

## Sensibilidad al herbicida Glufosinato de amonio en plantas de soya cultivar INCASoy-27

### Sensitivity to Glufosinate-ammonium herbicide in plants of *Glycine max* cultivar INCASoy-27

Jorge Liusvert Pérez Pérez<sup>1,2</sup>, Lourdes García Rodríguez<sup>1</sup>, Novisel Veitía Rodríguez<sup>1</sup>, Idalmis Bermúdez Carabaloso<sup>1</sup>, Raúl Collado López<sup>1</sup>, Damaris Torres Rodríguez<sup>1</sup>, Carlos Romero Quintana<sup>1</sup>, Adolfo Ramos Marzán<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Carretera a Camajuaní km 5.5, Santa Clara, Villa Clara, Cuba, C.P. 54830.

<sup>2</sup>Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal. Universidad de Granma. Carretera a Manzanillo, km 17.5, Peralejo, Bayamo, Granma, Cuba, C.P. 85100.

<sup>3</sup>Estación Experimental Agro-forestal, Cruce de los Baños, Tercer Frente, Santiago de Cuba, Cuba, C.P. 92700.

E-mail: jperez@udg.co.cu

**RESUMEN.** Este trabajo tuvo como objetivo definir la mínima concentración del herbicida Glufosinato de amonio que inhibe el crecimiento de las plantas de soya en condiciones de casa de cultivo. Las plantas fueron tratadas con diferentes concentraciones del herbicida (5; 10; 15; 20; 25; 30 mg L<sup>-1</sup>) y un tratamiento control. El aumento de las concentraciones incrementó el necrosamiento de las plantas y el empleo de 20 mg L<sup>-1</sup> del herbicida Glufosinato de amonio fue suficiente para inhibir el crecimiento de las plantas. Estos resultados permiten utilizar este método de selección en programas de mejora genética y selección de plantas transgénicas de soya.

**Palabras clave:** agente selectivo, Glufosinato de amonio, selección, soya.

**ABSTRACT.** This work had as objective to define the minimum concentration of herbicide Glufosinate-ammonium that inhibits the growth of the soybean plants in greenhouse condition. The soybean plants were tried with different concentrations of herbicide (5; 10; 15; 20; 25; 30 mg L<sup>-1</sup>) and a control without herbicide. The increase of the concentrations increased the necrosis of the plants and the use of 20 mg L<sup>-1</sup> Glufosinate de amonio herbicide was sufficient to inhibit the plant growth. These results allow using this method of selection in programs of genetic improvement and selection of transgenic soybean plants.

**Key words:** selective agent, Glufosinate-ammonium, selection, soybean.

## INTRODUCCIÓN

La soya (*Glycine max* L.), es considerada una de las leguminosas de mayor importancia económica en el mundo. Por ello, para obtener nuevos cultivares con resistencia a diferentes tipos de estrés, se requiere desarrollar programas de mejora genética.

En este sentido, la Biología Molecular proporciona nuevas herramientas para mejorar la eficiencia en el mejoramiento de plantas. En consecuencia, la transferencia de genes no siempre es estable debido a la baja eficiencia y aleatoriedad en la integración del ADN foráneo en el genoma de la célula hospedera, siendo necesario un sistema de selección de los tejidos transformados (Sundar y Sakthivel, 2008).

Por tal motivo, Glufosinato de amonio o fosfotricina conocido a nivel comercial como Basta<sup>®</sup>, Finale<sup>®</sup> o Liberty<sup>®</sup>, es un compuesto herbicida que ha sido empleado como agente selectivo, debido a que es un inhibidor de la glutamina sintetasa enzima que interviene en la asimilación de amonio y regulación del nitrógeno en las plantas (Sundar y Sakthivel, 2008; Kita *et al.*, 2009).

Al tener en cuenta que a nivel internacional se han obtenido plantas transgénicas de soya portadoras del gen *bar* de resistencia al Glufosinato de amonio, su expresión solo se ha confirmado en un número limitado de cultivares;

y hasta el momento, no existen referencias de la aplicación de este herbicida como agente selectivo en cultivares cubanos de soya.

Por lo antes expuesto, el objetivo de este trabajo fue definir la mínima concentración del herbicida Glufosinato de amonio que inhibe el crecimiento de las plantas de soya cultivar INCASoy-27 en condiciones de casa de cultivo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el Instituto de Biotecnología de las Plantas en Santa Clara, Cuba. Se empleó el cultivar de soya INCASoy-27, obtenida en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas mediante hibridación natural en el genotipo brasileño BR-32. Para evaluar la supervivencia de las plantas al herbicida en casa de cultivo, fueron sembradas semillas de soya en bolsas de polietileno que contenían como sustrato una mezcla de materia orgánica 75 % y zeolita 25 %. Estas fueron cultivadas durante tres semanas, a una temperatura de  $30 \pm 2$  °C y un flujo de fotones fotosintéticos (FFF) que osciló entre 280-400  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

El agente selectivo se preparó a partir del herbicida Glufosinato de amonio (Bayer, 2005) en una concentración de 20  $\text{mg mL}^{-1}$  y se esterilizó por filtración con ayuda de un filtro de membrana estéril con un tamaño del poro de 0,22  $\mu\text{m}$ .

Se establecieron seis tratamientos con diferentes concentraciones del herbicida (5; 10; 15; 20; 25; 30  $\text{mg L}^{-1}$ ) y un control al que se le aplicó agua desionizada estéril. Para cada tratamiento se tomaron veinte plantas sanas, con al menos tres hojas trifoliadas bien desarrolladas y activas fotosintéticamente.

La solución herbicida se aplicó con ayuda de un pincel, de forma homogénea sobre el haz y el envés de las hojas. A los cinco días, se realizó una descripción del daño sobre las hojas. Además, se cuantificó el número de plantas por grado de afectación y se determinó el grado de afectación promedio en cada concentración evaluada.

Para ello se confeccionó una escala descriptiva de cinco grados según el nivel de afectación. El grado

1, plantas que no mostraron afectación por herbicida; grado 2 (25 %), grado 3 (50 %), grado 4 (75 %) y grado 5 plantas con más del 76 % de afectación.

El análisis de los datos se realizó con ayuda del paquete estadístico *Statistic Packaged for Social Science* (SPSS) versión 18. Los datos referentes al grado de afectación de las plantas se procesaron mediante la prueba de *Kruskal-Wallis*.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se logró inhibir el crecimiento de las plantas de soya cultivar INCASoy-27 en los tratamientos con 20-30  $\text{mg L}^{-1}$  del herbicida Glufosinato de amonio. Además, se observaron manchas blanquecinas que se tornaron de color amarillo o causaron necrosis, en la superficie del limbo foliar de las plantas tratadas con el herbicida (Figura 1); las plantas del tratamiento control mantuvieron su coloración verde.

Estos daños en las hojas condujeron al necrosamiento del meristemo apical y yemas axilares, reflejo del daño causado por el herbicida al afectar procesos bioquímicos como la fotosíntesis y otros que son únicos en las plantas.

Esto permite corroborar que este agente selectivo es un herbicida de contacto no selectivo, cuyos daños ocurren en los tejidos verdes que están en contacto con el producto y causa efectos nocivos en células epidérmicas y del parénquima de las plantas (Karam y Oliveira, 2007). De esta forma, las células detienen la fotosíntesis, la síntesis de proteínas y bloquean la foto respiración hasta causar la muerte de la planta (Pascual et al., 2008; Kita et al., 2009).

Al cuantificar los resultados, se encontró que las plantas tratadas con un rango de concentraciones entre 5-15  $\text{mg L}^{-1}$  tenían pequeñas manchas cloróticas que ocupaban entre 25-50 % del área foliar. Sin embargo, estas concentraciones no fueron suficientes para causar la muerte de las plantas, las cuales continuaron su desarrollo.

Por el contrario, con 20  $\text{mg L}^{-1}$  del herbicida las manchas amarillas fueron más intensas y con

presencia de necrosis, las cuales cubrían hasta el 75 % del área foliar, lo que afecta la capacidad fotosintética. Además, se observó mortalidad de las plantas.

De manera similar, las plantas tratadas con 25-30 mg L<sup>-1</sup> del agente selectivo, adquirieron un grado cinco de afectación que condujo a la muerte en más del 90 % de las plantas a los cinco días de aplicado (Tabla 1).

Solo en las concentraciones entre 20-30 mg L<sup>-1</sup> fue posible la ocurrencia de necrosis en las plantas. Esto refleja que concentraciones inferiores no fueron suficientes para alcanzar los niveles de toxicidad en las células para su necrosamiento.

Teniendo en cuenta este resultado, se seleccionó el tratamiento con 20 mg L<sup>-1</sup> como la mínima concentración del herbicida Glufosinato de amonio a partir del cual se logra la mortalidad en el 75 % de las plantas no transgénicas.

Esta concentración es inferior a la recomendada en la literatura científica para el tratamiento en plantas resistentes a este herbicida. Según, Kita *et al.* (2009), el Glufosinato de amonio a 900 mg L<sup>-1</sup> es la concentración recomendada para la aplicación foliar en soya transgénica cultivada en condiciones de campo. A esta concentración sobreviven solo las plantas transgénicas y causa la muerte de las malezas circundantes.

También, Dang y Wei (2007) refieren que plantas transgénicas de soya mostraron resistencia al Glufosinato de amonio a 200 mg L<sup>-1</sup>, mientras que los controles se necrosaron. Resultados similares fueron obtenidos por Song *et al.* (2013) al verificar que las plantas que contenían el gen *bar*; se mantenían verdes y resistentes al Glufosinato de amonio a 135 mg L<sup>-1</sup> aplicado en la mitad de la superficie de las hojas.

En este trabajo la aplicación del herbicida fue homogénea en ambos lados y en la totalidad de

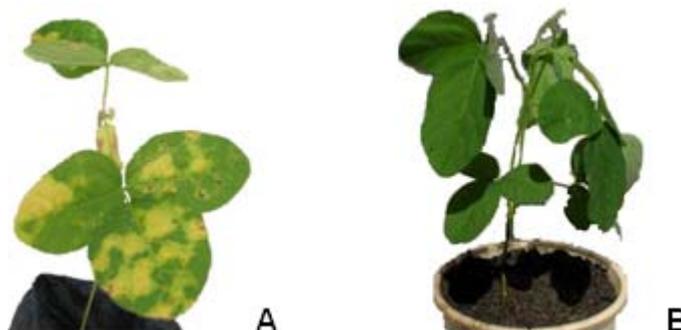


Figura 1. Respuesta al herbicida Glufosinato de amonio® en plantas de soya cultivar INCASoy-27. A) Planta con clorosis, B) Planta control

Tabla 1. Mortalidad de las plantas tratadas con diferentes concentraciones del herbicida Glufosinato de amonio® a los cinco días de aplicado

Glufosinato de amonio (mg l <sup>-1</sup> )	Grado de afectación en las plantas		Mortalidad (%)
	Medias	Rangos medios	
Control	1,00 e	10,50	0
5	2,15 d	45,78	0
10	2,25 d	48,63	0
15	3,05 c	57,48	0
20	4,40 b	105,13	45
25	4,90 ab	113,00	90
30	5,00 a	113,00	100

Letras diferentes difieren estadísticamente según la prueba de Kruskal-Wallis ( $p \leq 0.05$ )

las hojas. Sin embargo, esto no es posible en condiciones de campo debido a la forma de aplicación, características morfológicas de las hojas, presencia de factores ambientales que reducen su permanencia, y a otros factores que conllevan a una distribución heterogénea y que el volumen asperjado no alcance su sitio de acción en la concentración requerida, por lo que es necesario emplear altas concentraciones. Esto demuestra que las plantas resistentes pueden sobrevivir incluso a concentraciones superiores a la letal, en plantas susceptibles.

## CONCLUSIONES

La mínima concentración del herbicida Glufosinato de amonio que inhibió el crecimiento y causó la muerte de las plantas de soya cultivar INCASoy-27 en condiciones de casa de cultivo fue la de 20 mg L<sup>-1</sup>, por lo que puede ser utilizada como agente selectivo en programas de mejoramiento genético en esta especie.

## BIBLIOGRAFÍA

1. BAYER: Technical information Glufosinate-ammonium. *CropScience*, 2005, 38p.
2. Dang, W.; Z. Wei: An optimized *Agrobacterium*-mediated transformation for soybean for expression of binary insect resistance genes. *Plant Science* 173 (4): 381-389, 2007.
3. Karam, D.; M.F. De Oliveira: Selectividade de Herbicidas na Cultura do Milho. Ministério da Agricultura. Pecuária e Abastecimento. EMBRAPA. *Circular Técnica*, 98, 2007, 65 p.
4. Kita, Y.; M.S. Hanafy; M. Deguchi; H. Hasegawa; T. Terakawa; K. Kitamura; M. Ishimoto: Generation and characterization of herbicide-resistant soybean plants expressing novel phosphinothricin *N*-acetyltransferase genes. *Breeding Science* 59 (3): 245-251, 2009.
5. Pascual, M.; Z. Ping; E.G. Kirby; F.M. Cánovas; F. Gallardo: Response of transgenic poplar overexpressing cytosolic glutamine synthetase to phosphinothricin. *Phytochemistry* 69: 382-389, 2008.
6. Song, Z.; J. Tian; W. Fu; L. Li; L. Lu; L. Zhou; Z. Shan; G. Tang; H. Shou: Screening Chinese soybean genotypes for *Agrobacterium*-mediated genetic transformation suitability. *J Zhejiang Univ-Sci B. Biomed & Biotechnol* 14 (4): 289-298, 2013.
7. Sundar, I.K.; N. Sakthivel: Advances in selectable marker genes for plant transformation. *Plant Physiology* 165 (16):1698-1716, 2008.

Recibido: 20/02/2014

Aceptado: 15/09/2014