**Desarrollo de una herramienta de genética reversa basada en un virus del género *Begomovirus* para el estudio funcional de miRNAs en cucurbitáceas.**

Valerio-Valle, Krysia M1., Rodríguez-Negrete, Edgar A2., Leyva-López, Norma E.1 y Méndez-Lozano, Jesús1. 1Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR-IPN, Unidad Sinaloa). 2CONACYT-Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR-IPN, Unidad Sinaloa. Blvd. Juan de Dios Bátiz Paredes #250, CP: 81101, Colonia San Joachin, Guasave Sinaloa. *jmlozano@gmail.com*

Los miRNAs son reguladores maestros de genes y desempeñan un papel fundamental en muchos procesos biológicos en plantas, como programas de desarrollo y morfogénesis, además en respuesta a factores tanto bióticos como abióticos. Estudios transcriptómicos realizados mediante secuenciación masiva, han identificado gran cantidad de miRNAs en diversas especies de plantas, incluyendo a las cucurbitáceas. Sin embargo, estudios funcionales y herramientas de genética reversa en estas plantas son muy limitados, por lo que el rol biológico de miRNAs en estas especies sigue siendo en gran medida desconocido. Actualmente los vectores de silenciamiento tipo VIGS resultan atractivos como herramientas de genética reversa para la caracterización de miRNAs. Dado lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo desarrollar una herramienta de genética reversa basada en un vector viral para el estudio funcional de miRNAs en especies de la familia *Cucurbitaceae.* Anteriormente en el grupo de trabajo se aisló y caracterizó molecular y biológicamente a *Watermelon chlorotic stunt virus* (WmCSV), un virus bipartita miembro del género *Begomovirus* infectivo de cucurbitáceas y algunas solanáceas, por lo cual resultó un atractivo modelo para el estudio de miRNAs en cucurbitáceas. Empleando una metodología basada en ensamblaje independiente de enzimas de restricción (ensamblaje tipo Gibson) se desarrolló un vector de silenciamiento tipo VIGS derivado del virus WmCSV, denominado pG-WmVector. La capacidad infectiva del vector pG-WmVector fue validada en ensayos de infección sistémica en plantas de *N. benthamiana* y sandía. Posteriormente para determinar la capacidad del vector pG-WmVector de sobreexpresar miRNAs; se han sintetizado tres amiRNAs con las secuencias del miR156 y el gen endógeno PDS (como marcador fenotípico de fotoblanquemiento), los cuales han sido clonados en el vector tipo VIGS bajo el control del promotor del gen de la cápside. Por otro lado, con la finalidad de evaluar la capacidad de pG-WmVector de silenciar miRNAs, se diseñó un tándem corto de target mimic (STTM), que imita la secuencia del gen diana del miR156 y que en consecuencia impide la funcionalidad de dicho miRNA, permitiendo la acumulación del correspondiente transcrito diana. Dicho STTM fue clonado en el vector pG-WmVector mediante un ensamblaje tipo Gibson. Los ensayos de sobreexpresión y silenciamiento de miRNAs mediante VIGS se llevarán a cabo en plantas de sandía como modelo de cucurbitácea y en *N. benthamiana* como control. El vector tipo VIGS (pG-WmVector) obtenido en el presente trabajo será de gran utilidad en estudios de genómica funcional de miRNAs en plantas de la familia *Cucurbitaceae*.