



XXIV Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CA-029 (ID: 1218)

Autor: Alvarez, Mayra Yanet

Título: Construcción de un plásmido binario utilizando un promotor inducible por sequía de la Yerba Mate

Director:

Palabras clave: Yerba mate, Estrés abiótico, Escherichia coli, Metalotioneína, Vector binario

Área de Beca: Cs. Agropecuarias

Tipo Beca: Evc - Cin

Periodo: 01/04/2017 al 31/03/2018

Lugar de trabajo: Facultad De Cs. Agrarias

Proyecto: (14A001) Caracterización y análisis de la expresión de genes asociados con la tolerancia a estrés osmótico y generación de procedimientos aplicables a la clonación masiva de genotipos tolerantes.

Resumen:

La yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) es un cultivo económicamente importante en la región NE del país debido a que sus hojas y tallos jóvenes son empleados en la elaboración de infusiones. Las altas temperaturas y ausencias de lluvias en verano, generan estrés hídrico en las plantas, disminuyendo la producción. Las plantas responden al déficit hídrico y se aclimatan a las condiciones de sequía mediante una variedad de mecanismos fisiológicos, que se relacionan a cambios en la expresión génica debido a la presencia de regiones promotoras inducibles por estrés presente en las plantas. En este contexto, proteínas que confieren tolerancia a estrés, como ser las Metalotioneínas (MTs), aumentan su expresión en la yerba mate en condiciones de sequía. Las principales características de estas proteínas se deben a que, tienden a unirse a metales pesados (Zn, Cu, Se, Cd, Hg, Ag, As), y además, participan en el mecanismo de defensa antioxidante capturando radicales libres. Con los avances en la tecnología transgénica, es posible diseñar vectores y, por ende, plantas que expresan transgenes bajo el control de un promotor inducible por estrés, potenciando su capacidad para soportar condiciones adversas. Para ello, se debe elegir un promotor que solo promueva la transcripción del gen cuando verdaderamente ejerza un efecto protector sobre la planta. De lo contrario, un promotor constitutivo, genera la biosíntesis de abundantes proteínas recombinantes innecesarias, que puede representar un costo metabólico de alto impacto, y disminuir la energía asignada a los rasgos de interés, como el rendimiento. Con el objeto de realizar el análisis funcional de la región promotora del gen de las Metalotioneínas inducible por estrés hídrico se realizó la construcción de un vector binario con dicho promotor tomado de yerba mate seguido por el gen reportero GUS (B-glucuronidasa). Finalmente, este plásmido fue introducido en colonias de *Agrobacterium tumefaciens*. La metodología consistió en aislar el promotor del gen de la Metalotioneínas de *Ilex paraguariensis*, seguidamente se insertó dicho promotor en el vector binario (plásmido pBi), en el cual se reemplazó el promotor CaMV35S por la región promotora en evaluación. El plásmido posee el gen reportero que dirige la expresión de la enzima B-glucuronidasa (GUS), el cual nos permitiría determinar en que momentos la región promotora activaría el gen de la Metalotioneínas. Una vez construido el plásmido con las secuencias en estudio (pMts::GUS), fue clonado en *Escherichia coli*, obteniéndose dos colonias diferentes con el plásmido construido y armado correctamente y luego el vector fue introducido en *Agrobacterium tumefaciens* LBA4404. Finalmente se confirmó la presencia de la región promotora (pMts) en el plásmido, presente en la cepa de *Agrobacterium tumefaciens* transformada. La importancia de la obtención de las colonias de *Agrobacterium* con el constructo se debe a que se prevé la transformación genética de plantas de *Lotus tenuis* con nuestro vector binario (pMts::GUS) mediante el método indirecto de transformación para analizar el momento y lugar que el promotor inducible por estrés hídrico activaría el gen GUS.