

EFFECTO DE LOS BRASINOESTEROIDES Y UN INHIBIDOR DE SU BIOSÍNTESIS EN DOS VARIEDADES DE TOMATE SOMETIDAS A ESTRÉS SALINO

Lissy Rosabal*, Yanelis Reyes, Lisbel Martínez, Luis Miguel Mazorra, Miriam Núñez

Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Cuba.

*E-mail: lissy@inca.edu.cu

Introducción

La salinidad de los suelos es uno de los estreses más perjudiciales para los cultivos en la actualidad. Existen reportes que demuestran que el área de nuestro planeta afectada por la salinización es de alrededor de 800 millones de hectáreas (FAO, 2008). En nuestro país, la superficie agrícola está afectada en un 14% y otro 15% más presenta peligros potenciales de salinización (Lau *et al.*, 2005).

Con esta problemática nos urge la necesidad de encontrar productos naturales, ecológicamente inocuos, capaces de proteger a las plantas contra este estrés y además que sean viables para nuestra economía.

Los brasinoesteroides (BRs) conforman una familia de compuestos de estructura esteroidal que son esenciales para el desarrollo de la planta (Clouse y Sasse, 1998). Las respuestas a estas hormonas incluyen efectos sobre la elongación y división celular, el inicio de la germinación de las semillas, el aumento de los rendimientos y la producción de biomasa en diferentes cultivos, la inducción de la biosíntesis de etileno y el aceleramiento de la maduración de las cosechas, además de aumentar la resistencia de las plantas a plagas y a diferentes factores de estrés como alta salinidad, sequía, bajas y altas temperaturas y agentes químicos agresivos como plaguicidas y herbicidas (Li y Chory, 1999). Sin embargo, existe muy poca información relacionada con la actividad antiestrés de este tipo de compuestos.

La 24-epibrasinólida (EBL) es el BR natural más usado internacionalmente para estudiar los efectos de esta familia de compuestos en las plantas, y diversas han sido las formas de aplicación y las concentraciones empleadas. También, para realizar experimentos actualmente se utilizan análogos, que son portadores de modificaciones en su estructura y por tanto, en su actividad biológica, como es el Biobras-16 (BB-16). Este último es una formulación que se sintetiza en nuestro país, el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Química de la Universidad de la Habana, el que ha tenido muy buenos resultados en la agricultura (Núñez *et al.*, 2003).

Teniendo en cuenta estos antecedentes y la necesidad del uso de productos que incrementen los rendimientos de cultivos de importancia económica, como es el caso del tomate, se realizó el siguiente trabajo con el objetivo de evaluar la influencia de estos compuestos en las respuestas de plántulas de dos genotipos de tomate a la salinidad.

Materiales y Métodos

Para realizar el experimento se utilizaron dos variedades cubanas de tomate, Amalia e INCA 9(1), dos brasinoesteroides, uno natural (24-epibrasinólida, EBL) y un análogo espirostánico, 25(R)-3a, 5a-dihidroxi- 5a-espirostan-6-ona conocido como BIOBRAS-16 (BB-16) y un inhibidor de la biosíntesis de BRs, BRZ2001. Las semillas de ambas variedades se embebieron, durante 4 horas, en soluciones de 0.1 μ M de 24-epibrasinólida o Biobras 16, sin y con 10 μ M del inhibidor BRZ2001, utilizándose la imbibición en agua como tratamiento control. Luego las semillas tratadas se pusieron a germinar sobre papel de filtro en placas Petri en solución de 75

mM NaCl o en agua destilada (control), bajo condiciones de oscuridad durante una semana a 25°C. Se colocaron en cada placa 30 semillas y se utilizaron 6 placas por tratamiento. Al cabo de los 7 días se evaluó la germinación de las semillas, la longitud de la raíz y del vástago, así como las masas fresca y seca de las plántulas. En el caso de la masa seca y fresca se conformaron tres muestras de 5 plantas cada una por tratamiento. Además se determinó la actividad peroxidasa, el contenido de prolina, las proteínas totales y la peroxidación lipídica. El experimento se repitió en dos ocasiones. El procesamiento estadístico de los datos obtenidos consistió en el cálculo de las medias, las desviaciones estándar y los intervalos de confianza a $p \leq 0.05$.

Resultados y Discusión

Se determinaron diferentes indicadores relacionados con la germinación y el crecimiento de plántulas etioladas de tomate de las variedades INCA 9(1) y Amalia. La dinámica de la germinación demostró que las semillas de tomates de ambas variedades cubanas, Amalia e INCA 9(1), tratadas con el inhibidor de la biosíntesis de los BRs, BRZ2001 y con NaCl (estrés salino), retrasan su germinación, siendo más pronunciado cuando se utiliza el inhibidor. Este fenómeno también se observa en los tratamientos que combinan el inhibidor y NaCl con la EBL, y se aprecia un bloqueo de la germinación en los tratamientos que tienen la combinación de los tres, EBL + BRZ + NaCl para ambas variedades (Figura no mostrada).

Se demostró el efecto negativo de la sal, para una concentración de 75mM, y el efecto inhibitorio de BRZ2001 a una concentración de 10 μ M en las plántulas etioladas de ambas variedades de tomate, donde los efectos más marcados se observaron en una disminución de la elongación del tallo (Fig. 1). Se demostró que el tratamiento con el BB-16 incrementó la longitud del tallo de plántulas de la variedad Amalia sometidas al estrés salino (Fig. 1).

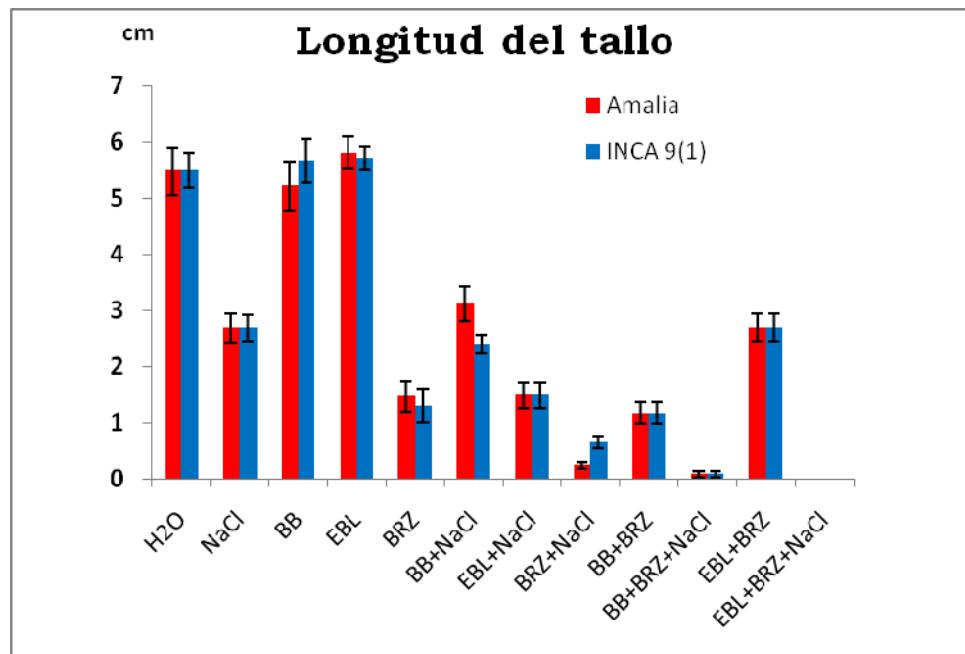


Fig. 1. Influencia de la EBL, el BB-16 y el BRZ2001 y sus combinaciones en la longitud del tallo de plántulas de tomate etioladas de las variedades Amalia e INCA9-(1) crecidas en presencia o no de 75 mM de NaCl.

Además, se demostró una afectación de la masa seca para ambas variedades cubanas, sometidas al estrés salino y a los efectos del inhibidor BRZ2001, a las concentraciones empleadas. Por otra parte, no se aprecia un efecto protector de los BRs utilizados, en el incremento de la masa seca de las plántulas etioladas de ambas variedades (Fig. 2).

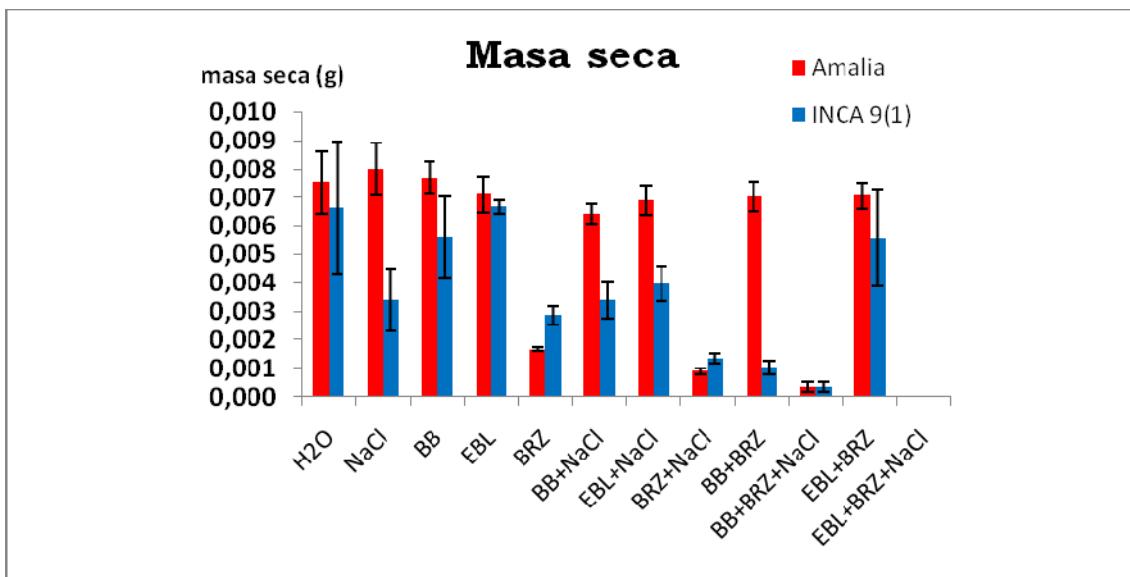


Fig. 2. Influencia de la EBL, el BB-16 y el BRZ2001 y sus combinaciones en la masa seca de plántulas de tomate etioladas de las variedades Amalia e INCA 9(1) crecidas en presencia o no de 75 mM de NaCl.

Se demostró que en plántulas etioladas de tomate, la imbibición de las semillas con EBL, tuvo actividad biológica (inhibición de la raíz) (Fig. 3), pero no mostró los efectos clásicos de la elongación del tallo (Fig. 1), ni mejoró la tolerancia de las plántulas a la salinidad (Fig. 1 y 2). Los efectos de los BRs en el crecimiento de la raíz son contradictorios, en algunos casos detectándose promoción y en otra inhibición. Pero la inhibición de la elongación de la raíz es un indicador empleado en el "screening" de mutantes insensibles a los BRs en *Arabidopsis* (Clousse y Sasse, 1998).

Además, se demostró que en general, la aplicación de la EBL incrementó la inhibición del crecimiento de la raíz provocada por BRZ2001, tanto en condiciones normales como con sal (Fig. 3).

El compuesto BRZ2001 se ha caracterizado como un inhibidor específico de la biosíntesis de los BRs (Sekimata et al., 2001). La capacidad de reversión del efecto inhibitorio por la EBL, sugiere que los BRs pueden contrarrestar, parcialmente la deficiencia de la hormona endógena. Este resultado coincide con hallazgos previos obtenidos en nuestro laboratorio (Mazorra et al., 2004) pero, contrario a previa observaciones, no se detectó un restablecimiento parcial del crecimiento por la EBL. Sin embargo, el BB-16 incrementó la longitud de la raíz de las plántulas de la variedad Amalia, incluso con valores superiores al control (agua), y este mismo comportamiento se evidenció en el tratamiento con el estrés salino, lo que sugiere que el BB-16

puede inducir la activación de mecanismos de tolerancia a la sal empleada con esta concentración, en raíz.

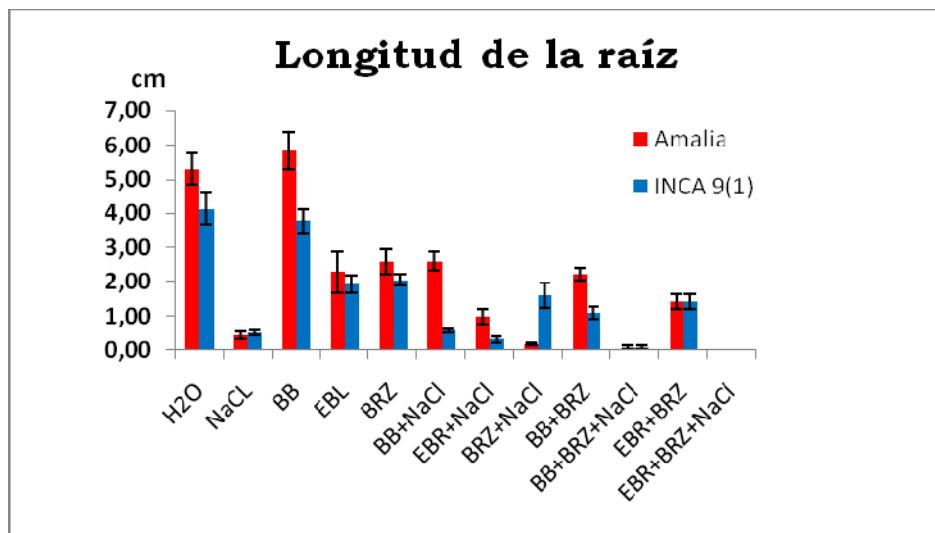


Fig. 3. Influencia de la EBL, el BB-16 y el BRZ2001 y sus combinaciones en la longitud de las raíces de plántulas de tomate etioladas de las variedades Amalia e INCA9-(1) crecidas en presencia o no de 75 mM de NaCl.

Por otra parte, se determinaron algunos indicadores bioquímicos de estas plántulas etioladas de tomate. En los niveles de prolina se mantienen más o menos iguales. Sin embargo, en el caso de la variedad Amalia existe un menor incremento que la variedad INCA 9(1), lo que puede estar asociado al efecto protector del BB-16 (Fig. 4).

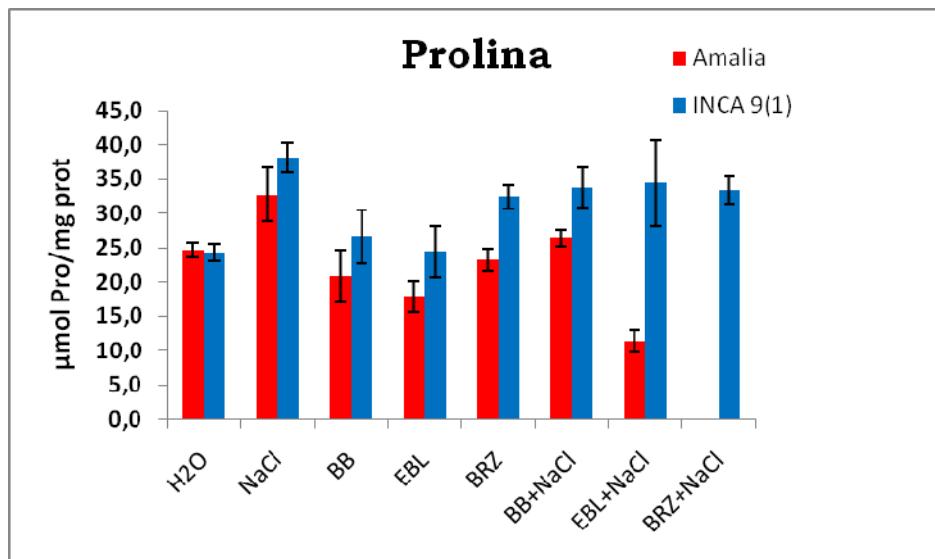


Fig. 4. Efecto del BB-16, la EBL, el BRZ2001 y sus combinaciones en las concentraciones de prolina de plántulas de tomate etioladas de las variedades Amalia e INCA9-(1) crecidas en presencia o no de 75 mM de NaCl.

En cuanto a los niveles de actividad peroxidasa, es la variedad Amalia la que tiene una mejor respuesta. Las plántulas sometidas al estrés salino tienen niveles superiores a las plántulas crecidas en agua, y aunque en el resto de los tratamientos se aprecia un incremento, los niveles alcanzados no superan a los controles (Fig. 5).

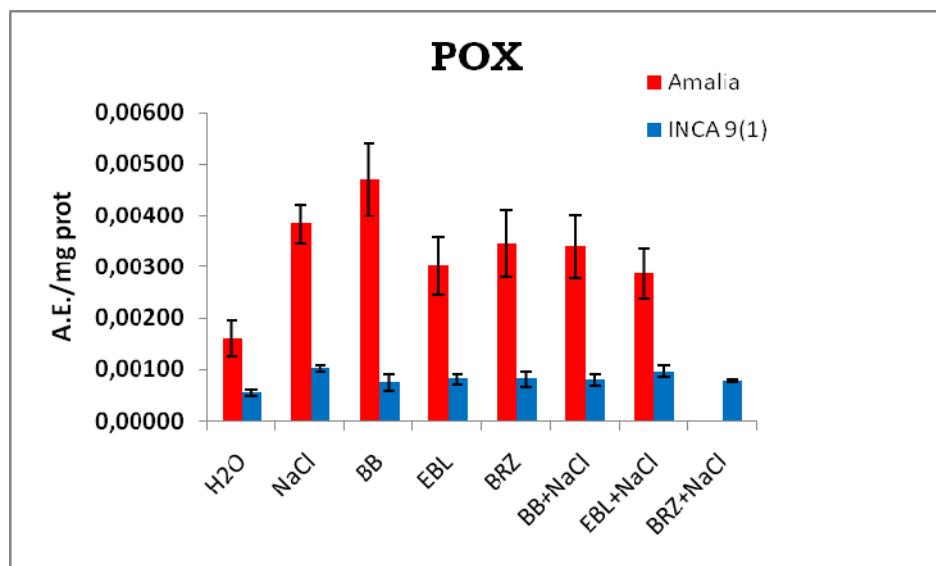


Fig. 5. Efecto del BB-16, la EBL, el BRZ2001 y sus combinaciones en la actividad de la enzima peroxidasa de las plántulas de las variedades de tomate Amalia e INCA 9(1) crecidas en presencia o no de 75 mM de NaCl.

Mientras que los niveles de MDA se mantuvieron menores para la variedad Amalia, en el tratamiento con EBL (Fig. 6).

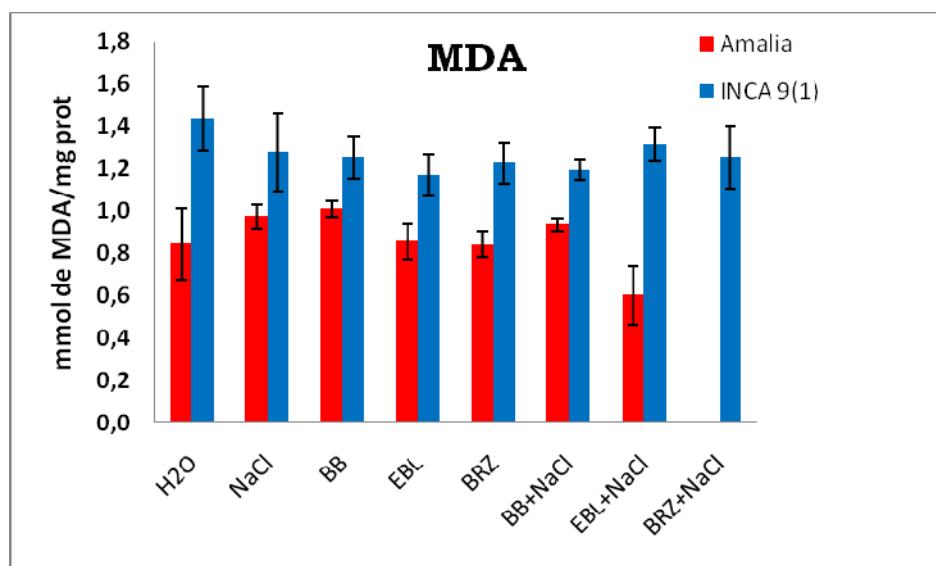


Fig. 6. Efecto del BB-16, la EBL, el BRZ2001 y sus combinaciones en la concentración de MDA de las plántulas de las variedades de tomate Amalia e INCA 9(1) crecidas en presencia o no de 75 mM de NaCl.

Al analizar si los BRs pueden incrementar la tolerancia al estrés por salinidad pudo verse que la imbibición de las semillas no mejoró apreciablemente los indicadores del crecimiento evaluados en las plántulas etioladas en condiciones de sal (Fig. 1-4). El incremento de la raíz de estas variedades se inhibió por la exposición de las plántulas a sal (Fig. 4). Se demostró la actividad biológica de la EBL como un inhibidor de la elongación de la raíz (Fig. 4).

El BIOBRAS-16, a la concentración ensayada, fue más eficaz que la 24-epibrasinólida en revertir los efectos adversos que provocó la salinidad en la longitud de las plántulas. Ninguno de los dos compuestos fue capaz de modificar la masa seca de las mismas.

En el caso de la variedad Amalia, la respuesta a los tratamientos pudo estar asociada a un menor incremento de la concentración de prolina y de MDA para el BB-16 y la EBL, respectivamente; lo que sugiere que los mecanismos de protección de ambos compuestos parecen ser diferentes.

Por otra parte, se constataron afectaciones de algunas respuestas de crecimiento sin que estas repercutieran en la tolerancia a la salinidad. Es muy posible que las características de etiolación de las plántulas, el rango de concentración de la EBL, el tiempo de imbibición de las semillas, susceptibilidad del genotipo, intensidad del estrés y otros, constituyan factores determinantes del tipo de respuesta. Por lo que los resultados no son conclusivos.

La inducción de la tolerancia a la salinidad ha sido comprobada en plantas monocotiledóneas como el arroz, pero no se encontraron estudios en plantas dicotiledóneas. Así, una respuesta positiva del crecimiento inicial de las plántulas de dos variedades cubanas de arroz se obtuvo cuando las semillas fueron tratadas con 100mM NaCl conjuntamente con determinadas concentraciones de los análogos espirostánicos conocidos como BIOBRAS-6 Y BIOBRAS-16 (Nuñez et al., 2007).

Referencias bibliográficas

1. Clouse, S. D., Sasse, J. M. BRASSINOSTEROIDS: essential regulators of plant growth and development. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49, 427–451, 1998.
2. FAO, Land and Plant Nutrition Management Service. http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush_2008.
3. Lau, A., Garea, E, Ruiz, ME, *Estimación de la salinidad de los suelos utilizando una imagen espectrozonal y el sistema de información geográfica TELEMAP*. Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias 14(1): 47-54, 2005.
4. Li, Jianming, Chory, Joanne. Brassinosteroids actions in plants. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 50, No. 332, pp. 275-282, 1999.
5. Núñez, M., Robaina, C., Coll, F. Syntheses and practical applications of brassinosteroid analogs. Cap. 4. In: *Brassinosteroids: Bioactivity and Crop Productivity*. Ed. by S. Hayat and A. Ahmad. Kluwers Academic Publishers. 2003.