

**Area:** CA - Cs. Agropecuarias

**Título del Trabajo:** CARACTERIZACIÓN HISTOQUÍMICA DE LÍNEAS TRANSGÉNICAS DE LOTUS TENUIS PORTADORAS DEL GEN REPORTERO GUS ( $\beta$ -GLUCURONIDASA) EN LA RESPUESTA A ESTRÉS OSMÓTICO

**Autores:** ESPASANDIN, FABIANA D. - RUIZ, OSCAR A. - SANSBERRO, PEDRO A.

**E-mail de Contacto:** fabidani1@gmail.com

**Tipo de Beca:** CONICET Tipo II      **Resolución N°:** 1231/11      **Período:** 01/04/2012 - 31/03/2014

**Proyecto Acreditado:** Proyecto: A014 aprobado por Resol. 921/10 (C.S. UNNE). "Desarrollo de herramientas biotecnológicas aplicables a estudios de estrés osmótico y producción masiva de genotipos con caracteres superiores". Entidad financiadora: SGCyT (UNNE). Período de vigencia: 2011 - 2014

**Lugar de Trabajo:** Facultad de Cs. Agrarias

**Palabras Claves:** Transformación - Promotor inducible - Biotecnología

**Resumen:**

La generación de plantas transgénicas constituye una de las variadas herramientas que ofrece la biotecnología moderna cuya potencialidad de aplicación convalidan una estrategia a seguir dentro de un programa de mejoramiento genético. Para cumplir con este fin, es necesario contar con un gen que haya demostrado la factibilidad de conferirle a la planta una característica ventajosa comparada con su par sin transformar. Por otro lado, es necesario contar con una región promotora capaz de dirigir la expresión del gen elegido en los órganos donde éste sea necesario y/o en los momentos en los que la planta lo necesite. Este hecho crea la necesidad de contar, por un lado, con un promotor inducible por estrés y por el otro, determinar su expresión específica de órganos en respuesta a los factores ambientales objetos del estudio. Con esta finalidad hemos obtenido plantas transformadas en forma estable portadoras del gen promotor RD29A fusionado con la región codificante del gen de la  $\beta$ -glucuronidasa (*gus*), el cual funciona como gen reportero.

Se tomaron fragmentos foliares extraídos de plántulas obtenidas por la germinación *in vitro* de semillas de una población de *Lotus tenuis* mejorada por selección recurrente ("INTA-PAMPA"), fueron transformados mediante infección con el vector binario pBi RD29A-GUS de *Agrobacterium tumefaciens*, portador del gen de la  $\beta$ -glucuronidasa (*GUS*), bajo el control del promotor inducible RD29A; conteniendo además como marcador selectivo, el gen *nptII* codificante de neomicina transferasa. Se obtuvieron 29 líneas transgénicas a partir de 160 plantas analizadas, determinando una eficiencia de transformación de 18.1 %. Finalmente, la integración del transgen fue confirmada mediante análisis de Southern blot.

Con estas líneas se realizaron ensayos histoquímicos, de plantas sometidas a estrés osmótico, con el fin de determinar la expresión del gen reportero en diferentes tejidos y condiciones de crecimiento. A partir del análisis de los resultados obtenidos se pudo determinar que el promotor es capaz de dirigir la expresión del gen *gus* en tallos y hojas de plantas sujetas a condiciones de estrés osmótico impuestas ya sea por sequía, salinidad ó frío, no detectándose expresión en los tejidos radiculares.