



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES
UNIDAD LEÓN**

TEMA:

**EXPLORANDO LA SUPERFAMILIA DE LOS
'TRANSPORTADORES DE AMINOÁCIDOS' EN *PHASEOLUS
VULGARIS*: PATRONES DE EXPRESIÓN BAJO EL
SILENCIAMIENTO DEL GEN '*TARGET OF RAPAMYCIN*'**

MODALIDAD DE TITULACIÓN:

TESIS Y EXAMEN PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN CIENCIAS AGROGENÓMICAS

P R E S E N T A:

MARÍA FERNANDA GUERRERO CARRILLO

TUTOR:

DR. MANOJKUMAR ARTHIKALA

ASESOR:

DRA. KALPANA NANJAREDDY





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Índice

Índice	2
Agradecimientos.....	4
Dedicatoria.....	6
Resumen	7
Introducción.....	9
1.1 Transportadores de aminoácidos.....	9
1.3 <i>Phaseolus vulgaris</i>	16
1.4 Estudios de bioinformática en transportadores de aminoácidos	18
Objetivos	19
2.1 Objetivo general:.....	19
2.2 Objetivos particulares:	19
Hipótesis.....	20
Métodos y Materiales	25
3.1 Identificación de los genes de la superfamilia de transportadores de aminoácidos (AAT) en el genoma de <i>P. vulgaris</i>	25
3.2 Análisis filogenético de la superfamilia de transportadores de aminoácidos (AAT) en <i>P. vulgaris</i>	26
3.3 Localización cromosómica de transportadores de aminoácidos (AAT) en el genoma de <i>P. vulgaris</i>	27
3.4 Análisis estructural e identificación de motivos en la secuencia de proteínas de transportadores de aminoácidos (AAT).....	27
3.5 Expresión de genes de Transportadores de Aminoácidos (AAT) en tejidos específicos de <i>P. vulgaris</i>	28
3.6 Ontología de genes AAT en <i>P. vulgaris</i>	29
3.7 Analizar los perfiles de transcripción de AAT utilizando datos transcriptómicos obtenidos de raíces de <i>P. vulgaris</i> con silenciamiento <i>TOR</i> -RNAi	30
Resultados.....	31
4.1 Identificación de los genes de la superfamilia de transportadores de aminoácidos (AAT) en el genoma de <i>P. vulgaris</i>	31
4.2 Análisis filogenético de la superfamilia de transportadores de aminoácidos.....	37
4.3 Localización cromosómica de transportadores de aminoácidos en el genoma de <i>P. vulgaris</i>	39

4.4	Análisis estructural e identificación de motivos en la secuencia de proteínas de transportadores de aminoácidos	40
4.5	Expresión específica de genes de Transportadores de Aminoácidos en tejidos de <i>P. vulgaris</i>	50
4.6	Ontología de genes AAT en <i>P. vulgaris</i>.....	56
	Discusión	62
	Conclusiones	66
	Anexos	68
	Bibliografía	76

Agradecimientos

El presente trabajo representa la conclusión de una importante etapa de mi vida: la universidad. Se trata entonces del resultado conjunto del esfuerzo, apoyo e inspiración de las siguientes personas y el trabajo de una servidora. Por lo tanto, aprovecho este espacio para extenderles mi gratitud.

En primer lugar, a mi familia: Lupita y Cassandra, mi mamá y mi hermanita respectivamente. Sin su soporte, amor e inspiración, no habría sido posible llegar a este punto. Este logro es tan mío como suyo, particularmente por todo el esfuerzo y los obstáculos que como un equipo logramos sortear.

Sin embargo, existen otras personas a quienes me gustaría agradecer: A la familia Valdivia Oliva por su compañía y apoyo incondicional. Además, a la familia Carrillo García por su ayuda y sostén durante todos mis estudios de licenciatura.

También es importante mencionar a la familia que elegí, quienes con su amistad fueron un pilar fundamental en esta etapa de mi vida: Ricardo, Alicia, Cecilia, Paola y Eddy. Gracias a su cariño, consejos y compañía durante este desarrollo de personaje, es que concluyo con un gran sabor de boca mi educación universitaria.

Además, resalto de manera particular al Dr. Manojkumar y la Dra. Kalpana por su guía, paciencia y compromiso, no solo durante el desarrollo de este proyecto, sino con toda esta etapa. Sin dejar de lado a mis profesores: Dra. Harumi, Dr. Toño y Dra. Rougon, quienes con su acompañamiento me prepararon para el ámbito profesional y para la vida.

Finalmente, este trabajo se realizó en el laboratorio de Ciencias Agrogenómicas SGC-LII, ENES Unidad-León. Deseo agradecer a CONACyTCF-MI-20191017134234199/316538 a Manojkumar Arthikala por financiar parcialmente esta investigación; PAPIIT-UNAM para la beca no. IN216321 a Kalpana Nanjareddy e IN213221 a Manojkumar Arthikala por financiar parcialmente esta investigación y beca.

En conclusión: No estaría aquí sin ustedes y todas las personas no mencionadas, que a lo largo de mi proceso de licenciatura y en este momento de mi vida continúan apoyándome.

¡Muchas gracias!

Dedicatoria

El presente trabajo lo dedico a todas las personas que eligieron el camino de la Ciencia y que todos los días con su labor, transforman el mundo desde ahí.

Además, también lo dedico a todas las personas que estuvieron conmigo durante todo el camino: mi familia, mis amigos, mis profesores y todos aquellos que ya no están en mi vida. Particularmente, al Doctor Manoj y la Doctora Kalpana que, sin su apoyo y guía, no estaría culminando esto el día de hoy.

Resumen

Las legumbres son conocidas por su notable capacidad para sintetizar una mayor cantidad de proteínas en comparación con otras plantas cultivadas. Este rasgo único les permite participar activamente en la fijación de nitrógeno, un proceso vital que permite que el nitrógeno atmosférico ingrese a sus raíces, se incorpore a los aminoácidos y se transporte eficientemente por toda la planta a través de sistemas de transporte intracelular. Los transportadores de aminoácidos (AAT) desempeñan un papel fundamental en este proceso. Estas proteínas de membrana tienen una función crucial: actúan como mediadores, facilitando el transporte de aminoácidos a través de las membranas celulares en las plantas superiores. Las proteínas AAT no sólo son fundamentales para la regulación del crecimiento de las células vegetales, sino que también contribuyen significativamente a diversos procesos de desarrollo. A pesar de la identificación de miembros de la familia AAT en los genomas de varias plantas modelo como *Arabidopsis*, soya, tomate y papa, nuestra comprensión de las AAT en los frijoles, específicamente *Phaseolus vulgaris*, ha sido limitada. Para cerrar esta brecha de conocimiento, realizamos un estudio extenso empleando varias herramientas y plataformas bioinformáticas. Nuestra investigación condujo a la identificación de 84 genes AAT en *Phaseolus vulgaris*, determinados principalmente mediante comparaciones de homología con *Arabidopsis*. Posteriormente, estos genes se clasificaron en 12 subfamilias distintas, lo que nos permitió profundizar en sus relaciones filogenéticas, motivos, promotores y clasificaciones funcionales. En particular, también reportamos la presencia de elementos reguladores en cis dentro de sus promotores. Además, aprovechamos los datos de RNA-seq de raíces de *P. vulgaris* tratadas con *TOR*-RNAi, e identificamos los patrones de expresión diferencial de los genes AAT en condiciones específicas. En conclusión, nuestros

hallazgos integrales establecen una base sólida para desentrañar las funciones biológicas de los genes AAT dentro de *P. vulgaris*. Esta investigación no sólo mejora nuestra comprensión alrededor de esta esencial leguminosa, sino que también proporciona valiosos y prometedores recursos genéticos para futuros esfuerzos en el mejoramiento de cultivos.

Introducción

1.1 Transportadores de aminoácidos

La absorción y transporte de nitrógeno inorgánico es esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas, por lo tanto, su disponibilidad también es una limitante para estos procesos (Fischer et al., 1998a). Debido a la relevancia que este elemento posee, las plantas cuentan con diversos mecanismos para su captación, asimilación y movilización dentro del organismo, evitando así su desperdicio y promoviendo un uso eficiente de la energía. Los aminoácidos son los componentes básicos de las proteínas y desempeñan un papel crucial en numerosos procesos fisiológicos. Estas pequeñas moléculas son esenciales para la vida, sirven como precursoras para la síntesis de proteínas, la producción de energía y sirven como moléculas de señalización. Además, los aminoácidos representan una herramienta para el intercambio de nitrógeno en las plantas (Fernandes & Pereyra-Rossiello, 1995).

Particularmente, las leguminosas forman asociaciones simbióticas con organismos para la absorción y fijación de elementos de su entorno. Por ejemplo, hongos micorrízicos arbusculares y bacterias del género *Rhizobium* forman una relación mutuamente beneficiosa gracias a la cual la planta puede obtener minerales esenciales para su desarrollo como nitrógeno y fósforo (Nanjareddy et al., 2017). Es decir, el nitrógeno disuelto como sales se absorbe de la solución de suelo con la ayuda de asociaciones simbióticas a través de las raíces para incorporarse a los aminoácidos de la planta. Posteriormente, las hojas en desarrollo, meristemas y órganos reproductores se encargan de importar estos aminoácidos a través del sistema vascular para mantener su crecimiento. Además, los aminoácidos son esenciales en otros procesos como la senescencia de las hojas y la germinación de las semillas (Ortiz-Lopez et al., 2000).

Debido a la cantidad de eventos en los que los aminoácidos se ven involucrados, es necesaria la existencia de sistemas eficientes que puedan cubrir esta demanda. Por ejemplo, el sistema vascular de las plantas está dividido en floema y xilema. El floema actúa gracias a la estructura de las paredes y membranas celulares, lo que permite que se comparta el citoplasma y propicie el transporte intracelular. Por su parte, el transporte a través del xilema opera mediante los compartimientos extracelulares (Fischer et al., 1998b).

De manera particular, el transporte que se realiza a través de las membranas intracelulares está mediado por proteínas de membrana que regulan el ingreso de aminoácidos o sacarosa generando una diferencia en el potencial electroquímico de protones, llamadas Transportadoras de Aminoácidos (AAT) (Sze et al., 1999). Los avances más recientes en investigaciones en plantas modelo como *Arabidopsis thaliana* han permitido la caracterización de muchos AAT y las familias de genes que los expresan. Estos estudios abren la posibilidad de identificarlos en otras especies a través de homología (Dinkeloo et al., 2018).

Dentro de la familia de genes que componen a los AAT se han identificado las subfamilias de Aminoácido/Auxina Permeasa (AAAP) y Transportadores de Aminoácidos, Poliaminas y de Colina (APC). La subfamilia AAAP se divide en: Transportadores de Ácido γ -Aminobutírico (GAT), Transportadores de Prolina (ProT), Aminoácido Permeasas (AAP), Transportadores de Lisina e Histidina (LHT), Transportadores de Auxinas (AUX), Transportadores de Aminoácidos aromáticos y neutros (ANT) y del tipo Transportador de Aminoácido (ATL). La subfamilia APC a su vez se agrupa a las siguientes: Transportadores de Aminoácidos Catiónicos (CAT), Transportadores de Aminoácido/Colina (ACT) y

Transportadores de Poliamina H⁺ (PHS). Además, se contemplan otras subfamilias como el Transportador Específico de Tirosina (TTP) (Cheng et al., 2016).

Se ha reportado que algunos genes de la familia de Transportadores de Aminoácidos (AAT) colaboran en la mitigación de estrés abiótico; particularmente en el estrés hídrico, facilitan el transporte de compuestos y solutos involucrados en esta respuesta (Cheng et al., 2016). Estas mismas condiciones de estrés también pueden inducir a las células vegetales a reciclar los componentes que forman el citoplasma. Además, los AAT son en su mayoría proteínas con una función de simportador de protones y aminoácidos. Cumplen esta función modificando el potencial electroquímico de las células mediante una ATPasa de bombeo de protones tipo 3 (Ortiz-Lopez et al., 2000).

Paralelamente a la emergencia de nueva información acerca de los AAT, también surge el interés de estudiarlos en nuevos organismos. Destacando la oportunidad de generar investigaciones en torno a organismos no modelo que permitan ampliar la comprensión de esta superfamilia y su papel en el metabolismo de las plantas (Dinkeloo et al., 2018).

1.2. La vía ‘Diana de la Rapamicina’ (‘Target of Rapamycin’, TOR) en plantas y regulación TOR de la síntesis de proteínas

La vía del ‘Target of Rapamycin’ (TOR) es una vía de señalización altamente conservada que desempeña un papel crucial en la regulación de diversos procesos celulares tanto en animales como en plantas (Raught et al., 2001). Descubierta originalmente en levaduras, la vía TOR, ha sido desde entonces ampliamente estudiada en mamíferos, además, atrajo una atención significativa en el ámbito de la biología vegetal. En las plantas, la vía

TOR funciona como un eje central para integrar señales ambientales, disponibilidad de nutrientes y señales de crecimiento, permitiendo orquestar con precisión su crecimiento y desarrollo. Particularmente, una de las funciones clave de la vía TOR en las plantas es la regulación de la síntesis de proteínas: un proceso fundamental para el crecimiento de las plantas, las respuestas a los estímulos ambientales y la adaptación a los cambios en el ambiente (Ryabova et al., 2019).

En esta exploración integral, profundizaremos en las complejidades de la vía TOR en las plantas y su influencia en el proceso de síntesis de proteínas.

1.2.1. La vía TOR en plantas

A. Conservación evolutiva: La vía TOR está altamente conservada en células eucariotas, lo que indica su importancia fundamental en su homeostasis y regulación del crecimiento. En plantas, las proteínas TOR comparten similitudes estructurales y funcionales con sus contrapartes en levaduras, mamíferos y otros organismos. Esta conservación sugiere que los principios básicos de la señalización TOR se han conservado a lo largo de la evolución, enfatizando su papel crítico en la supervivencia y adaptabilidad de todos los organismos eucariotes (Raught et al., 2001).

B. Componentes moleculares de la vía TOR en plantas:

TOR Quinasa: El componente central de la vía TOR es la TOR quinasa, una proteína serín-treonin quinasa conservada que actúa como un regulador maestro del crecimiento y el metabolismo celular. En las plantas, existen múltiples genes de TOR quinasa, lo que indica redundancia funcional y potencial especialización en diferentes contextos celulares. La quinasa TOR funciona como un sensor de disponibilidad de nutrientes y energía, recibiendo

información de varias vías de señalización ascendentes (Martin & Hall, 2005; John et al., 2011).

Proteínas reguladoras: la señalización TOR está modulada por una red compleja de proteínas reguladoras (John et al., 2011), incluido el complejo FKBP12-rapamicina (FRB), la 'Lethal with Sec13 protein 8' (LST8) y el dominio DEP (DEPTOR), que contiene proteína (DET1). Estas proteínas forman complejos multiproteicos que interactúan con TOR para regular su actividad en respuesta a diversas señales y, en última instancia, influyen en procesos posteriores como la síntesis de proteínas (Martin & Hall, 2005).

Reguladores ascendentes: la vía TOR en las plantas integra diversas señales ascendentes, por ejemplo: la disponibilidad de nutrientes (nitrógeno, carbono y aminoácidos), factores de crecimiento, estado energético (relación ATP/ADP) y señales ambientales (luz y estrés). Estas señales convergen en la vía TOR para modular su actividad quinasa y ajustar las respuestas posteriores (John et al., 2011).

1.2.2. Regulación de la vía TOR en la síntesis de proteínas en plantas.

A. Biogénesis ribosómica: Una de las funciones principales de la vía TOR en las plantas es la regulación de la biogénesis ribosómica, un proceso fundamental para la síntesis de proteínas. La quinasa TOR promueve la biogénesis de los ribosomas al mejorar la transcripción de genes de ARN ribosomal (ARNr), que son componentes esenciales de los ribosomas. A través de sus efectores posteriores, TOR activa la ARN polimerasa I (Pol I) para transcribir genes de ARNr, lo que aumenta la producción de ribosomas. Esta regulación positiva de la biogénesis ribosómica asegura un suministro adecuado de ribosomas para una

síntesis eficiente de proteínas, especialmente durante períodos de rápido crecimiento (Raught et al., 2001).

B. Inicio de la traducción: La señalización TOR tiene influencia sobre el inicio de la traducción, un paso crucial en la síntesis de proteínas. En las plantas, el inicio de la traducción está estrechamente regulado por la fosforilación de factores de iniciación, como el factor de iniciación de la traducción eucariótica 4E (eIF4E) y el factor de iniciación de la traducción eucariótica 4G (eIF4G). Cuando TOR está activo, fosforila y activa la quinasa S6 (S6K), que a su vez, fosforila eIF4B y eIF4G, lo que mejora el inicio de la traducción. Este proceso asegura que los ribosomas interactúen eficientemente con las moléculas de ARNm, lo que permite la síntesis de proteínas necesarias para el crecimiento y la proliferación celular (Shi et al., 2018).

C. Proteínas de unión a 4E: La vía TOR regula la síntesis de proteínas controlando la actividad de las proteínas de unión a 4E (4E-BP), que son reguladores esenciales en la traducción. Las 4E-BP funcionan como represores de la traducción uniéndose a eIF4E, previniendo su interacción con eIF4G e inhibiendo el inicio de la traducción. Cuando TOR está activo, fosforila las 4E-BP, lo que eventualmente produce su disociación de eIF4E. Esta versión de eIF4E le permite formar el complejo eIF4F con eIF4G, lo que a su vez, posibilita un inicio de traducción eficiente. La fosforilación de 4E-BP por TOR representa, por tanto, un mecanismo clave por el cual la vía TOR promueve la síntesis de proteínas en plantas.

D. Señalización TOR y detección de nutrientes: El papel de la vía TOR en la síntesis de proteínas está estrechamente relacionado con su función como sensor de nutrientes. La disponibilidad de nutrientes, particularmente aminoácidos, juega un papel crucial en la activación de la vía TOR. Cuando los aminoácidos abundan, la TOR quinasa se activa, lo

que aumenta la síntesis de proteínas. Esta regulación dependiente de los nutrientes, garantiza que la síntesis de proteínas se produzca cuando los componentes básicos (aminoácidos) estén fácilmente disponibles, optimizando la utilización de recursos para el crecimiento y el desarrollo (Raught et al., 2001).

E. TOR y respuestas al estrés: Además de su papel en la promoción de la síntesis de proteínas en condiciones favorables, la vía TOR también modula las respuestas al estrés en plantas. Los factores ambientales estresantes, como sequía, alta salinidad y patógenos, pueden inhibir la señalización de la vía TOR, lo que lleva a una reducción de la síntesis de proteínas. Esta regulación negativa de la síntesis de proteínas permite a la planta conservar energía y recursos durante períodos de estrés (Shi & Sheen, 2018). En este contexto, resalta la importancia de la capacidad de la vía TOR para equilibrar el crecimiento y las respuestas al estrés en la adaptación y supervivencia de las plantas.

1.2.3. Regulación ambiental de la vía TOR en plantas

A. Disponibilidad de nutrientes: La vía TOR es extremadamente sensible a la disponibilidad de nutrientes, particularmente a las fuentes de nitrógeno y carbono. Un suministro adecuado de nitrógeno, en forma de nitrato o amonio, activa la vía TOR y favorece una sólida síntesis de proteínas. La disponibilidad de carbono, a menudo representada por la relación entre carbono y nitrógeno (relación C/N), también influye en la actividad de la vía TOR (McCready et al., 2020). Una relación C/N alta, que indica un exceso de carbono, puede promover la señalización TOR, impulsando el crecimiento. Por el contrario, una relación C/N baja, indicativa de limitación de carbono, puede inhibir los componentes de la vía TOR y desacelerar el crecimiento para priorizar la asignación de recursos.

B. Condiciones de estrés: Las condiciones de estrés ambientales, como sequía, salinidad y deficiencia de nutrientes, pueden afectar la señalización de TOR en las plantas. Estas tensiones a menudo conducen a la inhibición de la vía TOR, lo que, a su vez, reduce la síntesis de proteínas. Esta respuesta adaptativa ayuda a las plantas a conservar energía y recursos durante condiciones desafiantes, permitiéndoles dirigir recursos hacia mecanismos de tolerancia al estrés y supervivencia (Raught et al., 2001; McCready et al., 2020). La capacidad de la vía TOR para modular la síntesis de proteínas en respuesta al estrés juega un papel fundamental en la resiliencia de las plantas.

1.3 *Phaseolus vulgaris*

Phaseolus vulgaris, conocido como frijol común, es una planta diploide con un número de cromosomas $2n = 22$, lo que significa que posee un total de 11 pares de cromosomas en un genoma compuesto por 587 millones de pares de bases. Esta especie contiene una asombrosa diversidad genética, con aproximadamente 59,295 genes únicos identificados hasta la fecha. Gracias al desarrollo de herramientas de mapeo genético, se han logrado identificar numerosos loci dentro de su genoma. Sin embargo, a pesar de estos avances, aún persisten limitaciones en nuestro conocimiento acerca de los genes específicos que controlan ciertos rasgos importantes en el metabolismo de esta especie (Bellucci et al., 2014; Raggi et al., 2019).

Debido a su historia evolutiva, es particularmente útil para estudiar eventos de domesticación. Por ejemplo, hace ~20 millones de años sufrió un evento de divergencia de

Glycine max al duplicarse el genoma de ésta última, teniendo como resultado que el material genético de ambas especies sea muy similar. El avance de las herramientas bioinformáticas ha permitido la identificación de AAT en otras especies a partir de los encontrados en *Arabidopsis thaliana*, por ejemplo, en *G. max*. Sin embargo, no hay reportes de caracterización, clasificación y expresión de los genes de la superfamilia de transportadores de aminoácidos (AAT) en el genoma de *P. vulgaris* (Bellucci et al., 2014).

El frijol común es la leguminosa alimenticia de uso directo más importante y cuya demanda se prevé aumentará conforme lo haga la población. Además, el desarrollo de herramientas bioinformáticas ha permitido determinar la evolución molecular de superfamilias de proteínas a través de procesos como el análisis de promotores o caracterización de sus dominios (Marchler-Bauer et al., 2013).

De acuerdo con datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), *P. vulgaris* es un importante recurso de proteínas, carbohidratos y otros nutrientes esenciales en las dietas en Centro y Sudamérica además de algunas regiones de África Oriental y Central. El mercado de esta leguminosa depende en gran medida de variedades adaptadas localmente. Por lo que, el incremento en el calentamiento global, fenómeno que tiene como consecuencia el aumento en la temperatura, se convierte en una potencial amenaza a su producción. Es necesaria la generación de nuevo conocimiento de las especies de interés económico, nutrimental y social como el frijol para el desarrollo de alternativas que permitan su adaptación a las nuevas características ambientales, producto del inminente cambio climático (Sarsu et., al, 2021).

1.4 Estudios de bioinformática en transportadores de aminoácidos

El desarrollo de nuevas tecnologías de secuenciación masiva ha permitido la generación de datos cada vez más grandes, emergiendo así la necesidad de herramientas que se adapten a estas nuevas características. En el caso particular de la extracción de datos genómicos, es fundamental asociar secuencias individuales e información relacionada a su expresión, con la función biológica que tienen. La notación funcional permite que se clasifiquen los genes en categorías funcionales (Conesa et al., 2005). A través del consorcio Gene Ontology (GO) (<http://geneontology.org/>) se han realizado esfuerzos con el objetivo de producir un vocabulario estructurado, definido con precisión, común y controlado que posibilite describir las funciones de los genes de especies no modelo y los productos genéticos de los mismos (Ashburner et al., 2000).

Singularmente, es posible identificar si un conjunto de genes en particular se enriquece con determinadas rutas o categorías funcionales definidas por GO a través de análisis de enriquecimiento. La emergencia de nuevas herramientas bioinformáticas con un enfoque fuera del campo de la biomédica permite el eventual avance en el conocimiento de especies no modelo (Ge et al., 2020).

Numerosos estudios de genoma completo han revelado la abundancia de genes que codifican transportadores de aminoácidos (AAT) en varias especies de plantas. En particular, se descubrió que *Arabidopsis thaliana* poseía 63 genes que codifican AAT (Rentsch et al., 2007), *Oryza sativa* tenía 87 genes AAT (Zhao et al., 2012), mientras que *Selaginella*, una antigua planta vascular, exhibía 23 Genes AAT (Wipf et al., 2012). En el caso de *Glycine max*, la soya, se han identificado un total de 189 genes que codifican AAT (Cheng et al.,

2016). De manera similar, se descubrió que *Populus*, un género de plantas leñosas, alberga 72 genes AAT (Du et al., 2023). Además, se reveló que *Solanum tuberosum*, la papa común, posee un conjunto distinto de genes AAT, como se informó en un estudio de Ma et al. (2016) y el genoma de *Solanum lycopersicum* contiene un complemento significativo de 88 genes AAT (Omari-Alzahrani, 2021). Estos hallazgos subrayan colectivamente la notable diversidad y complejidad de los genes AAT en una gran variedad de plantas. A pesar de que las AAT se han estudiado en varias especies, contamos con información limitada disponible sobre las AAT en *Phaseolus vulgaris*.

Objetivos

2.1 Objetivo general:

Comprender la superfamilia de transportadores de aminoácidos (AAT) en la leguminosa de cultivo *Phaseolus vulgaris*, con especial enfoque en la caracterización e identificación de estos genes. Además, la tesis pretende investigar los patrones de expresión de AAT en raíces donde se ha silenciado el gen *TOR* (*Target of Rapamycin*).

2.2 Objetivos particulares:

- a) Identificar los genes de la superfamilia de transportadores de aminoácidos (AAT) en el genoma de *P. vulgaris*.
- b) Realizar un análisis filogenético de la superfamilia AAT en *P. vulgaris*.
- c) Localizar la ubicación cromosómica de AAT en el genoma de *P. vulgaris*.

- d) Realizar un análisis estructural e identificación de motivos en la secuencia de proteínas AAT.
- e) Analizar la expresión de genes AAT en tejidos específicos de *P. vulgaris*.
- f) Realizar una ontología de genes AAT en *P. vulgaris*.
- g) Analizar los perfiles de transcripción de AAT utilizando datos transcriptómicos obtenidos de raíces de *P. vulgaris* con silenciamiento *TOR*-RNAi.

Hipótesis

La hipótesis de este trabajo es que: una exploración exhaustiva de la superfamilia de transportadores de aminoácidos (AAT) en *Phaseolus vulgaris*, además de una profunda investigación de los patrones de expresión de AAT en raíces en las que se ha silenciado el gen *Target of Rapamycin (TOR)*, proporcionará información valiosa sobre las funciones de los genes *AAT* en esta leguminosa. Esta investigación probablemente revelará nuevos genes *AAT*, caracterizará sus relaciones evolutivas, identificará sus ubicaciones cromosómicas, dilucidará características estructurales y descubrirá perfiles de expresión específicos de tejidos. Además, se plantea la hipótesis de que el gen *TOR*, como regulador clave de la síntesis de proteínas y sensor de nitrógeno, desempeña un papel fundamental en la modulación de la expresión de genes *AAT* en respuesta a señales ambientales y la disponibilidad de nutrientes. Al examinar la interacción entre *TOR* y *AAT*, este estudio pretende contribuir a nuestra comprensión de los genes de la familia *AAT*, su ubicación cromosómica, filogenia, dominios conservados, ontología génica y perfiles de expresión en *Phaseolus vulgaris*, con posibles implicaciones para futuros estudios en genómica funcional, dirigidos a estrategias de mejoramiento de cultivos.

Justificación

Este proyecto de tesis tiene una importancia sustancial en el ámbito de la biología vegetal y las ciencias agrícolas. Busca proporcionar una comprensión integral de la superfamilia de transportadores de aminoácidos (AAT) dentro de *Phaseolus vulgaris*, una leguminosa cuyo cultivo es esencial, pues desempeña un papel crucial en la seguridad alimentaria mundial. Particularmente, la finalidad principal del proyecto es caracterizar e identificar meticulosamente estos transportadores, profundizando en su composición genética y notaciones funcionales. Además, se pretende investigar los patrones de expresión de AAT en las raíces, concretamente en los casos en los que el gen *Target of Rapamycin (TOR)* ha sido silenciado.

La importancia de este esfuerzo de investigación se hace evidente al considerar el papel fundamental que desempeñan los genes AAT en la absorción y el transporte de nutrientes dentro de las plantas. Los aminoácidos son los componentes básicos de las proteínas, esenciales para diversos procesos fisiológicos, incluido el crecimiento, la producción de energía y las vías de señalización. Al desentrañar las complejidades de la superfamilia AAT en *P. vulgaris*, este proyecto de tesis contribuye a una comprensión más profunda de cómo las plantas gestionan y utilizan los nutrientes de manera eficiente.

Además, el estudio de la interacción del gen TOR con la superfamilia AAT es muy prometedor. TOR es un actor clave en la regulación de la síntesis de proteínas, un proceso fundamental para el crecimiento de las plantas, su respuestas a los estímulos ambientales y su adaptación a las condiciones cambiantes. Investigar cómo TOR influye en la expresión de

los genes *AAT* en respuesta a señales ambientales y la disponibilidad de nutrientes puede proporcionar información valiosa sobre la adaptabilidad y resiliencia de las plantas en diferentes condiciones.

Antecedentes

El nitrógeno (N) constituye un nutriente vital indispensable para el crecimiento y reproducción de las plantas (Tegeder, 2010). En su búsqueda de alimento, las plantas extraen nitrógeno del suelo, disponible en dos formas principales: 1) nitrógeno inorgánico (que comprende amonio y nitrato) y 2) nitrógeno orgánico (que comprende aminoácidos, péptidos, proteínas y varios compuestos que contienen N). Una vez absorbido por la planta, se inician una serie de procesos de asimilación del nitrógeno. Estos procesos implican la conversión de nitrato en amonio, seguida de la reducción de amonio en aminoácidos, generalmente se desarrollan dentro del sistema de raíces de la planta. Una ruta alternativa implica el transporte de nitrato a las hojas fotosintéticamente activas a través del xilema, donde se convierte en aminoácidos (Pratelli y Pilot, 2014).

El compuesto nitrogenado orgánico inicial generado a partir de nitrógeno inorgánico, suele ser glutamina o ácido glutámico, que luego sufre transaminación para dar lugar a una multitud de aminoácidos y compuestos que contienen N. La síntesis de la mayoría de los aminoácidos proteinógenos ocurre, predominantemente, dentro de los plastidios de las células del mesófilo. Aunque, otros compartimentos celulares, como las mitocondrias, los peroxisomas y el citosol, también contribuyen a este intrincado proceso. Cabe destacar que,

dentro de la savia del xilema, la asparagina y la glutamina tienden a ser los aminoácidos más abundantes (Pratelli & Pilot, 2014). No obstante, el floema es responsable del transporte de todos los aminoácidos. Este dinámico entorno, sin embargo, da como resultado variaciones en la concentración de aminoácidos individuales dentro de los sistemas de transporte del xilema y floema, influenciados por factores como las especies de plantas y las condiciones ambientales. Este conjunto de aminoácidos funciona como la principal forma de nitrógeno orgánico transportado a órganos sumidero vitales como puntas de raíces, flores, hojas en crecimiento, frutos y semillas, proporcionando sustento esencial para el crecimiento y el desarrollo. En consecuencia, los transportadores de aminoácidos desempeñan un papel indispensable para facilitar el movimiento de aminoácidos dentro de las células vegetales y a través de varios compartimentos celulares, incluidos cloroplastos, peroxisomas, mitocondrias y vacuolas, asegurando la distribución eficaz del nitrógeno orgánico por toda la planta.

Los transportadores de aminoácidos en las plantas se clasifican en dos familias distintas según sus similitudes de secuencia y características de transporte: la familia de aminoácidos/auxina permeasa (AAAP), también conocida como familia de transportadores de aminoácidos (ATF), y la familia de transportadores de aminoácidos, poliaminas y de colina (APC) (Ortiz-Lopez et al., 2000). Dentro de la subfamilia AAAP, existen otras subdivisiones, que incluyen aminoácido permeasas (AAP), transportadores de lisina e histidina (LHT), transportadores de ácido γ -aminobutírico (GAT), transportadores de prolina (ProT), transportadores de auxinas (AUX), transportadores de aminoácidos aromáticos y neutros y proteínas similares a transportadores de aminoácidos. Mientras tanto, la familia

APC comprende tres subfamilias: transportadores de aminoácidos catiónicos (CAT), transportadores de aminoácidos/colina y transportadores de poliamina H⁺ (PHS).

El descubrimiento del primer transportador de aminoácidos en plantas: la aminoácido permeasa 1 (AAP1), se logró a través de la complementación funcional de un transportador de aminoácidos una mutante de levadura mediante la expresión heteróloga de una biblioteca de ADNc de *Arabidopsis*. Los avances posteriores en los recursos genómicos han facilitado estudios de todo el genoma, evidenciando una multitud de supuestos transportadores de aminoácidos en diferentes especies de plantas. Numerosos estudios de todo el genoma han revelado la abundancia de genes que codifican transportadores de aminoácidos (AAT) en varias especies de plantas. En particular, se descubrió que *A. thaliana* poseía 63 genes que codifican AAT (Rentsch et al., 2007), *O. sativa* tenía 87 genes AAT (Zhao et al., 2012), mientras que *Selaginella*, una antigua planta vascular, exhibía 23 genes AAT (Wipf et al., 2012). En el caso de *G. max*, la soya, se han identificado un total de 189 genes que codifican AAT (Cheng et al., 2016). De manera similar, se descubrió que *Populus*, un género de plantas leñosas, alberga 72 genes AAT (Du et al., 2023). Además, se reveló que *S. tuberosum*, conocido como papa, posee un conjunto distinto de genes AAT, como se informó en un estudio de Ma et al. (2016) y el genoma de *S. lycopersicum* contiene 88, un complemento significativo de genes AAT (Omari-Alzahrani, 2021). Estos hallazgos subrayan colectivamente la notable diversidad y complejidad de los genes AAT en una variedad de especies de plantas. Aunque los AAT se han estudiado en varias especies de plantas, hay información limitada disponible sobre las proteínas AAT en *P. vulgaris*.

La mayoría de los transportadores caracterizados se localizan predominantemente en la membrana plasmática, donde funcionan como importadores o exportadores acoplados a protones, orquestando el transporte intercelular. Por el contrario, se ha descrito un número limitado de transportadores implicados en el transporte intracelular de aminoácidos a orgánulos como la vacuola, el cloroplasto y la mitocondria. Estos transportadores exhiben variaciones en la selectividad y afinidad del sustrato cuando se evalúan en sistemas de expresión heterólogos como la levadura en ciernes, *Saccharomyces cerevisiae* o los ovocitos de rana (Choi et al., 2019).

Métodos y Materiales

3.1 Identificación de los genes de la superfamilia de transportadores de aminoácidos (AAT) en el genoma de *P. vulgaris*

Se llevó a cabo la identificación de homólogos de transportadores de aminoácidos en *Phaseolus vulgaris* mediante el uso de secuencias de referencia de *Arabidopsis thaliana* como punto de partida. Para llevar a cabo esta búsqueda, se emplearon las herramientas BLASTN y BLASTP en el sitio web Phytozome (<https://phytozome.jgi.doe.gov>) con la configuración predeterminada en términos de valor de e (e-value) y número de secuencias resultantes.

Para lograr una mayor precisión en la identificación, se utilizó la versión del genoma *P. vulgaris* v2.1. Esto permitió obtener identificadores de genes pertenecientes a la superfamilia de transportadores de aminoácidos (AAT) y, al mismo tiempo, recopilar información sobre

su estructura y características, tales como su distribución en los cromosomas y la longitud de las secuencias.

En cuanto a la determinación del punto isoelectrico (pI) y la masa molecular (MW) de las proteínas, estos datos se obtuvieron a través del portal Swiss Bioinformatics Resource "Expasy" (https://web.expasy.org/compute_pi/), garantizando así una evaluación completa de las propiedades de las secuencias identificadas.

3.2 Análisis filogenético de la superfamilia de transportadores de aminoácidos (AAT) en *P. vulgaris*

Primero, se procedió a la identificación y clasificación de las secuencias que pertenecían a las distintas subfamilias de transportadores de aminoácidos. Después, para obtener una comprensión más profunda, se llevó a cabo una alineación precisa de estas secuencias utilizando la herramienta ClustalW. Además, se realizó un análisis filogenético empleando el método de unión de vecino (Neighbor-joining, NJ) con la versión X del software Molecular Evolutionary Genetic Analysis (MEGA) (disponible en <https://www.megasoftware.net/>). En este análisis, se aplicó la prueba filogenética del Método Bootstrap con 1000 repeticiones, se utilizó un modelo basado en el grado de divergencia (p-distance), se consideró una tasa de sitios uniformes y se procedió a la eliminación completa de gaps en las secuencias.

3.3 Localización cromosómica de transportadores de aminoácidos (AAT) en el genoma de *P. vulgaris*

Mediante la consulta de la base de datos del Sistema de Información de Leguminosas (disponible en <https://legumeinfo.org>), se logró determinar la ubicación cromosómica de los genes pertenecientes a la superfamilia de los transportadores de aminoácidos. Estos genes fueron nombrados siguiendo las convenciones establecidas en la literatura científica (Quezada et al., 2019), y se estableció una relación entre su posición en el genoma y su identificación en la subfamilia correspondiente.

3.4 Análisis estructural e identificación de motivos en la secuencia de proteínas de transportadores de aminoácidos (AAT)

Se llevó a cabo un análisis detallado de la organización estructural empleando el Gene Structure Display Server (GSDS) (disponible en <http://gsds.cbi.pku.edu.cn/index.php>), integrando los datos filogenéticos con la arquitectura de los genes dentro de las respectivas subfamilias. Para evaluar las similitudes entre las proteínas obtenidas de los genes pertenecientes a la superfamilia AAT, se procedió con un alineamiento utilizando la plataforma Clustal Omega (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>), generando así una matriz de porcentaje de identidad en proteínas.

La identificación de los motivos se realizó con la herramienta Multiple Em for Motif Elicitation (MEME) (disponible en <http://meme-suite.org/tools/meme>), y posteriormente, aquellos motivos que mostraron mayor relevancia se sometieron a un análisis adicional utilizando la interfaz de MOTIF Search (<https://www.genome.jp/tools/motif/>). Además, se obtuvo el número de identificación correspondiente en la base de datos Pfam (disponible en

<http://pfam.xfam.org/>), lo que facilitó la identificación de dominios conservados dentro de las diferentes subfamilias.

3.5 Expresión de genes de Transportadores de Aminoácidos (AAT) en tejidos específicos de *P. vulgaris*

Se llevó a cabo un exhaustivo análisis de la expresión génica específica de los transportadores de aminoácidos en diversos tejidos de *P. vulgaris*, particularmente aquellos que desempeñan un papel crucial en su crecimiento y desarrollo, tales como las hojas, entrenudos, brotes, flores, vainas, raíces y semillas, abarcando distintas etapas de su ciclo de vida (O'Rourke et al., 2014). Los datos necesarios para este análisis se obtuvieron a través de la plataforma Common Bean Gene Expression Atlas and Network Analysis (PvGEA) (disponible en <https://www.zhaolab.org/PvGEA/>). Para evaluar la expresión diferencial de cada subfamilia de genes AAT, se utilizó un enfoque visual mediante un mapa de calor que representaba las lecturas por kilobase de transcrito por millón de lecturas mapeadas (RPKM). Este análisis se realizó mediante el software RStudio (<https://www.rstudio.com/>) y se aprovechó la paquetería ggplot2 (<https://ggplot2.tidyverse.org/>). Para facilitar la interpretación de los datos, se aplicó un proceso de escalado a la matriz, resaltando así las diferencias en la expresión de los genes de interés.

Adicionalmente, se llevó a cabo una predicción de la localización subcelular de las proteínas pertenecientes a la superfamilia AAT utilizando la plataforma Plant-mPloc (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/>). Asimismo, se realizaron análisis in silico de las regiones promotoras ubicadas 2000 pares de bases “río arriba” de la región codificante de los genes AAT. Estos análisis se llevaron a cabo utilizando la plataforma PlantPAN 3.0

(<http://plantpan.itps.ncku.edu.tw/promoter.php>), lo que permitió identificar elementos regulatorios clave presentes en dichas regiones promotoras.

3.6 Ontología de genes AAT en *P. vulgaris*

Para llevar a cabo la ontología de los genes pertenecientes a la superfamilia AAT, se emplearon las secuencias genómicas disponibles en la plataforma Pythozome y se utilizó la herramienta Blast2GO, la cual se fundamenta en la búsqueda de similitudes respaldada por análisis estadísticos, con un enfoque particular en especies no modelo, como descrito por Conesa et al. (2005). En este proceso, se llevó a cabo una búsqueda Blastx-fast con especificación de nucleótidos y plantas terrestres, manteniendo las demás opciones en su configuración predeterminada. Posteriormente, se realizó el mapeo de los resultados y la anotación de las categorías funcionales de Gene Ontology (GO).

Además, se efectuó un análisis de enriquecimiento de los genes AAT utilizando la herramienta ShinyGO, donde se adaptaron los números de identificación provenientes de la plataforma Pythozome al formato requerido por el Instituto Europeo de Bioinformática del Laboratorio Europeo de Biología Molecular (EMBL-EBI). La información de ontología de genes se obtuvo de la base de datos de Gene Ontology (<http://geneontology.org/>).

Este proceso permitió una caracterización detallada de los genes de la superfamilia AAT y su asignación a categorías funcionales, enriqueciendo así nuestra comprensión de sus funciones y roles dentro del contexto biológico.

3.7 Analizar los perfiles de transcripción de AAT utilizando datos transcriptómicos obtenidos de raíces de *P. vulgaris* con silenciamiento *TOR*-RNAi

Los datos transcriptómicos utilizados en este estudio provienen de un trabajo publicado anteriormente sobre *TOR*-RNAi realizado en raíces de *Phaseolus vulgaris* (Nanjareddy et al., 2016). En este ensayo, el silenciamiento génico se logró de forma condicional mediante ARN de interferencia (ARNi) mediante la introducción de raíces transgénicas, seguido de la cuantificación de los niveles relativos de expresión genética mediante técnicas de secuenciación de ARN. La normalización de datos se llevó a cabo utilizando el enfoque de lecturas por kilobases de transcripción por 1 millón de lecturas mapeadas (RPKM).

A partir de estos conjuntos de datos, realizamos una identificación exhaustiva de todos los genes de la subfamilia que pertenecen a los transportadores de aminoácidos (AAT) y determinamos sus niveles de expresión cuantitativa. Posteriormente, aprovechamos esta información para crear un diagrama de Venn, lo que nos permitió analizar el recuento de genes AAT que exhiben sobreexpresión o represión (genes expresados diferencialmente o DEG) en las raíces *TOR*-RNAi en comparación con las muestras de control. Para visualizar estos genes AAT expresados diferencialmente, se generó un mapa de calor, centrándose en aquellos con valores de cambio de pliegue superiores a 1 o inferiores a -1. Este mapa de calor se creó utilizando la plataforma RStudio Software (<https://www.rstudio.com/>).

Resultados

4.1 Identificación de los genes de la superfamilia de transportadores de aminoácidos (AAT) en el genoma de *P. vulgaris*

En la base de datos del genoma de *Phaseolus*, se identificaron un total de 84 transportadores de aminoácidos (AAT). Llevamos a cabo una búsqueda utilizando secuencias de transportadores de aminoácidos de *Arabidopsis* como consulta mediante BLASTN y BLASTP en la base de datos Phytozome v2.1. La clasificación de los AAT se realizó en subfamilias en función de la homología de secuencia con otras especies, y la nomenclatura de los miembros de cada subgrupo se basó en su disposición en el genoma, desde el brazo corto cromosómico hacia el brazo largo, comenzando desde los extremos proximales hacia los distales de los respectivos brazos cromosómicos. Como resultado, caracterizamos a cada miembro de la super familia AAT y los distribuimos en 12 subfamilias distintas, que detallamos a continuación:

En la subfamilia de Transportadores de Aminoácidos Catiónicos (CAT) identificamos un total de 13 genes (Tabla 1). En la subfamilia de Transportadores de Poliamina H⁺ (PHS) encontramos 5 genes (Tabla 2). Para los Transportadores de Aminoácidos/Colina (ACT), identificamos 3 genes (Tabla 3). En la categoría de Transportador Específico de Tirosina (TTP) encontramos un gen (Tabla 4). En la subfamilia similar a Transportador de Aminoácido (ATL), ubicamos 16 genes, que subdividimos en 8 ATLa y 8 ATLb (Tabla 5). Para los Transportadores de Aminoácidos aromáticos y neutros (ANT), detectamos 2 genes (Tabla 6).

Nombre del gen [‡]	ID del gen*	Número del cromosoma:	Longitud del gen, b	Longitud del transcrito, b	Longitud de CDS, b	Longitud de la proteína, aa	pl	MW, Da
CAT1	Phvul.001G104600	1	16035	2544	1923	641	6.43	68126.74
CAT2	Phvul.001G104700	1	7475	2418	1902	634	6.46	67120.50
CAT3	Phvul.002G001801	2	1423	1083	834	278	8.75	30865.58
CAT4	Phvul.002G252100	2	3819	2070	1809	603	6.92	65988.96
CAT5	Phvul.003G023101	3	11974	2125	1794	598	8.65	65414.52
CAT6	Phvul.003G225700	3	4473	2182	1728	576	8.41	63197.03
CAT7	Phvul.004G073100	4	12869	2316	1902	634	6.01	66862.88
CAT8	Phvul.007G023700	7	4935	2098	1752	584	8.83	62984.35
CAT9	Phvul.008G045400	8	5634	2176	1743	581	8.19	62169.85
CAT10	Phvul.009G217500	9	3488	2025	1767	589	8.58	64617.86
CAT11	Phvul.009G243100	9	1776	1776	1776	592	8.73	65545.49
CAT12	Phvul.009G243600	9	1773	1773	1773	591	8.73	65293.22
CAT13	Phvul.011G174000	11	2426	2426	1797	599	8.43	65187.90

Tabla 1: Características de los genes de Transportadores de Aminoácidos Catiónicos (CAT) en *Phaseolus vulgaris*. \$ - Nomenclatura basada en la localización cromosómica de los genes de la subfamilia, * - Identificación del gen en Phytozome (<https://phytozome.jgi.doe.gov>), b – Bases nitrogenadas, CDS - Secuencia codificante de aminoácidos, aa - Aminoácidos, pl - Punto isoelectrico, MW - Masa molecular, Da – Daltons.

Nombre del gen [‡]	ID del gen*	Número del cromosoma:	Longitud del gen, b	Longitud del transcrito, b	Longitud de CDS, b	Longitud de la proteína, aa	pl	MW, Da
PHS1	Phvul.002G052400	2	1863	1708	1410	470	5.45	52090.45
PHS2	Phvul.002G128000	2	2623	2294	1461	487	5.82	54265.11
PHS3	Phvul.002G235600	2	2486	2194	1431	477	5.82	52780.04
PHS4	Phvul.003G276300	3	1760	1760	1431	477	5.61	52938.39
PHS5	Phvul.008G177000	8	1515	1515	1092	364	9.05	40705.44

Tabla 2: Características de los genes de Transportadores de Poliamina H⁺ (PHS) en *Phaseolus vulgaris*. \$ - Nomenclatura basada en la localización cromosómica de los genes de la subfamilia, * - Identificación del gen en Phytozome (<https://phytozome.jgi.doe.gov>), b – Bases nitrogenadas, CDS - Secuencia codificante de aminoácidos, aa - Aminoácidos, pl - Punto isoelectrico, MW - Masa molecular, Da – Daltons.

Nombre del gen [‡]	ID del gen*	Número del cromosoma:	Longitud del gen, b	Longitud del transcrito, b	Longitud de CDS, b	Longitud de la proteína, aa	pl	MW, Da
ACT1	Phvul.007G032900	7	5396	1760	1572	524	6.50	56707.05
ACT2	Phvul.007G032800	7	4826	1699	1563	521	8.64	56312.69
ACT3	Phvul.009G154100	9	3466	1687	1578	526	8.77	57803.86

Tabla 3: Características de los genes de Transportadores de Aminoácidos/Colina (ACT) en *Phaseolus vulgaris*. \$ - Nomenclatura basada en la localización cromosómica de los genes de la subfamilia, * - Identificación del gen en Phytozome (<https://phytozome.jgi.doe.gov>), b – Bases nitrogenadas, CDS - Secuencia codificante de aminoácidos, aa - Aminoácidos, pl - Punto isoelectrico, MW - Masa molecular, Da – Daltons.

Nombre del gen [§]	ID del gen*	Número del cromosoma:	Longitud del gen, b	Longitud del transcrito, b	Longitud de CDS, b	Longitud de la proteína, aa	pl	MW, Da
TTP1	Phvul.004G082300	4	4043	1972	1518	506	8.73	55156.33

Tabla 4: Características del gen de Transportador Específico de Tirosina (TTP) en *Phaseolus vulgaris*. § - Nomenclatura basada en la localización cromosómica de los genes de la subfamilia, * - Identificación del gen en Phytozome (<https://phytozome.jgi.doe.gov>), b – Bases nitrogenadas, CDS - Secuencia codificante de aminoácidos, aa - Aminoácidos, pl - Punto isoeléctrico, MW - Masa molecular, Da – Daltons.

Nombre del gen [§]	ID del gen*	Número del cromosoma:	Longitud del gen, b	Longitud del transcrito, b	Longitud de CDS, b	Longitud de la proteína, a	pl	MW, Da
ATLa1	Phvul.001G248000	1	2976	2068	1311	437	8.22	47365.12
ATLa2	Phvul.004G045200	4	4753	2096	1404	468	8.45	50472.51
ATLa3	Phvul.004G045100	4	4424	2344	1392	464	6.71	49824.41
ATLa4	Phvul.005G179900	5	1443	1443	1443	481	5.44	52539.53
ATLa5	Phvul.008G024100	8	3594	2204	1401	467	7.00	50364.02
ATLa6	Phvul.008G219100	8	2360	1543	1302	434	8.31	46887.51
ATLa7	Phvul.008G219200	8	6435	1850	1338	446	8.20	48419.23
ATLa8	Phvul.009G198000	9	3621	1881	1386	462	6.16	49847.32
ATLb1	Phvul.001G123600	1	2669	1281	1281	427	5.02	47299.01
ATLb2	Phvul.001G263500	1	3138	1463	1425	475	8.88	51686.24
ATLb3	Phvul.002G156500	2	4997	1290	1290	430	5.14	47376.45
ATLb4	Phvul.006G071900	6	4997	1723	1320	440	7.59	47423.68
ATLb5	Phvul.007G097200	7	10785	2311	1632	544	5.59	58718.89
ATLb6	Phvul.007G256500	7	6425	1905	1563	521	4.88	56957.11
ATLb7	Phvul.008G040900	8	10133	1579	1389	463	8.88	50049.49
ATLb8	Phvul.008G040700	8	1473	1224	1224	408	8.89	44402.24

Tabla 5: Características de los genes del tipo Transportador de Aminoácidos (ATL) en *Phaseolus vulgaris*. § - Nomenclatura basada en la localización cromosómica de los genes de la subfamilia, * - Identificación del gen en Phytozome (<https://phytozome.jgi.doe.gov>), b – Bases nitrogenadas, CDS - Secuencia codificante de aminoácidos, aa - Aminoácidos, pl - Punto isoeléctrico, MW - Masa molecular, Da – Daltons.

Nombre del gen [§]	ID del gen*	Número del cromosoma:	Longitud del gen, b	Longitud del transcrito, b	Longitud de CDS, b	Longitud de la proteína, aa	pl	MW, Da
ANT1	Phvul.001G199300	1	2882	1644	1221	407	6.34	43839.63
ANT2	Phvul.003G270400	3	1578	1578	1242	414	5.71	45183.65

Tabla 6: Características de los genes de Transportadores de Aminoácidos aromáticos y neutros (ANT) en *Phaseolus vulgaris*. § - Nomenclatura basada en la localización cromosómica de los genes de la subfamilia, * - Identificación del gen en Phytozome (<https://phytozome.jgi.doe.gov>), b – Bases nitrogenadas, CDS - Secuencia codificante de aminoácidos, aa - Aminoácidos, pl - Punto isoeléctrico, MW - Masa molecular, Da – Daltons.

En la subfamilia de Transportadores de Auxinas (AUX), identificamos 7 genes (Tabla 7). En la categoría de Aminoácido Permeasas (AAP), localizamos 16 genes (Tabla 8). Para los Transportadores de Ácido γ -Aminobutírico (GAT), encontramos 5 genes (Tabla 9). En la subfamilia de Transportadores de Prolina (ProT), identificamos 3 genes (Tabla 10). Finalmente, en la categoría de Transportadores de Lisina e Histidina (LHT), encontramos un total de 13 genes (Tabla 11).

Nombre del gen [§]	ID del gen*	Número del cromosoma:	Longitud del gen, b	Longitud del transcrito, b	Longitud de CDS, b	Longitud de la proteína, aa	pl	MW, Da
AUX1	Phvul.001G241500	1	4043	2236	1431	477	8.79	53877.85
AUX2	Phvul.008G106300	8	6879	2538	1476	492	8.23	55333.68
AUX3	Phvul.008G225300	8	4904	2552	1440	480	8.59	54283.35
AUX4	Phvul.009G120700	9	6649	2473	2241	747	8.64	83631.55
AUX5	Phvul.009G122200	9	2856	1984	1398	466	8.76	52530.53
AUX6	Phvul.010G003600	10	6606	2208	1458	486	8.70	54792.03
AUX7	Phvul.011G034000	11	4379	1922	1458	486	9.02	54605.99

Tabla 7: Características de los genes de Transportadores de Auxinas (AUX) en *Phaseolus vulgaris*. § - Nomenclatura basada en la localización cromosómica de los genes de la subfamilia, * - Identificación del gen en Phytozome (<https://phytozome.jgi.doe.gov>), b – Bases nitrogenadas, CDS - Secuencia codificante de aminoácidos, aa - Aminoácidos, pl - Punto isoelectrico, MW - Masa molecular, Da – Daltons.

Nombre del gen [§]	ID del gen*	Número del cromosoma:	Longitud del gen, b	Longitud del transcrito, b	Longitud de CDS, b	Longitud de la proteína, aa	pl	MW, Da
AAP1	Phvul.001G077000	1	5385	1900	1425	475	8.91	52652.43
AAP2	Phvul.001G076600	1	19554	1374	729	243	9.34	25865.28
AAP3	Phvul.001G071500	1	8779	1992	1452	484	8.64	53029.84
AAP4	Phvul.006G061100	6	4442	1933	1398	466	9.07	51363.26
AAP5	Phvul.006G061300	6	2853	1383	1383	461	8.87	51020.82
AAP6	Phvul.006G061500	6	4094	1956	1395	465	5.78	51045.85
AAP7	Phvul.006G061400	6	2700	1068	1068	356	9.46	39605.71
AAP8	Phvul.007G047400	7	4391	1536	1401	467	8.79	51104.87
AAP9	Phvul.008G282800	8	9224	2249	1386	462	8.43	51225.07
AAP10	Phvul.008G283000	8	3892	2233	1443	481	6.17	52228.60
AAP11	Phvul.009G112000	9	3546	2422	1410	470	9.50	51915.35
AAP12	Phvul.009G112100	9	5232	1617	1419	473	9.40	52229.48
AAP13	Phvul.009G113800	9	3886	1750	1449	483	8.88	53436.12
AAP14	Phvul.009G128500	9	5266	1754	1485	495	8.96	54469.45
AAP15	Phvul.009G153600	9	7436	2028	1461	487	8.64	53509.64
AAP16	Phvul.009G153700	9	6358	1784	1530	510	8.92	56025.20

Tabla 8: Características de los genes de Aminoácidos Permeasas (AAP) en *Phaseolus vulgaris*. § - Nomenclatura basada en la localización cromosómica de los genes de la subfamilia, * - Identificación del gen en Phytozome (<https://phytozome.jgi.doe.gov>), b – Bases nitrogenadas, CDS - Secuencia codificante de aminoácidos, aa - Aminoácidos, pl - Punto isoelectrico, MW - Masa molecular, Da – Daltons.

Nombre del gen [§]	ID del gen*	Número del cromosoma:	Longitud del gen, b	Longitud del transcrito, b	Longitud de CDS, b	Longitud de la proteína, aa	pl	MW, Da
GAT1	Phvul.002G296800	2	4976	1610	1359	453	8.93	49567.63
GAT2	Phvul.007G105500	7	2904	2017	1386	462	8.93	50459.37
GAT3	Phvul.007G177700	7	3835	2233	1308	436	8.76	48104.73
GAT4	Phvul.011G089600	11	3814	1592	1254	418	9.31	45936.18
GAT5	Phvul.011G089500	11	4917	1684	1371	457	8.83	50321.98

Tabla 9: Características de los genes de Transportadores de Ácido C-Aminobutírico (GAT) en *Phaseolus vulgaris*. § - Nomenclatura basada en la localización cromosómica de los genes de la subfamilia, * - Identificación del gen en Phytozome (<https://phytozome.jgi.doe.gov>), b – Bases nitrogenadas, CDS - Secuencia codificante de aminoácidos, aa - Aminoácidos, pl - Punto isoelectrico, MW - Masa molecular, Da – Daltons.

Nombre del gen [§]	ID del gen*	Número del cromosoma:	Longitud del gen, b	Longitud del transcrito, b	Longitud de CDS, b	Longitud de la proteína, aa	pl	MW, Da
ProT1	Phvul.001G239300	1	5290	1943	1329	443	9.14	48671.02
ProT2	Phvul.003G206600	3	3045	1609	1332	444	8.87	50008.44
ProT3	Phvul.008G227600	8	4171	1940	1152	384	9.67	42152.01

Tabla 10: Características de los genes de Transportadores de Prolina (ProT) en *Phaseolus vulgaris*. § - Nomenclatura basada en la localización cromosómica de los genes de la subfamilia, * - Identificación del gen en Phytozome (<https://phytozome.jgi.doe.gov>), b – Bases nitrogenadas, CDS - Secuencia codificante de aminoácidos, aa - Aminoácidos, pl - Punto isoeléctrico, MW - Masa molecular, Da – Daltons.

Nombre del gen [§]	ID del gen*	Número del cromosoma:	Longitud del gen, b	Longitud del transcrito, b	Longitud de CDS, b	Longitud de la proteína, aa	pl	MW, Da
LHT1	Phvul.001G259200	1	4611	1587	1587	529	9.19	59873.05
LHT2	Phvul.002G113000	2	4043	1946	1608	536	8.94	58510.62
LHT3	Phvul.002G176400	2	2042	1338	1338	446	8.85	49730.03
LHT4	Phvul.003G028400	3	3757	1766	1320	440	9.11	49116.74
LHT5	Phvul.003G208900	3	1868	1299	1299	433	8.91	48793.50
LHT6	Phvul.004G056700	4	6555	1663	1356	452	8.55	50725.82
LHT7	Phvul.005G001700	5	2488	1545	1329	443	9.11	49137.89
LHT8	Phvul.006G190600	6	4566	2113	1554	518	9.34	57111.86
LHT9	Phvul.007G103000	7	2783	1407	1287	429	9.00	47870.16
LHT10	Phvul.008G149700	8	3973	1347	1347	449	8.76	50295.27
LHT11	Phvul.008G149800	8	7809	1817	1392	464	8.10	52133.13
LHT12	Phvul.009G021300	9	4690	1822	1524	508	9.18	56000.34
LHT13	Phvul.011G025100	11	3924	1886	1503	501	9.08	54659.34

Tabla 11: Características de los genes de Transportadores de Lisina e Histidina (LHT) en *Phaseolus vulgaris*. § - Nomenclatura basada en la localización cromosómica de los genes de la subfamilia, * - Identificación del gen en Phytozome (<https://phytozome.jgi.doe.gov>), b – Bases nitrogenadas, CDS - Secuencia codificante de aminoácidos, aa - Aminoácidos, pl - Punto isoeléctrico, MW - Masa molecular, Da – Daltons.

Este exhaustivo análisis nos proporcionó una visión detallada de la diversidad y distribución de los Transportadores de Aminoácidos en el genoma de *Phaseolus*, estableciendo una base sólida para investigaciones posteriores.

4.2 Análisis filogenético de la superfamilia de transportadores de aminoácidos

Para dilucidar las relaciones evolutivas dentro de los genes de la superfamilia AAT, emprendemos la construcción de un árbol filogenético que abarca 84 secuencias de proteínas AAT de *P. vulgaris*. Empleando el método de unión de vecindarios (NJ) a través de MEGA XI, nuestro análisis filogenético reveló la categorización de las proteínas AAT en 11 clados distintos, reflejando los encontrados en *Arabidopsis* y otras especies de plantas previamente estudiadas, donde la superfamilia AAT ha sido identificada y anotada de manera integral (Figura 1). Estos 11 clados se pueden dividir en dos familias: AAAP y APC. Dentro de la familia AAAP, identificamos 54 AAT, clasificándolas además en siete subfamilias. Estas subfamilias abarcan 8 miembros de la subfamilia de genes que codifican proteínas del tipo transportador de aminoácido b (ATLb), 2 genes responsables del transporte de aminoácidos aromáticos y neutros (ANT), 7 genes dedicados al transporte de auxinas (AUX), 16 genes implicados en la permeación de aminoácidos (AAP), 5 genes que facilitan el transporte de ácido γ -aminobutírico (GAT), 3 genes dedicados al transporte de prolina (ProT) y, por último, 13 genes asociados al transporte de lisina/histidina (LHT). Por otro lado, la familia APC está compuesta por 30 AATs distribuidas en 5 subfamilias. Entre estas subfamilias, identificamos 13 genes implicados en el transporte de aminoácidos catiónicos (CAT), 5 genes responsables del transporte de poliamina H^+ (PHS), 3 genes encargados del transporte de aminoácidos/colina (ACT), un gen especializado en el transporte de tirosina (TTP), y finalmente, 8 genes categorizados en proteínas del tipo transportador de aminoácido a (ATLa).

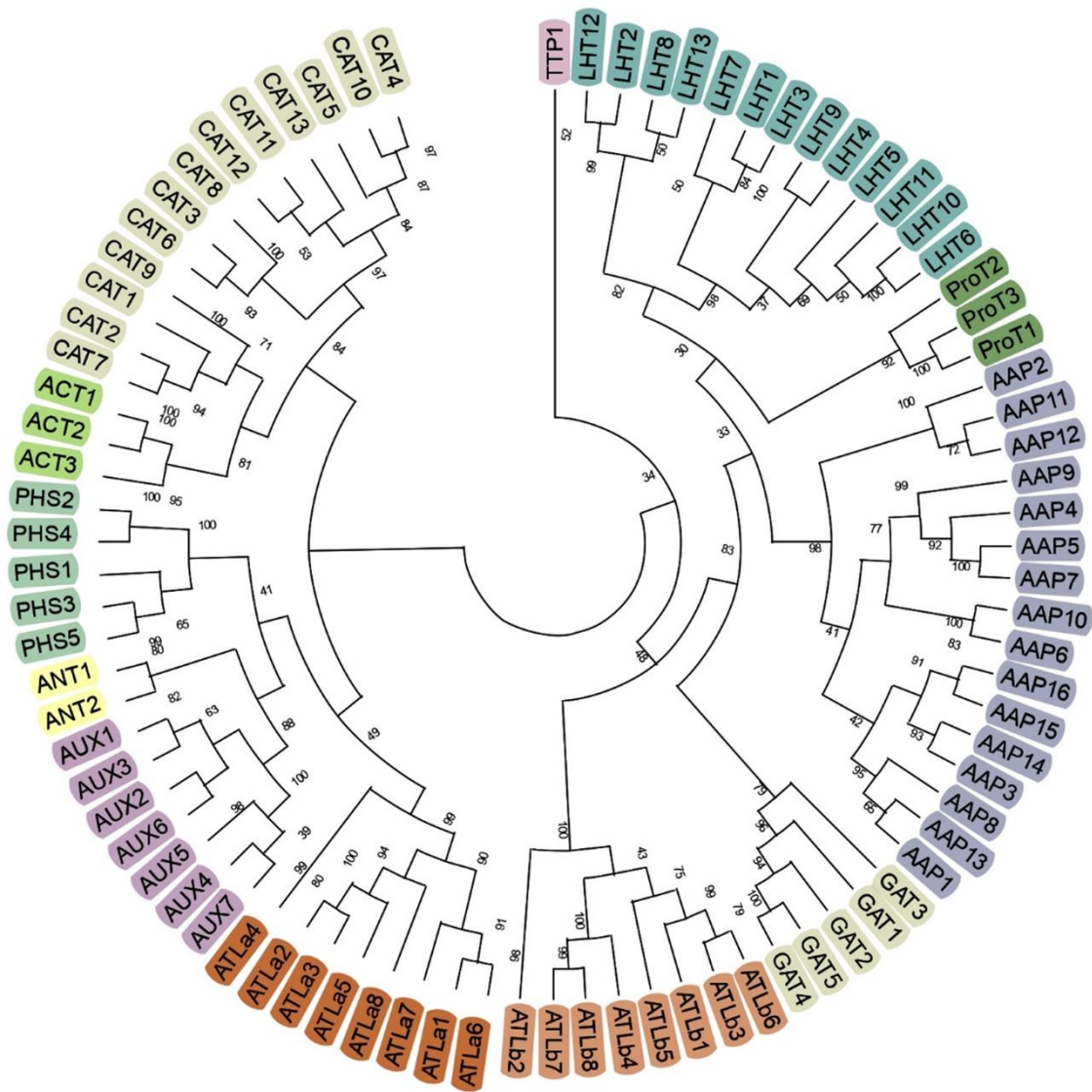


Figura 1: Análisis filogenético de la superfamilia de Transportadores de Aminoácidos (AAT) en *Phaseolus vulgaris*: Secuencias del transcrito de 84 genes de AAT identificados en la base de datos Phytozome. El árbol filogenético fue construido usando el proceso de Neighbor-Joining en MEGAX. Se identificaron con colares las distintas subfamilias que componen a los AAT.

Esta clasificación refleja de manera intrigante la divergencia evolutiva de estas subfamilias, arrojando luz sobre los fascinantes patrones de diferenciación genética dentro de la superfamilia AAT.

4.3 Localización cromosómica de transportadores de aminoácidos en el genoma de *P. vulgaris*

La localización cromosómica de los 84 genes pertenecientes a la superfamilia de los Transportadores de Aminoácidos (AAT) en *P. vulgaris* fue rigurosamente determinada y se les asignaron denominaciones siguiendo un patrón congruente con la literatura que se encuentra en otros especímenes homólogos, tal como se detalla en el estudio de Quezada et al. (2019). La distribución de estos AAT en *P. vulgaris* demostró ser heterogénea a lo largo de los 11 cromosomas (Figura 2). El cromosoma 8 albergaba el máximo de 14 genes, seguido por el Cromosoma 1 con 12, el Cromosoma 9 con 11, mientras que los Cromosomas 2 y 7 contenían 9 genes cada uno, el Cromosoma 3 tenía 7 y tratándose del mínimo, el Cromosoma 10 que albergaba 1 gen. La mayoría de los cromosomas exhibieron una tendencia a acumular genes en los extremos externos de sus brazos cromosómicos, con excepción del cromosoma submetacéntrico C9, donde el brazo largo presentaba una dispersión de 13 genes (Figura 2).

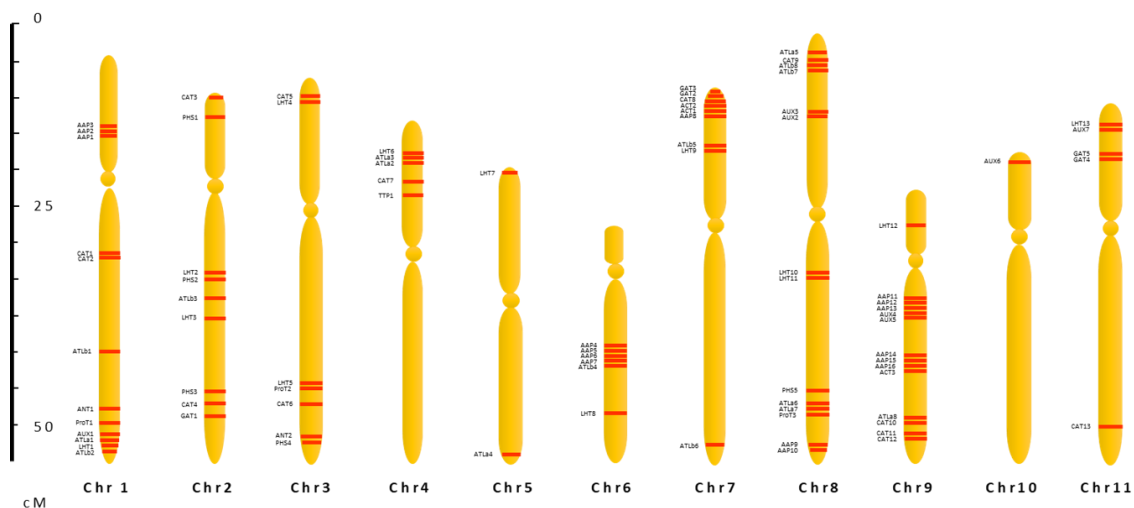


Figura 2: Distribución cromosómica de la super familia de Transportadores de Aminoácidos (AAT) en *Phaseolus vulgaris*. Los cromosomas están representados por las bandas amarillas y distribuidos numéricamente. Las bandas rojas indican la posición del gen dentro del cromosoma.

4.4 Análisis estructural e identificación de motivos en la secuencia de proteínas de transportadores de aminoácidos

El examen de las 84 secuencias del gen AAT condujo a un análisis exhaustivo que nos permitió discernir características específicas dentro de estas secuencias. Este análisis permitió determinar las longitudes de las secuencias codificantes, las regiones traducidas y las ubicaciones de los intrones, todas categorizadas según sus respectivas subfamilias: CAT, PHS, ACT, TTP, ATL (que comprende tanto ATLa como ATLb), ANT, AUX, AAP, GAT, ProT y LHT. En la Figura 3 se presentan representaciones visuales de estas variaciones estructurales para cada subfamilia.

En nuestra búsqueda por desentrañar las estructuras genéticas de los AAT en *Phaseolus vulgaris*, realizamos un análisis comparativo entre las secuencias completas de ADNc y sus correspondientes homólogos de ADN genómico, empleando la herramienta GSDS (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>). Entre la totalidad de las AAT de *Phaseolus vulgaris*, un subconjunto de nueve genes mostró ausencia de intrones. En particular, este subconjunto incluía 4 genes de la subfamilia PHS, 3 genes que se originan en la subfamilia CAT y un gen de cada una de las subfamilias ATL y ANT. Vale la pena mencionar que, a diferencia de los genes de la familia AAT en otras especies, el recuento de intrones dentro de la misma subfamilia mostró una variabilidad considerable. Dentro de la subfamilia CAT, los números de intrones abarcaron del 1 al 13, mientras que la subfamilia ATL mostró recuentos de intrones que oscilaron entre 0 y 10. Mientras tanto, las subfamilias AAP y GAT exhibieron de 4 a 6 intrones, y la subfamilia LHT presentó un rango de 4 a 7 intrones (Figura 3).

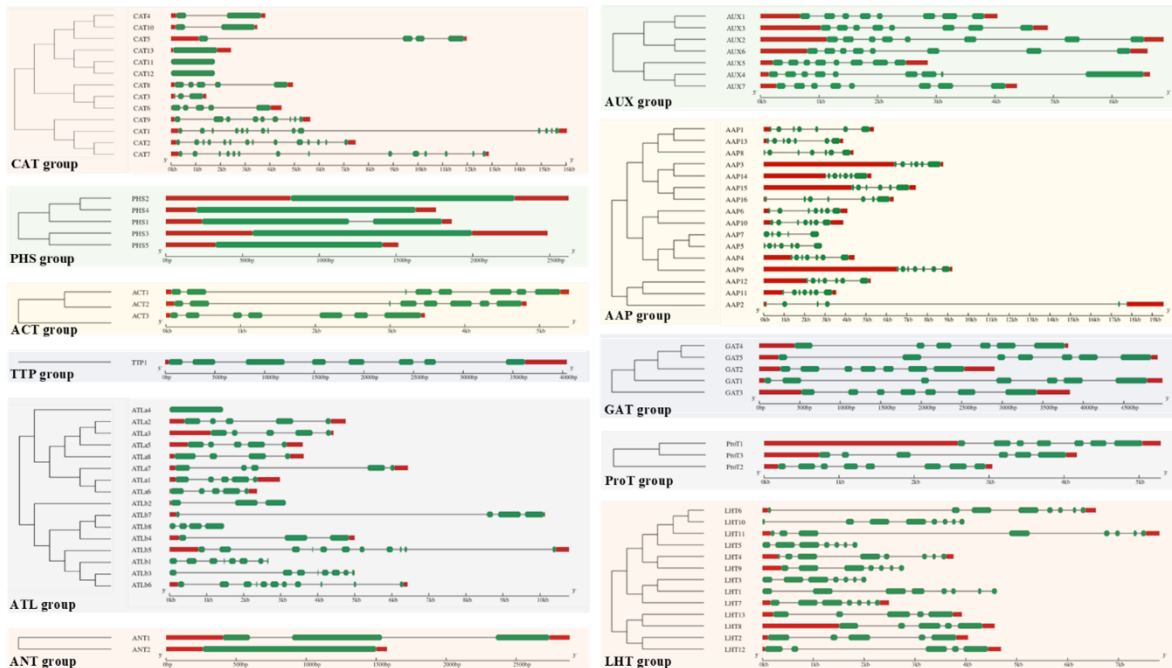


Figura 3: Análisis de la estructura de los genes de la superfamilia Transportadores de Aminoácidos (AAT) en *Phaseolus vulgaris* organizados por subfamilias. Secuencias codificantes (CDS) y exones son representadas por barras verdes, los intrones con líneas negras y las regiones no traducidas (UTR's) en sentido "río arriba" (5')/ "río abajo" (3') con los rectángulos rojos.

Por su parte, para realizar el análisis de motivos eran necesarias al menos tres secuencias por subfamilia. Tanto TTP como ANT carecían del número mínimo, por lo que se realizó una matriz de porcentaje de identidad de proteínas de la superfamilia AAT (Material Complementario 1). Al conocer que tan parecidas eran las proteínas obtenidas a partir de la expresión de estos genes, era posible determinar a qué subfamilia se podrían unir para ser analizadas. Se identificó que TTP y ANT contaban con la mayor similitud entre ellas. Los motivos fueron obtenidos con esta asociación.

Durante la evolución de las familias de genes, la diversificación de los dominios proteicos juega un papel fundamental en la adaptación a los cambios ambientales dinámicos, lo que lleva al surgimiento de nuevas funciones proteicas. En consecuencia, realizamos un

análisis completo de la estructura genética del dominio proteico para discernir los motivos conservados dentro de las AAT de *P. vulgaris*. Nuestros hallazgos revelan un espectro de motivos, algunos de los cuales exhiben una conservación notable y una distribución amplia en todos los miembros AAT, mientras que otros son distintos de las subfamilias específicas. Destacan especialmente los motivos más representativos dentro de la superfamilia AAT, como PF00324 para las subfamilias CAT (Figura 4) y PHS (Figura 5), PF13520 para ACT (Figura 6) y PF01490 para la asociación TTP-ANT (Figura 7), así como las subfamilias ATL (Figura 8), AUX (Figura 9), AAP (Figura 10), GAT (Figura 11), ProT (Figura 12) y LHT (Figura 13).

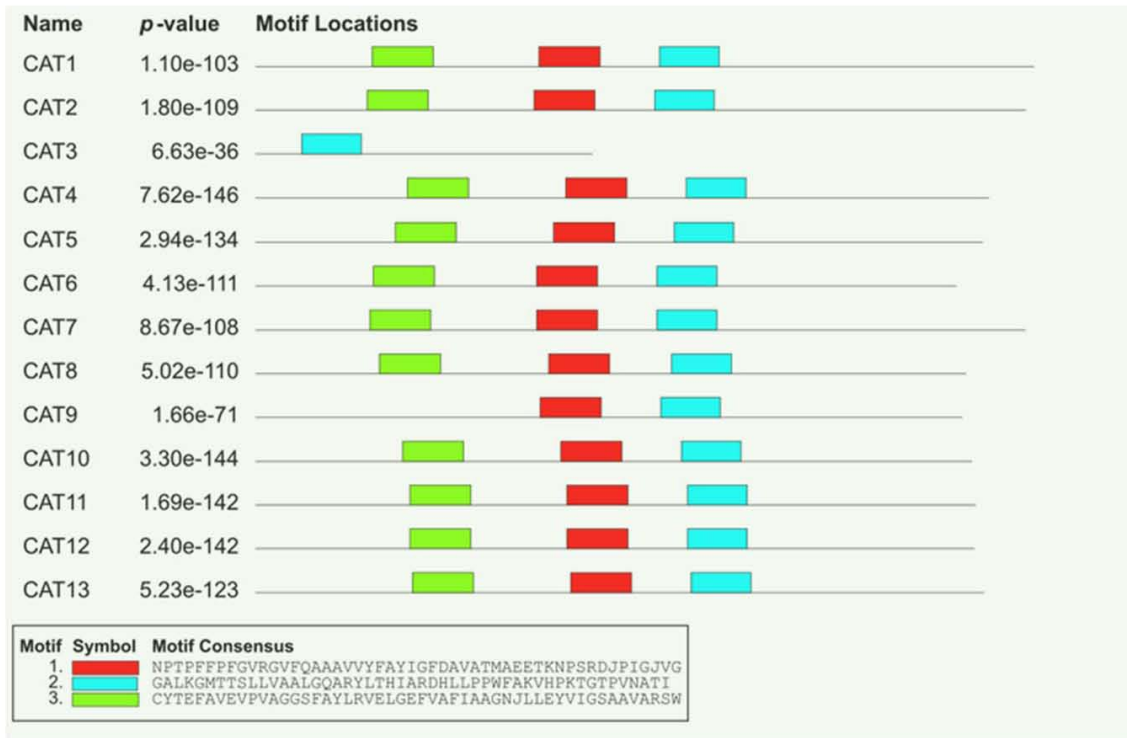


Figura 4: Identificación de motivos de Transportadores de Aminoácidos (AAT) en *Phaseolus vulgaris* para la familia CAT. Los motivos más significativos se representan mediante barras que corresponden a su posición predicha. La barra roja y la reproducción gráfica muestra el dominio análogo a la proteína aminoácido permeasa (PF00324), siendo la más característica de esta familia.

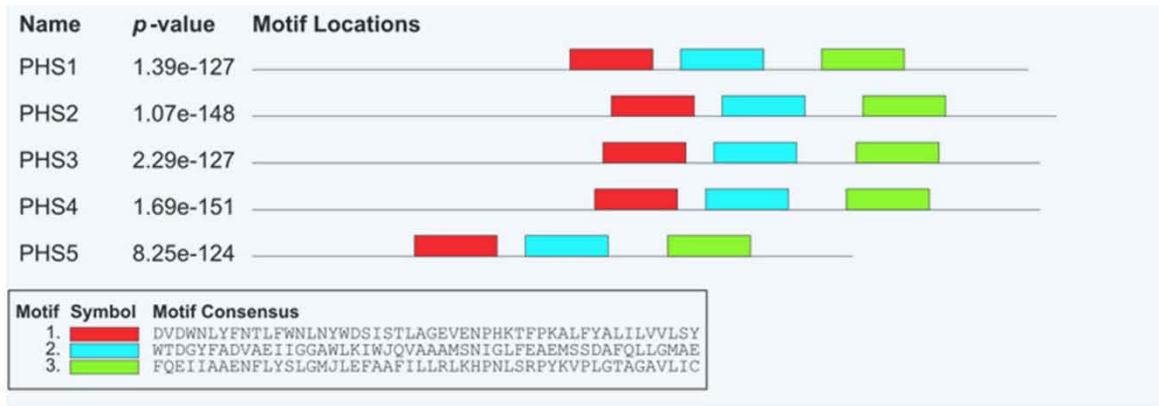


Figura 5: Identificación de motivos de Transportadores de Aminoácidos (AAT) en *Phaseolus vulgaris* para la familia PHS. Los motivos más significativos se representan mediante barras que corresponden a su posición predicha. La barra roja y la reproducción gráfica muestra el dominio análogo a la proteína aminoácido permeasa (PF00324), siendo la más característica de esta familia.



Figura 6: Identificación de motivos de Transportadores de Aminoácidos (AAT) en *Phaseolus vulgaris* para la familia ACT. Los motivos más significativos se representan mediante barras que corresponden a su posición predicha. La barra roja y la reproducción gráfica muestra el dominio análogo a la proteína aminoácido permeasa (PF13520), siendo la más característica de esta familia.



Figura 7: Identificación de motivos de Transportadores de Aminoácidos (AAT) en *Phaseolus vulgaris* para la asociación de las familias TTP-ANT. Los motivos más significativos se representan mediante barras que corresponden a su posición predicha. La barra roja y la reproducción gráfica muestra el dominio análogo a la proteína transportadora de aminoácido transmembrana (PF01490), siendo la más característica de estas familias.

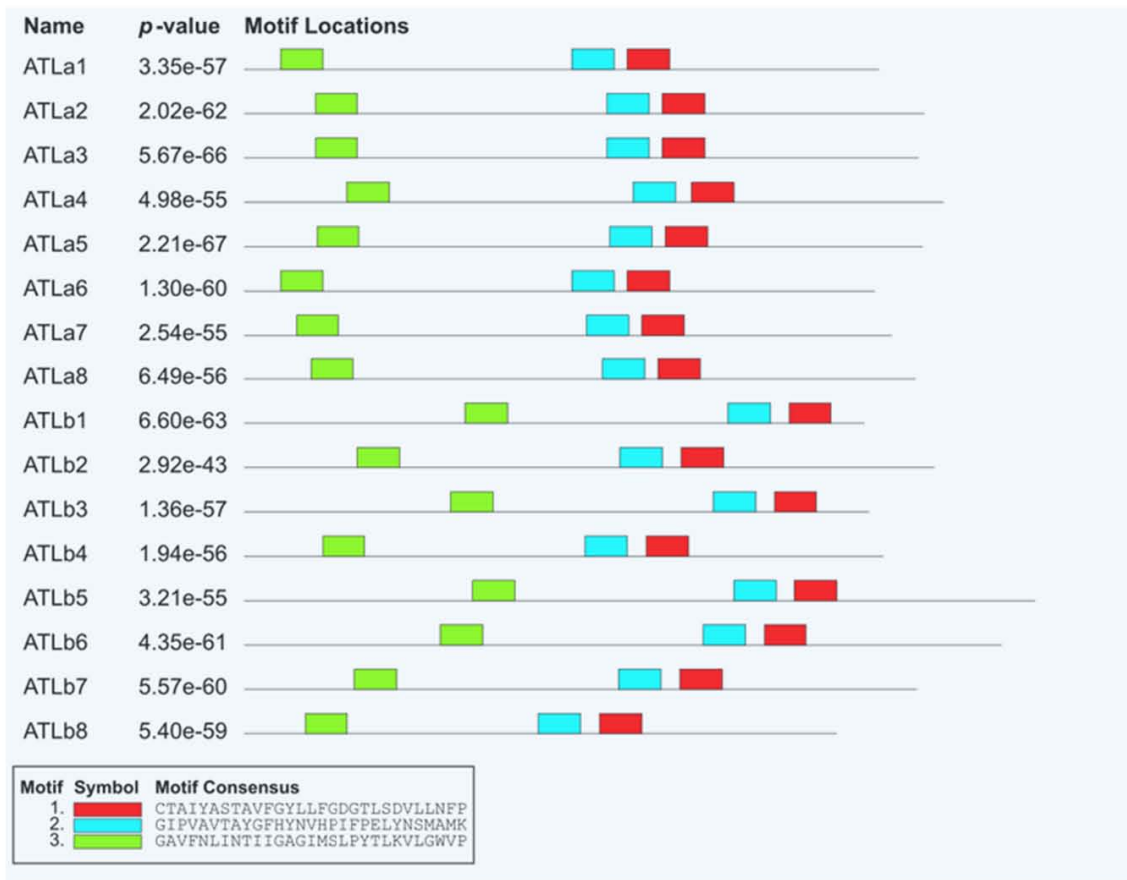


Figura 8: Identificación de motivos de Transportadores de Aminoácidos (AAT) en *Phaseolus vulgaris* para la familia ATL. Los motivos más significativos se representan mediante barras que corresponden a su posición predicha. La barra roja y la reproducción gráfica muestra el dominio análogo a la proteína transportadora de aminoácido transmembrana (PF01490), siendo la más característica de esta familia.

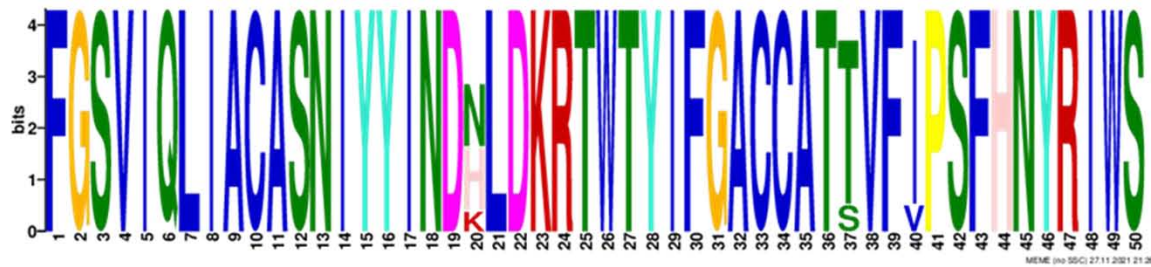
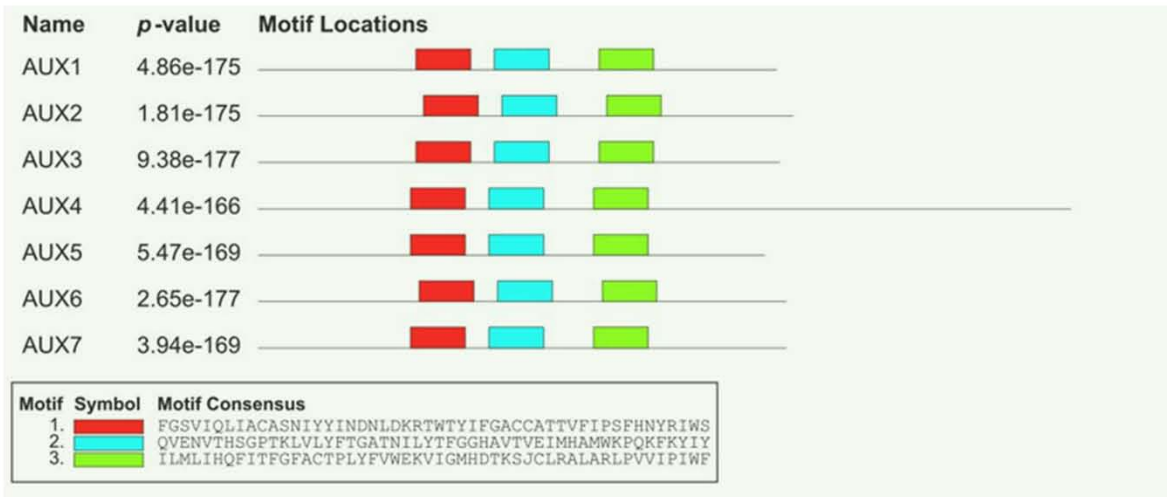


Figura 9: Identificación de motivos de Transportadores de Aminoácidos (AAT) en *Phaseolus vulgaris* para la familia AUX. Los motivos más significativos se representan mediante barras que corresponden a su posición predicha. La barra roja y la reproducción gráfica muestra el dominio análogo a la proteína transportadora de aminoácido transmembrana (PF01490), siendo la más característica de esta familia.

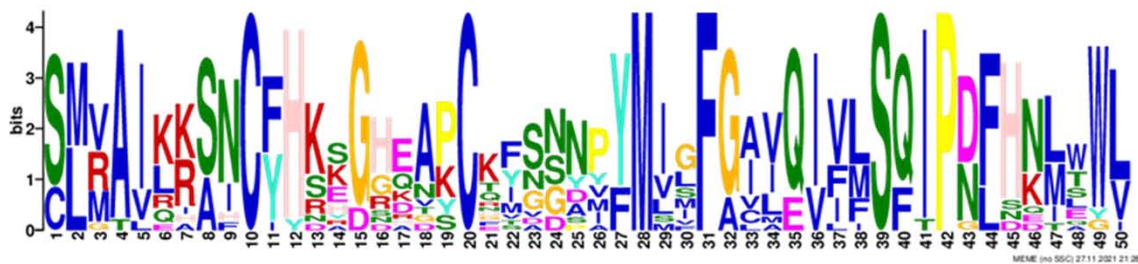


Figura 10: Identificación de motivos de Transportadores de Aminoácidos (AAT) en *Phaseolus vulgaris* para la familia AAP. Los motivos más significativos se representan mediante barras que corresponden a su posición predicha. La barra roja y la reproducción gráfica muestra el dominio análogo a la proteína transportadora de aminoácido transmembrana (PF01490), siendo la más característica de esta familia.

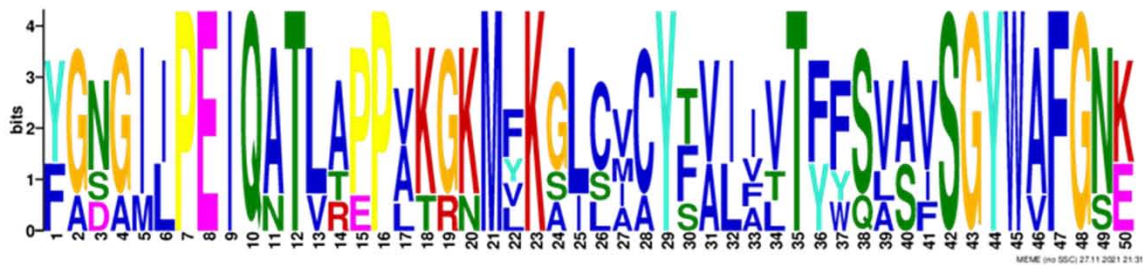
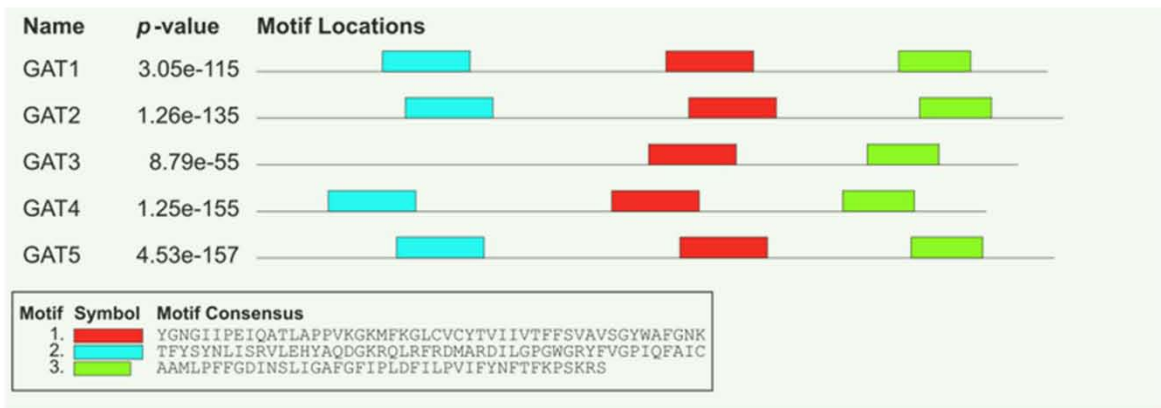


Figura 11: Identificación de motivos de Transportadores de Aminoácidos (AAT) en *Phaseolus vulgaris* para la familia GAT. Los motivos más significativos se representan mediante barras que corresponden a su posición predicha. La barra roja y la reproducción gráfica muestra el dominio análogo a la proteína transportadora de aminoácido transmembrana (PF01490), siendo la más característica de esta familia.

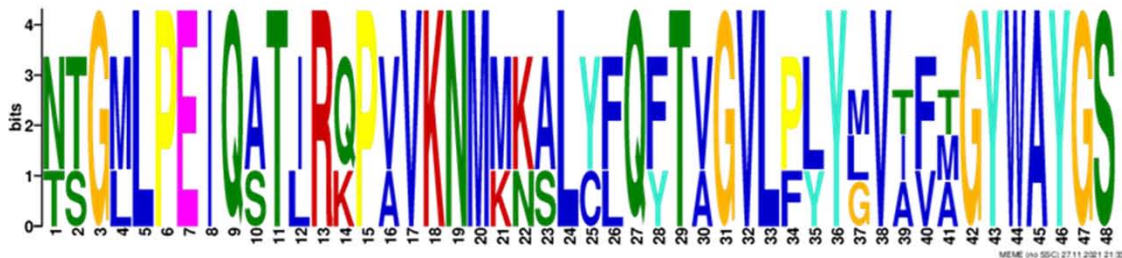


Figura 12: Identificación de motivos de Transportadores de Aminoácidos (AAT) en *Phaseolus vulgaris* para la familia ProT. Los motivos más significativos se representan mediante barras que corresponden a su posición predicha. La barra roja y la reproducción gráfica muestra el dominio análogo a la proteína transportadora de aminoácido transmembrana (PF01490), siendo la más característica de esta familia.



Figura 13: Identificación de motivos de Transportadores de Aminoácidos (AAT) en *Phaseolus vulgaris* para la familia LHT. Los motivos más significativos se representan mediante barras que corresponden a su posición predicha. La barra roja y la reproducción gráfica muestra el dominio análogo a la proteína transportadora de aminoácido transmembrana (PF01490), siendo la más característica de esta familia.

4.5 Expresión específica de genes de Transportadores de Aminoácidos en tejidos de *P. vulgaris*

En nuestra investigación para profundizar en las posibles funciones genéticas de los transportadores de aminoácidos en diversos tejidos de *Phaseolus vulgaris*, iniciamos el proceso obteniendo conjuntos de datos de expresión específicos de tejido para AAT. Estos

conjuntos de datos se obtuvieron de PvGEA (Common Bean Gene Expression Atlas and Network Analysis) (disponible en <https://www.zhaolab.org/PvGEA/>), que abarca perfiles transcripcionales que abarcan una amplia gama de tejidos vegetativos, reproductivos y simbióticos. Los tejidos seleccionados para nuestro estudio son los siguientes:

- **PvYL:** Tejido de la segunda hoja trifoliada completamente expandida, en plantas provistas de fertilizante.
- **PL5:** Tejido de la hoja, recolectado 5 días después de que las plantas fueron inoculadas con *Rhizobium* efectivo.
- **PvLF:** Tejido foliar de plantas fertilizadas, recolectado 21 días después de que las plantas se inocularon con *Rhizobium*.
- **PvLE:** Tejido de la hoja, recolectado 21 días después de que las plantas fueran inoculadas con *Rhizobium* efectivo.
- **PvLI:** Tejido de la hoja, recolectado 21 días después de que las plantas fueran inoculadas con *Rhizobium* ineficaz.
- **PvYS:** Entrenudos del tallo por encima de cotiledón, recolectados en la segunda etapa trifoliada.
- **PvST:** Punta del brote, incluido el meristemo apical, recolectada en la segunda etapa trifoliada.
- **PvFY:** Flores jóvenes, recolectadas antes de la emergencia floral.
- **PvPY:** Vainas jóvenes, recolectadas de 1 a 4 días después de la senescencia floral. La muestra incluye embriones en desarrollo en etapa globular.
- **PvPH:** Vainas de aproximadamente 9 cm de largo, asociadas con semillas en la etapa de corazón (solo vaina).

- **PvP1:** Vainas de entre 10 y 11 cm de largo, asociadas con semillas de la etapa 1 (solo vaina).
- **PvP2:** Vainas de entre 12 y 13 cm de largo, asociadas con semillas de etapa (solo vaina).
- **PvSH:** Semillas en etapa de corazón, entre 3 y 4 mm de ancho y aproximadamente 7 mg.
- **PvS1:** Semillas de la etapa 1, entre 6 y 7 mm de ancho y aproximadamente 50 mg.
- **PvS2:** Semillas de la etapa 2, entre 8 y 10 mm de ancho y entre 140 y 150 mg.
- **PvRT:** Puntas de las raíces, 0.5 cm de tejido, recolectadas de plantas fertilizadas en la segunda etapa trifoliada de desarrollo.
- **PvYR:** Raíces enteras, incluidas las puntas de las raíces, recolectadas en la segunda etapa trifoliada de desarrollo.

Como lo ilustra el mapa de calor representado en la Figura 14, resulta evidente que la mayoría de los transportadores de aminoácidos (AAT) exhibieron niveles de expresión notablemente bajos, a extremadamente bajos en todos los tejidos examinados.

Dentro de la familia de transportadores de aminoácidos, poliaminas y de colina (APC), vale la pena señalar que los genes de la subfamilia CAT mostraron predominantemente una expresión notablemente baja, con las excepciones de *CAT8* y *CAT10*, que exhibieron patrones de expresión robustos, especialmente dentro de las semillas. Además, se encontró que *CAT7* se expresa, aunque modestamente, en las vainas.

Cambiando nuestro enfoque a la subfamilia de transportadores de Poliamina H⁺ (PHS), *PHS3* se destacó con un nivel de expresión particularmente alto en hojas provenientes de plantas inoculadas con rizobio. Mientras tanto, la subfamilia de transportadores de aminoácidos/Colina (ACT) generalmente mostró una expresión tenue en los tejidos de las hojas, aunque *ACT2* demostró un marcado contraste con una expresión muy alta en hojas jóvenes, mientras que *ACT3* exhibió un patrón similar, particularmente en raíces jóvenes. *ANTI* mostró un perfil de expresión versátil en todos los tejidos examinados. Por otro lado, *ATLa5* demostró una expresión elevada en hojas y raíces jóvenes, mientras que otros genes *ATLa* y *ATLb* no lograron manifestar niveles de expresión significativos.

Los genes *AAP1* y *AUX3* se destacaron como contribuyentes positivos a la expresión en la mayoría de los tejidos investigados. Los genes *AUX* mostraron un aumento en la regulación dentro de las vainas, mientras que los genes de la subfamilia de transportadores de Prolina (ProT) encontraron su nicho en brotes, vainas y hojas jóvenes. *LHT2* y *LHT13* surgieron con una expresión claramente alta en raíces y hojas jóvenes, respectivamente. Por último, la subfamilia de transportadores de ácido γ -aminobutírico (GAT) registró de manera impresionante niveles de expresión muy altos en los tejidos de las raíces.

Además, para el análisis de la localización celular de las proteínas de la superfamilia AAT, se utilizó la plataforma de predicción Plant-mPLoc (Material Complementario 2). Las proteínas de todas las subfamilias se encuentran presentes en la membrana plasmática. ACT, TTP y ProT se expresan exclusivamente ahí. CAT también en cloroplastos. Por su parte, tanto en cloroplastos como en el aparato de Golgi se predijo la presencia de proteínas de las subfamilias PHS, ATL, ANT y LHT. Además de la membrana plasmática, solamente en el aparato de Golgi también se expresan AAP y GAT. Finalmente, la única subfamilia que se predijo puede estar tanto en el núcleo como en la membrana plasmática fue AUX.

Para identificar los elementos específicos en cis dentro de la región promotora del gen ATT, se realizó un análisis en el tramo inicial de 2.0 kb de los genes ATT, utilizando la base de datos Plantpan (Material Complementario 3). Esta investigación reveló una presencia predominante de elementos en cis, en particular WRKY, AT-Hook, MYB y Homeodomain. Estos elementos desempeñan funciones fundamentales en la regulación de la expresión genética y ejercen influencias significativas en diversos procesos biológicos, que abarcan el crecimiento, el desarrollo y las respuestas al estrés tanto abiótico como biótico.

Además de estos prominentes elementos cis, surgió un espectro de otros con características recurrentes. Entre ellos destacan AP2 inducible por estrés, ERF (factor de respuesta de etileno) implicado en la regulación de procesos de desarrollo desencadenados por estímulos externos, así como NAC, C2H2 y bHLH, que participan en respuestas a patógenos, proliferación celular y procesos de desarrollo. Además, se encontraron elementos

cis como el B3 que regula el crecimiento de los órganos laterales, el elemento sensible a ABA (ABRE) que se une a bZIP, elementos asociados con el crecimiento, el desarrollo y las respuestas al estrés de las plantas como C2H2. Además, de aquellos relacionados con la señalización del calcio, como como CG-1, todos los cuales se observaron con notable frecuencia dentro de las regiones promotoras de AAT.

4.6 Ontología de genes AAT en *P. vulgaris*

Se realizó blast, mapeo y anotación de las secuencias de los genes de Transportadores de Aminoácidos (AAT) por subfamilias en Blast2GO. Los resultados se limitaron a una o dos categorías funcionales por subfamilia: GO:0003676, GO:0016021, GO:0005886 y GO:0003723 para CAT, GO:0005886 para PHS, TTP, ProT y LHT, GO:0016021 para ACT, GO:0016021 y GO:0005886 para ATL, AUX y GAT, GO:0005789 y GO:0005774 para ANT y finalmente GO:0016021, GO:0003676, GO:0005886 para AAP. Si se eliminan las redundancias, únicamente se cuenta con 6 categorías que en su mayoría son componentes celulares relacionados a membranas, seguido por funciones moleculares asociadas a procesos de ácidos nucleicos.

Se desarrolló un análisis de enriquecimiento de ontologías en la plataforma ShinyGO para identificar las rutas funcionales en las cuales se encontraban involucrados los genes, en relación con el enriquecimiento de plegamiento (Figura 15). Además, se realizó una anotación de las principales categorías GO: procesos biológicos, funciones moleculares y componentes celulares (Figura 16).

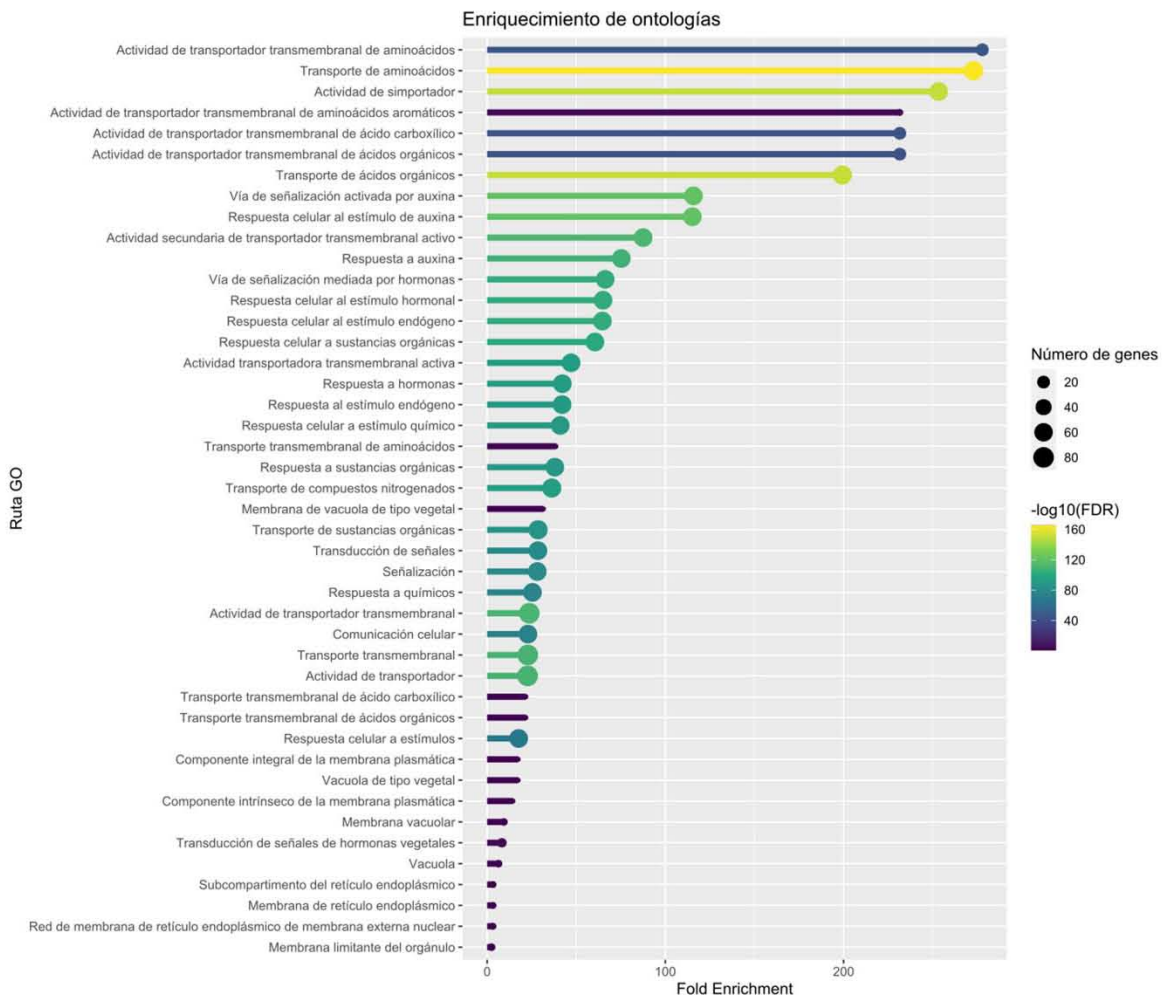


Figura 15: Enriquecimiento de ontologías de los genes de la superfamilia de Transportadores de Aminoácidos (AAT). Las rutas GO indican las categorías funcionales en las que los genes se encuentran involucrados. Las barras corresponden a los valores de enriquecimiento de plegamiento (Fold Enrichment). La escala de color indica el valor logarítmico de la tasa de falsos descubrimientos (False Discovery Rate: FDR). El tamaño del círculo de cada barra indica el número de genes que se encuentran en esa categoría en particular.

Anotación de GO

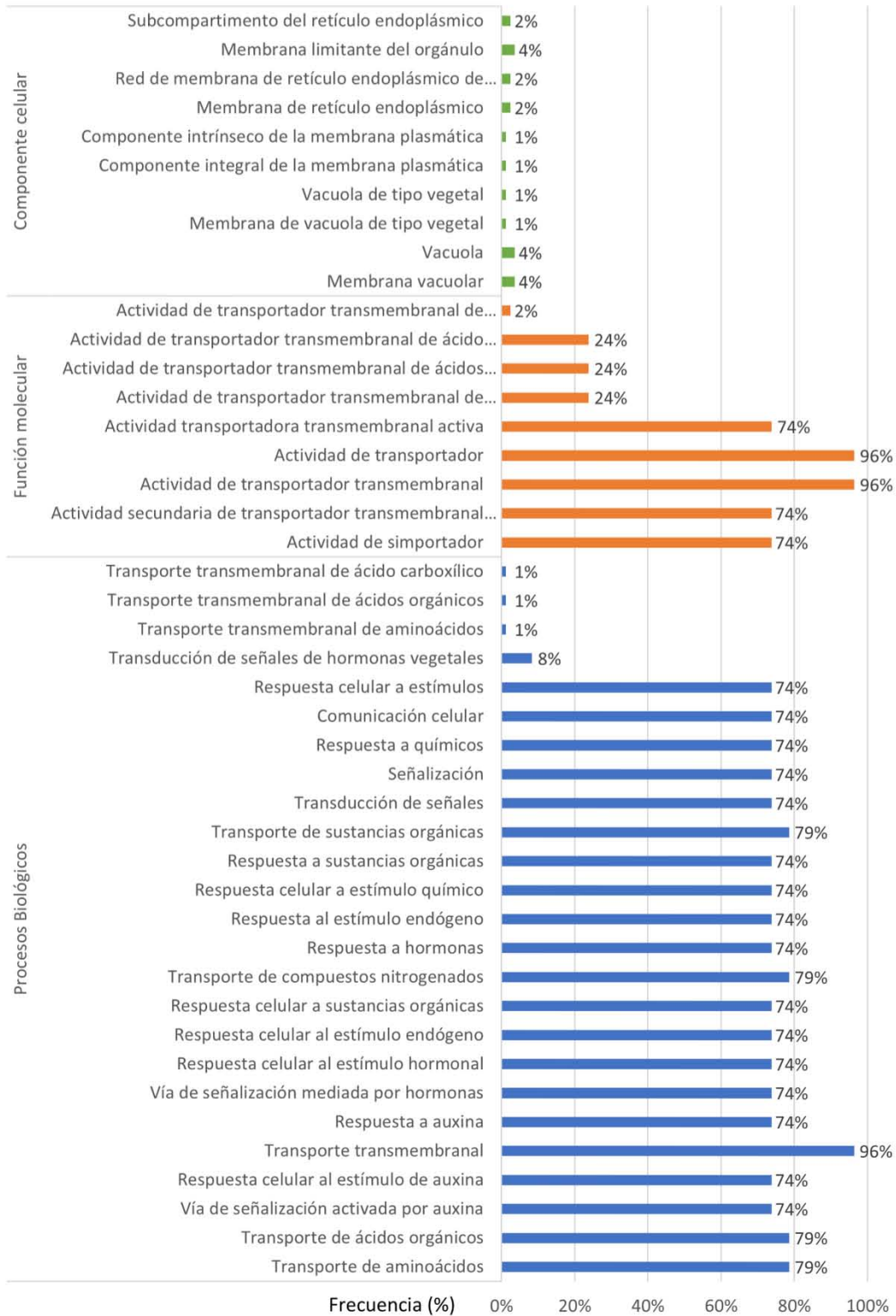


Figura 16: Anotación de categorías funcionales de los genes de Transportadores de Aminoácidos (AAT). Las categorías funcionales se dividen en tres principales: Procesos biológicos (azul), Funciones moleculares (naranja) y componentes celulares (verde). Las barras corresponden al porcentaje de frecuencia con la que los genes inciden en ella.

4.7 Analizar los perfiles de transcripción de AAT utilizando datos transcriptómicos obtenidos de raíces de *P. vulgaris* con silenciamiento *TOR*-RNAi

A partir de los datos transcriptómicos obtenidos de la literatura (Nanjareddy et al., 2016), realizamos un análisis en profundidad de los patrones de expresión exhibidos por los genes transportadores de aminoácidos (AAT) (consulte la Figura 17). En términos generales, observamos que 71 genes mostraban distintos patrones de expresión; sin embargo, cabe destacar que solo 52 de ellos exhibieron un valor significativo de cambio de expresión {[TOR-RNAi] frente a [Control]}. Para proporcionar una representación visual completa de estos hallazgos, generamos un mapa de calor que se centra específicamente en estos genes, destacando 30 que mostraron una mayor expresión y 22 que experimentaron una supresión en sus niveles de expresión (ver Figura 18).

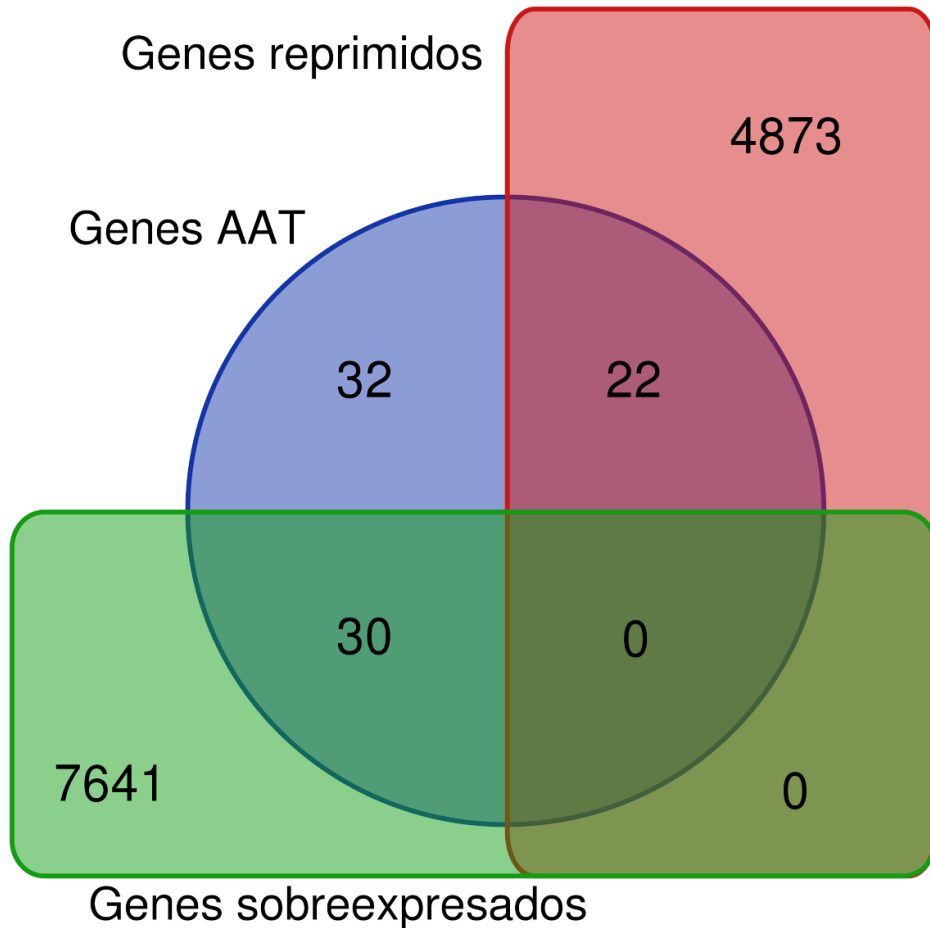


Figura 17: Diagrama de Venn de la expresión diferencial de los genes de Transportadores de Aminoácidos (AAT) (círculo azul) en presencia de TOR-RNAi. Un total de 4895 genes tuvo una represión en la expresión bajo estas condiciones (rectángulo rojo), de los cuales 22 pertenecen a la superfamilia AAT. Por su parte, 7671 genes tuvieron una sobreexpresión durante el ensayo (rectángulo verde), 30 de los cuales son AAT.

Dentro de este subconjunto de genes, observamos que la mayoría de los miembros de la subfamilia LHT presentaron niveles de expresión notablemente aumentados cuando las transcripciones *TOR* se sometieron a silenciamiento, particularmente *LHT1*, *LHT3*, *LHT5*, *LHT6*, *LHT7*, *LHT9* y *LHT11*. Curiosamente, ciertos miembros pertenecientes a las subfamilias GAT y AAP también exhibieron una mayor expresión en el grupo experimental *TOR*-RNAi en comparación con el grupo de control. Por el contrario, se identificaron AAT específicas, a saber, *CAT6*, *CAT8*, *PHS3*, *ATLa6*, *AUX5* y *AAP14*, entre los genes altamente suprimidos cuando *TOR* fue silenciado en *P. vulgaris* (como se ilustra en la Figura 18).

Expresión diferencial de AAT

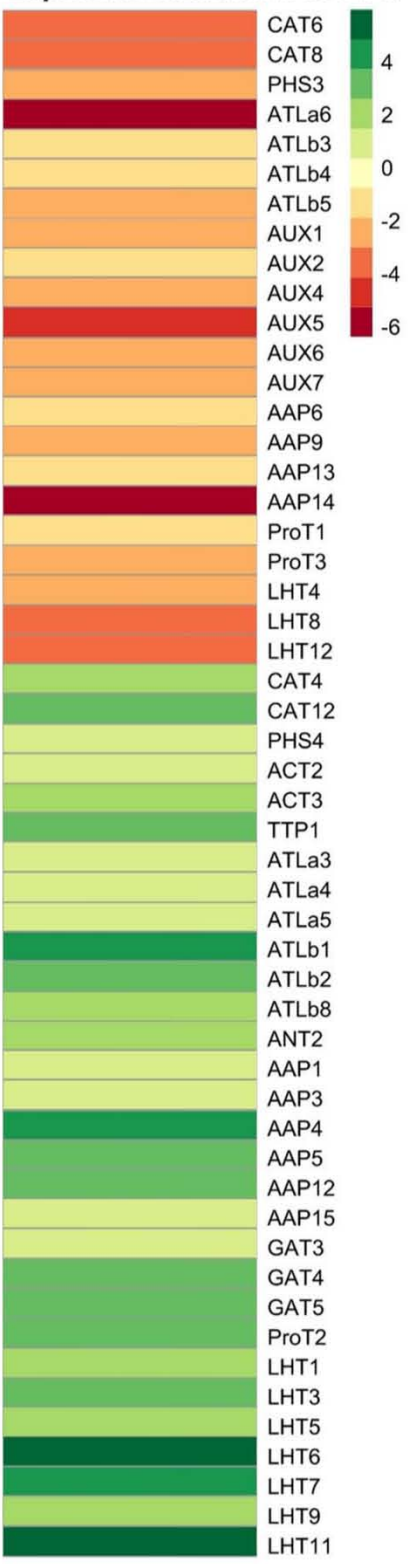


Figura 18: Mapa de calor de la expresión diferencial de los genes de Transportadores de Aminoácidos (AAT) en presencia de TOR-RNAi. Se consideraron los genes cuyo valor de Log Fold Change fuera menor a -1.0 para represión (rojo) o mayor a 1.0 para sobreexpresión (verde).

Discusión

El desarrollo de las herramientas bioinformáticas actuales ha permitido la realización de estudios cada vez más precisos en el campo de la biología molecular. Con el aumento de la población mundial. Es necesaria a creación de soluciones efectivas en materia de seguridad alimentaria. Para lograr estas soluciones, es fundamental el conocimiento de los procesos metabólicos en las plantas que como *Phaseolus vulgaris*, representan un eje para la nutrición en numerosos lugares en el mundo (Raggi et al., 2019).

De la superfamilia de transportadores de aminoácidos (AAT), se identificaron 84 genes a lo largo de la 12 subfamilias: Transportadores de Aminoácidos Catiónicos (CAT), Transportadores de Poliamina H⁺ (PHS), Transportadores de Aminoácidos/Colina (ACT), Transportadores Específicos de Tirosina (TTP), del tipo Transportador de Aminoácido (ATL) asignados a su vez en ATLa y ATLb, Transportadores de Aminoácidos aromáticos y neutros (ANT), Transportadores de Auxinas (AUX), Aminoácido Permeasas (AAP), Transportadores de Ácido γ -Aminobutírico (GAT), Transportadores de Prolina (ProT) y Transportadores de Lisina e Histidina (LHT). Se asociaron los números de identificación de los genes con el nombre correspondiente a la familia donde se encuentra. Las longitudes de los genes permanecen en su mayoría constantes por subfamilias, con algunas excepciones. Lo mismo sucede con la longitud de aminoácidos en las proteínas, debido a que esta característica suele ser similar entre los miembros de una familia de genes, dando como resultado un rango parecido en la masa molecular (Quezada et al., 2019).

Al realizar el análisis filogenético (Figura 1), es posible identificar la manera en que los genes fueron evolucionando a través de mutaciones, dando como resultado la gran variedad que tenemos actualmente. A su vez, si dos genes se encuentran estrechamente

emparentados en el árbol filogenético, muy probablemente sus características serán similares, así como su localización cromosómica. Esto es un fenómeno que puede ser ilustrado de manera más clara con el diagrama de distribución cromosómica (Figura 2), donde se puede inferir que la diversificación de la mayoría de los genes en las subfamilias fue provocada por duplicaciones de estos durante los procesos de síntesis del material genético (Bellucci et al., 2014).

Por su parte, en la estructura de los genes (Figura 3) es observable un patrón compartido entre las subfamilias en relación con la longitud de secuencias codificantes, sus exones y las regiones no traducidas. Con la similitud observada entre las proteínas de las familias TTP y ANT (Material Complementario 1) fue posible realizar otros procesos sin que el número reducido de secuencias tuviera un impacto. Además, esa matriz también confirma la similitud de características con la posición cromosómica de los genes. A su vez, los análisis de motivos de las subfamilias (Figuras 4 a 13) permitieron la identificación de Aminoácido Permeasas y Proteínas de Transporte de Aminoácidos Transmembranales como los dominios conservados predominantes en la superfamilia AAT (Marchler-Bauer et al., 2013).

Por su parte, con la plataforma Common Beam Gene Expression Atlas and Network Analysis (PvGEA) fue posible el análisis de la expresión de los genes de Transportadores de Aminoácidos (AAT) (Figura 14) en tejidos asociados con rasgos biológicamente importantes en el crecimiento de este cultivo, particularmente durante distintos estadios de su desarrollo, además, bajo distintas condiciones relacionadas al metabolismo del nitrógeno. Resalta la actividad de la subfamilia AUX, seguida por CAT, AAP, LHT y en menor medida ATL. Lo cual podría sugerir una relación entre estos genes AAT y los procesos de asociación simbiótica con hongos micorrízicos y bacterias *Rhizobium* (Nanjareddy et al., 2016).

Además, la predicción de la localización celular de las proteínas (Material Complementario 3) confirma la información de los análisis de motivos y lo reportado con respecto a la función de los Transportadores de Aminoácidos (AAT). Resalta de nuevo la subfamilia AUX como la única que puede estar no solo presente en la membrana plasmática, sino también en el núcleo celular. Por su parte, el análisis de los promotores de la superfamilia AAT (Material Complementario 3) reveló que únicamente el promotor Myb/SANT se encuentra presente en todos los genes. Este promotor se caracteriza por la presencia del dominio Myb de unión al ADN y que participa en la activación o represión de procesos celulares relacionados al metabolismo o diferenciación celular (Arratia & Aguirre, 2013).

Los resultados del blast no resultaron muy informativos pues se limitaban a únicamente 6 categorías. Además, el 85 % correspondía a componentes celulares y 15 % a funciones moleculares, excluyendo a los procesos biológicos. Se complementaron estos resultados con el enriquecimiento de la plataforma ShinyGO, de la cual se obtuvieron 44 categorías funcionales. Los valores de enriquecimiento de plegamiento coinciden en la incidencia de los genes en procesos como la actividad de transportador transmembranal de aminoácidos, transporte de aminoácidos y la actividad de simportador (Figura 15). De las 44 categorías funcionales que se obtuvieron, 57 % corresponde a procesos biológicos, 20 % a funciones moleculares y 23 % a componentes celulares, lo que contrasta la información obtenida a través del Blast. La anotación de ontologías permitió apreciar que los genes en su mayoría incidían en procesos biológicos, además de confirmar lo observado en el análisis de ontologías (Figura 16) (Cheng et al., 2016).

La comparación de la expresión diferencial de los genes AAT en condiciones del ensayo con *TOR*-RNAi permitió identificar los 52 genes cuya regulación muestra un cambio

(Figura 17). Es decir, el 62 % de los AAT cambian su expresión en ausencia de genes TOR. De los 30 que se sobreexpresaron, destacan las subfamilias ATLa, ATLb, AAP, GAT y LHT. Por su parte, de los 22 que su expresión se vio reprimida, destacan las subfamilias ATLb y AUX (Figura 18). Resalta la participación de la subfamilia AUX en las diferentes condiciones, pues en etapas fundamentales del desarrollo de las plantas, particularmente en presencia de sus asociaciones simbióticas, se encuentra sobreexpresado. Por su parte, al inhibir la expresión de los genes TOR, la expresión de la familia AUX también se reprime. De manera particular, se ha asociado la activación de *TOR* en condiciones ricas en nutrientes para promover su crecimiento (Margalha et al., 2019), por lo que la evidencia podría sugerir que juega un papel importante en el metabolismo del nitrógeno.

Es fundamental continuar con el desarrollo de nuevas investigaciones que permitan una visión más integral de las complejas redes de interacción entre el medio ambiente y las plantas con el fin de tener las herramientas necesarias para afrontar los retos que presenta el aumento en la temperatura global provocado por el cambio climático.

Conclusiones

Este estudio exhaustivo ha arrojado una luz significativa sobre la superfamilia de transportadores de aminoácidos (AAT) en el genoma de *Phaseolus vulgaris*, lo que proporciona una base sólida para futuras investigaciones y comprensión de los procesos metabólicos en esta planta esencial para la seguridad alimentaria mundial. A continuación, resumimos las principales conclusiones de este estudio: Se identificaron y clasificaron un total de 84 genes de la superfamilia AAT en el genoma de *P. vulgaris*, distribuyéndolos en 12 subfamilias distintas, que incluyen CAT, PHS, ACT, TTP, ATL, ANT, AUX, AAP, GAT, ProT y LHT. Esta clasificación proporciona una visión detallada de la diversidad genética en esta planta. El análisis filogenético reveló la categorización de las proteínas AAT en 11 clados distintos, lo que refleja la diversificación evolutiva de estas subfamilias y arroja luz sobre los patrones de diferenciación genética en la superfamilia AAT. Los genes AAT se distribuyeron de manera heterogénea en los 11 cromosomas de *P. vulgaris*, con algunas tendencias notables, como la acumulación de genes en los extremos externos de los brazos cromosómicos. Esto sugiere eventos de duplicación genética y reordenamientos cromosómicos durante la evolución de estos genes. Se identificaron estructuras y motivos conservados en las secuencias de proteínas AAT, lo que proporciona información valiosa sobre la función potencial de estos genes en el transporte de aminoácidos. Se analizó la expresión de genes AAT en varios tejidos de *P. vulgaris*. La mayoría de los genes mostraron niveles bajos de expresión, con algunas excepciones notables, como *CAT8* y *CAT10*, que exhibieron patrones de expresión robustos en semillas. Se predijo que las proteínas AAT se localizan principalmente en la membrana plasmática, aunque algunas también se encuentran en el aparato de Golgi y otros organelos, lo que sugiere su participación en procesos de

transporte celular. Se identificaron elementos cis específicos en las regiones promotoras de los genes AAT, incluyendo elementos relacionados con la regulación de la expresión génica y respuestas a estímulos externos. El análisis de ontologías reveló que los genes AAT están involucrados en una variedad de procesos biológicos, funciones moleculares y componentes celulares, destacando su importancia en el transporte de aminoácidos y otras funciones celulares. Por su parte, el análisis de expresión diferencial en respuesta al silenciamiento de *TOR*-RNAi identificó 52 genes cuya regulación se modifica significativamente. Esto sugiere un papel importante de *TOR* en la regulación de la expresión de genes AAT y, posiblemente, en el metabolismo del nitrógeno en *P. vulgaris*.

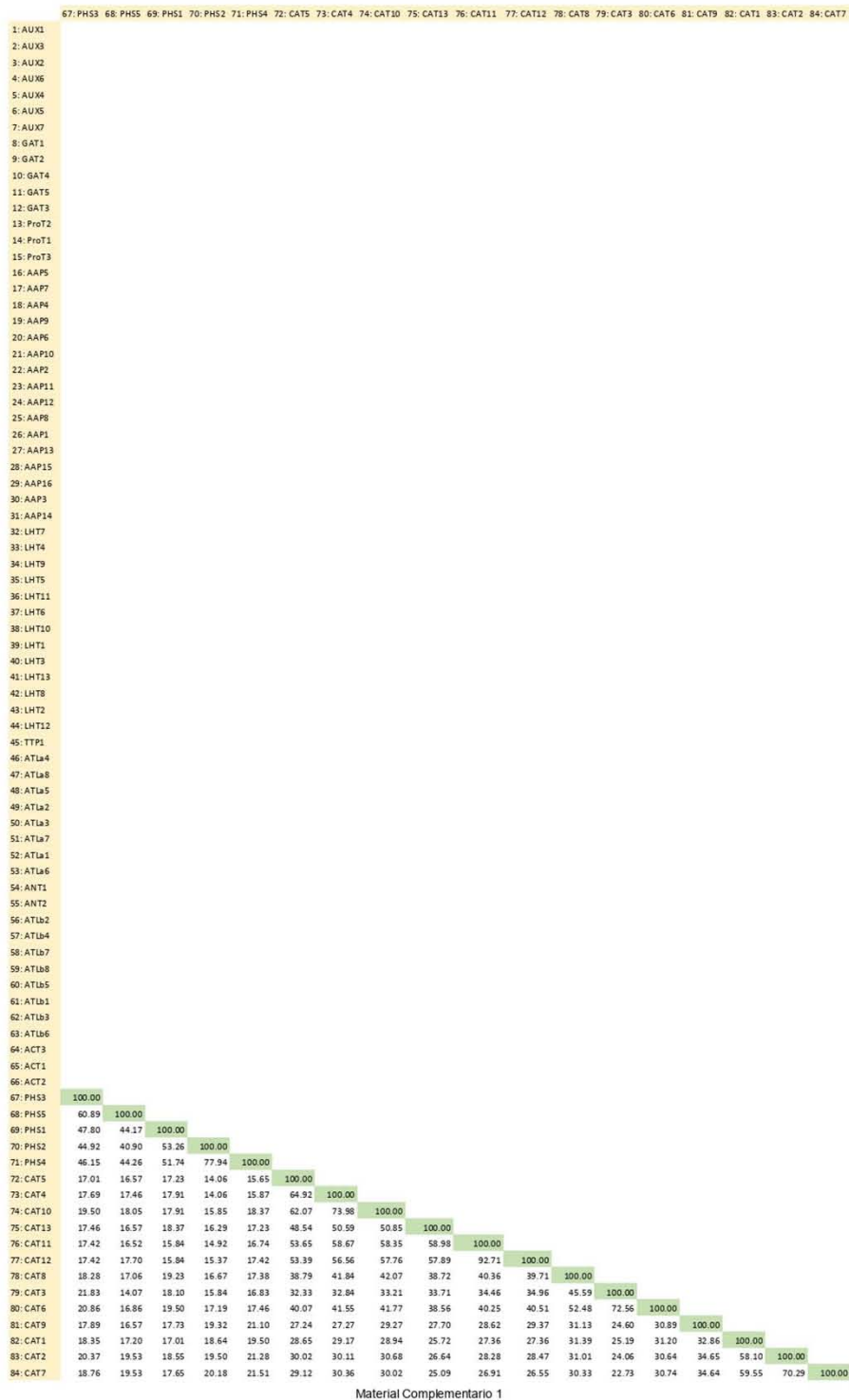
En conjunto, estos hallazgos proporcionan una visión integral de la superfamilia AAT en *P. vulgaris* y establecen una base sólida para futuras investigaciones sobre la función de estos genes en el contexto de la nutrición vegetal y la respuesta a condiciones ambientales cambiantes. Este conocimiento es esencial para abordar los desafíos alimentarios globales y adaptar las prácticas agrícolas a un entorno cambiante debido al cambio climático.

Anexos

- Material Complementario 1: Matriz de porcentaje de identidad de proteínas AAT.
- Material Complementario 2: Localización subcelular de las proteínas AAT.
- Material Complementario 3: Identificación de los promotores de genes AAT.

	1: AUX1	2: AUX3	3: AUX2	4: AUX6	5: AUX4	6: AUX5	7: AUX7	8: GAT1	9: GAT2	10: GAT4	11: GAT5	12: GAT3	13: ProT2	14: ProT1	15: ProT3	16: AAP5	17: AAP7	18: AAP4	19: AAP9	20: AAP6	21: AAP10	22: AAP2	
1: AUX1	100.00																						
2: AUX3	89.71	100.00																					
3: AUX2	82.77	84.55	100.00																				
4: AUX6	81.68	83.05	88.25	100.00																			
5: AUX4	68.47	69.10	68.79	72.44	100.00																		
6: AUX5	75.91	77.20	76.77	77.37	77.63	100.00																	
7: AUX7	76.01	76.16	76.41	78.36	81.76	84.91	100.00																
8: GAT1	20.67	19.47	19.14	20.38	21.43	20.63	21.65	100.00															
9: GAT2	22.46	20.57	22.43	21.93	20.82	21.05	22.49	46.21	100.00														
10: GAT4	21.88	20.57	20.05	20.57	21.11	20.05	21.88	47.72	61.87	100.00													
11: GAT5	20.81	19.62	20.57	20.53	21.03	20.29	21.98	47.20	59.43	94.00	100.00												
12: GAT3	19.50	18.50	18.11	17.66	18.48	18.80	19.25	31.50	33.26	34.74	32.39	100.00											
13: ProT2	13.97	13.24	14.29	15.16	14.25	14.81	15.31	25.53	26.54	25.25	25.23	26.70	100.00										
14: ProT1	15.40	15.65	14.84	15.61	15.04	14.36	16.09	27.74	28.90	28.75	27.42	30.28	40.55	100.00									
15: ProT3	16.43	16.43	16.15	17.00	16.95	17.00	17.56	28.57	30.42	30.16	31.75	31.58	41.10	81.46	100.00								
16: AAP5	17.60	18.09	17.96	18.09	18.14	18.02	18.32	21.46	22.01	23.62	23.76	26.00	21.84	19.66	21.10	100.00							
17: AAP7	18.33	18.97	18.91	19.29	19.00	18.89	18.89	20.06	19.38	21.10	21.36	23.64	20.00	18.30	19.29	93.80	100.00						
18: AAP4	19.02	18.29	18.40	17.80	19.35	18.97	19.26	22.90	23.72	25.19	25.23	24.63	21.88	19.32	21.25	74.78	70.14	100.00					
19: AAP9	20.00	19.76	19.85	20.00	20.10	20.44	19.75	22.12	23.13	24.31	24.88	25.94	19.61	21.07	23.22	71.30	66.10	77.22	100.00				
20: AAP6	16.14	16.87	17.23	17.36	16.88	18.27	17.08	21.13	23.36	22.92	22.54	24.57	19.04	19.28	21.25	55.04	49.58	54.66	55.80	100.00			
21: AAP10	18.29	19.51	19.85	20.24	20.35	20.20	20.74	19.67	21.91	22.36	22.01	24.81	21.20	18.31	19.89	54.05	50.99	54.11	54.80	67.89	100.00		
22: AAP2	16.97	16.97	18.35	19.35	19.72	17.29	19.72	18.58	19.91	21.78	21.33	22.64	15.38	20.09	22.47	39.26	40.00	40.91	42.15	38.02	38.43	100.00	
23: AAP11	18.55	17.83	16.79	18.12	17.20	17.96	17.96	23.38	23.04	26.04	25.17	24.94	19.76	23.87	24.87	45.39	40.62	46.39	44.64	41.41	40.22	70.00	
24: AAP12	19.18	18.47	18.57	18.94	17.69	18.89	18.93	22.07	21.28	25.06	24.83	25.37	20.85	21.80	23.53	42.70	39.27	42.83	42.39	38.95	38.21	59.50	
25: AAP8	20.39	20.39	20.39	19.65	19.85	20.15	25.29	25.99	27.41	27.67	24.75	20.10	23.57	25.27	48.46	43.34	48.58	47.70	45.37	46.59	47.52		
26: AAP1	17.99	18.47	18.42	19.18	18.43	18.40	18.93	22.76	22.07	23.59	23.79	25.85	20.00	22.75	23.53	49.34	44.23	49.24	50.54	48.03	45.65	50.00	
27: AAP13	17.03	17.51	16.99	18.47	17.69	17.68	17.48	21.38	21.38	23.34	23.79	26.59	20.00	22.51	23.80	47.82	41.97	48.80	51.20	47.59	43.44	49.59	
28: AAP15	19.42	19.66	20.48	19.66	18.43	18.16	19.17	22.53	22.65	24.82	24.60	25.61	20.14	22.51	24.33	47.92	42.05	48.69	49.78	45.27	42.68	45.87	
29: AAP16	18.23	17.99	19.52	18.94	18.67	17.19	18.93	23.22	24.49	26.04	25.75	25.37	22.04	22.75	25.67	49.34	43.30	50.98	50.98	48.46	41.91	46.47	
30: AAP3	18.55	18.55	18.99	19.52	18.02	18.00	18.78	23.50	23.56	25.55	24.77	27.32	19.29	21.56	24.40	49.12	45.33	51.86	50.98	46.48	43.38	44.21	
31: AAP14	18.23	18.03	18.47	19.47	17.98	18.20	17.76	22.12	26.47	26.44	26.44	28.71	20.90	22.46	24.80	50.88	46.46	51.86	52.52	47.80	45.99	46.28	
32: LHT7	19.51	19.01	18.67	19.70	18.99	18.70	18.75	25.35	27.61	28.32	27.51	27.70	21.53	23.75	22.97	24.53	20.68	24.65	24.94	26.06	25.06	24.02	
33: LHT4	20.10	19.11	19.01	19.31	19.59	19.05	19.85	23.71	27.04	26.63	25.65	29.14	22.65	24.88	24.66	26.78	23.29	27.59	27.42	27.96	27.19	21.59	
34: LHT9	18.78	18.27	18.02	18.32	18.04	17.77	18.07	23.44	26.56	27.64	27.27	28.61	23.41	24.82	25.75	26.99	23.17	27.34	30.05	27.47	27.64	24.22	
35: LHT5	18.84	18.59	19.10	20.65	18.56	18.53	18.07	26.54	27.01	27.14	26.13	28.36	24.27	26.51	26.83	26.49	21.63	27.08	28.81	27.45	27.62	23.79	
36: LHT11	17.15	17.39	18.38	18.55	18.32	17.60	17.60	26.51	28.34	28.32	27.23	29.71	23.24	25.59	25.95	28.04	24.23	27.91	28.44	27.67	26.82	22.51	
37: LHT6	18.34	18.09	19.08	19.27	18.55	18.32	18.81	27.40	26.71	26.63	26.61	29.54	21.41	25.65	26.83	27.12	23.60	27.93	29.88	27.46	26.74	23.79	
38: LHT10	19.80	20.05	20.53	21.71	18.80	19.06	19.31	27.51	27.40	27.89	27.98	29.06	22.59	26.59	27.64	26.42	22.98	27.23	28.71	27.00	26.23	22.03	
39: LHT1	19.51	20.00	20.54	20.94	18.48	19.20	19.50	25.41	25.87	26.38	26.74	26.54	19.81	25.00	24.12	26.89	22.67	26.29	27.53	26.06	24.59	21.59	
40: LHT3	17.53	18.02	18.09	18.97	18.73	17.96	17.75	24.71	25.40	26.38	25.12	26.54	24.43	23.57	23.58	27.36	23.29	27.70	28.24	25.59	25.87	22.47	
41: LHT13	16.83	17.07	16.03	17.99	17.49	16.26	16.79	20.55	22.02	20.94	20.68	25.48	19.72	20.75	22.79	21.25	21.15	22.37	22.12	22.02	20.71	20.85	
42: LHT8	19.23	18.75	18.29	18.71	17.49	18.00	18.25	24.37	21.48	22.08	21.49	25.72	18.65	18.46	20.27	20.56	19.44	21.25	20.75	22.27	21.44	21.40	
43: LHT2	17.27	17.27	16.11	16.50	15.46	16.50	16.01	21.56	22.22	22.77	21.41	23.54	18.59	20.05	21.83	19.53	17.54	20.00	19.95	22.17	21.83	19.57	
44: LHT12	17.31	16.83	15.91	17.03	17.00	16.06	17.03	22.07	23.04	23.82	22.62	27.16	20.05	22.43	23.78	20.14	18.32	21.53	21.26	22.79	20.63	18.94	
45: TTP1	12.95	13.77	13.70	15.07	15.45	13.50	14.05	15.43	15.20	15.56	16.00	13.02	10.80	12.47	12.88	14.03	14.97	15.68	14.81	15.28	14.68	13.57	
46: ATL4a	14.65	12.85	13.27	13.55	12.34	13.11	12.63	15.16	15.69	16.23	15.20	17.05	14.72	14.72	15.80	16.87	14.92	16.75	16.39	16.35	15.19	16.22	
47: ATL8a	14.21	14.73	14.21	13.70	14.14	13.95	12.40	16.63	15.92	15.06	15.67	19.85	13.66	16.75	16.52	16.83	15.09	16.71	17.80	15.82	16.98	16.44	
48: ATL5a	17.31	17.05	15.76	16.28	16.23	15.76	14.99	15.38	16.17	15.32	15.42	20.62	13.40	14.43	15.10	18.78	17.61	17.92	18.29	16.79	16.78	15.53	
49: ATL2a	14.69	13.92	12.89	12.63	13.28	13.66	12.89	16.05	14.36	14.69	15.10	18.72	12.56	16.92	15.25	17.80	16.67	17.15	16.79	17.48	16.27	13.70	
50: ATL3a	16.10	15.32	15.32	13.77	14.47	14.29	13.77	15.21	14.25	14.66	14.50	17.88	11.14	14.51	15.14	17.36	15.77	16.02	17.11	15.85	15.40	13.24	
51: ATL7a	14.96	13.91	14.96	14.70	14.44	16.01	15.22	15.96	15.50	16.71	16.75	18.65	13.99	15.03	14.61	13.48	12.66	13.38	14.71	17.11	15.95	17.89	
52: ATL1a	15.30	14.51	15.30	15.04	13.40	13.98	14.78	14.65	15.10	15.15	17.11	15.10	14.32	13.43	16.67	14.56	16.06	17.40	16.22	17.27	16.44		
53: ATL6a	14.59	14.59	15.12	15.65	14.86	14.59	14.85	12.41	14.72	15.45	15.48	19.37	14.14	12.30	12.93	17.49	14.97	17.11	17.24	18.02	16.87	14.16	
54: ANT1	14.91	13.28	14.09	13.55	16.02	13.82	14.63	19.74	17.68	16.76	17.15	19.51	18.48	17.98	18.18	17.01	18.00	16.37	17.53	16.02	18.30	17.96	
55: ANT2	16.67	16.13	16.35	16.09	17.45	17.39	18.48	18.64	19.47	19.61	19.26	17.73	15.45	15.50	18.25	17.28	19.13	19.28	18.81	17.99	17.97	17.67	
56: ATL2b	14.14	13.37	15.78	13.78	14.74	13.51	14.84	13.76	17.24	16.80	16.79	16.32	13.08	15.52	16.67	16.54	14.10	15.89	17.73	16.95	15.24	13.64	

	23: AAP11	24: AAP12	25: AAP8	26: AAP1	27: AAP13	28: AAP15	29: AAP16	30: AAP3	31: AAP4	32: LHT7	33: LHT4	34: LHT9	35: LHT5	36: LHT11	37: LHT6	38: LHT10	39: LHT1	40: LHT3	41: LHT13	42: LHT8	43: LHT2	44: LHT12	
1: AUX1																							
2: AUX3																							
3: AUX2																							
4: AUX6																							
5: AUX4																							
6: AUX5																							
7: AUX7																							
8: GAT1																							
9: GAT2																							
10: GAT4																							
11: GAT5																							
12: GAT3																							
13: ProT2																							
14: ProT1																							
15: ProT3																							
16: AAP5																							
17: AAP7																							
18: AAP4																							
19: AAP9																							
20: AAP6																							
21: AAP10																							
22: AAP2																							
23: AAP11	100.00																						
24: AAP12	76.33	100.00																					
25: AAP8	50.65	45.59	100.00																				
26: AAP1	50.11	46.60	62.02	100.00																			
27: AAP13	50.75	45.96	61.16	85.23	100.00																		
28: AAP15	49.25	45.30	54.55	54.89	54.72	100.00																	
29: AAP16	52.16	49.04	55.10	56.50	57.77	70.72	100.00																
30: AAP3	48.28	46.47	55.27	59.24	59.62	61.57	63.88	100.00															
31: AAP4	48.92	45.40	55.48	57.96	59.83	64.33	61.68	69.36	100.00														
32: LHT7	27.61	27.19	29.17	30.18	28.34	27.02	27.48	27.84	25.93	100.00													
33: LHT4	25.93	25.29	29.14	27.61	27.61	26.74	27.91	27.34	28.21	52.06	100.00												
34: LHT9	27.19	26.65	28.07	29.48	29.01	28.37	29.79	27.42	29.25	52.46	81.78	100.00											
35: LHT5	28.87	27.34	29.67	29.67	28.04	27.87	27.40	27.17	27.10	52.20	55.32	56.54	100.00										
36: LHT11	27.36	25.34	29.95	30.37	29.28	27.58	28.70	29.06	28.31	50.68	58.31	56.78	66.67	100.00									
37: LHT6	28.54	26.04	29.77	29.49	29.03	28.21	27.98	28.01	27.02	53.30	59.27	59.11	71.06	73.39	100.00								
38: LHT10	27.61	26.27	29.30	29.86	28.94	27.94	28.18	27.97	27.91	52.39	57.89	57.71	71.53	77.01	83.04	100.00							
39: LHT1	28.07	25.58	28.60	29.63	28.94	26.33	27.71	24.71	26.28	49.89	52.05	52.80	59.72	63.88	66.52	66.06	100.00						
40: LHT3	25.99	23.96	29.53	29.56	28.18	26.44	27.36	25.29	26.85	50.57	55.48	53.74	63.66	64.94	67.12	68.33	69.75	100.00					
41: LHT13	20.63	19.37	23.36	22.47	22.12	20.57	19.62	20.90	20.62	28.70	34.47	35.13	32.71	34.15	34.62	34.39	33.18	32.95	100.00				
42: LHT8	21.97	20.23	23.04	22.00	22.10	22.35	22.93	22.44	23.25	32.95	36.93	39.06	34.50	36.12	37.05	37.30	35.23	35.97	48.14	100.00			
43: LHT2	21.18	19.91	22.94	20.54	20.89	20.52	20.54	21.46	19.91	28.31	33.56	36.62	35.81	35.54	34.75	35.44	33.18	34.39	48.25	56.67	100.00		
44: LHT12	21.56	19.59	23.33	22.05	21.70	21.10	20.59	21.67	21.51	30.89	35.78	38.12	34.27	34.14	35.27	35.51	33.86	33.48	51.84	57.20	58.12	100.00	
45: TTP1	12.99	14.29	14.55	14.73	13.71	13.16	13.83	14.09	12.24	15.45	15.57	15.62	14.79	14.44	15.26	14.17	13.35	13.90	16.67	15.50	14.96	15.11	
46: ATLa4	16.35	16.03	17.95	17.62	16.51	14.69	15.45	15.29	14.08	17.27	16.96	17.72	17.27	18.16	16.17	18.91	17.91	16.48	14.38	16.22	14.95		
47: ATLa6	16.71	16.22	17.92	16.87	16.11	16.16	15.70	17.27	17.51	18.05	16.54	16.11	16.37	16.26	16.67	15.91	18.18	16.67	14.94	12.09	13.69	13.15	
48: ATLa5	15.98	16.95	18.16	17.39	16.63	14.55	14.91	17.62	15.48	18.80	18.07	16.62	17.90	17.00	16.41	17.17	17.93	18.43	17.05	12.94	14.94	15.59	
49: ATLa2	15.62	15.38	19.52	16.55	16.51	15.38	15.72	16.08	16.31	17.50	18.27	15.27	18.32	16.95	17.88	17.63	18.64	19.90	15.37	11.24	15.79	13.82	
50: ATLa3	13.83	14.81	17.96	15.01	14.52	14.59	14.02	15.75	15.04	17.63	17.14	16.41	17.95	16.58	17.77	16.75	17.51	17.77	16.67	11.82	15.24	12.53	
51: ATLa7	16.06	13.87	16.30	16.22	16.55	13.30	15.06	15.14	16.35	18.09	19.39	18.21	16.92	18.07	19.24	18.99	19.49	18.73	14.73	14.66	16.39	13.80	
52: ATLa1	18.29	15.37	15.09	16.06	14.94	13.37	14.25	15.25	15.26	17.56	16.92	15.90	16.67	18.30	19.74	17.44	20.00	19.49	14.18	13.24	15.05	13.76	
53: ATLa6	15.69	15.44	16.38	17.11	16.71	14.87	14.32	16.79	17.52	17.14	18.30	16.24	14.95	17.38	17.01	15.46	16.75	17.53	17.63	15.02	16.34	16.05	
54: ANT1	16.67	15.38	17.39	19.18	19.44	17.18	17.95	16.41	18.21	20.59	19.30	20.11	19.84	19.41	18.77	19.84	18.77	18.23	14.92	16.62	16.54	16.05	
55: ANT2	19.69	18.37	17.35	18.11	18.37	18.67	20.46	17.14	16.37	20.95	18.83	19.03	19.63	19.05	18.57	19.63	18.04	17.77	17.39	14.84	17.10	16.36	
56: ATLa2	15.16	14.81	15.40	16.46	15.71	16.00	16.82	15.95	15.80	16.38	18.84	18.21	20.56	17.76	18.45	18.45	20.45	18.45	14.94	15.05	16.22	14.02	
57: ATLa4	15.23	13.89	15.44	16.88	16.17	15.96	17.98	17.29	15.04	17.53	20.00	19.10	20.21	20.97	20.47	20.47	20.21	19.95	16.63	14.25	16.91	15.31	
58: ATLa7	16.71	14.90	16.96	16.88	17.82	16.38	17.88	16.54	16.63	18.86	18.44	18.52	19.90	20.51	20.78	20.52	18.96	19.74	14.80	14.62	15.72	16.23	
59: ATLa8	15.43	12.17	15.65	17.41	17.88	16.20	17.48	17.41	16.89	18.06	19.67	20.11	17.96	20.90	20.33	20.05	18.43	18.97	15.74	14.73	15.64	17.18	
60: ATLa5	17.34	15.46	18.25	17.41	17.89	17.19	16.97	17.07	18.38	18.78	20.00	18.85	20.47	19.15	18.88	19.90	20.01	20.66	18.49	17.08	18.80	17.81	
61: ATLa1	17.41	17.57	15.25	14.48	13.82	16.50	18.79	16.07	15.29	18.62	18.53	17.99	20.57	17.45	18.75	18.75	20.86	17.71	17.42	17.06	17.36	17.31	
62: ATLa3	13.73	13.96	13.68	13.59	14.56	14.95	15.00	12.30	12.62	17.61	18.86	16.84	20.34	18.77	20.07	20.07	17.73	18.39	15.79	17.14	18.01	17.73	
63: ATLa6	17.21	15.88	16.92	16.83	16.55	16.35	18.43	16.02	15.04	19.54	20.72	18.96	19.28	19.65	18.37	19.39	19.90	18.88	16.82	15.19	17.06	17.70	
64: ACT3	12.36	12.29	10.61	12.29	13.09	13.17	14.33	14.29	12.85	12.75	11.66	11.21	9.91	12.39	10.50	10.79	11.42	9.91	11.67	9.63	11.86	12.54	
65: ACT1	13.11	12.46	12.46	11.58	11.52	11.58	12.18	10.73	11.55	15.00	13.91	14.07	12.43	14.04	12.13	13.02	12.99	12.72	10.22	11.83	10.70	11.90	
66: ACT2	12.54	12.18	12.18	13.84	12.92	12.43	13.60	11.30	12.11	14.12	12.72	13.77	11.24	13.45	12.13	13.02	11.86	11.24	10.86	11.93	11.08	12.29	
67: PH53	14.70	14.08	16.09	16.33	15.28	14.86	13.75	15.14	13.96	13.31	14.24	15.13	14.84	14.12	13.95	13.35	10.98	12.46	12.00	11.30	9.86	11.56	
68: PH55	15.12	12.40	13.95	12.02	11.58	12.79	12.84	13.95	12.79	13.25	10.93	12.15	13.77	12.00	14.90	12.96	14.45	14.17	10.94	5.58	7.94	9.13	
69: PH51	12.29	11.11	14.94	12.25	12.22	13.68	12.29	13.96	14.49														



Material Complementario 1

Material Complementario 1: Matriz de porcentaje de identidad de proteínas de los Transportadores de Aminoácidos (AAT) (4/4). Se consideraron los aminoácidos reportados en Phytozome (<https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>) y se obtuvo una matriz a través de la plataforma Clustal Omega (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>).

Gene	Subcellular Localization
CAT1	Plasma membrane. Chloroplast.
CAT2	Plasma membrane.
CAT3	Chloroplast.
CAT4	Plasma membrane.
CAT5	Plasma membrane.
CAT6	Plasma membrane.
CAT7	Plasma membrane.
CAT8	Plasma membrane.
CAT9	Plasma membrane.
CAT10	Plasma membrane.
CAT11	Plasma membrane.
CAT12	Plasma membrane.
CAT13	Plasma membrane.
PHS1	Plasma membrane.
PHS2	Plasma membrane.
PHS3	Plasma membrane.
PHS4	Plasma membrane.
PHS5	Chloroplast. Golgi apparatus.
ACT1	Plasma membrane.
ACT2	Plasma membrane.
ACT3	Plasma membrane.
TTP1	Plasma membrane.
ATLa1	Plasma membrane. Golgi apparatus.
ATLa2	Plasma membrane. Chloroplast. Golgi apparatus.
ATLa3	Golgi apparatus.
ATLa4	Golgi apparatus.
ATLa5	Golgi apparatus.
ATLa6	Chloroplast.
ATLa7	Chloroplast.
ATLa8	Plasma membrane. Chloroplast. Golgi apparatus.
ATLb1	Plasma membrane. Golgi apparatus.
ATLb2	Plasma membrane. Golgi apparatus.
ATLb3	Plasma membrane.
ATLb4	Plasma membrane. Golgi apparatus.
ATLb5	Plasma membrane. Chloroplast.
ATLb6	Plasma membrane. Golgi apparatus.
ATLb7	Chloroplast.
ATLb8	Plasma membrane. Chloroplast. Golgi apparatus.
ANT1	Plasma membrane. Golgi apparatus.
ANT2	Plasma membrane. Chloroplast. Golgi apparatus.
AUX1	Plasma membrane.
AUX2	Plasma membrane.
AUX3	Plasma membrane.
AUX4	Nucleus.
AUX5	Plasma membrane.

Gene	Subcellular Localization
AUX6	Plasma membrane.
AUX7	Plasma membrane.
AAP1	Plasma membrane. Golgi apparatus.
AAP2	Plasma membrane.
AAP3	Golgi apparatus.
AAP4	Golgi apparatus.
AAP5	Golgi apparatus.
AAP6	Plasma membrane.
AAP7	Plasma membrane.
AAP8	Golgi apparatus.
AAP9	Golgi apparatus.
AAP10	Plasma membrane. Golgi apparatus.
AAP11	Plasma membrane.
AAP12	Plasma membrane.
AAP13	Golgi apparatus.
AAP14	Plasma membrane.
AAP15	Golgi apparatus.
AAP16	Golgi apparatus.
GAT1	Plasma membrane. Golgi apparatus.
GAT2	Plasma membrane.
GAT3	Golgi apparatus.
GAT4	Plasma membrane. Golgi apparatus.
GAT5	Plasma membrane.
ProT1	Plasma membrane.
ProT2	Plasma membrane.
ProT3	Plasma membrane.
LHT1	Plasma membrane.
LHT2	Plasma membrane.
LHT3	Plasma membrane. Golgi apparatus.
LHT4	Golgi apparatus.
LHT5	Golgi apparatus.
LHT6	Golgi apparatus.
LHT7	Golgi apparatus.
LHT8	Plasma membrane.
LHT9	Golgi apparatus.
LHT10	Golgi apparatus.
LHT11	Golgi apparatus.
LHT12	Plasma membrane.
LHT13	Plasma membrane. Chloroplast.

Material Complementario 2: Localización subcelular de las proteínas de los Transportadores de Aminoácidos (AAT). Se consideraron los aminoácidos reportados en Phytozome (<https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>) y se obtuvo su localización a través de la plataforma Plant-mPLOC (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/>).

Gene name	AP2, B3	AP2, ERF	AP2	AT-Hook	B3	bHLH	bZIP	bZIP ; Homeodomain ; HD-ZIP	C2H2	Cg-1	TCR	E2F, E2F/Dp	EN3	GATA	GRAS	Homeodomain	Homeodomain ; HD-ZIP	LOB	MADF	MADS box	Myb/SANT	NAC ; NAM	SBP	Sox	TCP	TBP	WRKY	(Others)
CAT1	3			19	1	30	8		5		4	4	7	19	2		1	3	24	7	2	1		8	19			
CAT2	3			19			4		4		3	4	9	12	2		2	4	35	8		1	8	8	8	8		
CAT3												1	2					1		1								
CAT4	2		1	20		1	6	2	4		4	1	3	13	2				30	6	14				9	21		
CAT5	1	1	9	17	1	1	9	2	3		4	6	3	15	2			2	21	3	1	1	1	1	9	21	1	
CAT6			1	15		3	12		4		4	6	12	16	2			3	6	17	3	9	1	1	8	17		
CAT7	1			19	1	4	8	2	4		4	6	3	7	2	1		6	5	25	6	2		1	8	14		
CAT8	1			19		29	8	2	6		4	3	1	17	2			8	2	18	1	2	1	1	8			
CAT9	1			19		28	11		4		4	2	3	17	2			1	3	15	2	2			7	16	1	
CAT10	3			19		1	6	2	4		4	5	3	13	2			7	5	27	2	1	1	1	8	20		
CAT11		1	6	17	2	2	3	2	4		4	2	11	20	1			7	4	31	2	1		2	5	21		
CAT12	1			16	1	30	13	2	4		4	2	10	18	2			4	3	31	2		1	2	7	21	1	
CAT13	3	1	5	19	1	2	15		2		4	5	8	21	2			6	4	22	2	8	1		9	10		
PHS1				18	2	1	4		6		4	2	8	20	2			4	10	23	2		1		9	22	1	
PHS2	1	1	10	19	2	30	9		4		4	1	11	11	1			2	5	30	1				9			
PHS3	1			19		31	9	2	4		4		4	17	2			8	3	23	8	2	1	1	8	14	1	
PHS4	3			13		1	11	2	3		4	4	8	11	2			7	10	28	2	1		2	8	2	1	
PHS5	3		4	17	2	3	11	2	5		4	5	7	21	2	1		6	3	32	3	1		6	9	27	1	
ACT1				19		3	10		2		3	2		12	2			2	3	8	4	1		6	8	21	1	
ACT2	1	1	6	19	1	29	16	2	3		4			19	2	1			3	25	4		1		9	27	1	
ACT3	3			18	1	2	5	2	5		4	5		19	2			5	1	33	3		1		8	26		
TTP1	3			19	1		4	2	3		3	2	1	12	2				3	15	1	1	1	1	6	7	6	1
ATLa1				20	1		11	2	3		4	4	7	21	2				2	27	2		1		9	17	1	
ATLa2	3			19		2	3		3		4	1	11	1	18	2		7	6	31	4	13	1		8	8		
ATLa3	2	1	8	17		2	15	2	3		4	1	10	1	17	2		5	3	26	4	17	1	1	8	18		
ATLa4				19	1	3	9	2	4		4	5	11	1	13	2		8	2	28	4	17		1	9	27		
ATLa5	3	1	6	18	3	6	1	2	4		4	3		13	2	1		8	32	15	1	1			8	1		
ATLa6	2			10		4	16		3		4	5	5	1	19	2	1	9	1	15	3	16	1	8	8	16		
ATLa7			3	19	2	29	17	2	3		4	3	9	23	2			7	3	24	3	1	1	1	9	26	1	
ATLa8	4			16	1		1	2	4		4	1	6	12	2			9	2	11	2	16		1	7	9	1	
ATLb1	2			18		30	11	2	2		4	1	6	8	19	2		1	2	18	2	1		6	9	16		
ATLb2	5	1	8	17	1	11	15	2	3		4	3	5	17	2			3	2	33	2	1	1	8	8	22	1	
ATLb3	3			19	1	2	2		2		4	5	13	17	2			9	1	32	6	13			6	2	1	
ATLb4	1			17		2	9	2	2		4	1	3	17	2			8	27	1	1	1	1	6	8		1	
ATLb5	5	1	9	19	2	2	7	2	3		3	2	3	1	9	2			4	20	3	17		3	9			
ATLb6	3		2	17		6	13		3		4	1	4	6	18	2		6	4	19	3	2	1	1	8	21		
ATLb7			2	18	1	1	2	2	2		4	1	9	13	2				5	18	3	1	1		7		1	
ATLb8	3		1	18	1	31	15		1	2	4	1	1	11	22	2		8	2	35	2	1	1		8			
ANT1	4	1	10	18	3		4	2	3		4	4	1	19	2			1	18	2	10	1		8	27			
ANT2	3		1	19		4	13	2	3	1	4	4	3	20	2			8	3	18	2	8			8	10		
AUX1	3			21		1	11	2	3	2	4	5	12	19	2	1		3	1	15	4	1	1		8		1	

Material Complementario 3

Material Complementario 3: Identificación de los promotores de genes de Transportadores de Aminoácidos (AAT) (1/2). Se consideró el tramo inicial de 2,0 kb de los genes ATT, utilizando la plataforma Plantpan (<http://plantpan.itps.ncku.edu.tw/promoter.php>). Además, se registraron los promotores encontrados.

Gene name	AP2, B3	AP2, ERF	AP2	AT-Hook	B3	bHLH	bZIP	bZIP ; Homeodomain ; HD-ZIP	C2H2	CG-1	TCR	E2F, E2F/DP	EN3	GATA	GRAS	Homeodomain	Homeodomain ; HD-ZIP	LOB	MADF	MADS box	Mylb/SANT	NAC ; NAM	SBP	Sox	TCP	TBP	WRKY	(Others)
AUX2			9	17		7	6	2	4		4	1	5	1	1	18	2		7	2	8	1	15	1	2	8		1
AUX3	5		1	18	1		1	2	6		3		2	9		18	2		2	1	10	2	14	1	1	8	27	
AUX4	2	1	9	18	1	5	19		4	2	4		1	13		15	2		7	3	18	2	2	1	11	8	22	
AUX5	1			18	1	28	8	2	3		3		3	1		23	2		7	1	15	2	8	1	4	8	8	
AUX6	1			16	2	3	6	2	3		4		2	13		18	2		1	1	14	2			5	8	1	1
AUX7	2			12	2	2	6	2	5		4		2	4		18	1		4	3	19	2	9		7	7	13	1
AAP1	3	1	8	20		2	11		3		3		1	1		14	2		5	3	26	1	1		2	9	26	1
AAP2	3		1	16	1	1	7	2	2		4		1	11		16	2		2	5	15	6	15	1	16	8		1
AAP3	3			20		2	1	2	5		3		3	7		16	2		9	2	28	7	1	1		8	27	
AAP4	1			17		1	2		3		4		1	4		17	2		7	4	17	4		1	3	9	8	
AAP5	3			19		1	3		3		4		2	11		11	2		1	4	17	2	1			8	26	
AAP6	3			17	4	2	5	2	3		4		5	12		21	2		7	5	17	1	1	1	11	9		
AAP7	1			19			7		1		4		3	6		17	2			2	15	2				8	26	
AAP8		1	10	18	1		7		6		3		1	1		11	2		1	1	18	12	2				8	27
AAP9	1			16		5	13		2	1	3		4	2		11	2		1	4	36	2	7			8	21	1
AAP10	3			18	1	3	17		6		4		1	8		18	2				24	3			6	6	5	1
AAP11				16		2	8	2	3	2	4		3	10		17	2		9	6	37	2	14		7	5	21	1
AAP12	1			13	1	31	23		7	2	3		4	6		12	2		7	5	25	2	2	1		5	6	
AAP13		1	6	19	1	2	1	2	6		4		4	4		10	2		6	5	20	1	1	1		8	24	
AAP14	1		1	17	1	29	10	2	7		4		2	5		18	2		9	3	29	8	13	1	6	9	8	1
AAP15	1			18		2	9		3		4		5	2		18	2		7	1	13	3		1	6	8		
AAP16				18		1	5		2	2	4		4	8		14	2		6	11	19	12	14	1	1	8		1
GAT1	1	1	9	19	1		1	2	3		4		4			18	2		3	1	31	11	14	1		9		1
GAT2	3			16	1	2	2	2	5	2	4		2	7		18	2		8	4	21	3		1		8	26	1
GAT3	3	1	10	16	1	2	18		2	4		4	6			19	2		1	3	17	5		1		8	8	
GAT4		1	8	17	1	2	3		7		4		6	12		17	2		5	6	21	2	13	1	1	9	22	1
GAT5	3			17	1	1	2	2	4		4		1	12		16	2		8	4	23	3		1	6	8	27	
ProT1	3			20		29	5	2	4		4		1	8		17	2		4	6	26	2	2	1	2	9	23	1
ProT2	1			21		1	5	2	2		4		1	11		21	2			1	29	7	1	1		8	27	1
ProT3	3	1	32	15	1	1	9	2	3		3		3	5		20	2		3	2	29	7	1		11	5	26	
LHT1	3	1	6	18		2	5	2	3		3		5	4		14	1		1	4	19	2	2			8	15	1
LHT2	3			18	3	5	20		6		2		1	6		15	2		6	4	17	4	1		5	8	26	
LHT3				21		1	4		2		4		1	6		14	2		7	3	13	4	2	1		9	1	
LHT4	5			19	1	2	1	2	5		3		5	11		11	2		8	4	20	2	9	1	3	6	20	
LHT5	2		4	19		1	6		3		4		6	3		18	2		7	4	33	1			1	7	7	
LHT6	3			18	3	2	3	2	2		4		5	1		15	2		9	4	17	12	1	1	2	9	14	
LHT7	1			19	1	1	1		4		3		1			18	2		1	5	24	2	1	1	1	8		1
LHT8	3		1	17		31	24		4		4		3	3	1	19	2		7	1	9	16	15		16	8		1
LHT9	1			19	1	2	2	2	4		4			8	1	16	2		7	4	16	2	16	1	2	8	21	1
LHT10			1	18		1	3	2	5		4		5	7		16	2		7	4	26	2	14	1		7	1	
LHT11	3		3	17	1	27	17	2	3	2	4		3	7		23	2		9	2	16	3		1		8	3	
LHT12	2	1	10	14	4	3	13	2	2	2	2		1	13	1	13	2		8	3	17	1	16			5	27	1
LHT13		1	8	20	1	3	10	2	3	2	4			4		16	2			7	27	3	1	1		8		1

Material Complementario 3

Material Complementario 3: Identificación de los promotores de genes de Transportadores de Aminoácidos (AAT) (2/2). Se consideró el tramo inicial de 2,0 kb de los genes ATT, utilizando la plataforma Plantpan (<http://plantpan.itps.ncku.edu.tw/promoter.php>). Además, se registraron los promotores encontrados.

Bibliografía

- Arratia, J., & Aguirre, J. (2013). Los factores de transcripción tipo Myb, una familia de reguladores de la diferenciación celular conservada en los organismos eucariontes. *TIP. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 16(2), 98–108. [https://doi.org/10.1016/S1405-888X\(13\)72081-3](https://doi.org/10.1016/S1405-888X(13)72081-3)
- Ashburner, M., Ball, C. A., Blake, J. A., Botstein, D., Butler, H., Cherry, J. M., Davis, A. P., Dolinski, K., Dwight, S. S., Eppig, J. T., Harris, M. A., Hill, D. P., Issel-Tarver, L., Kasarskis, A., Lewis, S., Matese, J. C., Richardson, J. E., Ringwald, M., Rubin, G. M., & Sherlock, G. (2000). Gene Ontology: tool for the unification of biology. *Nature Genetics* 2000 25:1, 25(1), 25–29. <https://doi.org/10.1038/75556>
- Bellucci, E. et al. (2014). Genomics of Origin, Domestication and Evolution of *Phaseolus vulgaris*. In: Tuberosa, R., Graner, A., Frison, E. (eds) Genomics of Plant Genetic Resources. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-007-7572-5_20
- Cheng, L., Yuan, H.-Y., Ren, R., Zhao, S.-Q., Han, Y.-P., Zhou, Q.-Y., Ke, D.-X., Wang, Y.-X., & Wang, L. (2016). Genome-Wide Identification, Classification, and Expression Analysis of Amino Acid Transporter Gene Family in *Glycine Max*. *Frontiers in Plant Science*, 07, 515. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2016.00515>
- Choi, J.; Eom, S.; Shin, K.; Lee, R.A.; Choi, S.; Lee, J.H.; Lee, S.; Soh, M.S. (2019) Identification of lysine histidine transporter 2 as an 1-aminocyclopropane carboxylic acid transporter in *Arabidopsis thaliana* by transgenic complementation approach. *Front. Plant Sci.* 10, 1092. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01092>

- Conesa, A., Götz, S., García-Gómez, J. M., Terol, J., Talón, M., & Robles, M. (2005). Blast2GO: a universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. *Bioinformatics*, 21(18), 3674–3676. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTI610>
- Dinkeloo, K., Boyd, S., & Pilot, G. (2018). Update on amino acid transporter functions and on possible amino acid sensing mechanisms in plants. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 74, 105–113. <https://doi.org/10.1016/J.SEMCDB.2017.07.010>
- Du J, Du C, Ge X, Wen S, Zhou X, Zhang L, Hu J. (2023) Genome-Wide Analysis of the AAAP Gene Family in *Populus* and Functional Analysis of *PsAAAP21* in Root Growth and Amino Acid Transport. *Int J Mol Sci*. 2022 Dec 30;24(1):624. <https://doi.org/10.3390/ijms24010624>
- Fernandes, M. S., & Pereyra-Rossiello, R.O. (1995) Mineral Nitrogen in Plant Physiology and Plant Nutrition, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 14:2, 111-148. <https://doi.org/10.1080/07352689509701924>
- Fischer, W. N., André, B., Rentsch, D., Krolkiewicz, S., Tegeder, M., Breitkreuz, K., & Frommer, W. B. (1998a). Amino acid transport in plants. *Trends in Plant Science*, 3(5), 188–195. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(98\)01231-X](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(98)01231-X)
- Fischer, W. N., André, B., Rentsch, D., Krolkiewicz, S., Tegeder, M., Breitkreuz, K., & Frommer, W. B. (1998b). Amino acid transport in plants. *Trends in Plant Science*, 3(5), 188–195. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(98\)01231-X](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(98)01231-X)

- Ge, S. X., Jung, D., Jung, D., & Yao, R. (2020). ShinyGO: a graphical gene-set enrichment tool for animals and plants. *Bioinformatics*, 36(8), 2628–2629. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTZ931>
- John, F., Roffler, S., Wicker, T., & Ringli, C. (2011). Plant TOR signaling components. *Plant Signaling & Behavior*, 6(11), 1700-1705. <https://doi.org/10.4161/PSB.6.11.17662>
- Ma, H.; Cao, X.; Shi, S.; Li, S.; Gao, J.; Ma, Y.; Zhao, Q.; Chen, Q. (2016) Genome-wide survey and expression analysis of the amino acid transporter superfamily in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Physiol. Biochem.* 107, 164–177. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.06.007>
- Marchler-Bauer, A., Zheng, C., Chitsaz, F., Derbyshire, M. K., Geer, L. Y., Geer, R. C., Gonzales, N. R., Gwadz, M., Hurwitz, D. I., Lanczycki, C. J., Lu, F., Lu, S., Marchler, G. H., Song, J. S., Thanki, N., Yamashita, R. A., Zhang, D., & Bryant, S. H. (2013). CDD: conserved domains and protein three-dimensional structure. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), D348–D352. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKS1243>
- Margalha, L., Confraria, A., & Baena-González, E. (2019). SnRK1 and TOR: modulating growth–defense trade-offs in plant stress responses. *Journal of Experimental Botany*, 70(8), 2261–2274. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERZ066>
- Martin, D. E., & Hall, M. N. (2005). The expanding TOR signaling network. *Current Opinion in Cell Biology*, 17(2), 158–166. <https://doi.org/10.1016/J.CEB.2005.02.008>
- McCready, K., Spencer, V., & Kim, M. (2020). The importance of TOR kinase in plant development. *Frontiers in Plant Science*, 11, 16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00016>

- Nanjareddy, K., Arthikala, M. K., Gómez, B. M., Blanco, L., & Lara, M. (2017). Differentially expressed genes in mycorrhized and nodulated roots of common bean are associated with defense, cell wall architecture, N metabolism, and P metabolism. *PLOS ONE*, *12*(8), e0182328. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0182328>
- Nanjareddy, K., Blanco, L., Arthikala, M. K., Alvarado-Affantranger, X., Quinto, C., Sánchez, F., & Lara, M. (2016). A Legume TOR Protein Kinase Regulates *Rhizobium* Symbiosis and Is Essential for Infection and Nodule Development. *Plant Physiology*, *172*(3), 2002–2020. <https://doi.org/10.1104/PP.16.00844>
- O'Rourke, J. A., Iniguez, L. P., Fu, F., Bucciarelli, B., Miller, S. S., Jackson, S. A., McClean, P. E., Li, J., Dai, X., Zhao, P. X., Hernandez, G., & Vance, C. P. (2014). An RNA-Seq based gene expression atlas of the common bean. *BMC Genomics*, *15*(1), 866. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-866/FIGURES/1>
- Omari-Alzahrani F (2021). Genome Wide Analysis of Amino Acid Transporter Superfamily in *Solanum lycopersicum*. *Plants*. *10*(2):289. <https://doi.org/10.3390/plants10020289>
- Ortiz-Lopez, A., Chang, H. C., & Bush, D. R. (2000). Amino acid transporters in plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, *1465*(1–2), 275–280. [https://doi.org/10.1016/S0005-2736\(00\)00144-9](https://doi.org/10.1016/S0005-2736(00)00144-9)
- Pratelli, R., & Pilot, G. (2014). Regulation of amino acid metabolic enzymes and transporters in plants. *Journal of Experimental Botany*, *65*(19), 5535–5556. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru320>
- Quezada, E.-H., García, G.-X., Arthikala, M.-K., Melappa, G., Lara, M., & Nanjareddy, K. (2019). Cysteine-Rich Receptor-Like Kinase Gene Family Identification in the

Phaseolus Genome and Comparative Analysis of Their Expression Profiles Specific to Mycorrhizal and Rhizobial Symbiosis. *Genes*, 10(1), 59. <https://doi.org/10.3390/GENES10010059>

Raggi, L., Caproni, L., Carboni, A., & Negri, V. (2019). Genome-Wide Association Study Reveals Candidate Genes for Flowering Time Variation in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Frontiers in Plant Science*, 10, 962. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2019.00962/BIBTEX>

Raught, B., Gingras, A. C., & Sonenberg, N. (2001). The target of rapamycin (TOR) proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(13), 7037. <https://doi.org/10.1073/pnas.121145898>

Rentsch, D., Schmidt, S., & Tegeder, M. (2007). Transporters for uptake and allocation of organic nitrogen compounds in plants. *FEBS Letters*, 581(12), 2281-2289. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.04.013>

Ryabova, L. A., Robaglia, C., & Meyer, C. (2019). Target of Rapamycin kinase: central regulatory hub for plant growth and metabolism. *Journal of Experimental Botany*, 70(8), 2211. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERZ108>

Sarsu, F., Forster, B. & Sivasankar, S. (2021). Crop Adaptation to Climate Change: High-Temperature Stress in Drought-Prone Areas. *Australian Journal of Crop Science*, 15(9), 6–11. <https://doi.org/10.21475/ajcs.21.15.09.sp-i>

Shi, L., Wu, Y., & Sheen, J. (2018). TOR signaling in plants: conservation and innovation. *Development*, 145(13), dev160887. <https://doi.org/10.1242/dev.160887>

- Sze, H., Li, X., & Palmgren, M. G. (1999). Energization of Plant Cell Membranes by H⁺-Pumping ATPases: Regulation and Biosynthesis. *The Plant Cell*, 11(4), 677–689. <https://doi.org/10.1105/TPC.11.4.677>
- Tegeder, M., & Rentsch, D. (2010). Uptake and partitioning of amino acids and peptides. *Molecular plant*, 3(6), 997-1011. <https://doi.org/10.1093/mp/ssq047>
- Wipf, D., Loqué, D., Lalonde, S., & Frommer, W. B. (2012). Amino acid transporter inventory of the *Selaginella* genome. *Frontiers in Plant Science*, 3, 36. <https://doi.org/10.3389/fpls.2012.00036>
- Zhao, H., Ma, H., Yu, L., Wang, X., & Zhao, J. (2012). Genome-wide survey and expression analysis of amino acid transporter gene family in rice (*Oryza sativa L.*). *PloS one*, 7(11), e49210. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049210>