

#### **BV4. Aislamiento del promotor de un gen de Metalotioneína Tipo II de yerba mate y construcción de un vector para su uso en transformación**

Álvarez, M.Y. (1); Espasandín, F.D. (1)\*; Acevedo, R.M. (1); Ruiz, O.A. (2); Sansberro P.A. (1).

(1) Laboratorio de Biotecnología Aplicada y Genómica Funcional, IBONE (CONICET), Facultad de Ciencias Agrarias - UNNE, Corrientes, Argentina. (2) Unidad de Biotecnología 1, IIB-INTECh (CONICET), Chascomús, Argentina. \*[fabidani1@gmail.com](mailto:fabidani1@gmail.com)

La yerba mate (*Ilex paraguariensis*) 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, vientos fuertes y baja humedad relativa producen deshidratación; cuya duración, afectará el contenido de agua disponible para el crecimiento, disminuyendo la producción.

Las plantas responden 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. En este contexto, Metalotioneínas (MTs), proteínas que confieren tolerancia a estrés, aumentan su expresión en yerba mate en respuesta a sequía. Éstas tienden a unirse a metales pesados a la vez que 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. Por ello, se selecciona 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 alto costo metabólico y disminuir la energía asignada a los rasgos de interés, como el rendimiento. En este contexto y con el objeto de realizar el análisis funcional de la región promotora del gen de MTs inducible por sequía se construyó un vector binario con el promotor aislado de *I. paraguariensis* realizando su posterior inserción en plantas de *Lotus tenuis* utilizadas como modelo de estudio.

La metodología consistió en aislar el promotor del gen de la MTs de *I. paraguariensis*, seguidamente se insertó dicho promotor en el vector binario (plásmido pBi), seguido del gen reportero GUS, el cual al dirigir la expresión de la enzima  $\beta$ -glucuronidasa, permite determinar en qué órganos de la planta y en qué momento del estrés la región promotora activaría el gen GUS, en este caso. Seguidamente, el plásmido con las secuencias en estudio (pMTs::GUS), fue clonado en *E. coli* y luego el vector fue introducido en *A. tumefaciens*. Finalmente se procedió a la transformación genética de las plantas de *L.*

*tenuis* mediante el método indirecto. Las técnicas de regeneración y transformación genética de *L. tenuis* se llevaron a cabo mediante técnicas de cultivo in vitro usando como agente selectivo el glufosinato de amonio. Como resultado del ensayo con 50 explantes iniciales se obtuvo un 80% de regeneración/selección, con 4 yemas/explante aproximadamente.