

---

**GENERACIÓN DE PLANTAS TRANSGÉNICAS DE *ARABIDOPSIS THALIANA* CON EL GEN CODIFICANTE DE UN INHIBIDOR DE TRIPSINA TIPO KUNITZ (*PdKTI3*), ASOCIADO A TOLERANCIA A EXCESO DE COBRE EN ÁLAMOS**

**CLAUDIA ANDREA SILVA ANDRADE  
INGENIERO EN BIOINFORMÁTICA**

**RESUMEN**

El cobre es uno de los metales pesados más abundantes en Chile, el cual a su vez es considerado contaminante del medio ambiente. Por otro lado, también este es uno de los micronutrientes esenciales de las plantas, y que en exceso puede producir efectos biológicos negativos. La fitorremediación es el proceso de limpieza de terrenos contaminados mediante el uso de plantas y organismos asociados. Esta tecnología implica establecer vegetales en lugares con contaminantes, para remover o evitar su dispersión. Las plantas útiles para estos propósitos deben ser tolerantes al exceso de metales pesados. En estudios previos se demostró que álamos (*Populus deltoides*), especies candidatas para fitorremediación de metales pesados, expresan significativamente un gen que codifica un inhibidor de tripsina tipo Kunitz (*PdKTI3*) cuando son expuestas a estrés por exceso de cobre. Sin embargo, su función no es conocida. Para evaluar su rol como factor de tolerancia al exceso de dicho metal, el uso de modelos de estudio, como *Arabidopsis thaliana*, son importantes. Por este motivo, esta memoria tuvo como objetivo principal la transformación de dicha especie con el gen *PdKTI3*. Para ello se usó plantas de *Arabidopsis thaliana* sensibles a cobre, las cuales fueron transformadas con un vector de expresión que portaba el gen *PdKTI3*, mediante el método de transformación de inmersión floral (*floral dip*), mediado por *Agrobacterium tumefaciens*. El vector (pENTR+*PdKTI3*+pK7WGF2) fue elaborado en dos etapas mediante el sistema *Gateway Cloning* (Invitrogen). En la primera se produjo el vector de entrada (pENTR+*PdKTI3*). En la segunda, el vector de entrada fue fusionado a un vector de destinación (pK7WGF2), permitiendo la obtención del vector de expresión completo. Luego, dicho vector fue utilizado para transformar *Agrobacterium tumefaciens* por shock térmico, el cual fue usado en la producción de plantas de *Arabidopsis thaliana* transgénicas a través del método de inmersión floral. La aplicación del método de inmersión floral permitió la obtención de plantas de *Arabidopsis thaliana* transformadas genéticamente. Por lo que la presencia del gen *PdKTI3*, en el ADN de las plantas

---

transformadas, fue confirmada. Lo que lleva a concluir que se cumplió el objetivo de este estudio y las plantas transgénicas obtenidas representan una plataforma de trabajo importante para estudios posteriores, tendientes a evaluar el rol del gen *PdKT13* en la respuesta defensiva de las plantas frente al estrés por cobre y su utilidad para sistemas de fitorremediación

## ABSTRACT

Copper is one of the most abundant heavy metals in Chile, which in turn is considered environmental pollutant. On the other hand, this also is an essential micronutrient for plants, which in excess can produce adverse biological effects. Phytoremediation is the process of cleaning up contaminated land by using plants and associated organisms. This technology involves establishing plants in places with contaminants, to remove or prevent its spread. Useful plants for this purpose must be tolerant of excess heavy metals. Previous studies showed that poplar (*Populus deltoides*), candidate for phytoremediation of heavy metals, significantly express a gene encoding a Kunitz trypsin inhibitor (*PdKTI3*) when exposed to excess copper stress. However, their function is not known. To assess your role as a factor of tolerance excess of said metal, the use of study models, such as *Arabidopsis thaliana*, is important. For this reason, this report's main objective was the transformation of the species with *PdKTI3* gene. To do *Arabidopsis thaliana* plants sensitive to copper was used, which they were transformed with an expression vector carrying the gene *PdKTI3* by the transformation method floral dip (floral dip) mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. The vector (pENTR+pK7WGF2+*PdKTI3*) was prepared in two steps by the Gateway Cloning system (Invitrogen). At first there was the input vector (pENTR+*PdKTI3*). In the second, the input vector was fused to a destination vector (pK7WGF2), allowing obtaining full expression vector. Then he said vector was used to transform *Agrobacterium tumefaciens* by thermal shock, which was used in the production of transgenic *Arabidopsis thaliana* plants through floral dip method. Applying the floral dip method allowed the obtention of plants genetically transformed *Arabidopsis thaliana*. So the presence of *PdKTI3* gene in DNA from the transformed plants, was confirmed. What leads to the conclusion that the objective of this study and transgenic plants obtained represent an important platform for further work, aimed at assessing the role of *PdKTI3* gene in the plant defense response to stress studies fulfilled copper and useful in phytoremediation systems.