

Resumen

Antecedentes. El Virus del Mosaico del Pepino (*Cucumber mosaic virus-CMV*) es un agente limitante en la producción y la calidad de diversos cultivos agrícolas, lo que amenaza la seguridad alimentaria mundial. Por lo tanto, el primer paso para evaluar el estado fitosanitario de un cultivo y poder aplicar un programa de manejo integrado, es evaluar métodos de diagnóstico y detección, que sean específicos, fiables y rápidos. Actualmente no existe un tratamiento efectivo que pueda reducir la tasa de desarrollo del CMV una vez este infecta su huésped, por lo que se hace necesario evaluar alternativas para su manejo. Una de las estrategias más recientes para el manejo de enfermedades ocasionadas por virus lo constituye el uso de RNAi, un mecanismo que activa el silenciamiento postranscripcional de genes (PTGS). **Objetivo.** Por lo anterior, la presente tesis propuso evaluar diferentes métodos de detección del virus, así como abordar una estrategia no transgénica de manejo del CMV mediante la aplicación exógena de horquillas pequeñas de RNA (shRNA) en plántulas de *Nicotiana benthamiana*, como potenciales inductores de resistencia contra este virus. **Método.** Con el fin de identificar, la presencia del virus en los tejidos vegetales, se evaluó la descripción de síntomas, pruebas inmunológicas de campo (ImmunoStrip®), RT-PCR y secuenciación de productos de PCR. Por otra parte, para evaluar el PTGS se diseñaron, sintetizaron y aplicaron secuencias de shRNA de 77pb específicas dirigidas a regiones genéticas complementarias al genoma del CMV; de cada una de estas shRNA, se infiltraron 20µg/100µL en hojas de plántulas de *N. benthamiana* 24 horas antes de la inoculación mecánica con el CMV. El silenciamiento génico se confirmó mediante inspección visual de los síntomas, PCR en tiempo real (RT-qPCR), y mediante el empleo de técnicas serológicas (ELISA y Dot-blot). **Resultados.** Respecto a las plántulas inoculadas con CMV, el 100 % de ellas presentaron sintomatología típica después de 10-15 días. La prueba serológica detectó el patógeno en las plántulas evaluadas y las pruebas moleculares (RT-PCR y secuenciación) lo confirmaron. En cuanto a los ensayos de PTGS, la prueba de dot-blot indicó una baja señal de la presencia del CMV en las plántulas tratadas con shRNA, al igual que la prueba ELISA, la cual confirmó una baja concentración de la proteína de la cápside del CMV en plántulas tratadas con shRNA. Así mismo, los análisis mediante RT-qPCR mostraron niveles de silenciamiento entre el 50% y 98% para las diferentes secuencias de shRNA evaluadas. **Conclusión.** Los análisis moleculares fueron los más sensibles y confiables para la identificación del CMV y el uso de shRNA artificiales, representa una nueva herramienta potencialmente efectiva para el manejo del CMV.

Palabras clave: shRNA, PTGS, ImmunoStrip, horquillas de RNA, RT-qPCR