



XXVIII Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CA-021 (ID: 2583)

Autor: Sanchez, Carolina Asunción

Título: ESTUDIO DE UN PROMOTOR DE METALOTIONEÍNAS EN PLANTAS TRANSGÉNICAS DE LOTUS TENUIS EN RESPUESTA A ESTRESES ABIÓTICOS

Director: Espasandin, Fabiana Daniela

Palabras clave: Región promotora, gen reportero, metalotioneínas.

Área de Beca: Cs. Agropecuarias

Tipo Beca: Evc - Cin

Periodo: 05/09/2022 al 31/08/2023

Lugar de trabajo: Facultad De Cs. Agrarias

Proyecto: (20A006) DESARROLLO DE BIOTECNICAS APPLICABLES A ESPECIES LEÑOSAS y FORESTALES DE INTERES REGIONAL ENFOCADO EN EL USO SOSTENIBLE DE LA BIODIVERSIDAD

Resumen:

La Yerba Mate es un cultivo económico 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 ausencia de lluvias en verano, y el exceso de metales pesados en el suelo reducen la disponibilidad hídrica del suelo y aumentan la demanda evaporativa de la atmósfera, durante gran parte del período de potencial crecimiento. De esta manera el estrés generado en las plantas, disminuye la expansión de las hojas, y finalmente la producción. En general, las plantas responden al estrés abiótico y se aclimatan mediante una variedad de mecanismos fisiológicos, que se relacionan a cambios en la expresión génica. En este contexto, proteínas que confieren tolerancia a estrés, como ser las Metalotioneinas (MTs), aumentan considerablemente su expresión en *Ilex paraguariensis* durante un episodio de estrés. Las MTs constituyen una familia de proteínas ricas en cisteína y con abundantes grupos tióles (-SH), que les permiten por un lado, unirse a metales pesados y por otro lado, participar en el mecanismo de defensa antioxidante capturando peligrosos radicales libres (radicales superóxido y oxidrilo). El gen que codifica para las MTs se encuentra dirigido por un promotor inducible por diversos tipos de estreses abióticos, el cual es objeto de estudio.

Por otra parte, 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. Conociendo estas ventajas de la biotecnología hemos obtenido plantas transformadas en forma estable de Lotus tenuis portadoras del gen promotor de las MTs tomado de yerba mate fusionado con la región codificante del gen de la beta-glucuronidasa (GUS), el cual funciona como gen reportero. Con el objeto de realizar el análisis funcional de tal promotor del gen de las MTs (pMTs) y conocer si ésta región promotora es 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 determinar su expresión específica de órganos en respuesta a los factores ambientales objetos del estudio, como son sequía, salinidad, bajas temperaturas y presencia de metales pesados. Como resultado en el proceso de transformación se obtuvieron 50 líneas transgénicas de *L. tenuis*, que contienen la construcción pMTs:GUS, determinando una eficiencia de transformación de 40 %. La integración del transgen fue confirmada mediante PCR con primers específicos para el gen GUS. Con estas líneas se realizaron ensayos histoquímicos del gen GUS, de plantas sometidas a los tipos de estrés mencionados, con el fin de determinar la expresión del gen reportero en diferentes tejidos y condiciones de crecimiento dirigido por el promotor de MTs. A partir del análisis de los resultados obtenidos se pudo determinar que el promotor es inducible y es capaz de dirigir la expresión del gen GUS en tallos y hojas de plantas sujetas a condiciones de estrés impuestas ya sea por sequía, salinidad, frío y presencia de hierro, no detectándose expresión en los tejidos radiculares, ni con la presencia de otros metales pesados como ser Co, Cu, Mn o Zn.