



Reseña bibliográfica

SALINIDAD EN LA SOYA (*Glycine max* (L.) Merrill) Y AVANCES EN EL ESTUDIO DE LOS MECANISMOS DE TOLERANCIA

Review

Soybean salinity (*Glycine max* (L.) Merrill) and advances in the study of the mechanisms of tolerance

Yuniet Hernández Avera[✉] y Natacha Soto Pérez

ABSTRACT. The soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) is one of the strategic lines identified food security worldwide, by the high food value having their seeds and nutritional quality. Like many economically important crops is subject to environmental stresses that reduce their performance. Indeed, soil salinization is one of the stresses that increasingly threatens the productivity of soybean cultivars. Salt stress causes osmotic and ionic effects that lead to morphological, physiological and biochemical change in soybean plants. For this reason, there is great interest in improving crop tolerance to salinity, but it is necessary to understand the genetic basis of salinity tolerance and adaptation mechanisms. In this sense, functional studies have been conducted related gene response to salt stress, in order to detect possible candidates that confer tolerance to this stress, for the genetic improvement of crops through genetic engineering. This review summarizes some knowledge accumulated over several decades on the main effects of salinity on crops. It also discusses recent advances in the study of the mechanisms of tolerance, which have led to new ways to reduce the negative impact of salinity on the agricultural production.

RESUMEN. La soya (*Glycine max* (L.) Merrill) constituye uno de los renglones estratégicos de seguridad alimentaria identificado a nivel mundial, por el alto valor como alimento que presentan sus semillas y su calidad nutritiva. Al igual que muchos cultivos económicamente importantes está sujeta a estreses abióticos que reducen su rendimiento. Precisamente, la salinización de los suelos es uno de los estreses que amenaza crecientemente la productividad de los cultivares de soya. El estrés salino provoca efectos osmóticos e iónicos que conllevan a alteraciones morfológicas, fisiológicas y bioquímicas en las plantas de soya. Por esta razón, existe gran interés en mejorar la tolerancia de este cultivo a la salinidad, pero antes es necesario comprender las bases genéticas de tolerancia a la salinidad y los mecanismos de adaptación. En este sentido, se han realizado estudios funcionales de genes relacionados con la respuesta a estrés salino, con el fin de detectar posibles candidatos que confieran tolerancia a este estrés, para el mejoramiento genético de los cultivos mediante la ingeniería genética. Esta revisión resume parte del conocimiento acumulado durante varias décadas sobre los principales efectos de la salinidad en la soya. También expone los últimos avances en el estudio de los mecanismos de tolerancia, que han dado lugar a nuevas alternativas para reducir el impacto negativo de la salinidad en la producción agraria.

Key words: *Glycine max*, soli salinity, tolerance, food security

Palabras clave: *Glycine max*, salinidad del suelo, tolerancia, seguridad alimentaria

MSc. Yuniet Hernández Avera, Aspirante a Investigador del departamento de Genética y Mejoramiento Vegetal, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), gaveta postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba, CP 32 700.
MSc. Natacha Soto Perez, Investigador Agregado del departamento de Biotecnología de las Plantas, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB), gaveta postal 6162, La Habana, Cuba, CP 10 600.

✉ yuniet@inca.edu.cu

INTRODUCCIÓN

La soya (*Glycine max* (L.) Merrill) constituye uno de los renglones estratégicos de seguridad alimentaria identificado a nivel mundial, por el alto valor como alimento que presentan sus semillas y su calidad nutritiva (1).

Dada la importancia económica del cultivo, se han ido identificando los principales factores que pudieran incidir negativamente en su productividad. En este sentido, la salinidad de los suelos ha recibido creciente atención ya que, aproximadamente 800 millones de hectáreas de la superficie terrestre

agrícola se encuentran afectadas por niveles de sales (2), que casi siempre, superan la tolerancia de los cultivos tradicionales (3).

La mayoría de los artículos consultados para la elaboración de esta revisión refieren que es una especie relativamente sensible a la salinidad (1, 4, 5, 6). Del mismo modo, numerosos estudios informan que la salinidad provoca un sinnúmero de efectos morfológicos, fisiológicos y bioquímicos, tales como reducción de la nodulación (7), disminución de la fotosíntesis (5) y cambios cuantitativos y cualitativos en la síntesis de proteínas por cambios en la expresión de los genes, entre otros (6). Por estas razones, consideramos que la tolerancia a este estrés debería ser un objetivo principal en la mayoría de los programas de mejoramiento de la soya.

El interés por mejorar la tolerancia de los cultivos a la salinidad ha ido creciendo en los últimos años, empleando métodos de mejora y selección tradicionales o producción de organismos genéticamente modificados. Mediante las nuevas herramientas de biología molecular, la mejora de la tolerancia puede extenderse a cultivos donde no existe variabilidad genética en respuesta al estrés salino o la heredabilidad de los caracteres de interés sea muy baja (8). Sin embargo, el avance en este campo estará asegurado cuando se conozca mejor las bases genéticas de tolerancia a la salinidad y se entiendan como son reguladas las respuestas a la salinidad.

Los estudios moleculares realizados en soya en los últimos años han permitido obtener aquellos genes que se inducen en respuesta al estrés salino (6, 9, 10, 11). Muchos de estos genes son activados por factores de transcripción y regulan mecanismos implicados directamente en la respuesta

adaptativa (12). Por lo que, la transformación de plantas de soya con genes que confieran tolerancia a la salinidad, permitirá disminuir los impactos subóptimos del rendimiento ocasionados por este estrés.

En este artículo se expondrán, algunos de los efectos que el estrés salino ocasiona en el crecimiento de la soya, los mecanismos que permiten mantener la homeostasis iónica y osmótica, así como, los métodos de ingeniería genética empleados en soya para la transferencia de genes y la obtención de genotipos más tolerantes.

LA SOYA Y LA SALINIDAD

EFFECTOS DE LA SALINIDAD EN EL CRECIMIENTO Y LOS CARACTERES AGRONÓMICOS DE LA SOYA

La salinidad de los suelos afecta negativamente el crecimiento y el desarrollo de los cultivos. Fisiológicamente, la salinidad impone un estrés osmótico como resultado de las altas concentraciones de soluto en el suelo, causa además estrés iónico producto de la alteración de la relación potasio/sodio (K^+/Na^+) en el citosol y ocasiona un incremento de las concentraciones de Na^+ y cloro (Cl^-) que son perjudiciales para la planta (13, 14). Como consecuencia, las plantas han desarrollado una serie de mecanismos que involucran alteraciones morfológicas, fisiológicas y moleculares en un intento de ser más tolerantes (15, 16). De ahí, que las plantas puedan responder a la salinidad utilizando dos tipos de mecanismos diferentes. Las plantas sensibles a la salinidad (glicófitas) responden restringiendo la absorción de sal y ajustando la presión osmótica mediante la síntesis de solutos compatible (17). Por el contrario, las plantas tolerantes a la salinidad (halófitas) se caracterizan por

secuestrar y acumular sal en las vacuolas celulares, controlando las concentraciones de sal en el citosol y manteniendo una alta relación del K^+/Na^+ citosólico en sus células (18).

La soya, al igual que muchos cultivos económicamente importantes, está sujeta a estrés abióticos que reducen su rendimiento (19, 20). Precisamente la salinización de los suelos es uno de los estreses que amenaza crecientemente la productividad de cultivares de soya (21). Actualmente, la mayoría de los estudios que han utilizado métodos de detección para tolerancia a salinidad (50 a 200 mM cloruro de sodio [$NaCl$]) basados en el crecimiento, el daño de la membrana celular, los mecanismos fisiológicos y el rendimiento, refieren que la soya es un cultivo relativamente sensible a la salinidad (1, 5, 6). Según diversos autores (22) el rendimiento de la soya es reducido cuando la salinidad del suelo exceda los 4 dS/m que es el valor umbral respecto al contenido total de sales, cuantificadas en el extracto de saturación del suelo. En correspondencia, una disminución significativa en el rendimiento por planta de tres cultivares de soya se observó bajo condiciones salinas de 3, 6 y 9 dS/m, respecto al control, alcanzándose 0,892 g (71,36 % del control), 0,516 g (41,28 % del control) y 0,274 g (21,92 % del control), respectivamente (23). Por el contrario, otros autores han clasificado a los cultivares de soya como moderadamente tolerantes a la salinidad (24, 25). También es planteado que el germoplasma de soya presenta un espectro de tolerancia a la salinidad de alto a bajo (21, 26). Es difícil definir si la soya es una especie halófito o glicófito, pues sus cultivares presentan variabilidad en la respuesta a estrés salino, por lo que la capacidad para tolerar la salinidad en mayor o menor medida estará en dependencia del genotipo evaluado.

Además de las afectaciones ocasionadas en el rendimiento, los altos niveles de salinidad en el suelo imponen un daño gradual durante todo el ciclo de vida de la soya. La germinación de las semillas de soya se afecta cuando son expuestas a altas concentraciones de sal (26). El orden de tolerancia a la salinidad en la etapa de germinación es el siguiente: imbibición > emergencia de la radícula > crecimiento de la raíz > crecimiento de las raíces laterales (27).

En el germoplasma de soya y de muchas especies la tolerancia a salinidad en la etapa germinativa no está consistentemente relacionada a la tolerancia durante la emergencia, crecimiento vegetativo, floración y fructificación (28). Investigaciones con el fin de comparar tolerancia a la salinidad en diferentes etapas del desarrollo mediante el empleo de QTLs (locus de un carácter cuantitativo) comenzaron a realizarse a finales de la década de 1990. En estos estudios se evidenció que QTLs asociados con la tolerancia a la salinidad en la etapa de germinación de la cebada (*Hordeum vulgare*), el tomate (*Solanum lycopersicum*) y *Arabidopsis thaliana* mostraron resultados diferentes a los QTLs asociados con tolerancia a la salinidad en etapas temprana del crecimiento; las plantas seleccionadas por su capacidad para germinar en altas concentraciones salinas no mostraron similar tolerancia a la salinidad durante el crecimiento vegetativo (29, 30, 31). En cultivos como tomate, cebada, maíz (*Zea mays*), arroz (*Oryza sativa*) y trigo (*Triticum spp*), la tolerancia a la salinidad tiende a incrementar con la edad de la planta (32). Por el contrario, en la soya la tolerancia a la salinidad tiende a disminuir y se plantea que la etapa de plántulas es mucho más sensible a estrés salino que la etapa de germinación.

Al evaluar en soya el efecto de altas concentraciones de NaCl en la etapa germinativa y de plántula, varios autores (33) observaron que con una concentración Na⁺ de 9,3 mg/g de peso fresco en el eje embrionario, aún era posible obtener un 40 % de germinación, mientras que el crecimiento de las plántulas fue completamente inhibido cuando el tejido alcanzó una concentración Na⁺ de 6,1 mg/g de peso fresco.

De igual modo, los caracteres agronómicos en el cultivo de la soya pueden verse severamente afectados en condiciones de estrés salino. Se ha observado que altas concentraciones de sal en el suelo impone una reducción en la altura, el tamaño de la hoja, la biomasa, el número de internodo, el número de ramas y vainas, así como del peso por planta y del peso de las semillas (34). Una reducción significativa en la altura y el peso fresco de plántulas de soya fue evidenciada por Amirjani (1) al incrementar los niveles de salinidad. Cuando las plántulas se trataron con 50, 100 y 200 mM de NaCl se evidencia una disminución en la altura de la planta del 30, 47 y 76 % y del peso fresco del 32, 54 y 76 %, respectivamente. Por otra parte, se ha demostrado que el estrés salino también incide en la calidad de las semillas de soya, al reducir el contenido de lípidos y proteínas. Recientemente, se determinó que la salinidad presenta un efecto positivo en el porcentaje de aceite por grano y negativo en el de proteína. No obstante, en condiciones salinas el contenido de proteína en las diferentes etapas de desarrollo de la semilla es mayor que el contenido de aceite (23).

Hasta el momento hemos mencionado algunos de los caracteres morfológicos que se ven afectados negativamente cuando las plantas crecen en altas concentraciones de sal. Sin embargo, existe un elemento muy importante que es determinante

para el crecimiento de las leguminosas. Precisamente este elemento es la fijación simbiótica de nitrógeno en nódulos de las raíces el cual también es afectado por la salinidad.

EFFECTO DE LA SALINIDAD EN LA NODULACIÓN

Una de las características que distingue a las leguminosas del resto de las especies es la formación de nódulos en sus raíces con bacterias simbióticas conocidas como rizobios. La fijación simbiótica de nitrógeno en nódulos de las raíces es imprescindible para la síntesis de biomoléculas esenciales, por lo que del número y de la calidad de los nódulos de las raíces estará determinado el estado nutricional de la planta (35).

El estrés salino afecta la nodulación de la soya y disminuye el número y biomasa de los nódulos de las raíces. Además de reducir la nodulación, la salinidad también produce una disminución de la actividad nitrogenasa específica y en la eficiencia de la fijación de nitrógeno (36). Lo anterior está dado porque ante el efecto salino se atenúa la respiración aeróbica de las bacterias fijadoras de nitrógeno, se reduce el contenido de leghemoglobina en nódulos de las raíces, y se agota la fuente de energía necesaria para la fijación de nitrógeno (37). También, el estrés salino inhibe fuertemente la deformación de los pelos radicales ante la percepción de los factores de nodulación (Nod) de las bacterias y por lo tanto dificulta la iniciación del proceso de simbiosis, apreciándose una reducción en el número de nódulos por planta (38).

Se piensa que la tolerancia a la salinidad en la nodulación de la soya está mediada por señales de soluto, tanto en la parte aérea, como en las raíces de la planta (39). Un cultivar de soya sensible a la salinidad "NOD1-3" exhibió un efecto perjudicial más severo en la

nodulación que el cultivar tolerante a la salinidad "PI416937" cuando se sometieron a estrés salino. El injerto de vástagos de "PI416937" en raíces del cultivar "NOD1-3" atenúo la inhibición, lo que sugiere una transmisión descendente de las señales de nodulación. Mientras tanto, el injerto de vástagos del patrón sensible a la salinidad en raíces de "PI416937" mostró una inhibición moderada, lo que indica que las señales de nodulación también fueron generadas a partir de las raíces.

La capacidad de los nódulos para mantener un nivel significativo de fijación de nitrógeno en condiciones salinas, está correlacionado positivamente con la capacidad de tolerancia a la salinidad, tanto por la soya como por las cepas *Bradyrhizobia/Rhizobia*. El efecto dañino de la salinidad en cepas *Bradyrhizobia/Rhizobia* parece atribuirse a un efecto específico de iones en lugar de un efecto osmótico. La capacidad de tolerancia a la salinidad de *Bradyrhizobia/Rhizobia* está determinado por el pH, la temperatura, las fuentes de carbono, y la presencia de solutos osmoprotectores en el sustrato del suelo (40). La tolerancia a la salinidad de diferentes cepas de *Bradyrhizobia/Rhizobia* no está relacionado con su origen ecológico. La aplicación de genisteína (una señal isoflavonoide producida por las plantas para estimular el proceso de nodulación en la bacteria) supera los efectos estresantes de la salinidad durante la simbiosis entre *Bradyrhizobia* y la soya, permitiendo mejorar el crecimiento de las plantas y el rendimiento de la soya (7).

ESTRÉS IÓNICO EN SOYA

Por lo general, cuando las plantas de soya son sometidas a estrés salino la tasa de crecimiento y la fotosíntesis se ven afectadas debido a la toxicidad específica de iones (41).

La mayoría de los estudios realizados en *A. thaliana* y arroz indican que el Na^+ es el principal ion letal, por lo que una acumulación excesiva de iones Na^+ es la causa de muerte inducida por salinidad (42). Sin embargo, en la soya, experimentos clásicos sugieren que el daño inducido por la salinidad está relacionado con el contenido de Cl^- en la parte aérea (43). La toxicidad de Cl^- ha sido reconocida como un problema en los campos de soya. Se ha observado que plántulas de soya cultivadas en condiciones de salinidad, presentan síntomas de clorosis en sus hojas y reducción de la biomasa debido a la toxicidad inducida por el Cl^- (41).

Aun cuando es cuestionada la principal causa de estrés iónico en la soya cultivada, frecuentemente los experimentos se realizan bajo la acción conjunta de iones de Na^+ y Cl^- . Lo anterior, hace difícil comparar y evaluar sus efectos de estrés por separado y concluir cual es el ion responsable de la muerte inducida en condiciones salinas.

Frecuentemente se plantea que la tolerancia a la salinidad está relacionada con la eficiencia de limitar la translocación de Na^+/Cl^- desde las raíces a las hojas. Algunos cultivares de soya muestran mejor tolerancia a la salinidad ya que evitan la translocación de iones de las raíces a otras partes de la planta; no acumulan mucha sal en las hojas y los tallos y cuentan con un mejor ajuste osmótico en sus células. Estudios pioneros de tolerancia a la salinidad en cultivares de soya, refieren que las concentraciones de Cl^- en las hojas de los cultivares tolerantes es 10 veces menor que en la de los cultivares sensibles (43). Algunos autores evaluaron el mecanismo de tolerancia a la toxicidad iónica de Na^+ y Cl^- en poblaciones de soyas cultivadas y silvestres (44). Sus resultados mostraron que el Cl^- fue la principal causa de toxicidad iónica en las poblaciones cultivadas, mientras

que el Na^+ en las poblaciones silvestres. La moderada tolerancia a la salinidad en plantas cultivadas de soya, se debió principalmente a la retención de Cl^- en las raíces evitando así la acumulación a concentraciones tóxicas en tallos y hojas. Precisamente este y otros mecanismos son utilizados en soya para mantener la homeostasis de iones y evadir los daños impuestos por el estrés salino.

La homeostasis K^+/Na^+ citosólica es crucial para el metabolismo celular y es considerada un componente clave de la tolerancia a la salinidad en las plantas (45, 46). Los procesos más importantes para el mantenimiento de la homeostasis iónica constituyen: la acumulación celular, secuestro y exportación, y el transporte de iones a larga distancia. Estudios sobre regulación de genes en plantas modelo como *A. thaliana* y arroz han sugerido que varias ATPasas, canales proteicos para el paso del agua y transportadores iónicos son regulados por el estrés salino tanto a nivel de transcripción como a nivel de biosíntesis de proteínas (8).

El papel de varios de los transportadores iónicos en las plantas tolerantes a salinidad, ha sido un punto de mucha atención durante los últimos tiempos. Se han obtenido grandes progresos en la caracterización de transportadores iónicos y la evaluación funcional de los mismos en la tolerancia a este estrés^A. En las células de las plantas superiores, los iones Na^+ son excluidos de las células o confinados en sus vacuolas principalmente por bombas Na^+/H^+ (antiportadores), bombas proteicas que hacen uso del gradiente de pH generado por ATPasas H^+ localizadas en la membrana citoplasmática o ATPasas H^+ presentes en el tonoplasto.

^AVelarde, A. M. Modulación del transporte iónico por poliaminas y especies reactivas de oxígeno y su posible impacto en la respuesta de planta a estrés salino. [Tesis de Maestría]. Facultad de Medicina, Universidad de Colima. 2009, 85 p.

Existen varios genes que codifican para antiportadores Na^+/H^+ en el genoma de *Arabidopsis*. El primero de estos genes que fue caracterizado es el *AtNHX1*, pero se reconocen hasta seis isoformas diferentes de genes *NHX* (47). La función del gen *AtNHX1* en plantas tolerantes a la salinidad fue demostrado por Apse (48) al concluir que son importantes para secuestrar el exceso de Na citosólico en la vacuola y evitar su efecto tóxico.

Existen muy pocos trabajos de genes que regulan la homeostasis iónica en soya (49). Un estudio fisiológico, refiere que la homeostasis de Cl^- es un mecanismo importante para lograr la tolerancia a estrés salino en este cultivo, pero actualmente, poco se sabe de los transportadores de iones que regulan su homeostasis (43). En este sentido, algunas investigaciones se han dirigido al estudio de los canales de cloro (CLC) en plantas. Varios autores plantean que los CLC pudieran desempeñar diversas funciones celulares, tales como estabilización del potencial eléctrico de membrana, regulación del volumen celular y el transporte transcelular de Cl^- (50, 51). Aun cuando no está clara la localización subcelular de los CLC, se han hallado situados en las membranas mitocondriales y el tonoplasto de tabaco (*Nicotiana* sp.) y arroz, respectivamente (52, 53). Por el contrario, numerosas investigaciones demuestran como los transportadores Na^+/H^+ regulan la homeostasis de Na^+ . No obstante, en el cultivo de la soya un estudio minucioso comenzó solo hace siete años por varios autores (44), quienes informaron la existencia de un transportador Na/H (GmCAX1) localizado en la membrana plasmática de células oclusivas y epidérmicas de *A. thaliana* y cebolla (*Allium* sp.) que sobreexpresaban el gen GmCAX1, respectivamente. La expresión de GmCAX1 fue inducida por tratamientos con

polietilenglicol (PEG), ácido abscísico (ABA), calcio, Na^+ y litio (Li^+). Las plantas transgénicas de *A. thaliana* mostraron una reducción en la acumulación de iones Na^+ , K^+ y Li^+ en el citosol y fueron tolerantes a Li^+ y Na^+ durante la germinación. Lo anterior indica que estos transportadores funcionan en expulsión de iones al medio extracelular.

Posteriormente, fueron caracterizados los genes GmCLC1 y GmNHX1 que codifican para transportadores de iones que regulan la homeostasis de Cl^- y Na^+ , respectivamente, con el fin de determinar sus funciones en respuesta a estrés salino (49). La expresión de ambos genes fue inducida en hojas y raíces de soya tratadas con NaCl y PEG. Un estudio de microscopía confocal, empleando proteínas de fusión fluorescentes amarillas en células transgénicas de tabaco BY-2, reveló que los transportadores GmCLC y GmNHX se localizan en el tonoplasto. También, una mayor concentración Cl^- o de Na^+ fue observada en las vacuolas de líneas transgénicas de tabaco que sobreexpresan el gen GmCLC1 o GmNHX1, indicando que estos transportadores funcionan en el secuestro de iones para reducir sus efectos tóxicos en el citosol.

Hasta el momento solo algunos transportadores iónicos han sido descrito en soya, por lo que se necesitan más estudios para delinear la función de cada componente en detalle.

ESTRÉS OSMÓTICO EN SOYA

En condiciones de salinidad, se sufre un estrés osmótico por la gran concentración de solutos disueltos en la zona radicular, lo que conlleva a reducir la capacidad de absorción de agua en las plantas, produciendo la disminución del potencial osmótico y de la turgencia. Una de las primeras respuestas fisiológicas ante la pérdida de la turgencia

es el aumento en la síntesis y redistribución de la fitohormona, ácido abscísico (ABA). El ABA inicia la activación del cierre de estomas ante estrés salino, por lo que se disminuyen los niveles de CO_2 y por consiguiente la fotosíntesis, conduciendo al estrés oxidativo^A.

El estrés oxidativo, es un término comúnmente utilizado para describir los efectos adversos de las especies reactivas de oxígeno (ERO) sobre las plantas. Las ERO son responsables del daño oxidativo de macromoléculas biológicas como el ácido desoxirribonucleico (ADN), lípidos, carbohidratos y proteínas^A. Para reparar y mitigar el daño producido por las ERO, ciertas especies han desarrollado mecanismos de protección como la síntesis de dos tipos de antioxidantes: a) sistema enzimático y b) sustancias no enzimáticas, de bajo peso molecular, como los fenoles.

Las principales enzimas antioxidantes que intervienen en la eliminación de las especies reactivas del oxígeno son: superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), peroxidasa (POX), ascorbato peroxidasa (APX) y glutatión reductasa (54). En la soya con el objetivo de evaluar el estrés oxidativo generado por la salinidad, se determinó la actividad de las enzimas SOD, CAT y POD en hojas de plantas tratadas con 50, 100 y 200 mM de NaCl . Un incremento de la salinidad superior a 50 mM resultó en un aumento de la actividad de estas enzimas. De este modo, la actividad de SOD, CAT y POD en plantas crecidas conteniendo 100 y 200 mM de NaCl fue 60 y 21, 67 y 47, 71 y 40 % superior que en el testigo, respectivamente (1). Es planteado que un aumento en la actividad de la enzima SOD permite destoxificar el radical superóxido, producido por el estrés, y constituye una importante estrategia para disminuir los efectos nocivos del estrés oxidativo.

Pese a que la SOD actúa como la primera enzima de defensa contra la oxidación producida por las ERO, su actividad genera la acumulación de peróxido de hidrógeno (H_2O_2), un producto tóxico para las plantas (55). Por este motivo, la soya debería contar con un mecanismo que le permita transformar el H_2O_2 en una sustancia inocua. La POD en el apoplasto y la CAT en el peroxisoma descomponen al H_2O_2 mediante la oxidación de diversos sustratos (56), por lo que sus actividades se complementan con la de la SOD, eliminando el producto tóxico producido por esta.

Además de las enzimas antioxidantes, algunos osmolitos orgánicos como el manitol y la prolina participan en la eliminación de especies reactivas de oxígeno (57). Otros como los polioles, protegen a las membranas del daño oxidativo regulando las actividades de varios antioxidantes. Estos y otros solutos compatibles (glucosa, pinitol, glicina betaína y poliaminas), también pueden actuar como osmoprotectores disminuyendo el potencial osmótico y facilitando la retención de agua en el citoplasma (58), siendo esta otra respuesta adaptativa que permite la tolerancia a la salinidad.

En relación a la prolina, se plantea que su acumulación es una respuesta común en un amplio rango de estreses abióticos como la salinidad. En la soya se ha evidenciado que la degradación de poliaminas por la enzima diamina oxidasa contribuye a la acumulación del γ ácido amino butírico (59). Plantas de soya sometidas a estrés salino con niveles de 200 mM NaCl generan una acumulación significativa de prolina en el citoplasma celular de las hojas (1). Este resultado sugiere que a nivel de hojas la acumulación de prolina puede ser considerada como un indicador de sensibilidad a las sales en soya.

Hasta el momento, de todos los osmolitos encontrados en soya, el pinitol es el soluto que más

abunda en todas las partes de la planta. Recientes estudios sugieren que el pinitol puede acumularse en soya como respuesta a estrés osmótico y su concentración en hojas de plantas estresadas puede ser mayor que la de prolina (60).

Etiquetas de secuencias expresadas (ETS) publicadas en bancos de datos de plantas modelo como tabaco, arabisopsis y arroz, ha incentivado enormemente a realizar estudios de proteínas que responden a estrés osmótico en soya mediante técnicas de proteómica (6, 61). De este modo se identifican aquellas proteínas que son determinantes en la respuesta a estrés osmótico. La calnexina es una proteína transportadora de soya homóloga a la H^+ -ATPasa de la membrana plasmática. Un ensayo inmunoblotting confirmó que esta proteína es acumulada en condiciones hiperosmóticas, lo cual sugirió que es una H^+ -ATPasa altamente regulada que conlleva a un eflujo acelerado de iones (10).

Como ven una serie de mecanismos están implicados para tolerar la salinidad, por lo que en soya la moderada tolerancia exhibida por algunas variedades, pudiera estar dada por la capacidad que tienen esos genotipos de soya para combinar estos mecanismos de adaptación.

FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN NAC EN SOYA

La comprensión de los mecanismos moleculares, a través de los cuales las plantas perciben el estrés y traducen esta señal dentro de las células para generar respuestas adaptativas, es vital para diseñar estrategias que permitan mejorar la tolerancia al estrés de los cultivos (62). En los últimos años, la biotecnología ha logrado grandes avances en la producción de plantas tolerantes a diversos estrés abióticos (causados por condiciones ambientales adversas).

En los comienzos, se utilizaron genes que codifican diferentes proteínas involucradas en la protección y reparación del daño celular, como enzimas de la biosíntesis de moléculas osmoprotectoras, lográndose buenos resultados (63). Sin embargo, el uso de genes reguladores, como los factores de transcripción, parece ser un enfoque más efectivo en la producción de plantas tolerantes al estrés. Un solo gen regulador puede alterar la expresión de un gran número de genes que cumplen funciones de protección y reparación, generando una respuesta mucho más amplia y eficaz (64).

El estrés salino regula los factores de transcripción por inducción de sus genes, activación de sus proteínas, o degradación a través del sistema de proteasoma. De esta manera, los factores de transcripción actúan como interruptores moleculares para la expresión de los genes de respuesta a estrés (65). Actualmente, muchos esfuerzos se realizan para mejorar la tolerancia a estrés salino en plantas, mediante la sobreexpresión de algunos genes activados por factores de transcripción que regulan su expresión, tales como, OsNAC10 (66), SNAC2 (67) y GmNAC (12).

Las proteínas de tipo NAC pertenecen a una familia de factores de transcripción específicos de plantas. Los miembros de esta superfamilia, se caracterizan por presentar un dominio de unión al ADN altamente conservado en la región N-terminal y una región C-terminal variable, reguladora de la transcripción (16, 68). Las proteínas NAC pueden regular un gran número de procesos celulares durante el desarrollo la respuesta a estrés, porque son capaces de formar múltiples complejos de proteínas (69).

El primer informe comprensivo de FT-NAC fue publicado por Olsen (70), pero las investigaciones han progresado substancialmente desde ese entonces. Varios miembros de esta familia fueron identificados y caracterizados en plantas modelos como *A. thaliana* (71) y cultivadas como arroz (67), trigo (72) y soya (73). En esta última especie cultivada, se piensa que existen 54 genes NAC basado en bibliotecas ETS (74) y 101 proteínas NAC basado en secuencias de genoma de la soya (75). Recientemente, se analizaron 31 genes NAC de soya y se encontró que nueve de ellos fueron inducidos por la salinidad y otros factores de estrés tales como la alta sequía, frío y tratamiento con ABA (73). Sin embargo, la funciones de estos NACs de soya en la tolerancia al estrés es desconocido.

En este sentido, genes GmNAC11 y GmNAC20 inducidos en raíces y cotiledones de soya por múltiples tratamientos, fueron estudiados para determinar sus funciones en respuesta a estrés. Plantas transgénicas de *A. thaliana*, sobre expresando el gen GmNAC20, mostraron mejor tolerancia a estrés salino y frío comparado con las plantas controles. La expresión de este gen también promovió la formación de raíces laterales en los clones transformados, indicando que además juega un papel importante en la señalización de auxinas y el desarrollo. En contraste, la sobre expresión de GmNAC11 confirió una mejor tolerancia solamente al estrés salino (12). Este resultado sugiere que ambos GmNAC funcionan como factores de transcripción que modula positivamente la tolerancia a estrés salino y que puede tener aplicaciones en la ingeniería genética para mejorar la tolerancia a la salinidad de los cultivos.

Algunos genes NAC han demostrado ser útiles para conferir tolerancia a estrés

salino en plantas modelos; sin embargo, aún se necesita una mejor comprensión de sus funciones para reducir al mínimo sus efectos negativos en plantas transgénicas. Por lo general, genes aislados y caracterizados de plantas cultivadas son empleados en el desarrollo de transgénicos tolerantes al estrés en plantas modelo como el tabaco, *Arabidopsis* o arroz. Sin embargo, se hace necesario extender los éxitos alcanzados en el mejoramiento a estrés salino, a especies cultivadas como la soya, lo cual se ha visto limitado por no tener implementado un eficiente sistema de transformación.

TRANSFORMACIÓN GENÉTICA DE LA SOYA

Como la soya es uno de los cultivos más importantes del mundo, los investigadores se han dado a la tarea de buscar métodos para mejorar y optimizar sus rendimientos ante condiciones adversas. Una variedad de técnicas de transformación han sido usadas para obtener soya transgénica. Sin embargo, algunos genotipos de soya han demostrado ser recalcitrante a los diferentes métodos de transformación (76).

Varios métodos de transformación físicos (electroporación, microinyección, tubo polínico y biobalística) y biológicos (*A. tumefaciens*) se han empleado para obtener plantas de soya genéticamente modificadas. Por ejemplo, plantas transgénicas de soya han sido regeneradas a partir de callos derivados de protoplastos electroporados (77, 78). La principal ventaja de este método radica en que una mayor cantidad de material uniformemente transformado puede ser generado y seleccionado en estadios tempranos para producir clones de células no quiméricas que exhiban integración y expresión de los genes introducidos.

El método de transformación de plantas vía tubo polínico es otro método directo que ha sido utilizado para la transformación de la soya. Diversos autores realizaron experimentos de transformación genética de soya a partir de flores tratadas con ADN (79), aproximadamente el 2 % de las semillas obtenidas que contenían el gen *gus* fueron positivas al ensayo GUS; sin embargo, en las hojas de las plantas crecidas de dichas semillas no se observó la actividad de la β glucuronidasa. Cuando se realizó este ensayo a las semillas de la progenie, menos del 3 % expresaron una reacción GUS positiva. En el PCR realizado con el ADN de las hojas de las plantas crecidas de estas semillas no se detectó el gen *gus*, lo que indicó que la actividad de la glucuronidasa que se observó en algunas semillas, pudo haber sido endógena o una expresión transiente, en la cual el ADN estaba dentro de las células pero no integrado al genoma de la planta.

El bombardeo de micropartículas es uno de los métodos que comúnmente se usa para generar plantas transgénicas en soya (80, 81, 82). Este método es el más conveniente para transferir múltiples genes dentro de la planta sin necesidad de complejas estrategias de clonaje, de varias cepas de *Agrobacterium* o de cruzamientos secuenciales. Sin embargo, su aplicación está en ocasiones limitada por la integración de múltiples copias o reconstitución de transgenes que resulta en su co-supresión (83, 84). En un intento de incrementar la eficiencia de transformación de la soya por bombardeo de micropartículas, un grupo de investigadores examinaron los efectos de varios parámetros como el tamaño de las partículas de oro, la distancia del objetivo, la presión de aceleración, la cantidad de ADN por bombardeo

y el número de bombardeos. La optimización de estas condiciones permitió generar plantas transgénicas estables de soya y la eficiencia de transformación superó significativamente a la obtenida mediante un protocolo convencional (85).

Además del método de biobalística, el otro método de transformación en soya más empleado es el de *A. tumefaciens*. Se ha demostrado que el genotipo de soya influye en la susceptibilidad de la planta al *Agrobacterium* y en su capacidad de regeneración *in vitro* (85), por lo que la eficiencia de este método de transformación dependerá de la variedad seleccionada. Hasta la fecha, solamente dos sistemas de regeneración han sido usados en la transformación de soya mediada por *Agrobacterium*. Estos sistemas son: los nudos cotiledonales y los embriones (86, 87).

El nudo cotiledonal fue el primer tipo de explante usado para regenerar plantas transgénicas de soya mediante *Agrobacterium* (88). Aunque se ha demostrado que es un buen explante para la transformación, aún existen problemas concernientes con las quimeras, pues se trata de un tejido meristemático multicelular y subepidérmico, que dificulta la penetración del *Agrobacterium*. Por lo que, para evitar las plantas quiméricas, es recomendado usar un agente selectivo con concentraciones superiores a la letal, determinada para la variedad que se está transformando (89).

El bombardeo de tejidos vegetales con microproyectiles es otra técnica que se utiliza para provocar heridas y promover la transformación mediada por *Agrobacterium*. Se basa en producir microheridas al tejido por bombardeo de partículas un momento antes de la inoculación con la suspensión de *Agrobacterium*. Droste *et al.* (90) fueron los primeros en reportar la aplicación de esta

técnica en la transformación de la soya. Aunque solamente determinaron la expresión del gen *uidA*, sus resultados mostraron que el sistema integrado bombardeo-*Agrobacterium* es una alternativa para transformar soya. Recientemente, plantas transgénicas fértiles de soya se han obtenido mediante la integración de estos dos métodos (91). Estos resultados indican que la combinación de ambos sistemas de transformación, promete mucho para aumentar la eficiencia de infección del *Agrobacterium* y para lograr una transformación estable de la soya.

En Cuba, un proyecto de Biotecnología de la Soya surgió en el 2008 liderado por el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, con el fin de obtener genotipos de soya resistentes a herbicida y estrés biótico y abiótico. Dado este propósito, se optimizaron protocolos de regeneración y de transformación genética (biobalística y *A. tumefaciens*) para las variedades cubanas de soya utilizando como explante nudos cotiledonales y embriones (92). Actualmente, se cuenta con clones transgénicos de soya de la variedad cubana Incasoy-36, que portan el gen *cp4 epsps* para la resistencia al herbicida glifosato (usado también como agente de selección) y el gen de defensa para la resistencia a enfermedades fungosas, los cuales están siendo empleados en el mejoramiento genético convencional para la transferencia de genes a otras variedades cubanas de interés comercial^B.

Es de destacar además, que con el objetivo de lograr un buen sistema de regeneración

^BSoto, N.; Delgado, C.; Rosabal, Y.; Ferreira, A. y Enríquez, G.A. Genetic transformation of Cuban soybean variety Incasoy-36 mediated by particle bombardment of embryonic axis. En: Metodos avanzados de mejoramiento genético de plantas. X Simposio Internacional de Biotecnología Vegetal. Instituto de Biotecnología de las Plantas, Santa Clara 2012 p. 78-79.

de embriones somáticos en las variedades cubanas se han realizado varias investigaciones en el Instituto de Biotecnología de las Plantas, a fin de crear las bases para un posible programa de transformación genética (93, 94). Por otra parte, como resulta de gran interés para nuestro país lograr una elevada producción de soya en nuestras condiciones climáticas, consideramos que es necesario emprender estudios dirigidos a la obtención de genotipos de soya tolerantes a estrés salino e hídrico.

REFERENCIAS

1. Amirjani, M. R. Effect of salinity stress on grown, mineral composition, proline content, antioxidant enzymes of soybean. *American Journal of Plant Physiology*, 2010, vol. 5, no. 6, p. 350-360.
2. FAO. Global network on integrated soil management for sustainable use of salt-affected soils. FAO Land and *Plant Nutrition Management Services*. Rome, Italy. 2005. [Consultado: 15/06/2012]. Disponible en: <<http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush>>.
3. Royon, A. y Aragues, R. Establecimiento de nuevos índices de tolerancia de los cultivos a la salinidad: la cebada como caso de estudio. *Investigación Agraria y Producción Vegetal*, 2003, vol. 17, no. 3, p. 410-421.
4. Katerju, N.; Van Homm, J.; Hamdy, A. y Mastroilli, M. Salt tolerance classification of crops according to soil salinity and water stress day index. *Int. J. Agric. Water Manage*, 2000, vol. 43, p. 99-109.
5. Kao, W. Y.; Tsai, T. T.; Tsai, H. C. y Shih, N. C. Response of three *Glycines* species to salt stress. *Environ. Exp. Bot.*, 2006, vol. 56, p. 120-125.
6. Sobhanian, H.; Razavizadeh, R.; Nanjo, Y.; Ehsanpour, A.; Jazii, F.; Montamed, N. y Komatsu, S. Proteome analysis of soybean leaves, hypocotys and under salt stress. *Proteome Sci.*, 2010, vol. 8, p. 19-33.

7. Miransari, M. y Smith, D. L. Alleviating salt stress on soybean (*Glycine max* (L.) Merr.)-*Bradyrhizobium japonicum* symbiosis, using signal molecule genistein. *European Journal of Soil Biology*, 2009, vol. 45, no. 2, p. 146-152.
8. Leidi, E. O. y Pardo, J. M. Tolerancia de los cultivos al estrés salino: qué hay de nuevo. *Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 2002, no. 2, p. 70-91.
9. Irsigler, A.; Costa, M.; Pedro, P.; Reis, A. B.; Dewey, R. E.; Boston, R. y Fontes, E. Expression profiling on soybean leaves reveals integration of ER- and osmotic-stress pathways. *BMC Genomics*, 2007, no. 8, p. 431-442.
10. Nouri, M. Z. y Komatsu, S. Comparative analysis of soybean plasma membrane proteins under osmotic stress using gel-based and LC MS/MS-based proteomics approaches. *Proteomics*, 2010, vol. 10, no. 10, p. 1930-1945.
11. Soares, N.; Belarmino, L. C.; Kido, E. A.; Wanderley, A. C.; Bezerra, B. N.; Cavalcanti, R.; Pandolfi, V.; Nepomuceno, A. L.; Abdelnoor, R. V.; Nascimento, L. C. y Benko, A. M. *In silico* identification of known osmotic stress responsive genes from *Arabidopsis* in soybean and *Medicago*. *Genet. Mol. Biol.*, 2012, vol. 35, no. 1, p. 7-22.
12. Hao, Y. J.; Wei, W.; Song, Q. X.; Chen, H. W.; Zhang, Y. Q.; Wang, F.; Zou, H. F.; Lei, G.; Tian, A. G.; Zhang, W.; Ma, B.; Zhang, J. S. y Chen, S. Y. Soybean NAC transcription factors promote abiotic stress tolerance and lateral root formation in transgenic plants. *The Plant Journal*, 2011, vol. 68, p. 302-313.
13. Tejera, N. A.; Sousi, M. y Lluçh, C. Physiological and nutritional indicators of tolerance to salinity in chickpea plants growing under symbiotic conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 2006, vol. 58, p. 17-24.
14. Nakashima, K.; Takasaki, H.; Mizoi, J.; Shinozaki, K. y Shinozaki, K. NAC transcription factors in plant abiotic stress responses. *Biochim. Biophys Acta*, 2011, vol. 1818, p. 97-103.
15. Verslues, P. E.; Agarwal, M.; Katiyar-Agarwal, S.; Zhu, J. y Zhu, J. K. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *The Plant Journal*, 2006, vol. 46, p. 992-1092.
16. Nakashima, K.; Ito, Y. y Yamaguchi-Shinozaki, K. Transcriptional Regulatory Networks in Response to Abiotic Stresses in *Arabidopsis* and Grasses. *Plant Physiol.*, 2009, vol. 149, p. 88-95.
17. Tal, M. y Shannon, M. C. Salt tolerance in the wild relatives of the cultivated tomato: responses of *Lycopersicon esculentum*, *Lycopersicon cheesmani*, *Lycopersicon peruvianum*, *Solanum pennellii*, and F1 hybrids to high salinity. *Aust. J. Plant Physiol.*, 1983, vol. 10, p. 109-117.
18. Glenn, E. P. Salt tolerance and crop potential of halophytes. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 1999, vol. 18, p. 227-255.
19. Manavalan, L. P.; Guttikonda, S. K.; Tran, L. S. y Nguyen, H. T. Physiological and molecular approaches to improve drought resistance in soybean. *Plant Cell Physiol.*, 2009, vol. 50, no. 7, p. 1260-1276.
20. Tran, L. S. y Mochida, K. Functional genomics of soybean for improvement of productivity in adverse conditions. *Funct. Integr. Genomics*, 2010, vol. 10, no. 4, p. 447-462.
21. Phang, T. H.; Shao, G. y Lam, H. M. Salt tolerance in soybean. *Review Journal of Integrative Plant Biology*, 2008, vol. 50, no. 10, p. 1196-1212.
22. Hamdy, A.; Katerji, N.; Mastroilli, M. y Van Hoom, J. W. Salinity effect on crop development and yield, analysis of salt tolerance according to several classification methods. En: Hamdy, A. The use of non conventional water resources. Ed. Bari : Ciheam/eu DG Research, 2005. p. 125-146.
23. Ghassemi, K. y Taifeh-Noori, M. Soybean Performance under Salinity Stress. En: Prof. Tzi-Bun Ng. *Soybean - Biochemistry, Chemistry and Physiology*. 2011. p. 631-642. ISBN: 978-953-307-219-7, InTech.
24. Ashraf, M. Breeding for salinity tolerance in plants. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 1994, vol. 13, p. 17-42.
25. Mass, E. V. y Hoffman, G. J. Crop salt tolerance current assessment. *J. Irrig. Drain. Div.*, 1977, vol. 103, p. 115-134.
26. Prema, K.; Narendra, J.; Apte, S. K. y Mahadev, G. S. Salt tolerance in Indian soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) varieties at germination and early seedling growth. *Annals of Biological Research*, 2012, vol. 3, no. 3, p. 1489-1498.
27. Shao, G. H.; Wan, C. W. y Li, S. F. Preliminary study on the physiology of soybean tolerance to salt stress at germinating stage. *Crop.*, no. 6, p. 25-27.
28. Cortés, V. y Real, G. Algunos efectos de la salinidad en el cultivo del tomate y prácticas agronómicas de su manejo. *IDESIA*, 2007, vol. 5, no. 3, p. 47-48.
29. Mano, Y. y Takeda, K. Mapping quantitative trait loci for salt tolerance at germination and the seedling stage in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Euphytica*, 1997, vol. 94, p. 263-272.
30. Foolad, M. R. Comparison of QTLs for seed germination under non-stress, cold stress and salt stress in tomato. *Plant Breed.*, 1999, vol. 118, p. 167-173.
31. Quesada, V. Genetic architecture of NaCl tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, 2002, vol. 130, p. 951-963.
32. Foolad, M. R. Recent advances in genetics of salt tolerance in tomato. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 2004, vol. 76, p. 101-119.
33. Hosseini, M. K.; Powell, A. A. y Bingham, I. J. Comparison of the seed germination and early seedling growth of soybean in saline conditions. *Seed Sci. Res.*, 2002, vol. 12, p. 165-172.
34. Abel, G. H. y MacKenzie, A. J. Salt tolerance of soybean varieties (*Glycine max* L. Merrill) during germination and later growth. *Crop Sci.*, 1964, vol. 4, p. 157-161.
35. Wan, C.; Shao, G.; Chen, Y. y Yan, S. Relationship between salt tolerance and chemical quality of soybean under salt stress. *Chin. J. Oil Crop Sci.*, 2002, vol. 24, p. 67-72.

36. Elsheikh, E. A. y Wood, M. Nodulation and N₂ fixation by soybean inoculated with salt-tolerant rhizobia or salt-sensitive bradyrhizobia in saline soil. *Soil Biol. Biochem.*, 1995, vol. 27, p. 657-661.
37. Salah, I.; Slatni, T.; Albacete, A.; Gandour, M.; Martínez, C.; Houmani, H.; Ben Hamed, K.; Martínez, V.; Pérez, F. y Abdelly, C. Salt tolerance of nitrogen fixation in *Medicago ciliaris* is related to nodule sucrose metabolism performance rather than antioxidant system. *Symbiosis*, 2010, vol. 51, no. 2, p. 187-195.
38. Duzan, H. M.; Zhou, X.; Souleimanov, A. y Smith, D. L. Perception of *Bradyrhizobium japonicum* Nod factor by soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) root hairs under abiotic stress conditions. *J. Exp. Bot.*, 2004, vol. 55, p. 2641-2646.
39. Abd-Alla, M. H.; Vuong, T. D. y Harper, J. E. Genotypic differences in dinitrogen fixation response to NaCl stress in intact and grafted soybean. *Crop Sci.*, 1998, vol. 38, p. 72-77.
40. Elsheikh, E. A. y Wood, M. Response of chickpea and soybean rhizobia to salt: influence of carbon source, temperature and pH. *Soil Biol. Biochem.*, 1989, vol. 21, p. 883-887.
41. Kurniadie, D. y Redmann, R. E. Growth and chloride accumulation in *Glycine max* treated with excess KCl in solution culture. *Commun Soil Sci. Plant Ana.*, 1999, vol. 30, p. 699-709.
42. Gao, J. P.; Chao, D. Y. y Lin, H. X. Understanding abiotic stress tolerance mechanisms: recent studies on stress response in rice. *J. Integr. Plant Biol.*, 2007, vol. 49, p. 742-750.
43. Abel, G. H. Inheritance of the capacity for chloride inclusion and chloride exclusion by soybeans. *Crop Sci.*, 1969, vol. 9, p. 697-698.
44. Luo, Q.; Yu, B. y Liu, Y. Differential sensitivity to chloride and sodium ions in seedlings of *Glycine max* and *G. soja* under NaCl stress. *J. Plant Physiol.*, 2005, vol. 162, p. 1003-1012.
45. Chen, Z.; Pottosin, I.; Cuin, T.; Fuglasng, A.; Tester, M.; Jha, M.; Zepeda-Jazo, I.; Zhou, M.; Pal, gren, M.; Newman, A. y Shabala, S. Root plasma membrane transporters controlling K⁺/Na⁺ homeostasis in salt-stressed barley. *Plant Physiol.*, 2007, vol. 145, p. 1714-1725.
46. Cuin, T.; Betts, S.; Chalmadrier, R. y Shabala, S. A root's ability to retain K⁺ correlates with salt tolerance in wheat. *J. of Experimental Bot.*, 2008, vol. 59, no. 10, p. 2697-2706.
47. Yokoi, S.; Quintero, F. J.; Cubero, B.; Ruiz, M. T.; Bressan, R. A.; Hasegawa, P. M. y Pardo, J. M. Differential expression and function of *Arabidopsis thaliana* NHX Na⁺/H⁺ antiporters in the salt stress response. *Plant Journal*, 2002, vol. 30, p. 529-539.
48. Apse, M. P.; Aharon, G. S.; Snedden, W. A. y Blumwald, E. Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na⁺/H⁺ antiport in *Arabidopsis*. *Science*, 1999, vol. 285, p. 1256-1258.
49. Li, F.; Zhang, L.; Wang, G.; Cao, Y.; Wang, J. y Tang, K. Cloning and characterization of a salt-tolerance related gene from *Glycine max*. *Mol. Plant Breeding*, 2006, no. 4, p. 464-468.
50. Hechenberger, M.; Schwappach, B.; Fischer, W. N.; Fromer, W. B.; Jentsch, T. J. y Steinmeyer, K. A family of putative chloride channels from *Arabidopsis* and functional complementation of a yeast strain with a *CLC* gene disruption. *Journal of Biological Chemistry*, 1996, vol. 271, p. 33632-33638.
51. Barbier-Brygoo, H.; Vinauger, M.; Colcombet, J.; Ephritikhine, G.; Frachisse, J. M. y Maurel, C. Anion channels in higher plants: functional characterization, molecular structure and physiological role. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2000, vol. 1465, p. 199-218.
52. Lurin, C.; Guclu, J.; Cheniclet, C.; Carde, J. P.; Barbier-Brygoo, H. y Maurel, C. CLC-Nt1, a putative chloride channel protein of tobacco, co-localizes with mitochondrial membrane markers. *Biochemical Journal*, 2000, vol. 348, p. 291-295.
53. Nakamura, A.; Fukuda, A.; Sakai, H. y Tanaka, Y. Molecular cloning, functional expression and subcellular localization of two putative vacuolar voltage-gated chloride channel in rice (*Orzya sativa* L.). *Plant and Cell Physiology*, 2005, vol. 47, no.1, p. 32-42.
54. Li, Y. Effect of NaCl stress on antioxidative enzymes of *Glycine soja* sieb. *Pack. J. Biol. Sci.*, 2009, vol. 12, p. 510-513.
55. Mittler, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.*, 2002, vol. 7, p. 405-410.
56. Gratao, P. L.; Polle, A.; Lea, P. J. y Azevedo, R. A. Making the of heavy metal-stressed plants a little easier. *Funct. Plant Bio.*, 2005, vol. 32, p. 481-494.
57. Chinnusami, V.; Jagendorf, A. y Zhu, J. K. Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science*, 2005, vol. 45, p. 437-448.
58. Hasegawa, P. M.; Bressan, R. A.; Zhu, J. K. y Bohnert, H. J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 2000, vol. 51, p. 463-499.
59. Xing, S. G.; Jun, Y. B.; Hau, Z. W. y Liang, L. Y. Higher accumulation of (Gamma)- aminobutyric acid induced by salt stress through stimulating the activity of diamine oxidases in *Glycine max* (L.) Merr. *Roots. Plant Physiol Biochem.*, 2007, vol. 45, p. 560-566.
60. Streeter, J. G.; Lohnes, D. G. y Fioritto, R. J. Patterns of pinitol accumulation in soybean plants and relationships to drought tolerance. *Plant Cell Environ.* 2001, vol. 24, p. 429-438.
61. Toorchi, M.; Yukawa, K.; Nouri, M. Z. y Komatsu, S. Proteomic approach for identifying osmotic stress related proteins in soybean roots. *Peptide*, 2009, vol. 30, no. 12, p. 2108-2117.
62. Muñis, M. N. y Capiati, D. A. Tolerancia a la sequía en plantas. *Química Viva*, 2011, vol. 10, no. 3, p. 17-22.
63. Wang, W.; Vinocur, B. y Altman, A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 2008, vol. 218, p. 11-14.

64. Bhatnagar-Mathur, P.; Vadez, V. y Sharma, K. K. Transgenic approaches for abiotic stress tolerance in plants: retrospect and prospects. *Plant Cell Rep.*, 2008, vol. 27, p. 11-24.
65. Yamaguchi-Shinozaki, K. y Shinozaki, K. Organization of cis-acting regulatory elements in osmotic- and cold-stress-responsive promoters. *Trends Plant Sci.*, 2005, vol. 10, p. 88-94.
66. Jeong, J. S.; Kim, Y. S.; Baek, K. H.; Jung, H.; Ha, S.; Choi, Y. D.; Kim, M.; Reuzeau, C. y Kim, J. K. Root-specific expression of OsNAC10 improves drought tolerance and grain yield in rice under field drought conditions. *Plant Physiol.*, 2010, vol. 153, p. 185-197.
67. Hu, H. H.; You, J.; Fang, Y. J.; Zhu, X. Y.; Qi, Z. Y. y Xiong, L. Z. Characterization of transcription factor gene SNAC2 conferring cold and salt tolerance in rice. *Plant Mol. Biol.*, 2008, vol. 67, p. 169-181.
68. Tran, L. S.; Nishiyama, R.; Yamaguchi-Shinozaki, K. y Shinozaki, K. Potential utilization of NAC transcription factors to enhance abiotic stress tolerance in plants by biotechnological approach. *GM Crops*, 2010, vol. 1, no. 1, p. 32-39.
69. Puranic, S.; Sahu, P. P.; Srivastava, P. S. y Prasad, M. NAC proteins: regulation and role in stress tolerance. *Review Trends in Plant Science*, 2012, vol. 16, no. 6, p. 369-381.
70. Olsen, A. N.; Ernst, H. A.; Leggio, L. L. y Skriver, K. NAC transcription factors: structurally distinct, functionally diverse. *Trends Plant Sci.*, 2005, vol. 10, p. 79-87.
71. Tran, L. S. P. Isolation and functional analysis of Arabidopsis stress-inducible NAC transcription factors that bind to a drought responsive cis-element in the early responsive to dehydration stress 1 promoter. *Plant Cell.*, 2004, vol. 16, p. 2481-2498.
72. Xia, N. Characterization of a novel wheat NAC transcription factor gene involved in defense response against stripe rust pathogen infection and abiotic stresses. *Mol. Biol. Rep.*, 2010, vol. 37, p. 3703-3712.
73. Tran, L. S. P.; Quach, T. N.; Guttikonda, S. K.; Aldrich, D. L.; Kumar, R.; Nguyen, H. T. Molecular characterization of stress-inducible GmNAC genes in soybean. *Mol. Genet. Genomics*, 2009, vol. 281, no. 647-666.
74. Tian, A. G.; Wang, J. y Cui, P. Characterization of soybean genomic features by analysis of its expressed sequence tags. *Theor. Appl. Genet.*, 2004, vol. 108, p. 903-913.
75. Pinheiro, G. L.; Marques, C. S.; Costa, M. D.; Reis, P. A.; Alves, M. S.; Carvalho, C. M.; Fietto, L. G. y Fontes, E. P. Complete inventory of soybean NAC transcription factors: sequence conservation and expression analysis uncover their distinct roles in stress response. *Gene*, 2009, vol. 444, p. 10-23.
76. Trick, H. y Finer, J. SAAT: sonication - assisted *Agrobacterium* - mediated transformation. *Transgenic Research*, 1977, vol. 6, p. 329-336.
77. Lin, W.; Odell, J. y Schreiner, R. Soybean protoplast culture and direct gene uptake and expression by cultured soybean protoplasts. *Plant Physiology*, 1987, vol. 84, no. 3, p. 856-861.
78. Dhir, S.; Dhir, S. y Widholm, J. Regeneration of fertile plants from protoplasts of soybean (*Glycine max* L. Merr.): genotypic differences in culture response. *Plant Cell Reports*, 1992, vol. 11, p. 285-289.
79. Li, Z.; Nelson, R.; Widholm, J. y Bent, A. Soybean transformation via the pollen tube pathway. *Soybean Genetics Newsletter*, 2003, vol. 29, p. 1-11.
80. Khalafalla, M.; Rahman, S.; El-Shemy, H.; Nakamoto, Y.; Wakasa, K. y Ishimoto, M. Optimization of Particle Bombardment Conditions by Monitoring of Transient sGFP (S65T) Expression in Transformed Soybean. *Breeding Science*, 2005, vol. 55, p. 257-263.
81. Rech, E.; Vianna, G. y Aragao, F. High-efficiency transformation by biolistics of soybean, common bean and cotton transgenic plants. *Nature Protocols*, 2008, vol. 3, no. 3, p. 410-418.
82. Vianna, G. R.; Aragão, F. J. L. y Rech, E. L. A minimal DNA cassette as a vector for genetic transformation of soybean (*Glycine max*). *Genet. Mol. Res.*, 2011, vol. 10, no. 1, p. 382-390.
83. Reddy, M.; Dinkins, R. y Collins, G. Gene silencing in transgenic soybean plants transformed via particle bombardment. *Plant Cell Report*, 2003, vol. 21, p. 676-683.
84. El-Shemy, H.; Teraishi, M.; Khalafalla, M.; Katsube-Tanaka, T.; Utsumi, S. y Ishimoto, M. Isolation of soybean plants with stable transgene expression by visual selection based on green fluorescent protein. *Mol. Breed.*, 2004, vol. 14, p. 227-238.
85. Donaldson, P. y Simmonds, D. Susceptibility to *Agrobacterium tumefaciens* and cotyledonary node transformation in short-season soybean. *Plant Cell Rep.*, 2000, vol. 19, p. 478-484.
86. Lee, H.; Park, S. y Zhang, Z. J. An Overview of Genetic Transformation of Soybean. En: Board, J. E. A Comprehensive Survey of International Soybean Research - Genetics, Physiology, Agronomy and Nitrogen Relationships. Ed. Intech. 2013. p. 489-506. ISBN: 978-953-51-0876-4.
87. Martinell, B.; Julson, L.; Emler, C.; Huang, Y.; McCabe, D. y Williams, E. Soybean *Agrobacterium* transformation method. (6384301) US. Ref Type: Patent. 2002.
88. Hinchee, M.; Connor-Ward, D.; Newell, C.; McMonnell, R.; Sato, S.; Gasser, C.; Fischhoff, D.; Re, D.; Fraley, R. y Horsch, R. Production of transgenic soybean plants using *Agrobacterium*- mediated DNA transfer. *Biotechnology*, 1988, vol. 6, p. 915-922.
89. Meurer, C.; Dinkins, R. y Collins, G. Factors affecting soybean cotyledonary node transformation. *Plant Cell Rep.*, 1998, vol. 18, p. 180-186.
90. Droste, A.; Pimentel, P.; Pasquali, G.; Mundstock, E. y Bodanese-Zanettini, M. Regeneration of soybean via embryogenic suspension culture. *Scientia Agricola*, 2001, vol. 58, no. 4, p. 753-758.

91. Wiebke-Strohm, B.; Droste, A.; Pasquali, G.; Osorio, M. B.; Bücken-Neto, L.; Passaglia, L. M. P.; Bencke, M.; Schenkel, M. y Bodanese-Zanettini, M. H. Transgenic fertile soybean plants derived from somatic embryos transformed via the combined DNA-free particle bombardment and Agrobacterium system. *Euphytica*, 2011, vol. 177, no. 3, p. 343-354.
92. Soto, N.; Ferreira, A.; Delgado, C. y Enríquez, G. A. Regeneración *in vitro* de plantas de soya de la variedad cubana Incasoy-36. *Biotecnología Aplicada*, 2013, vol. 30, no. 1, p. 34-38.
93. Bermúdez, I.; Socorro, T.; Pérez, J.; García, L. R.; Veitía, N.; Collado, R.; Torres, D. y Romero, C. Multiplicación y germinación de embriones somáticos en las variedades cubanas de soya Incasoy-1 e Incasoy-27. *Biotecnología Vegetal*, 2011, vol. 11, no. 1, p. 49-54.
94. Pérez, J. L.; Socorro, T.; García, L.; Veitía, N.; Bermúdez, I.; Collado, R.; Torres, D. y Romero, C. Influencia del tipo e intensidad de luz en la formación y multiplicación de embriones somáticos de soya. *Rev. Colomb. de Biotecnol.*, 2012, vol. 14, no. 2, p. 139-146.

Recibido: 16 de noviembre de 2012
Aceptado: 22 de mayo de 2013

¿Cómo citar?

Hernández Avera, Yuniet y Soto Pérez Natacha. Salinidad en la soya (*Glycine max* (L.) Merrill) y avances en el estudio de los mecanismos de tolerancia. *Cultivos Tropicales*, 2014, vol. 35, no. 2, p. 60-71.