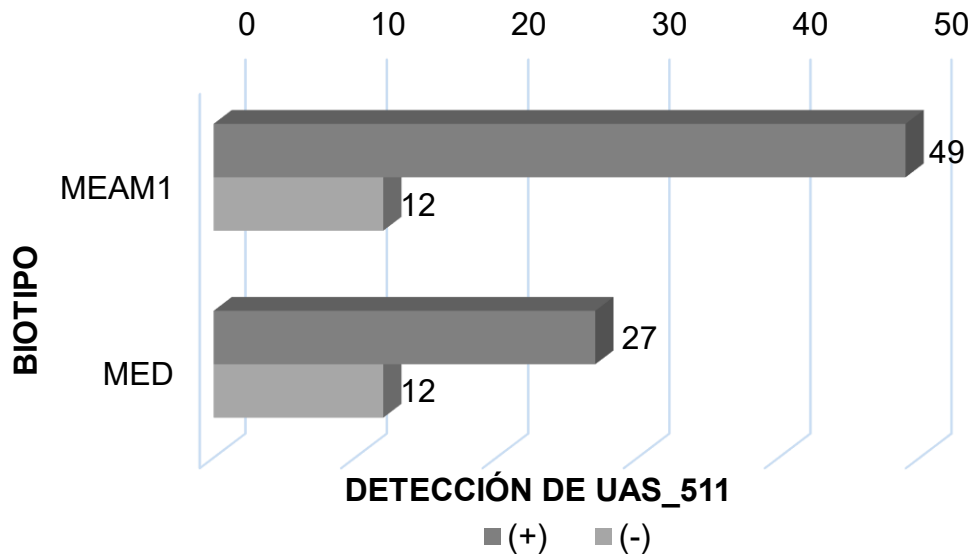
frecuencia de detección en ambos biotipos, con un 80.33% (49 de 61 insectos) para el biotipo MEAM1 y un 69.23% (27 de 39 insectos) para el biotipo MED (Figura 11).

Del total de insectos positivos, el 64.47% corresponden al biotipo MEAM1 y el 35.53% se realizaron en el biotipo MED (Cuadro 10). Estadísticamente no se logró establecer una asociación entre el biotipo de *B. tabaci* y la detección de la secuencia procarionte UAS\_511 ( $\chi^2= 1.606$ ,  $p=0.2050$ ), es decir, no existe preferencia hacia un biotipo u otro, ambos pueden ser portadores indistintamente.

Chiel y col (2007) analizaron insectos de los biotipos MEAM1 y MED en Israel, reportando que *Hamiltonella* solo fue detectada en poblaciones del biotipo MEAM1; *Wolbachia* y *Arsenophonus* se encontraron en el biotipo MED, con una incidencia de 33% y 87%, respectivamente; *Rickettsia* fue abundante en ambos biotipos, mientras que *Cardinium* y *Fritschea* no fueron encontradas en ninguna de las poblaciones analizadas.

Pan y col (2012) encontraron que la detección de *Rickettsia* fue significativamente mayor en los insectos MEAM1 (64.3%) que en MED (7.2%), mientras que la presencia de *Cardinium* fue mayor en el biotipo MED (16.3%) que en MEAM1 (10.8%), por su parte *Hamiltonella* se encontraba presente en ambos biotipos en porcentajes similares, sin encontrar una relación directa entre biotipo e incidencia.

La infección por *Wolbachia* podría estar asociada a los biotipos de *B. tabaci*. Nirgianaki y col (2003) lograron la detección en el 7.7% de los insectos del biotipo MEAM1 y en el 38.5% del resto de la población. En otro estudio, *Wolbachia* fue



**Figura 11.** Frecuencia de detección de UAS\_511 en los biotipos MEAM1 y MED. La secuencia procarionte objetivo se detectó en el 80.33% (49 de 61 insectos) de los insectos del biotipo MEAM1 y en el 69.23% (27 de 39 insectos) de los insectos del biotipo MED.

**Cuadro 10.** Prevalencia de la secuencia UAS\_511 en biotipos de *B. tabaci* recolectados en cultivos de tomate.

Detección \ Biotipo	MEAM1	MED	Total
+	49%	27%	76%
-	12%	12%	24%
Total	61%	39%	100%

Tabla de frecuencias de detección por biotipo.

Cada celda representa el porcentaje del total de observaciones.

detectada en un 58% y 48% para los biotipos MEAM1 y MED, respectivamente (Ahmed y col 2010b).

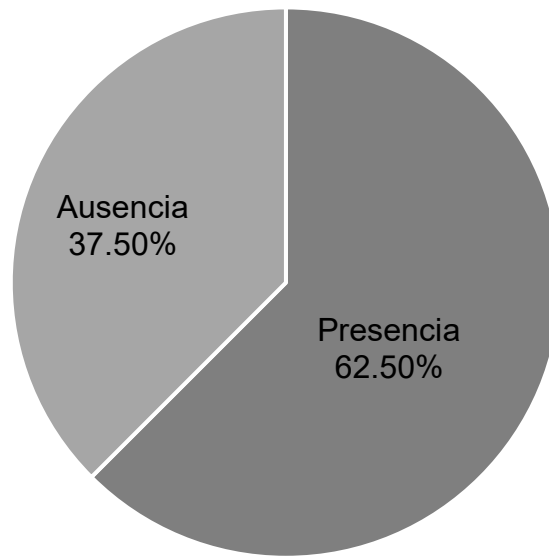
## **2 Frutos de tomate**

Todos los frutos colectados en campos de Sinaloa con síntomas de madurez irregular fueron analizados de forma individual para la búsqueda de la secuencia UAS\_511. El 62.5% de los frutos colectados fueron positivos en la detección de la secuencia procarionte objetivo, y no fue detectada en frutos con coloración uniforme.

Además de su detección en *B. tabaci*, la secuencia bacteriana se detectó en frutos de tomate que expresaban síntomas de madurez irregular (Figura 12); el análisis de las secuencias obtenidas en ambos organismos confirmó la homología, la cual alcanzó valores de similitud hasta del 99% (Figura 9). Al momento, las bacterias endosimbiontes de mosca blanca no se han reportado infectando tejido vegetal, por lo que la secuencia en estudio podría corresponder a un organismo no descrito anteriormente en este insecto.

La detección homóloga de una secuencia bacteriana en insecto y fruto es de interés agronómico debido a que existen muchas hipótesis sobre la etiología de la enfermedad de la madurez irregular, una de ellas sugiere que una bacteria endosimbiótica podría estar relacionada (Hanif y col 1997); los resultados obtenidos sugieren que podría haber un procarionte interactuando en este sistema insecto-planta.

La presencia de la secuencia UAS\_511 en ambos organismos, tomate y *B. tabaci*, es consistente con la transmisión horizontal entre insecto y planta. Evolutivamente, es



**Figura 12.** Presencia de UAS\_511 en frutos de tomate con síntomas de madurez irregular. De los 40 frutos analizados, el 62.5% resultó positivo a la detección de la secuencia procarionte UAS\_511.

posible que un endosimbionte de insecto adquiriera la capacidad de ser fitopatógeno, tal como se ha reportado con el endosimbionte secundario *Ca. Liberibacter solanacearum*, el cual es intracelular en el psílido *Bactericera cockerelli* e infecta cultivos de solanáceas, causando las enfermedades “zebra chip” y “permanente del tomate” (Kwat y col 2025).

La presencia y alta incidencia de UAS\_511 en insecto y en tomate, podría explicarse si consideramos que dicha secuencia corresponde a una bacteria con capacidad endosimbionte en insecto y con capacidad patogénica en planta, con un mecanismo de transmisión horizontal que favorece la alta incidencia. Sin embargo, se requieren estudios adicionales para corroborar su posible patogenicidad en planta y mecanismo de transmisión.

## IX CONCLUSIONES

El análisis evolutivo ubicó a la secuencia procarionte UAS\_511 (GenBank MH025484) en el grupo de las  $\gamma$ -proteobacterias, mostrando divergencia con endosimbiontes reportados para *B. tabaci*.

Se estandarizó un protocolo de PCR punto final para la amplificación de la secuencia bacteriana UAS\_511 a partir del ADN total extraído de tejido vegetal e insecto a partir del diseño de oligonucleótidos específicos, 20 ng de ADN y una temperatura de alineamiento ( $T_m$ ) de 54 °C.

El análisis de detección de la secuencia bacteriana UAS\_511 demostró una incidencia del 62.5% en frutos con madurez irregular y del 76% en *B. tabaci*.

El 61% de los individuos de *B. tabaci* analizados (n=100) correspondió al biotipo MEAM1 y el 39% al biotipo MED. La secuencia bacteriana UAS\_511 tuvo una prevalencia del 80.33% en el biotipo MEAM1 y del 69.23% en el biotipo MED. Del total de individuos positivos para la presencia de UAS\_511, el 64.47% corresponden al biotipo MEAM1 y el 35.53% al biotipo MED.

No se encontró una asociación entre los biotipos de *B. tabaci* (MEAM1 y MED) y la presencia de la secuencia bacteriana ( $\chi^2=1.606$ ,  $p=0.2050$ ), la cual fue detectada independientemente del biotipo.

La secuencia bacteriana UAS\_511 fue detectada de forma homóloga en tejido de tomate e insecto, con una tasa de detección en *B. tabaci* similar a la reportada para endosimbiontes secundarios en insectos. A la fecha no se han reportado endosimbiontes de *B. tabaci* con capacidad patogénica en tomate; sin embargo, la

distribución y prevalencia de esta secuencia presenta las características de una bacteria endosimbiótica de transmisión horizontal. La participación de una bacteria en el desarrollo de la MIF en tomate, transmitida por un vector como *B. tabaci*, podría explicar la incidencia de la enfermedad en cultivos infestados por esta plaga, permitiendo atender la problemática desde el origen.

## X BIBLIOGRAFÍA

- Ahmed MZ, Ren SX, Mandour NS, Greeff JM, Qiu B-L. 2010a. Prevalence of *Wolbachia* supergroups A and B in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) and some of its natural enemies. *Journal of Economic Entomology* 103(5):1848-1859. <http://doi.org/10.1603/EC10033>
- Ahmed MZ, Ren SX, Xue X, Li XX, Jin GH, Qiu BL. 2010b. Prevalence of endosymbionts in *Bemisia tabaci* populations and their in vivo sensitivity to antibiotics. *Current Microbiology* 61(4):322-328. <http://doi.org/10.1007/s00284-010-9614-5>
- Akman Gündüz E, Douglas AE. 2009. Symbiotic bacteria enable insect to use a nutritionally inadequate diet. *Proceedings. Biological Sciences* 276(1658):987-991. <http://doi.org/10.1098/rspb.2008.1476>
- Ali MY, Sina AA, Khandker SS, Neesa L, Tanvir EM, Kabir A, Khalil MI, Gan SH. 2020. Nutritional composition and bioactive compounds in tomatoes and their impact on human health and disease: A review. *Foods* 10(1):45. <http://doi.org/10.3390/foods10010045>
- Amaya Guerrero AP, Beltrán Pineda ME, Alfonso Vargas NC. 2021. *Pectobacterium carotovorum*: agente fitopatógico causante de la pudrición blanda en la papa (*Solanum tuberosum*). *Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 22(2):e1710. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol22\\_num2\\_art:1710](https://doi.org/10.21930/rcta.vol22_num2_art:1710)
- Andreason SA, Shelby EA, Moss JB, Moore PJ, Moore AJ, Simmons AM. 2020. Whitefly endosymbionts: biology, evolution, and plant virus interactions. *Insects* 11(11):775. <https://doi.org/10.3390/insects11110775>

- Ascencio-Alvarez A, Avila-Perches M, González J, O-Olán M, Espinosa-Trujillo E, Palemón Alberto F, Arellano-Vázquez J, Gámez-Vázquez A. 2018. Tomato irregular ripening in the Culiacan Valley, Mexico. *Revista Fitotecnia Mexicana* 41(3):265-273. <http://doi.org/10.35196/rfm.2018.3.265-273>
- Baumann P. 2005. Biology bacteriocyte-associated endosymbionts of plant sap-sucking insects. *Annual Review of Microbiology* 59:155-189. <http://doi.org/10.1146/annurev.micro.59.030804.121041>
- Bing XL, Yang J, Zchori-Fein E, Wang XW, Liu SS. 2013. Characterization of a newly discovered symbiont of the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Applied and Environmental Microbiology* 79(2):569-575. <http://doi.org/10.1128/aem.03030-12>
- Brinza L, Viñuelas J, Cottret L, Calevro F, Rahbé Y, Febvay G, Duport G, Colella S, Rabatel A, Gautier C, Fayard J, Sagot M, Charles H. 2009. Systemic analysis of the symbiotic function of *Buchnera aphidicola*, the primary endosymbiont of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *Comptes Rendus Biologies* 332(11):1034-1049. <http://doi.org/10.1016/j.crvi.2009.09.007>
- Brown JK. 2000. Molecular markers for the identification and global tracking of whitefly vector–Begomovirus complexes. *Virus Research* 71(1):233-260. [https://doi.org/10.1016/S0168-1702\(00\)00221-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1702(00)00221-5)
- Brumin M, Kontsedalov S, Ghanim M. 2011. *Rickettsia* influences thermotolerance in the whitefly *Bemisia tabaci* B biotype. *Insect Science* 18(1):57-66. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2010.01396.x>

Cañas LA, Naranjo SE, Ellsworth PC. 2004. Mortalidad de *Bemisia tabaci* en un sistema de cultivos múltiples. *Horticultura Internacional* 43:14-21.

Carapia-Ruiz V, Castillo-Gutiérrez A. 2013. Estudio comparativo sobre la morfología de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) y *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Acta Zoológica Mexicana* 29(1):178-193.

Caspi-Fluger A, Inbar M, Mozes-Daube N, Katzir N, Portnoy V, Belausov E, Hunter MS, Zchori-Fein E. 2012. Horizontal transmission of the insect symbiont *Rickettsia* is plant-mediated. *Proceedings. Biological Sciences* 279(1734):1791-1796.  
<http://doi.org/10.1098/rspb.2011.2095>

Chiel E, Gottlieb Y, Zchori-Fein E, Mozes-Daube N, Katzir N, Inbar M, Ghanim M. 2007. Biotype-dependent secondary symbiont communities in sympatric populations of *Bemisia tabaci*. *Bulletin of Entomological Research* 97(4):407-413.  
<http://doi.org/10.1017/S0007485307005159>

Crowder DW, Sitvarin MI, Carrière Y. 2010. Mate discrimination in invasive whitefly species. *Journal of Insect Behavior* 23(5):364-380. <http://doi.org/10.1007/s10905-010-9219-7>

Curnutte LB, Simmons AM, Abd-Rabou S. 2014. Climate change and *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae): Impacts of temperature and carbon dioxide on life history. *Annals of the Entomological Society of America* 107(5):933-943.  
<https://doi.org/10.1603/AN13143>

Degnan PH, Yu Y, Sisneros N, Wing RA, Moran NA. 2009. *Hamiltonella defensa*, genome evolution of protective bacterial endosymbiont from pathogenic ancestors. *Proceedings*

of the National Academy of Sciences USA 106(22):9063-9068.

<https://doi.org/10.1073/pnas.0900194106>

Dieffenbach CW, Lowe TM, Dveksler GS. 1993. General concepts for PCR primer design. *Genome Research* 3(3):S30-S37.

Dinsdale A, Cook L, Riginos C, Buckley YM, Barro PD. 2010. Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea: Aleyrodidae) mitochondrial cytochrome oxidase 1 to identify species level genetic boundaries. *Annals of the Entomological Society of America* 103(2):196-208. <https://doi.org/10.1603/AN09061>

Doyle J, Doyle J. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12(1):13-15.

Drancourt M, Bollet C, Carlioz A, Martelin R, Gayral JP, Raoult D. 2000. 16S ribosomal DNA sequence analysis of a large collection of environmental and clinical unidentifiable bacterial isolates. *Journal of Clinical Microbiology* 38(10):3623-3630. <https://doi.org/10.1128/jcm.38.10.3623-3630.2000>

EPPO. 2026. Organización Europea y Mediterránea para la Protección de Plantas. *Bemisia tabaci* (BEMITA). Disponible de: <https://gd.eppo.int/>. Consultado el 22 de enero de 2026.

Fan ZY, Liu Y, He ZQ, Wen Q, Chen XY, Khan MM, Osman M, Mandour NS, Qiu B-L. 2022. Rickettsia infection benefits its whitefly hosts by manipulating their nutrition and defense. *Insects* 13(12):1161. <https://doi.org/10.3390/insects13121161>

FAOSTAT. 2025. Datos sobre alimentación y agricultura. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Disponible de: <http://www.fao.org>. Consultado el 21 de enero de 2026.

- Feldhaar H. 2011. Bacterial symbionts as mediators of ecologically important traits of insect hosts. *Ecological Entomology* 36(5):533-543. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.2011.01318.x>
- Fiallo-Olivé E, Pan LL, Liu SS, Navas-Castillo J. 2020. Transmission of *Begomoviruses* and other whitefly-borne viruses: dependence on the vector species. *Phytopathology* 110(1):10-17. <http://doi.org/10.1094/phyto-07-19-0273-fi>
- Gangwar RK, Gangwar C. 2018. Lifecycle, distribution, nature of damage and economic importance of whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius). *Acta Scientific Agriculture* 2(4):36-39.
- Gottlieb Y, Ghanim M, Gueguen G, Kontsedalov S, Vavre F, Fleury F, Zchori-Fein E. 2008. Inherited intracellular ecosystem: symbiotic bacteria share bacteriocytes in whiteflies. *The FASEB Journal* 22(7):2591-2599. <https://doi.org/10.1096/fj.07-101162>
- Guo J-Y, Cong L, Wan F-H. 2013. Multiple generation effects of high temperature on the development and fecundity of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) biotype B. *Insect Science* 20(4):541-549. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2012.01546.x>
- Hall TA. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41:95-98.
- Hanif-Kahn S, Brecht J, Powell C, Stofella P. 1999. Ethylene levels and fruit quality of silverleaf whitefly-infested dwarf cherry tomato. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 112:134-138.

Hanif-Khan S, Bullock RC, Stoffella PJ, Powell CA, Brecht JK, McAuslane HJ, Yokomi RK.

1997. Possible involvement of altered gibberellin metabolism in the induction of tomato irregular ripening in dwarf cherry tomato by silverleaf whitefly. *Journal of Plant Growth Regulation* 16(4):245-251. <http://doi.org/10.1007/PL00007004>

Heras-Gaspar RC, Garzón-Tiznado JA. 2014. Incidencia del virus TYLCV e identificación de biotipos Q y B en poblaciones de *Bemisia tabaci* (genn) en cultivos de tomate en Sinaloa. *Entomología Mexicana* 1:750-753.

Himler AG, Adachi-Hagimori T, Bergen JE, Kozuch A, Kelly SE, Tabashnik BE, Chiel E, Duckworth VE, Dennehy TJ, Zchori-Fein E, Hunter MS. 2011. Rapid spread of a bacterial symbiont in an invasive whitefly is driven by fitness benefits and female bias. *Science* 332(6026):254-256. <http://doi.org/10.1126/science.1199410>

Hochstrasser M. 2023. Molecular biology of Cytoplasmic Incompatibility caused by *Wolbachia* endosymbionts. *Annual Review of Microbiology* 77:299-316. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-041020-024616>

Hornett EA, Engelstädter J, Hurst GDD. 2010. Hidden cytoplasmic incompatibility alters the dynamics of male-killer/host interactions. *Journal of Evolutionary Biology* 23(3):479-487. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2009.01872.x>

Horowitz AR, Kontsedalov S, Khasdan V, Ishaaya I. 2005. Biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* and their relevance to neonicotinoid and pyriproxyfen resistance. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 58(4):216-225. <https://doi.org/10.1002/arch.20044>

- Hu F-Y, Tsai C-W. 2020. Nutritional relationship between *Bemisia tabaci* and its primary endosymbiont, *Portiera aleyrodidarum*, during host plant acclimation. *Insects* [serie en línea]. 11(8):498. <http://doi.org/10.3390/insects11080498>
- Huang W, Reyes-Caldas P, Mann M, Seifbarghi S, Kahn A, Almeida RPP, Béven L, Heck M, Hogenhout SA, Coaker G. 2020. Bacterial vector-borne plant diseases: unanswered questions and future directions. *Molecular Plant* 13(10):1379-1393. <http://doi.org/10.1016/j.molp.2020.08.010>
- Kanakala S, Ghanim M. 2019. Global genetic diversity and geographical distribution of *Bemisia tabaci* and its bacterial endosymbionts. *Plos One* 14(3):e0213946. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0213946>
- Kang S, Kim YH, Lee HJ, Kim BJ, Lim KJ, Lee SH. 2012. One-step identification of B and Q biotypes of *Bemisia tabaci* based on intron variation of carboxylesterase 2. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 15(3):383-388. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2012.02.003>
- Karut K, Castle SJ, Karut ŞT, Karaca MM. 2020. Secondary endosymbiont diversity of *Bemisia tabaci* and its parasitoids. *Infection, Genetics and Evolution* 78:104104. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.104104>
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16(2):111-120. <http://doi.org/10.1007/bf01731581>
- Kimura S, Sinha N. 2008. Tomato (*Solanum lycopersicum*): A model fruit-bearing crop. *Cold Spring Harbor Protocols* 3(11). <http://doi.org/10.1101/pdb.emo105>

- Kwak Y, Argandona Jacob A, Miao S, Son Thomas J, Hansen Allison K. 2025. A dual insect symbiont and plant pathogen improves insect host fitness under arginine limitation. *mBio* 16(4):e03588-03524. <http://doi.org/10.1128/mbio.03588-24>
- Lei T, Luo N, Song C, Yu J, Zhou Y, Qi X, Liu Y. 2023. Comparative genomics reveals three genetic groups of the whitefly obligate endosymbiont *Candidatus Portiera aleyrodidarum*. *Insects* 14(11):888. <http://doi.org/10.3390/insects14110888>
- Li SJ, Ahmed MZ, Lv N, Shi PQ, Wang XM, Huang JL, Qiu BL. 2017. Plant-mediated horizontal transmission of *Wolbachia* between whiteflies. *The ISME Journal* 11(4):1019-1028. <http://doi.org/10.1038/ismej.2016.164>
- Li H, Jiang Z, Zhou J, Liu X, Zhang Y, Chu D. 2023. Ecological factors associated with the distribution of *Bemisia tabaci* cryptic species and their facultative endosymbionts. *Insects* 14(3):252. <http://doi.org/10.3390/insects14030252>
- Li Y, Wang H, Zhang Y, Martin C. 2018. Can the world's favorite fruit, tomato, provide an effective biosynthetic chassis for high-value metabolites? *Plant Cell Reports* 37(10):1443-1450. <http://doi.org/10.1007/s00299-018-2283-8>
- Linares-Flores PJ, León-Sicairos C, López-Valenzuela JA, Pacheco-Arjona JR, Pineda-Hidalgo KV, Retes-Manjarrez JR, Garzón-Tiznado JA. 2020. Phylogenetic analyses of endosymbionts in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in the Valley of Culiacan. *Southwestern Entomologist* 45(4):885-898.
- Liu SS, De Barro PJ, Xu J, Luan JB, Zang LS, Ruan YM, Wan FH. 2007. Asymmetric mating interactions drive widespread invasion and displacement in a whitefly. *Science* 318(5857):1769-1772. <http://doi.org/10.1126/science.1149887>

- Liu XD, Guo HF. 2019. Importance of endosymbionts *Wolbachia* and *Rickettsia* in insect resistance development. *Current Opinion in Insect Science* 33:84-90. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2019.05.003>
- Lobin KK, Jaunky VC, Taleb-Hossenkhan N. 2022. A meta-analysis of climatic conditions and whitefly *Bemisia tabaci* population: implications for tomato yellow leaf curl disease. *The Journal of Basic and Applied Zoology* 83(1):57. <https://doi.org/10.1186/s41936-022-00320-8>
- Luo C, Jones CM, Devine G, Zhang F, Denholm I, Gorman K. 2010. Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* biotype Q (Hemiptera: Aleyrodidae) from China. *Crop Protection* 29(5):429-434. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2009.10.001>
- Mathieson OL, Schultz DL, Hunter MS, Kleiner M, Schmitz-Esser S, Doremus MR. 2025. The ecology, evolution, and physiology of *Cardinium*: a widespread heritable endosymbiont of invertebrates. *FEMS Microbiology Reviews* 49:fuaf031. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaf031>
- Maynard DN, Cantliffe DJ. 1989. Squash silverleaf and tomato irregular ripening: New vegetable disorder in Florida. Florida Cooperative Extension Service IFAS VC-37.
- McCollum G, Stoffella PJ, Powell CA, Cantliffe DJ, Hanif Khan S. 2004. Effects of silverleaf whitefly feeding on tomato fruit ripening. *Postharvest Biology and Technology* 31:183-190. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.09.001>
- McCutcheon JP, Moran NA. 2012. Extreme genome reduction in symbiotic bacteria. *Nature Reviews Microbiology* 10(1):13-26. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2670>

- McKenzie CL, Albano JP. 2009. The effect of time of sweetpotato whitefly infestation on plant nutrition and development of tomato irregular ripening disorder. *HortTechnology* 19(2):353-359. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.19.2.353>
- Nakabachi A, Inoue H, Hirose Y. 2022. Microbiome analyses of 12 psyllid species of the family Psyllidae identified various bacteria including *Fukatsuia* and *Serratia symbiotica*, known as secondary symbionts of aphids. *BMC Microbiology* 22(1):15. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02429-2>
- Nakabachi A, Ishikawa H. 1999. Provision of riboflavin to the host aphid, *Acyrtosiphon pisum*, by endosymbiotic bacteria, *Buchnera*. *Journal Insect Physiology* 45(1):1-6. [https://doi.org/10.1016/s0022-1910\(98\)00104-8](https://doi.org/10.1016/s0022-1910(98)00104-8)
- Navas-Castillo J, Fiallo-Olivé E, Sánchez-Campos S. 2011. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. *Annual Review of Phytopathology* 49:219-248. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-072910-095235>
- Naveed H, Islam W, Jafir M, Andoh V, Chen L, Chen K. 2023. A review of interactions between plants and whitefly-transmitted Begomoviruses. *Plants* 12(21):3677. <https://doi.org/10.3390/plants12213677>
- Nirgianaki A, Banks GK, Frohlich DR, Veneti Z, Braig HR, Miller TA, Bedford ID, Markham PG, Savakis C, Bourtzis K. 2003. *Wolbachia* infections of the whitefly *Bemisia tabaci*. *Current Microbiology* 47(2):93-101. <https://doi.org/10.1007/s00284-002-3969-1>
- Orozco-Ugarriza ME, Franco-Anaya PA, Olivo-Martínez YO. 2016. Validación *in silico* de oligonucleótidos-primers para la detección específica de *salmonella* spp. mediante

reacción en cadena de la polimerasa. *Revista de Investigación Agropecuaria y Desarrollo Sostenible* 1(1):42-50.

Pan H, Li X, Ge D, Wang S, Wu Q, Xie W, Jiao X, Chu D, Liu B, Xu B, Zhang Y. 2012. Factors affecting population dynamics of maternally transmitted endosymbionts in *Bemisia tabaci*. *Plos One* 7(2):e30760. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030760>

Perring TM, Stansly PA, Liu TX, Smith HA, Andreason SA. 2018. Whiteflies: Biology, ecology, and management. En: Wakil W, Brust GE, Perring TM, editores. Sustainable management of arthropod pests of tomato. San Diego: Academic Press. p 73-110. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-802441-6.00004-8>

Pinela J, Oliveira M, Ferreira IJN. 2016. Bioactive compounds of tomatoes as health promoters. En: Rodrigues L, Silva BM, editores. Natural bioactive compounds from fruits and vegetables. 2ª ed. Sharjah: Bentham Science Publishers. p 48-91.

Powell CA, Stoffella PJ. 1995. Culling tomatoes with external symptoms of irregular ripening is of limited benefit. *HortScience* 30(2):316-317.

Prota N. 2015. Study of drimane sesquiterpenoids from the *Persicaria genus* and zigerene from *Callitropsis noorkatensis* and their effect on the feeding behaviour of *Myzus persicae* and *Bemisia tabaci*. [Tesis de Doctorado] Wageningen, NL: Wageningen University. 192 p.

Rao Q, Wang S, Su YL, Bing XL, Liu SS, Wang XW. 2012. Draft genome sequence of "*Candidatus* Hamiltonella defensa," an endosymbiont of the whitefly *Bemisia tabaci*. *Journal of Bacteriology* 194(13):3558. <http://doi.org/10.1128/jb.00069-12>

- Russell JA, Moran NA. 2005. Costs and benefits of symbiont infection in aphids: variation among symbionts and across temperatures. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 273(1586):603-610. <http://doi.org/10.1098/rspb.2005.3348>
- Salas-Gómez AL, Osorio-Hernández E, Espinoza-Ahumada CA, Rodríguez-Herrera R, Segura-Martínez MTdJ, Ramírez EN, Estrada Drouaillet B. 2022. Principales enfermedades del cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en condiciones de campo. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar* 6(1):4190-4210. [http://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v6i1.1793](http://doi.org/10.37811/cl_rcm.v6i1.1793)
- Sandström J, Moran N. 1999. How nutritionally imbalanced is phloem sap for aphids? *Entomologia Experimentalis et Applicata* 91(1):203-210. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.1999.00485.x>
- Santos-Garcia D, Farnier PA, Beitia F, Zchori-Fein E, Vavre F, Mouton L, Moya A, Latorre A, Silva FJ. 2012. Complete genome sequence of "*Candidatus* Portiera aleyrodidarum" BT-QVLC, an obligate symbiont that supplies amino acids and carotenoids to *Bemisia tabaci*. *Journal of Bacteriology* 194(23):6654-6655. <https://doi.org/10.1128/jb.01793-12>
- Santos-Garcia D, Juravel K, Freilich S, Zchori-Fein E, Latorre A, Moya A, Morin S, Silva FJ. 2018. To B or not to B: comparative genomics suggests *arsenophonus* as a source of B vitamins in whiteflies. *Frontiers in Microbiology* 9:2254. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02254>
- Schuster DJ. 2001. Relationship of silverleaf whitefly population density to severity of irregular ripening of tomato. *Hortscience* 36(6):1089–1090.

- Shi PQ, Wang L, Chen XY, Wang K, Wu QJ, Turlings TCJ, Zhang PJ, Qiu BL. 2024. *Rickettsia* transmission from whitefly to plants benefits herbivore insects but is detrimental to fungal and viral pathogens. *mBio* 15(3):e0244823. <http://doi.org/10.1128/mbio.02448-23>
- Shi PQ, Wang L, Liu Y, An X, Chen X-S, Ahmed MZ, Qiu BL, Sang W. 2018. Infection dynamics of endosymbionts reveal three novel localization patterns of *Rickettsia* during the development of whitefly *Bemisia tabaci*. *FEMS Microbiology Ecology* 94(11):165. <http://doi.org/10.1093/femsec/fiy165>
- SIAP. 2024. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Gobierno de México. Disponible de: [www.gob.mx/siap](http://www.gob.mx/siap). Consultado el 21 de enero de 2026.
- Singla R, Kaur R, Kaur M, Pandher S, Singh S. 2025. Assessment of bacterial endosymbionts associated with *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in cotton-vegetative agro ecosystem. *International Journal of Tropical Insect Science* 45(3):1401-1413. <http://doi.org/10.1007/s42690-025-01531-6>
- Sloan DB, Moran NA. 2012. Endosymbiotic bacteria as a source of carotenoids in whiteflies. *Biology Letters* 8(6):986-989. <http://doi.org/10.1098/rsbl.2012.0664>
- Stothard P. 2000. The sequence manipulation suite: JavaScript programs for analyzing and formatting protein and DNA sequences. *Biotechniques* 28(6):1102-1104. <http://doi.org/10.2144/00286ir01>
- Su Q, Oliver KM, Pan H, Jiao X, Liu B, Xie W, Wang S, Wu Q, Xu B, White JA, Zhou X, Zhang Y. 2013. Facultative symbiont *hamiltonella* confers benefits to *Bemisia tabaci*

- (Hemiptera: Aleyrodidae), an invasive agricultural pest worldwide. *Environmental Entomology* 42(6):1265-1271. <http://doi.org/10.1603/EN13182>
- Su Q, Xie W, Wang S, Wu Q, Liu B, Fang Y, Xu B, Zhang Y. 2014. The endosymbiont *Hamiltonella* increases the growth rate of its host *Bemisia tabaci* during periods of nutritional stress. *Plos One* 9(2):e89002. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0089002>
- Sun D-B, Liu Y-Q, Qin L, Xu J, Li F-F, Liu S-S. 2013. Competitive displacement between two invasive whiteflies: insecticide application and host plant effects. *Bulletin of Entomological Research* 103(3):344-353. <https://doi.org/10.1017/S0007485312000788>
- Tamura K, Stecher G, Kumar S. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution* 38(7):3022-3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Thao ML, Moran NA, Abbot P, Brennan EB, Burckhardt DH, Baumann P. 2000. Cospeciation of psyllids and their primary prokaryotic endosymbionts. *Applied and Environmental Microbiology* 66(7):2898-2905. <http://doi.org/10.1128/aem.66.7.2898-2905.2000>
- Tian PP, Chang CY, Miao NH, Li MY, Liu XD. 2019. Infections with *Arsenophonus* facultative endosymbionts alter performance of aphids (*Aphis gossypii*) on an amino-acid-deficient diet. *Applied and Environmental Microbiology* 85(23):e01407-19. <http://doi.org/10.1128/aem.01407-19>

- Untergasser A, Cutcutache I, Koressaar T, Ye J, Faircloth BC, Remm M, Rozen SG. 2012. Primer3--new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Research* 40(15):e115. <http://doi.org/10.1093/nar/gks596>
- Vorburger C, Gehrer L, Rodriguez P. 2010. A strain of the bacterial symbiont *Regiella insecticola* protects aphids against parasitoids. *Biology Letters* 6(1):109-111. <http://doi.org/10.1098/rsbl.2009.0642>
- Yang K, Yuan MY, Liu Y, Guo CL, Liu TX, Zhang YJ, Chu D. 2021. First evidence for thermal tolerance benefits of the bacterial symbiont *Cardinium* in an invasive whitefly, *Bemisia tabaci*. *Pest Management Science* 77(11):5021-5031. <http://doi.org/10.1002/ps.6543>
- Walker GP, Perring TM, Freeman TP. 2010. Life history, functional anatomy, feeding, and mating behavior. En: Stansly PA, Naranjo SE (Eds.). *Bemisia: bionomics and management of a global pest*. New York: USA: Springer. P 109-160.
- Wang HL, Lei T, Xia WQ, Cameron SL, Liu YQ, Zhang Z, Gowda MMN, De Barro P, Navas-Castillo J, Omongo CA, Delatte H, Lee KY, Patel MV, Krause-Sakate R, Ng J, Wu SL, Fiallo-Olivé E, Liu SS, Colvin J, Wang XW. 2019. Insight into the microbial world of *Bemisia tabaci* cryptic species complex and its relationships with its host. *Scientific Reports* 9(1):6568. <http://doi.org/10.1038/s41598-019-42793-8>
- Wang YB, Ren FR, Yao YL, Sun X, Walling LL, Li NN, Bai B, Bao XY, Xu XR, Luan JB. 2020. Intracellular symbionts drive sex ratio in the whitefly by facilitating fertilization and provisioning of B vitamins. *The ISME Journal* 14(12):2923-2935. <http://doi.org/10.1038/s41396-020-0717-0>

Werren JH, Baldo L, Clark ME. 2008. *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. Nature Reviews Microbiology 6(10):741-751.

<http://doi.org/10.1038/nrmicro1969>

## ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADNr	Ácido desoxirribonucleico ribosómico
<i>Ca.</i>	<i>Candidatus</i>
CTAB	Bromuro de cetiltrimetilamonio
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EPPO	Organización Europea y Mediterránea de Protección de las Plantas
FOASTAT	Base de datos estadísticos de la Organización
GA	Giberelinas
GA3	Ácido giberélico
Mb	Mega bases
nt	Nucleótido
pb	Pares de base
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
rpm	Revoluciones por minuto
SIAP	Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera
U	Unidad