

MIRIAM DE LA CARIDAD NUÑEZ VÁZQUEZ

***Brasinoesteroides
y sus análogos***

***Aplicaciones prácticas
en la agricultura***



Editores
INCA

Corrección y edición: Yamila Isabel Díaz Bravo

Fotografía: Eduardo Calves Somoza

Cubierta y diseño gráfico: Raúl Goenaga González,
Raisdael Manzanares Blanco

Diagramación: Yamila Isabel Díaz Bravo

SOBRE LA PRESENTE EDICIÓN:

© Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) 2012

© Miriam de la Caridad Núñez Vázquez

ISBN: 978-959-7023-59-3 (versión impresa)

978-959-7023-60-9 (versión digital)

Ediciones_INCA

Carretera San José-Tapaste, km 3½

San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

Gaveta postal 1. CP 32700

COLABORADORES

Luis M. Mazorra Morales

Dr. en Ciencias Biológicas, Investigador contratado
Instituto de Fisiología Vegetal
Universidad de la Plata
Argentina

Yanelis Reyes Guerrero

Lic. en Bioquímica, Aspirante a investigadora
del departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal
Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas
Cuba

Lissy Rosabal Ayan

Lic. en Bioquímica, Reserva Científica
del departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal
Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas
Cuba

Lisbel Martínez González

Ing. Agrónoma, Especialista
del departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal
Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas
Cuba

AGRADECIMIENTOS

A todos los investigadores, especialistas, técnicos, productores, que con su dedicación y trabajo lograron los resultados que se incluyeron en este libro relacionados con la aplicación de los análogos espirostánicos, sintetizados en Cuba, a diferentes cultivos de importancia económica, tanto a nivel experimental como en la práctica productiva.

PRÓLOGO

En un período de la historia de las ciencias agrícolas en Cuba, en particular en la etapa posterior al triunfo de la Revolución Cubana, caracterizado por grandes aportes al conocimiento y a la práctica productiva, pero de limitadas posibilidades financieras para su divulgación, Ediciones_INCA hace público el Libro *BRASINOESTEROIDES Y SUS ANÁLOGOS: APLICACIONES PRÁCTICAS EN LA AGRICULTURA*, escrito por la Licenciada en Química, Doctora en Ciencias Agrícolas e Investigadora Titular Miriam de la Caridad Núñez Vázquez, con la colaboración de los integrantes de su colectivo científico investigativo.

Por qué este libro sobre los *BRASINOESTEROIDES Y SUS ANÁLOGOS: APLICACIONES PRÁCTICAS EN LA AGRICULTURA* si su autora principal y colaboradores han publicado ampliamente los resultados a lo largo de muchos años de trabajo con los brasinoesteroides y sus análogos?.

Porque los conocimientos deben compartirse para que tengan un impacto en la sociedad y deben compartirse con todos los protagonistas que intervienen en la realización de la agricultura, principalmente con los productores y este es uno de los propósitos fundamentales de este libro.

Porque, entre otras razones, en Cuba deben coexistir en armonía y según las políticas y estrategias establecidas, tanto la agricultura altamente tecnológica como la fundamentalmente sostenible y no se puede concebir una agricultura en el Siglo XXI que no utilice, entre otros resultados científicos recientes internacionales y particularmente en Cuba, los obtenidos mediante las aplicaciones prácticas de los brasinoesteroides en la agricultura, la aplicación de análogos espirostánicos de estos compuestos, sintetizados en Cuba, en diferentes cultivos de importancia económica, así como su utilización como reguladores del crecimiento en la biotecnología vegetal, sin dejar de tener en consideración en cualquier estrategia productiva agrícola, ante la creciente influencia pronosticada de

los cambios climáticos y la consecuente presencia de estrés abióticos y bióticos, las demostradas potencialidades antiestrés de estos nuevos reguladores del crecimiento vegetal, con la gran ventaja de ser compuestos ecológicamente seguros.

Este libro, de 74 páginas, destinado fundamentalmente a poner a disposición del lector más variado sobre temas de agricultura, pero fundamentalmente a los productores agrícolas, de una información actualizada sobre las aplicaciones prácticas de los brasinoesteroides en la agricultura a nivel internacional y en particular en la agricultura cubana, su empleo en la biotecnología vegetal, así como los efectos de los brasinoesteroides y sus análogos en plantas cultivadas en condiciones de estrés.

Evidentemente, por muchas razones se ha escrito este libro, de gran utilidad para estudiantes, profesores, científicos, especialistas, productores,... y que ya entra a formar parte del acervo cultural de la nación.

Este libro es una modesta expresión del trabajo de mujeres y hombres de ciencia que ha formado la Revolución Cubana.

Al publicar este libro, el aguerrido colectivo laboral del Departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) y en particular el colectivo bajo la dirección de su autora, deben sentirse orgullosos de que su constitución a principios de la década de los años setenta del pasado siglo ha demostrado que fue correcta y que en la actualidad, dentro de la Fisiología Vegetal cubana, está situado en una posición de avanzada a nivel internacional.

Dr.C. José Roberto Martín Triana
Investigador Titular

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
I. Introducción	9
II. Aplicaciones prácticas de los brasinoesteroides en la agricultura. Experiencia internacional	10
• Influencia en la germinación	10
• Efectos en el enraizamiento y el crecimiento vegetativo	11
• Efectos sobre el rendimiento y la calidad de las cosechas	14
III. Aplicaciones prácticas de análogos de brasinoesteroides en la agricultura. Experiencia cubana	27
• Influencia en la germinación, el enraizamiento y el crecimiento vegetativo de las plantas	28
• Efectos sobre el rendimiento y la calidad de las cosechas	30
⇒ Aplicaciones de la formulación conocida como DAA-6 o BIOBRAS-6 (BB-6) en diferentes cultivos	30
⇒ Aplicaciones de la formulación conocida como DI-31 o BIOBRAS-16 (BB-16) en diferentes cultivos	33
IV. Análogos de brasinoesteroides como reguladores del crecimiento en la biotecnología vegetal	41
• Efectos de análogos de brasinoesteroides en procesos de organogénesis directa	42
• Efectos de análogos de brasinoesteroides en procesos de organogénesis indirecta	46
V. Efectos de los brasinoesteroides y sus análogos en plantas cultivadas en condiciones de estrés	48
VI. Conclusiones	57
VII. Referencias	58

Síntesis

En el presente libro se recogen los resultados que, a nivel internacional, se han obtenido en las aplicaciones prácticas de los brasinoesteroides en la agricultura. Además, se informa acerca de la aplicación de análogos espirostánicos de estos compuestos, sintetizados en Cuba, en diferentes cultivos de importancia económica, así como de su utilización como reguladores del crecimiento en la biotecnología vegetal. Se analizan, también, las potencialidades antiestrés de estos nuevos reguladores del crecimiento vegetal.

I. INTRODUCCIÓN

Desde el aislamiento e identificación de la brasinólida en 1979 por un grupo de investigadores del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) se han dedicado numerosos recursos a la síntesis de estas lactonas esteroidales y a la evaluación de sus actividades biológicas (Adam y Marquardt, 1986).

En Japón, por primera vez, se sintetizó la brasinólida en 1980, pero su proceso de síntesis requiere de múltiples pasos, lo que indica que su preparación es muy costosa para fines prácticos. Esta situación no se modificó aun después del descubrimiento de muchas rutas sintéticas; por esta razón han sido pocos los brasinoesteroides (BRs) que se han probado en condiciones de campo (Ikekawa y Zhao, 1991).

Estos autores destacaron que desde que el grupo de la USDA obtuvo los primeros resultados prometedores, pasaron diez años para la obtención de evidencias firmes que demostraron la utilidad de los BRs en incrementar los rendimientos de los cultivos, la biomasa en los vegetales, los granos en los cereales, etc. Por otra parte, Abe (1989) planteó que estos compuestos esteroidales no solo incrementaban los rendimientos de los cultivos sino, además, inducían tolerancia a estrés abióticos y bióticos, así como reducían el daño producido por herbicidas.

Dentro de los análogos de la brasinólida se seleccionó, fundamentalmente, para las aplicaciones prácticas, la 24-epibrasinólida (EBL), un epímero natural de la brasinólida (BL), que posee una buena actividad biológica y un proceso de preparación relativamente simple a partir del brasicasterol (Takatsuto e Ikekawa, 1984).

Por otra parte, varios laboratorios se han dedicado a sintetizar análogos de BRs que sean activos biológicamente (Núñez *et al.*,

2003; Uesusuki *et al.*, 2004; Ramírez *et al.*, 2005; Romero-Ávila *et al.*, 2007; Šiša *et al.*, 2007) y, fundamentalmente, que sean más factibles desde el punto de vista económico, de forma tal que facilite la aplicación práctica de los mismos.

En el presente libro se recogen los principales resultados que se han obtenido, a nivel internacional, con la aplicación de brasinoesteroides tales como la BL, la EBL y la 28-homobrasinólida (HBL) en la agricultura, así como las experiencias acumuladas en Cuba con las aplicaciones prácticas de algunos análogos espirostánicos, sintetizados en el país, en diferentes cultivos de importancia económica; así como su utilización como reguladores del crecimiento en diferentes procesos biotecnológicos. De igual forma, se discuten las potencialidades antiestrés de esta familia de compuestos.

II. APLICACIONES PRÁCTICAS DE LOS BRASINOESTEROIDES EN LA AGRICULTURA. EXPERIENCIA INTERNACIONAL

INFLUENCIA EN LA GERMINACIÓN

Desde los inicios de las aplicaciones prácticas de los BRs, se conoce que el tratamiento a las semillas antes de la siembra estimula la germinación, el enraizamiento, el crecimiento de las raíces y de las plántulas; así como el ahijamiento y las yemas vegetativas. Esto trae como consecuencia el incremento de los rendimientos como un todo (Takematsu y Takeuchi, 1989; Takahashi *et al.*, 1994, citados por Kamuro y Takatsuto, 1999).

Se han informado los efectos de los BRs en el período de acondicionamiento y en la germinación de las semillas. Así, Takeuchi, Worsham y Awad (1991) demostraron que la BL

aplicada en la etapa inicial de acondicionamiento de las semillas de *Striga asiatica* acortó el período de acondicionamiento requerido para la germinación de las mismas. Resultados similares obtuvieron Takeuchi *et al.* (1995) en semillas de *Orobancha minor* utilizando diferentes BRs.

De forma general, se ha utilizado la inmersión de las semillas en soluciones acuosas de estos compuestos para promover la germinación en cultivos como el arroz, donde la imbibición con agua no tiene problemas prácticos; sin embargo, de acuerdo con Kamuro y Takatsuto (1999), en el caso de las leguminosas debe usarse la aspersión, el recubrimiento o la incrustación con estos compuestos, ya que la absorción de agua por las semillas antes de la siembra, ejerce un efecto negativo sobre la germinación.

EFFECTOS EN EL ENRAIZAMIENTO Y EL CRECIMIENTO VEGETATIVO

Existen resultados contrastantes en cuanto a la influencia de los BRs en la rizogénesis. Por ejemplo, Guan y Roddick (1988) informaron la inhibición que la EBL ejerció en la formación y crecimiento de raíces de tomate; sin embargo, Sathiyamoorthy y Nakamura (1990) observaron que la EBL estimuló la formación de raíces adventicias en hipocotilos de soya; así como Müssig *et al.* (2003) demostraron que concentraciones bajas de 24-epicastasterona y de EBL promueven la elongación de raíces de plántulas de *Arabidopsis* hasta en un 50 %.

Por otra parte, se ha informado que la HBL estimuló el enraizamiento de esquejes de *Picea abies* (Rönsch *et al.*, 1993). También, se estudió el efecto de la EBL y la HBL en el enraizamiento de esquejes de geranio (*Pelargonium* sp.), así como en el crecimiento tanto de las raíces como de la parte aérea de las posturas (Swamy y Ram Rao, 2006). Para esto, se sumergieron los esquejes, durante cinco minutos, en

soluciones de EBL y HBL. (0, 50 y 100 μM). En las Tablas I y II se presentan los efectos que los BRs ejercieron en el enraizamiento y el crecimiento de las posturas, respectivamente.

Tabla I. Efecto de los BRs en el número de raíces de los esquejes de geranio (tomado de Swamy y Ram, 2006)

Tratamientos	Número de raíces/esqueje	
	15 días	25 días
Control	2.0 \pm 0.35	11.0 \pm 1.17
EBL 50 μM	3.8 \pm 0.65	15.8 \pm 1.29
EBL 100 μM	5.6 \pm 0.44	23.8 \pm 1.34
HBL 50 μM	4.0 \pm 0.61	16.4 \pm 0.57
HBL 100 μM	5.8 \pm 0.41	24.2 \pm 0.96

Tabla II. Efecto de los BRs en el crecimiento de posturas de geranio a los 45 días de edad (tomado de Swamy y Ram, 2006)

Tratamientos	Masa seca raíces (mg)	Masa seca parte aérea (g)	Masa seca hojas/planta (g)
Control	116.6 \pm 7.7	1.4 \pm 0.02	0.706 \pm 0.1
EBL 50 μM	141.8 \pm 4.0	1.9 \pm 0.02	0.917 \pm 0.2
EBL 100 μM	163.8 \pm 4.2	2.4 \pm 0.04	1.300 \pm 0.1
HBL 50 μM	143.6 \pm 9.2	2.0 \pm 0.03	1.100 \pm 0.2
HBL 100 μM	178.2 \pm 4.4	2.5 \pm 0.16	1.600 \pm 0.1

Como se puede observar, la inmersión de los esquejes en ambos productos estimuló no solo el enraizamiento (Tabla I) sino que además promovió el crecimiento tanto de las raíces como de la parte aérea de las posturas, incluyendo la biomasa foliar (Tabla II), resultando la concentración de 100 μM y la HBL, las de mejor respuesta.

Es conocido que la aplicación exógena de BRs es particularmente efectiva en posturas y plantas jóvenes. Así, después de un tratamiento con BRs en posturas de *Arabidopsis*, hubo un incremento drástico en la longitud de las células de los hipocotilos a lo largo de su eje longitudinal, demostrándose que esta promoción es vía alargamiento celular y no por estimulación de la división celular (Müssig, 2005).

Con anterioridad, Arteca y Arteca (2001) habían demostrado que la aplicación de BL 0.1 μM a raíces de plantas de *Arabidopsis* provocó un crecimiento exagerado de las mismas, cuando éstas eran cultivadas en condiciones de hidroponía.

Se ha prestado mucha atención al modo de acción de los BRs, los cuales afectan cualitativamente la morfogénesis de las plantas, incrementando el número de hojas, el área foliar, las masas fresca y seca del follaje y de las raíces, así como el número y el crecimiento de hijos y ramas productivas. Estos efectos repercuten, indudablemente, en el rendimiento de los diferentes cultivos, promoviendo el número de espigas en las gramíneas, el número de vainas en las leguminosas, el número de frutos y el número de tubérculos.

Los BRs también promueven el desarrollo de los nódulos de las raíces. En este sentido, Upreti y Murti (2004) observaron que la aspersión foliar con soluciones de EBL y HBL en plantas de frijol en fase de floración, incrementó significativamente el número y la masa de los nódulos, nueve días después de la aplicación (Tabla III).

Como se puede apreciar, hubo una respuesta en dependencia de la concentración del producto aplicada y aunque ambos compuestos favorecieron la nodulación de las plantas de frijol, los mejores resultados se alcanzaron con la EBL.

Tabla III. Efecto de los BRs en el número de nódulos y la masa de raíces noduladas de frijol Francés

Tratamientos	Número de nódulos	Masa de raíces noduladas (g.planta ⁻¹)
Control	39.3±3.44	1.57±0.21
EBL 1 µM	54.0±4.02	2.07±0.17
EBL 5 µM	72.3±4.23	2.90±0.28
HBL 1 µM	43.0±1.96	1.90±0.10
HBL 5 µM	64.0±2.12	2.60±0.36

Medias±E.S., n=4 (tomado de Upreti y Murti, 2004)

EFFECTOS SOBRE EL RENDIMIENTO Y LA CALIDAD DE LAS COSECHAS

Desde 1991, Ikekawa y Zhao informaron los resultados resumidos por Takematsu y Takeuchi (1989) en cuanto al efecto de la EBL en el crecimiento y el rendimiento de varios cultivos de importancia para Japón como son: trigo, arroz y soya.

En el caso del trigo, la aspersión de soluciones entre 0.001 y 1 ppm en el momento de la floración, provocó un incremento de un 20-30 % en la masa fresca de las panículas, 35 días después del tratamiento. También se incrementó hasta un 30 % el número de semillas por panícula.

Además, se investigó el consumo de sacarosa en los granos y se encontró que la EBL incrementó la incorporación de sacarosa en comparación con el control, siendo más significativa en la porción superior de la panícula, o sea, en los granos tercero y cuarto.

En arroz, la aplicación del compuesto en la floración incrementó en un 11 % el rendimiento, mientras que en soya se obtuvo un aumento entre 10 y 20 %. También se obtuvieron resultados prometedores en pruebas con maíz, papa, boniato, espinaca, entre otros.

Las aplicaciones prácticas en la agricultura a una mayor escala comenzaron en Japón en 1985 y hasta 1990 se habían informado, de forma general, resultados similares a los anteriormente citados.

Al comparar los efectos de los BRs con los de otras sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, se deben destacar las siguientes características de estos compuestos esteroidales:

- son activos a concentraciones extremadamente bajas, generalmente soluciones de 0.1-0.001 ppm, que es un rango 100 veces inferior que el de los otros reguladores del crecimiento vegetal
- estimulan el crecimiento de la raíz
- no causan deformaciones en las plantas
- el efecto en el crecimiento vegetal es particularmente fuerte en condiciones de crecimiento adversas (temperatura sub-óptima, salinidad), por lo que los BRs pueden ser llamados «hormonas del estrés»
- tienen baja toxicidad *vide post*

Además, Ikekawa y Zhao (1991) informaron que dada la colaboración entre Japón y China, a partir de 1985 se comenzaron las aplicaciones de EBL en la agricultura china. Los resultados de las aplicaciones efectuadas durante cinco años en varias áreas de diferentes provincias se resumen como sigue:

Trigo. La EBL (0.01-0.05 ppm) se asperjó en la etapa de floración o llenado del grano y los resultados demostraron que el rendimiento del trigo se incrementó de forma significativa, fundamentalmente con la concentración de 0.01 ppm. Esta respuesta se explica por el aumento en el número de espigas fértiles, la masa de las panículas, el número de granos y la masa de 1 000 granos.

Por otra parte, la aplicación de la EBL a una concentración de 0.01 ppm disminuyó el contenido de carbohidratos en la hoja

bandera, lo que puede sugerir que este compuesto facilita el transporte de fotoasimilados de las hojas a las panículas.

Otro aspecto a destacar es que, se observó una estimulación de la resistencia a enfermedades en el trigo con la aplicación de la EBL. Por ejemplo, la marchitez de la hoja es uno de los efectos más dañinos inducidos por el estrés ambiental durante el período desde la fase de llenado del grano hasta la fase de maduración y se encontró que la aspersion con este producto redujo la incidencia de este fenómeno y también la acumulación de amonio libre y de putrescina que son considerados como indicadores del mismo.

Los resultados de los efectos de la EBL en la producción de trigo a gran escala se resumen en la Tabla IV.

Tabla IV. Efecto de la EBL en el rendimiento del trigo en China (tomado de Ikekawa y Zhao, 1991)

Año	Área de campo (ha)	Incremento promedio en rendimiento (%)
1985-1987	266	>10
1988	666	6-15
1989	400	11
1990	2 000	11

Como se observa en la tabla, los resultados acumulados por un período de seis años en áreas grandes fueron muy constantes y confiables, confirmando lo que pueden significar las aplicaciones de EBL para la agricultura.

Maíz. La aplicación de la EBL en el maíz incrementó el rendimiento del cultivo, obteniéndose los mejores resultados cuando se asperjó el producto previo a la emergencia de la inflorescencia masculina («tassel»). Este incremento en el rendimiento parece atribuible al aumento en la masa de 1 000 granos y al número de granos por mazorca.

Los incrementos en los rendimientos en la mayoría de las pruebas realizadas oscilaron entre 10 - 20 % cuando se ejecutó una sola aspersión con solución de 0.01 ppm, a razón de 800 L.ha⁻¹, o sea, 8 mg.ha⁻¹. El área total de campo que se probó durante el período 1985 - 1990 fue de 2 300 ha.

Tabaco y otras plantas. La aspersión foliar de EBL promovió el crecimiento de plantas de tabaco. El compuesto promovió el crecimiento de las hojas y raíces que son cruciales para la síntesis de nicotina, resultando en el mejoramiento de la calidad y la cantidad de hojas (Tabla V). Las aspersiones se realizaron a los 20, 35 y 50 días después del trasplante.

Tabla V. Efecto de la EBL en el rendimiento y la calidad del tabaco en China (tomado de Ikekawa y Zhao, 1991)

Tratamientos	Masa de raíces (g)	Área foliar/planta (cm ²)	Contenido de nicotina (%)
Control	14.0	6 750	1.4
0.01 ppm	26.8	8 140	2.5
0.05 ppm	20.6	7 398	2.0
1.00 ppm	16.3	6 810	2.1

En el cultivo del melón de agua, las aspersiones foliares de EBL durante la etapa de postura y en la floración incrementaron el cuajado del fruto y por ende, el rendimiento del cultivo entre 10-20 %. El rendimiento del pepino se incrementó en la misma magnitud por la aplicación del compuesto.

También, el cultivo de la vid respondió muy favorablemente a la aspersión foliar de EBL en la etapa de floración, incrementando el número de uvas por racimo y el rendimiento total en 66.7 % y 29.9 % cuando se utilizaron dosis de 0.01 y 0.1 ppm, respectivamente. Este efecto puede resultar de la prevención de la abscisión del fruto, especialmente en condiciones de estrés.

Todos estos resultados contribuyeron a que los agricultores chinos promovieran el uso práctico de la EBL, dado que es un compuesto natural muy efectivo como sustancia promotora del crecimiento vegetal.

Como conclusión de los estudios de aplicaciones prácticas de la EBL, Ikekawa y Zhao (1991) plantearon que los resultados en China fueron más destacados que los obtenidos en Japón; no obstante, ellos recomendaron continuar investigando en la formulación, el método y el momento de aplicación más adecuado para cada cultivo.

Por otra parte, Khripach *et al.* (1991) informaron los resultados de las aplicaciones de BRs a diferentes cultivos en varias regiones de Europa Oriental. En guisantes, las aplicaciones de EBL en la etapa de 8-9 hojas y en la floración produjeron un incremento promedio en el rendimiento del cultivo de 2 800 kg.ha⁻¹. En el caso de la cebada se comparó la efectividad de la BL con la de la EBL y los resultados demostraron que la primera fue más activa a dosis de 10 mg.ha⁻¹ pero menos activa a dosis de 50 y 100 mg.ha⁻¹, obteniéndose incrementos en el rendimiento hasta del 25 %.

En papa, se obtuvieron incrementos en los rendimientos que oscilaron entre 11-34 %, en dependencia del momento en que se efectúe el tratamiento. En cultivos como soya, centeno, maíz y trigo, también, se informaron incrementos en los rendimientos. No obstante, los autores destacaron que los tratamientos con BRs no dieron siempre resultados notables.

Platonova y Korableva (1994) demostraron la influencia de los BRs en la supresión de la brotación prematura de los tubérculos de papa.

En Corea, Lim (1985) aplicó BL a semillas de tres variedades de arroz y seis semanas después del tratamiento encontró un mayor largo, ancho, masa fresca, masa seca y contenido de proteínas de las hojas. En tomate y pimiento, encontró que aspersiones foliares durante el período de crecimiento incrementó la masa fresca y seca de frutos con mejores resultados para la concentración de 0.1 ppm.

En otros países, autores como Fujii *et al.* (1991) demostraron que en arroz, la BL incrementó la masa del grano y el porcentaje de granos maduros, lo cual fue atribuido a una mayor síntesis y translocación de productos fotosintéticos. Además, Kuraishi *et al.* (1991) demostraron que la BL a 0.1 ppm asperjada en la antesis y 25 días después de ésta en árboles de naranjo Navel incrementó el rendimiento sin influir en la calidad interna de los frutos.

También, Wang *et al.* (1994) estudiaron el efecto de la EBL en el crecimiento y la calidad del fruto del melón de agua. Los experimentos conducidos durante el período 1989-1992 demostraron que dos aspersiones foliares de 0.1 mg.L⁻¹ de este producto (la primera en posturas con tres hojas y la segunda cinco días después de la primera) promovieron marcadamente el crecimiento de las posturas, la altura de la planta, el grosor del tallo, la longitud de la raíz principal, la masa seca por planta, el contenido de clorofilas, el área foliar y la fotosíntesis.

La aspersion en el momento de la floración con igual dosis incrementó el número de flores y el porcentaje de cuajado de los frutos; sin embargo, la masa de cada fruto no se incrementó. Los contenidos de sólidos solubles totales y de vitamina C de los frutos incrementaron en alguna medida, se retrasó la senescencia de las hojas y el rendimiento incrementó en un 20 %.

Otro efecto interesante encontrado es el alargamiento de la vida post-cosecha de las flores, cuando éstas, después de cortadas, se sumergen durante 24 horas en una solución de 10^{-6} ppm de BL (Hamada, 1986 citado por Abe, 1989).

Es bueno destacar que los BRs se han utilizado, también, en combinación con otros compuestos. Así, Kajita *et al.* (1986) aplicaron EBL con sales de colina y obtuvieron incrementos en los rendimientos de diversos cultivos.

Prusakova *et al.* (1995) utilizaron la BL en combinación con el CCC (chlormequat) en trigo perenne y encontraron, en el primer año de crecimiento, una estimulación del rendimiento de 1.33 t.ha^{-1} mientras en el segundo año el incremento solamente fue de 0.23 t.ha^{-1} .

En la India, Ramraj *et al.* (1997) informaron de los resultados de las aspersiones foliares de HBL en diferentes cultivos de importancia económica durante el período 1989-1995, demostrando que la aplicación de este producto en dosis que oscilaron entre $0.25-1.0 \text{ g.ha}^{-1}$ incrementaron significativamente los rendimientos en granos del trigo, el arroz y la mostaza, los rendimientos en vainas del maní, de tubérculos en papa y de semillas en algodón.

También, Vidya y Ram (1998) encontraron que tres aspersiones foliares de BL y EBL en plantas de maní (*Arachis hypogaea*) incrementaron significativamente tanto el rendimiento como el contenido de grasa en los granos.

En Brasil, Zullo *et al.* (1998) encontraron que la aplicación de 24-epibrasinólida, 22,23,24-tri-epibrasinólida, 24-epicastasterona y 22,23,24-tri-epicastasterona en *Phaseolus vulgaris* al inicio de la floración, provocó un aumento en los rendimientos, decreciendo la actividad biológica en el siguiente orden:

24-epicastasterona, 24-epibrasinólida, 22,23,24-tri-epicastasterona y 22,23,24-tri-epibrasinólida.

Todos estos resultados demuestran la efectividad de los BRs como estimuladores del crecimiento y del rendimiento en la agricultura. No obstante, se ha planteado que la mayor dificultad para el uso práctico de la BL, EBL y HBL es la baja estabilidad de sus efectos en condiciones de campo (Kamuro y Takatsuto, 1999). Estos autores, en 1991, habían destacado que los BRs tienen efecto solo por un corto período de tiempo, debido al metabolismo a compuestos inactivos. De esta forma, en ensayos en pequeña escala es posible tratar las plantas con los BRs en el momento exacto de la floración; sin embargo, cuando se trabaja en condiciones de campo a gran escala, el período de floración puede durar semanas y hasta meses y se necesitarían aplicaciones repetidas para incrementar los rendimientos, lo cual se convierte en una solución no práctica.

Criterios similares fueron planteados también por Sasse (1997), quién sugirió la utilidad de aplicar compuestos capaces de ser transformados en las plantas a BRs activos y por ende, su actividad tenga una más larga duración o persistencia a nivel de campo.

Esto condujo a que, a finales de la década del 90, no se continuaran las aplicaciones de estos compuestos a gran escala en Europa Occidental y Japón y de esta forma, se centró la atención en un producto codificado como TS303 [(22R,23R)-epoxi-HBL 2,3-diacetato], compuesto sintético que no muestra actividad biológica, pero en los tejidos vegetales se transforma en una forma activa biológicamente. El TS303 tiene efectos beneficiosos sobre el crecimiento, la germinación, el cuajado de frutos y el enraizamiento en varios cultivos de importancia agrícola (Pipattanawong *et al.*, 1996 y Takatsuto *et al.*, 1996).

Se exploraron también, los efectos de la combinación del TS303 con el n-propil dihidrojasmonato. A la combinación de 30 mg de cada compuesto por litro de solución se le denominó TNZ303 (Kamuro *et al.*, 1996). Para su uso práctico, de forma general, se hacía una dilución estándar con agua de 3 000 veces, lo que significaba una concentración tan baja como 0.01 ppm de cada componente.

En arroz, se encontró un gran efecto del tratamiento a las semillas con TNZ303 (0.01 ppm) antes de la siembra directa (Takeuchi *et al.*, 1996). En la Tabla VI se muestran los resultados obtenidos en el crecimiento y el rendimiento en los ensayos realizados para el registro del producto.

Tabla VI. Efectos del tratamiento de inmersión de las semillas con TNZ303 y BL (0.01 ppm) en la germinación y el rendimiento de plantas de arroz en los ensayos oficiales para el registro (tomado de Kamuro y Takatsuto, 1999)

País	Efectos sobre el crecimiento (30-40 días después de la siembra)							
		% Establecimiento		% Crecimiento vs. control				
		Control	TNZ303	Altura	M.S. follaje	M.S. raíces		
Japón	(1)	17.5	42.5	101.2	107.9	155.8		
(1996)	(2)	37.1	53.2	88.1	97.4	114.0		
	(3)	63.9	72.0	98.4	96.7	83.0		
	(4)	78.2	87.7	101.3	105.6	-		
	(5)	75.0	93.6	99.2	85.7	127.3		
	(6)	61.2	81.6	103.7	113.5	-		
	Media	55.5	71.8	98.7	101.1	120.0		
% Incremento en el rendimiento vs. Control								
China	1996				1997			
					(1)	(2)	(3)	Media
	TNZ303	12.0	7.4	5.4	13.7	8.5	5.1	8.7
BL	8.0	4.5	2.8	7.0	0.8	3.7	4.5	
Corea	TNZ303				8.1	6.0	5.0	6.4

En países como Rusia y Polonia, el tratamiento de aspersión de las semillas con TNZ303 (0.01 ppm) se aplicó en cultivos como trigo y papa.

Se debe destacar que el producto, además de estimular los rendimientos, disminuyó el porcentaje de plantas infectadas con enfermedades del suelo, lo que indicó que el TNZ303 incrementó la resistencia de estos cultivos a las enfermedades, lo que se muestra en la Tabla VII.

Tabla VII. Efectos del TNZ303 en el incremento del rendimiento y la resistencia a enfermedades en trigo y papa en ensayos oficiales para el registro (tomado de Kamuro y Takatsuto, 1999)

País	Cultivo	% incremento del rendimiento vs. control					
		1996		1997			Media
		(1)	(2)	(1)	(2)	(3)	
Rusia	trigo	23.5		46.5	22.4	8.5	25.2
	papa	16.9		28.3	27.7	15.5	22.1
Polonia	trigo	13.9		29.6	10.9	9.3	15.9
	papa	27.0	11.1	8.9			15.7
		% decremento de plantas enfermas vs. control					
Rusia	trigo	<i>Fusarium</i>	-21.7 %				
		<i>Ophiobolus</i>	-61.9 %				
		<i>Septoria</i>	-21.7 %				
Polonia	papa	<i>Rhizoctonia</i>	-54.1 %				
		<i>Phytophthora</i>	-33.7 %				

Estos resultados hicieron pensar que las aplicaciones de productos en desarrollo tales como el TS303, probablemente traería grandes beneficios a los seres humanos en un futuro cercano.

En 1999, Khripach *et al.* destacaron que los BRs poseían algunos aspectos específicos que son de un gran valor potencial para su aplicación práctica:

- BRs son productos naturales y están ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Ellos no son extraños en la tierra sino están incluidos en las cadenas alimenticias de los hombres y los mamíferos, con rutas biosintéticas y metabólicas que están interconectadas durante una larga evolución común.
- Las plantas responden a dosis muy bajas (5-50 mg.ha⁻¹), comparables con su contenido natural.
- Como sustancias promotoras del crecimiento, los BRs tienen un espectro amplio de actividad estimuladora y protectora, que tiene efecto positivo en la cantidad y calidad de las cosechas.
- Los BRs incrementan la resistencia de las plantas contra fitopatógenos y pueden usarse como sustitutos (totales o parciales) de algunos plaguicidas tradicionales. De esta forma, se puede disminuir la interacción desfavorable de los plaguicidas con el ambiente.
- Los BRs pueden ser aplicados por el tratamiento de plantas y semillas usando los equipos y tecnologías existentes.

Estos autores, además, informaron de los resultados que se habían obtenido en la producción agrícola de Rusia y Bielorrusia con las aplicaciones prácticas de un promotor del crecimiento vegetal llamado Epin®, que contiene EBL como sustancia activa. Este producto se registró oficialmente, desde 1992, en estos dos países y se recomendó su uso en cultivos tales como tomate, papa, pepino, pimiento, cebada y otros. Los agricultores en estos países han reconocido los beneficios de su aplicación como un estimulador efectivo, amigable con el medio ambiente.

En la Tabla VIII se presentan los resultados de las aplicaciones de EBL en algunos cultivos en países de la extinta U.R.S.S.

Basados en los resultados de los ensayos de campo en el período 1993-1997 con diferentes cultivos (cebada, avena, papa, centeno, trigo), se recomendó la EBL como adición (10⁻⁴-10⁻⁶ %) al complejo de fertilizantes NPK para incrementar los rendimientos y mejorar la calidad de las cosechas (Pirogovskaya *et al.*, 1996).

Tabla VIII. Aplicaciones seleccionadas de BRs (tomado de Khripach *et al.*, 1999)

Planta	Región	BR, dosis, modo de tratamiento	Estimulación del rendimiento; otros efectos	Referencias
trigo	Rusia, región Moscú	EBL, 0.4 mg.ha ⁻¹ , aspersión en la floración	17 %	CIASA,1989
		EBL, 4 mg.ha ⁻¹ , aspersión en la floración	16 %	
		EBL, 10 mg.ha ⁻¹ + cloruro de colina	63 %	
	Ucrania	EBL, 2.5 mg.ha ⁻¹ , aspersión en el cambio de primordio	6 %	Grinchenko y Belokon, 1991
cebada	Rusia, región Moscú	EBL, 10 mg.ha ⁻¹ , aspersión a las posturas	17 %	CIASA,1989
		EBL, 10 mg.ha ⁻¹ , aspersión en la floración	10 %	
	Bielorusia	EBL, 1 mg.ha ⁻¹ , aspersión en ahijamiento y floración	21 % (1990); 5 % (1992); supresión de enfermedades	Volynets <i>et al.</i> , 1997a
maíz	Ucrania	EBL, 10 ⁻³ -10 ⁻⁴ %, tratamiento de semillas	10 %	Grinchenko y Belokon, 1993
tomate	Rusia, región Voronezh	EBL, 25 mg.t ⁻¹ , inmersión de semillas	26 %, supresión de enfermedades	Churikova y Derevshchukov, 1997
		EBL, 25 mg.ha ⁻¹ , aspersión en la floración	33 %, supresión de enfermedades	
pepino	Rusia, región Voronezh	EBL, 25 mg.t ⁻¹ , inmersión de semillas	43 %, floración temprana y supresión de enfermedades	Churikova y Derevshchukov, 1997
		EBL, 25 mg.ha ⁻¹ , aspersión en la floración	47 %, supresión de enfermedades	

Los resultados han demostrado que los BRs tienen efectos estimuladores del crecimiento, no solo en plantas superiores, sino también en hongos y algas. La EBL, en concentraciones que oscilaron entre 10^{-8} y 10^{-10} M, estimuló el crecimiento de diferentes algas (*Spirulina platensis*, *Euglena gracilis*, *Dunaliella salina*, *Chlorella vulgaris*); pero lo inhibió en una concentración de 10^{-6} M (Melnikov *et al.*, 1996, 1998; citados por Khripach *et al.*, 1999).

Teniendo en cuenta, que la EBL es el mejor candidato para las aplicaciones prácticas, se realizaron los estudios toxicológicos de las formulaciones que pueden ser utilizadas en la agricultura. Los datos obtenidos mostraron la baja toxicidad de este compuesto.

Además, el estudio de los efectos mutagénicos de la EBL y su formulación conducido en Rusia mostraron que el test de Ames, con y sin activación metabólica fue negativo. De igual forma, en ensayos de aberración cromosómica o micronuclear en ratones, la EBL y su formulación no mostraron mutaciones espontáneas (Khripach *et al.*, 1999).

No obstante, todos estos resultados, la realidad es que en los últimos años es escasa la información relacionada con la estimulación de los rendimientos inducida por los BRs en condiciones normales de producción. Así, Fariduddin *et al.* (2004) y Holá *et al.* (2010) demostraron los efectos beneficiosos en los rendimientos de la aplicación foliar de HBL y EBL en plantas de *Vigna radiata* y *Zea mays*, respectivamente.

Hay que destacar, que en este período, se le ha prestado más atención a las respuestas inducidas por los BRs cuando las plantas se encuentran en condiciones de estrés ambiental; sobre todo, teniendo en cuenta que las aplicaciones de estos compuestos pudieran no sólo paliar los efectos adversos que

provoca el estrés, sino también pudieran sustituir parcialmente el uso de productos químicos que contaminan el medio ambiente.

III. APLICACIONES PRÁCTICAS DE ANÁLOGOS DE BRASINOESTEROIDES EN LA AGRICULTURA. EXPERIENCIA CUBANA

El Centro de Estudios de Productos Naturales de la Facultad de Química de la Universidad de la Habana ha estado trabajando en la síntesis de análogos de brasinoesteroides desde finales de la década del 80 del pasado siglo. Así, en 1990, Alonso, informó por primera vez la obtención de análogos de brasinoesteroides con un sistema espirocetálico en la cadena lateral, además del uso de sapogeninas esteroidales para la síntesis de estos reguladores del crecimiento vegetal.

La actividad biológica manifestada por la mayoría de estos compuestos en el bioensayo de inclinación de la lámina de arroz, abrió el camino hacia la síntesis de análogos de brasinoesteroides más sencillos y, por tanto, más económicos, lo que permitiría su uso potencial en la agricultura.

Así, Jomarrón (1995) informó la síntesis y caracterización de cuatro análogos espirostánicos de brasinoesteroides con estereoquímica 5β , además de la obtención de compuestos activos biológicamente con un sistema 2,3 diol en el anillo A con diferentes estereoquímicas.

Por otra parte, Robaina (1995) obtuvo varios análogos activos biológicamente utilizando una materia prima nacional, la hecogenina.

El desarrollo de todas estas investigaciones han permitido que en el país se disponga de análogos de diferentes estructuras químicas para estudios biológicos y además de

cantidades suficientes de algunos de los más activos para validar su efectividad como biorregulador tanto en condiciones *in vitro* como en condiciones de campo.

A partir de 1993, diferentes instituciones de investigaciones agrícolas del país comenzaron a evaluar la efectividad de algunos de los análogos sintetizados por la Universidad de la Habana. De esta forma, se comenzó la evaluación del efecto de diferentes dosis y momentos de aplicación de las formulaciones conocidas como DAA-6 o BIOBRAS-6 (BB-6) y DI-31 o BIOBRAS-16 (BB-16) en varios cultivos de importancia económica en condiciones experimentales.

INFLUENCIA EN LA GERMINACIÓN, EL ENRAIZAMIENTO Y EL CRECIMIENTO VEGETATIVO DE LAS PLANTAS

Pozo *et al.* (1994) informaron de los resultados de las aplicaciones del BIOBRAS-6 y de otros análogos en algunos frutales. Ellos obtuvieron incrementos del 20 % en el poder germinativo de la *Carica papaya* y un aumento del vigor de las plantas en la fase de vivero; un aumento del poder germinativo de la mandarina Cleopatra utilizada como portainjerto en el cultivo de los cítricos; un adelanto de la brotación de vástagos vegetativos (estolones) de la fresa cv. «Misionaria», así como del número promedio de estos vástagos por planta.

Resultados similares a los anteriores obtuvieron Almenares *et al.* (1994) al evaluar el efecto de diferentes análogos en la germinación de semillas de mandarina Cleopatra.

Por otra parte, en caña de azúcar, se determinó que la estimulación de la longitud del vástago y de las raíces inducida por el BIOBRAS-6 era dependiente de la concentración. Se encontró un efecto estimulante de los vástagos a concentraciones de 10^{-4} - 10^{-3} mg.L⁻¹; mientras que la longitud

de las raíces respondió a concentraciones (10^{-6} - 10^{-3} mg.L⁻¹) aun más bajas (Ortega *et al.*, 2003).

Se estudió, además, la influencia que el BIOBRAS-6 ejercía en el crecimiento y la actividad metabólica de plantas jóvenes de tomate. Los resultados demostraron que la aspersión foliar de este producto (0.5 mg.L⁻¹), a razón de 2 mL por planta, a los 20 días después de la siembra estimuló el crecimiento de las plantas. De igual forma, el BB-6 influyó en la actividad metabólica de las plantas, 8 días después de la aspersión, incrementando la concentración de proteínas solubles totales, aminoácidos libres y prolina (Núñez *et al.*, 1996).

Por otra parte, la aspersión foliar con BB-16 favoreció el crecimiento de plantas de lechuga, incrementando tanto el desarrollo foliar como el crecimiento radical (Terry *et al.*, 2011).

En cuanto a la estimulación del enraizamiento, se demostró que la inmersión de esquejes de guayaba (*Psidium guajava* L.), durante 15 minutos, en una solución de BB-16 (0.05 mg.L⁻¹) indujo el enraizamiento y estimuló el crecimiento de las posturas, sustituyendo a la auxina que de forma general se utiliza en estos casos (Ibarra *et al.*, datos no publicados).

En dos especies de orquídeas, las aspersiones foliares repetidas con BB-16 (0,05 mg.L⁻¹) incrementaron tanto el número de pseudobulbos o tallos como el número de raíces, además de favorecer la coloración de las plantas y la calidad de las flores (Suárez, 2007).

Se obtuvieron, buenos resultados, también, al estudiar el efecto del BB-16 en la reproducción por injerto del mamey colorado (*Pouteria sapota* Jacq.). Las yemas, una vez tratadas, se injertaron en los patrones por medio de dos técnicas diferentes (yema terminal lateral y yema lateral de chapa) y se pudo constatar que hubo un incremento

significativo en el porcentaje de injertos prendidos con relación al tratamiento control (Ramírez, 2007).

EFFECTOS SOBRE EL RENDIMIENTO Y LA CALIDAD DE LAS COSECHAS

⇒ Aplicaciones de la formulación conocida como DAA-6 o BIOBRAS-6 (BB-6) en diferentes cultivos

La influencia positiva que la aspersión foliar de DAA-6 ejerció en la masa fresca de los tubérculos comerciales y totales de papa cv. Desirée fue informado por Núñez *et al.* (1995a).

En 1997, Torres y Núñez, demostraron que la aplicación del BB-6 con concentraciones de 0.5 y 1.0 mg.L⁻¹, asperjados a los 30 y 45 días después de la plantación, respectivamente, incrementó el rendimiento de tubérculos comerciales entre 9 y 34 %, en este mismo cultivar.

En hortalizas, Núñez *et al.* (1995b) evaluaron el efecto de la aplicación de BB-6 en el cultivo del tomate cv. INCA-17 y demostraron que cuando este producto se asperja al follaje de las plantas al inicio de la floración en una concentración de 1 mg.L⁻¹, hubo un incremento en el rendimiento, cuando las plantas fueron cultivadas en épocas no óptimas de plantación; sin embargo, en condiciones óptimas, aunque hubo un ligero incremento del rendimiento, éste no fue significativo. Paralelamente, se obtuvieron resultados satisfactorios al aplicar este producto en los cultivares Rilia y Lignon.

Sin embargo, estudios posteriores demostraron que en el cultivar INCA-17, se obtuvieron respuestas similares en el rendimiento cuando se aplicaron dosis de 50 y 100 mg.ha⁻¹ de BB-6 al inicio de la floración y la efectividad de este producto se incrementó cuando la dosis de 50 mg.ha⁻¹ se fraccionó en dos aplicaciones (Tabla IX), una efectuada siete días después del trasplante y la otra al inicio de la floración (Núñez *et al.*, 1998 a).

Estos resultados reflejaron la importancia de las dosis y los momentos de aplicación para la obtención de una respuesta positiva en el rendimiento.

En la especie *Allium sativum* la aspersión foliar de este producto, 47 días después de la siembra, en una concentración de 0.1 mg.L⁻¹ fue capaz de estimular el rendimiento en 43 % (Núñez *et al.*, 1994). Resultados positivos, también, informó Fernández (1999) en esta especie con la inmersión de semillas y la aspersión foliar de este biorregulador.

Tabla IX. Influencia de la aspersión foliar del BB-6 en el rendimiento de plantas de tomate cv. INCA-17

Tratamientos	Rendimiento (t.ha ⁻¹)	Incremento (%)
Control	34.28 d	-
50 mg.ha ⁻¹	38.48 c	12.25
100 mg.ha ⁻¹	37.71 c	10.00
25 mg.ha ⁻¹ + 25 mg.ha ⁻¹	46.09 a	34.45
50 mg.ha ⁻¹ + 50 mg.ha ⁻¹	42.86 b	25.03
E.S. x	0.916***	

Además, Díaz *et al.* (1995) realizaron un ensayo preliminar en el cultivo del tabaco cv. Criollo y encontraron que la aspersión foliar de DAA-6 a los 20 y 50 días después del trasplante, favoreció el crecimiento de las hojas.

En el cultivo del arroz, se demostró la efectividad de las aspersiones foliares de DAA-6 o BB-6. Se utilizaron concentraciones que oscilaron entre 0.01 y 1 ppm en diferentes fenofases (ahijamiento activo, cambio de primordio e inicio de paniculación) de las variedades J-104 y Perla de Cuba, durante varias épocas de siembra. Los resultados mostraron que hubo incrementos en los rendimientos agrícolas, debido, fundamentalmente, al aumento del número de granos llenos por panícula. Los mejores momentos para las aplicaciones resultaron ser cambio de primordio e inicio de paniculación (Franco, 1994, 1996).

Por otra parte, en la Estación de Arroz del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, ubicada en Los Palacios, Pinar del Río, se efectuó un experimento con la variedad INCA LP-2, durante dos campañas, donde se utilizaron tres dosis totales (20, 50 y 100 mg.ha⁻¹) y dos momentos de aplicación (ahijamiento activo e inicio de paniculación o inicio de paniculación y llenado del grano). Se debe destacar que la dosis más alta solo se aplicó en ahijamiento activo e inicio de paniculación. Los resultados mostraron que todos los tratamientos incrementaron significativamente el rendimiento con relación al tratamiento control sin aspersión; obteniéndose los mayores incrementos en los tratamientos donde el BB-6 se asperjó en una dosis total de 50 mg.ha⁻¹ fraccionada en partes iguales en el ahijamiento activo e inicio de paniculación o inicio de paniculación y llenado del grano, para las campañas de frío y primavera, respectivamente (Morejón *et al.*, 2004).

En soya, Corbera y Núñez (2004) estudiaron la influencia que la aspersión foliar de BB-6 (20 mg.ha⁻¹) en la floración ejerció en plantas de tres variedades (CUBAsoy-23, INCAsoy-24, INCAsoy-27) cuyas semillas habían sido inoculadas o coinoculadas con *Bradyrhizobium japonicum* (BJ) y/o micorrizas arbusculares, MA (cepa *Glomus clarum*).

En la tabla X se presentan los rendimientos obtenidos en cada uno de los tratamientos estudiados. Como se puede apreciar, en las tres variedades, los mejores resultados se obtuvieron con la coinoculación de los dos biofertilizantes y la aspersión foliar del BB-6.

Además, Pozo *et al.* (1996), informaron la influencia beneficiosa que cuatro análogos de brasinoesteroides, sintetizados en Cuba, ejercieron sobre la fructificación de un cultivar de papaya obtenido en Colombia por técnicas de mejoramiento genético.

De confirmarse en condiciones de producción, los resultados que se obtuvieron, a nivel experimental, con la formulación conocida como BIOBRAS-6, esta pudiera ser utilizada como estimuladora de los rendimientos en la agricultura.

Tabla X. Efecto de los tratamientos sobre los rendimientos de tres cultivares de soya (tomado de Corbera y Núñez, 2004)

Tratamientos	Rendimiento (t.ha ⁻¹)		
	CUBAsoy-23	INCAsoy-24	INCAsoy-27
<i>BJ</i>	1.15 d	1.45 d	1.64 d
MA	1.34 c	1.65 bcd	1.67 d
<i>BJ</i> + MA	1.54 b	1.78 ab	1.92 b
<i>BJ</i> + BB-6	1.27 c	1.52 cd	1.79 c
MA+BB-6	1.48 b	1.72 abc	1.83 c
<i>BJ</i> + MA+BB-6	1.64 a	1.88 a	2.12 a
E.S.x	0.03***	0.07**	0.03***

⇒ **Aplicaciones de la formulación conocida como DI-31 o BIOBRAS-16 (BB-16) en diferentes cultivos**

Paralelamente a los trabajos efectuados para conocer los efectos que provocaban las aspersiones foliares con BB-6 en diferentes cultivos, se comenzó la utilización de otra formulación denominada DI-31 o BIOBRAS-16 (BB-16) a nivel experimental en condiciones de campo.

Así, se ha demostrado la efectividad de esta formulación, cuando las plantas se asperjan foliarmente con determinadas dosis y en etapas específicas del crecimiento y desarrollo de los cultivos.

Resultados satisfactorios con la aplicación de BB-16 se han informado en hortalizas (Núñez *et al.* 1994 y 1998 b; Rosales *et al.*, 1995a; Alfonso y Núñez, 1996; Fitó *et al.*, 1998); papa (Rosales *et al.*, 1995b), maíz (Martínez y Núñez, 1996, Rodríguez y Núñez, 1998), frijoles (Cuñarro *et al.*, 1998), cafeto (Soto *et al.*, 1997), tabaco (Pita *et al.*, 1996 y 1998) y pastos (Mirabal y Herrera, 1998).

Las dosis y los momentos de aplicación más adecuados para realizar las aspersiones foliares de BB-16 en cultivos tales como maíz y arroz fueron evaluados por Almenares *et al.* (1999) y Díaz *et al.* (2003), respectivamente.

En el primer caso, se evaluaron 13 tratamientos, donde se utilizaron dosis de 10, 20, 30 y 40 mg.ha⁻¹ asperjadas a los 20 o 35 días después de la siembra (DDS) y de forma fraccionada al 50 % en estos dos momentos. Los efectos de los tratamientos sobre el rendimiento y algunos de sus componentes durante la campaña 1996-1997 se muestran en la Tabla XI.

Como se aprecia en la tabla la aspersión foliar con cualquiera de las dosis, asperjadas a los 20 o 35 DDS o de forma fraccionada en estos dos momentos estimuló el rendimiento del cultivo y algunos de sus componentes. No obstante, se destacó el tratamiento 5 (20 mg.ha⁻¹, fraccionado al 50 % a los 20 y 35 DDS, respectivamente).

Estos resultados fueron corroborados en la campaña de primavera 1997, lo que reafirma el efecto estimulador de esta formulación en el rendimiento de este cultivo. Además, se constató que no son necesarias dosis superiores a 20 mg.ha⁻¹ y se confirma la utilidad del fraccionamiento de la misma en dos momentos de aplicación.

En el cultivo del arroz, se evaluaron cinco tratamientos, es decir, dos dosis (20 y 50 mg.ha⁻¹) aplicadas de forma fraccionada en dos momentos (ahijamiento activo e inicio de paniculación e inicio de paniculación y llenado del grano) y un control sin aspersión. Todos los tratamientos con BB-16 incrementaron de forma significativa el rendimiento de las plantas de la variedad INCALP-2 en relación con el tratamiento control, tanto en la campaña de frío como en la de primavera (Díaz *et al.*, 2003).

Tabla XI. Efecto del BB-16 en el rendimiento y algunos de sus componentes en maíz tierno var. P-7928 (Campaña 1996-1997) (tomado de Almenares *et al.*, 1999)

Tratamientos	Masa mazorca (g)	Hileras/mazorca	Granos/hilera	Rendimiento (t.ha ⁻¹)
1	112.90 h	19.28 h	28.32 fg	11.71 fg
2	116.04 f	21.10 cd	28.70 f	12.03 def
3	119.42 e	20.70 e	29.34 e	12.37 cde
4	115.31 f	19.74 g	28.65 f	11.94 efg
5	136.02 a	23.98 a	33.99 a	14.10 a
6	123.50 c	21.44 c	30.85 c	12.80 bc
7	114.00 g	20.12 f	28.40 fg	11.82 fg
8	125.44 b	22.40 b	31.46 b	13.03 b
9	119.54 e	21.10 cd	29.66 de	12.44 cde
10	111.26 i	19.50 fg	27.44 h	11.53 g
11	120.40 d	20.90 de	30.05 d	12.50 cd
12	111.80 i	19.42 gh	28.00 g	11.60 fg
13	104.61 i	18.58 i	26.64 i	10.92 h
E.S. _x	0.264***	0.124***	0.148***	0.086***
C.V. (%)	0.448	1.200	1.010	2.522

1-10 mg.ha⁻¹ (20 DDS); 2- 5 mg.ha⁻¹ (20 DDS)+5 mg.ha⁻¹ (35 DDS); 3-10 mg.ha⁻¹ (35 DDS); 4-20 mg.ha⁻¹ (20 DDS); 5-10 mg.ha⁻¹ (20 DDS)+10 mg.ha⁻¹ (35 DDS); 6-20 mg.ha⁻¹ (35 DDS); 7-30 mg.ha⁻¹ (20 DDS); 8-15 mg.ha⁻¹ (20 DDS)+15 mg.ha⁻¹ (35 DDS); 9-30 mg.ha⁻¹ (35 DDS); 10-40 mg.ha⁻¹ (20 DDS); 11-20 mg.ha⁻¹ (20 DDS) +20 mg.ha⁻¹ (35 DDS); 12-40 mg.ha⁻¹ (35 DDS); 13-Control sin aspersión

Sin embargo, los componentes del rendimiento que se favorecieron fueron diferentes, ya que en la campaña de frío, el BB-16 solamente incrementó de forma significativa el número de panículas.m⁻² (P.m⁻²), mientras que en la primavera, se incrementó, además del número de panículas.m⁻², el número de granos llenos.panícula⁻¹ y la masa de 1000 granos (Tabla XII). Esto pudiera ser la causa de los mayores incrementos en el rendimiento que se obtuvieron en la campaña de primavera (66-81 %) en comparación con la de frío (26-33 %).

Tabla XII. Influencia del BB-16 en algunos componentes del rendimiento de plantas de arroz var. INCA LP-2 durante dos campañas (tomado de Díaz *et al.*, 2003)

Tratamientos	L.P.	P.m ²	Granos llenos. panícula ⁻¹	Granos vacíos. panícula ⁻¹	Masa de 1000 granos (g)
Campaña de frío					
Control	23.58	259.10c	96.00	7.33	27.00
20 mg.ha ⁻¹ (A.A.+ I.P.)	23.45	348.43b	104.67	13.00	27.77
50 mg.ha ⁻¹ (A.A.+ I.P.)	23.48	342.83b	97.67	14.00	28.23
20 mg.ha ⁻¹ (I.P.+ L.I.G.)	23.03	411.73a	91.67	10.67	28.47
50 mg.ha ⁻¹ (I.P.+ L.I.G.)	23.55	407.20a	96.33	13.00	28.73
E.S. _x	0.37NS	11.65***	2.87NS	2.79NS	0.60NS
Campaña de primavera					
Control	19.53	200d	71b	36.67a	25.3c
20 mg.ha ⁻¹ (A.A.+ I.P.)	20.43	320a	80a	25.00b	27.7a
50 mg.ha⁻¹ (A.A.+ I.P.)	21.00	309b	83a	26.00b	27.7a
20 mg.ha⁻¹ (I.P.+ L.I.G.)	20.60	318ab	84a	24.00b	27.3ab
50 mg.ha⁻¹ (I.P.+ L.I.G.)	20.83	278c	80a	26.00b	26.8b
E.S. _x	0.62NS	2.99***	2.53*	1.53**	0.17***

L.P. – Longitud de panículas

A.A.- Ahijamiento activo

I.P.- Inicio de paniculación

L.I.G.- Llenado del grano

Estos resultados demostraron que las aspersiones foliares de 20 mg.ha⁻¹ de BB-16 fraccionada al 50 % en los momentos seleccionados del ciclo del cultivo fueron muy eficaces en estimular el rendimiento del arroz.

Paralelamente, se llevaron algunos resultados a condiciones de producción y se asperjó foliarmente una dosis total de 20 mg.ha⁻¹, fraccionada a partes iguales en las fases de ahijamiento activo e inicio de paniculación en un área que osciló entre 40 y 60 ha.

Los resultados demostraron que el BB-16 incrementó en más de 40 % los rendimientos del cultivo (Díaz *et al.*, 2003).

Posteriormente, se realizaron algunas validaciones también en áreas de pequeños productores de la provincia de Pinar del Río, donde se aplicó a plantas de arroz var. INCA LP-5, una dosis de 20 mg.ha⁻¹ de BB-16 fraccionada al 50 % en las fases: inicio de paniculación y llenado del grano, durante dos campañas. Los resultados demostraron que, de forma general, en las dos épocas de siembra evaluadas, hubo un efecto positivo del producto aplicado, lográndose un mejor desarrollo vegetativo y un incremento del rendimiento agrícola del cultivo (Morejón *et al.*, 2007).

Por otra parte, en el cultivo del tomate var. Amalia, se demostró (Terry *et al.*, 2001) que la combinación de los biofertilizantes (*Azospirillum* y Micorrizas) con la aspersion foliar del BB-16 en la floración, no solo fue capaz de incrementar los rendimientos sino además de ahorrar 60 kg.ha⁻¹ de fertilizante nitrogenado (Tabla XIII).

Estos resultados son de gran interés científico-técnico y de importancia práctica, pues la sustitución parcial de fertilizante nitrogenado por el uso de biofertilizantes y de un bioestimulador como el BB-16, conllevará no solo a incrementar la producción sino además, a tener una tecnología de producción más amigable con el ambiente y por ende, más sostenible en el tiempo.

En el caso de la soya, Costales *et al.* (2008) demostraron que la inmersión de semillas de soya durante una hora en una solución de BIOBRAS-16 (0.05 mg.L⁻¹) mejoró la respuesta de la interacción simbiótica *Bradyrhizobium*-soya, incrementando tanto el número de nódulos como las masas fresca y seca de los mismos (Tabla XIV).

Tabla XIII. Efecto de biofertilizantes y BB-16 en el rendimiento de plantas de tomate var. Amalia (tomado de Terry *et al.*, 2001)

Tratamientos			Rendimientos (t.ha ⁻¹)	
Semillero	Trasplante	Inicio floración	1998	1999
Az+ MVA + 30 kg.ha ⁻¹ N	30 kg.ha ⁻¹ N	30 kg.ha ⁻¹ N	28.37 c	28.04 c
Az+ MVA + 30 kg.ha ⁻¹ N	30 kg.ha ⁻¹ N + BB-16	30 kg.ha ⁻¹ N	29.09 b	29.45 b
Az+ MVA + 30 kg.ha ⁻¹ N	30 kg.ha ⁻¹ N + BB-16	30 kg.ha ⁻¹ N + BB-16	29.19 b	29.41 b
Az+ MVA + 30 kg.ha⁻¹ N	30 kg.ha⁻¹ N	30 kg.ha⁻¹ N + BB-16	30.91 a	30.52 a
Az + 30 kg.ha ⁻¹ N	30 kg.ha ⁻¹ N	30 kg.ha ⁻¹ N + BB-16	29.42 b	29.32 b
MVA + 30 kg.ha ⁻¹ N	30 kg.ha ⁻¹ N	30 kg.ha ⁻¹ N + BB-16	29.10 b	29.17 b
30 kg.ha ⁻¹ N	60 kg.ha ⁻¹ N	60 kg.ha ⁻¹ N (TP)	25.37 d	24.66 d
30 kg.ha ⁻¹ N	30 kg.ha ⁻¹ N	30 kg.ha ⁻¹ N	25.41 d	25.04 d
E.S.x			1.07***	1.05***

Az: *Azospirillum brasilense* Sp 7 N: Nitrógeno

TP: Testigo de producción MVA: *Glomus clarum*

Tabla XIV. Efecto de la inmersión de las semillas en soluciones de Biobras-16 durante una hora sobre los indicadores de nodulación de plántulas de soja cultivar INCAsoy-27 (tomado de Costales *et al.*, 2008)

Tratamientos	No. nódulos. planta ⁻¹	Efecto nodular (%)	M.F. nódulos (g.planta ⁻¹)	M.S. nódulos (g.planta ⁻¹)
Control	5.00±1.000b	100	0.012±0.006b	0.0020±0.0010b
0.01 mg.L ⁻¹	8.11±0.655ab	100	0.040±0.008ab	0.0067±0.0009a
0.05 mg.L ⁻¹	12.10±1.620a	100	0.045±0.011a	0.0083±0.0015a
0.10 mg.L ⁻¹	9.56±1.334ab	100	0.038±0.007ab	0.0091±0.0014a

Se ha demostrado, también, que la aspersion foliar de BB-16 incrementó la producción de frutos en plantas de maracuyá (Gomes *et al.* 2006) y de fresa cv. Misionaria (Noriega *et al.*, 1998) y adelantó ligeramente la maduración de los frutos de toronja, al favorecer la degradación de la clorofila durante el proceso de desverdización de la corteza en cámara de etileno, lo cual resulta beneficioso para la comercialización de los mismos en el mercado internacional (García *et al.*, 1998).

De forma general, en los resultados, a nivel experimental, se evidenció la efectividad de ambas formulaciones como estimuladoras del rendimiento en diferentes cultivos, lo que abre nuevas perspectivas para el uso de estos productos en la agricultura. Se demostró que las dosis más adecuadas han oscilado entre 10 y 50 mg.ha⁻¹; siendo más eficaz la aspersion en dos momentos del ciclo del cultivo.

Partiendo de estos resultados a nivel experimental y teniendo en cuenta que la síntesis del BIOBRAS-16 es más factible desde el punto de vista económico, que la del BIOBRAS-6, se procedió a la validación de esta formulación en cultivos de importancia económica (hortalizas, arroz, frijoles, maíz, soya, entre otros). Los resultados satisfactorios que se obtuvieron permitieron la elaboración de las instrucciones técnicas para su uso donde se recomiendan las dosis y momentos de aplicación a emplear en cada cultivo (Tabla XV).

Se debe destacar, que aún quedan muchas potencialidades de esta formulación que pudieran ser explotadas en la agricultura, como son: la posibilidad de sustituir parcial o totalmente a algunos productos químicos, contaminantes del medio ambiente, el empleo de otros modos de aplicación como es el tratamiento a las semillas antes de la siembra, ya sea por inmersión o aspersion, en dependencia del cultivo; la posibilidad de que existan sinergias con algunos biofertilizantes o bioestimulantes; entre otros.

Tabla XV. Dosis y momentos de aplicación de BIOBRAS-16 recomendados para algunos cultivos

Cultivos	Dosis (mg.ha ⁻¹)	Momentos de aplicación
Tomate	20	5-10 DDT
	20	Inicio de floración
Pimiento	25	5-10 DDT
	25	Inicio de floración
Cebolla	20	30-35 DDS o DDT
	20	70-75 DDS o DDT
Ajo	20	45-50 DDP
	20	70-75 DDP
Maiz	10	20-25 DDS
	10	35-40 DDS
Soya	10	20-25 DDS
	20	Inicio de floración
Frijoles	10	20-25 DDS
	10	Inicio de floración
Col	25	25-30 DDS
	25	Formación de repollo
Arroz	10	Inicio de paniculación
	10	Etapas de llenado del grano
	10	o
	10	Ahijamiento activo Inicio de paniculación
Lechuga	10	5-10 DDT

DDS: Días después de la siembra

DDP: Días después de la plantación

DDT: Días después del trasplante

En relación con lo anterior, se puede plantear que, en áreas de un productor de la provincia Villa Clara, se realizaron aspersiones con BIOBRAS-16 a las semillas de frijoles, antes de la siembra y se obtuvieron incrementos en los rendimientos del cultivo (Rosabal *et al.*, datos no publicados); evidenciando la efectividad de otros modos de aplicación.

Este producto también ha sido aplicado en diferentes cultivos en otros países del Continente como Colombia, Venezuela, México, Costa Rica, Panamá y Chile y de Europa como

Ucrania y España con buenos resultados. Así, por ejemplo, en Colombia (donde el producto se conoce como Biomex) se aplicaron, foliarmente, plantas de algodón al inicio de la floración y en la maduración de las cápsulas y se obtuvieron incrementos en la producción de hasta un 25 %. Estos resultados fueron muy superiores cuando se combinó el recubrimiento de las semillas con micorrizas y la aspersión foliar con Biomex (Fernández, 1996).

En Venezuela (donde el producto se denomina BIOCRECE), se ha asperjado en cultivos tales como: algodón, maíz, arroz, café, sorgo en cantidades entre 10 y 20 mg.ha⁻¹ obteniéndose incrementos en los rendimientos que oscilaron entre el 7-40 % (Robaina y Scovino, 1998).

En México, se estudió el efecto del BB-16 en frijol ayocote (*Phaseolus coccineus* L.) y se encontró que la utilización de una concentración de 0,4 mg.L⁻¹ incrementó tres veces la biomasa total y el rendimiento en un 68 % (Vargas e Irizar, 2005). Además, Salgado *et al.*, 2008 informaron que la aplicación del producto llamado Bioveg (formulación similar al Biobras-16) en concentraciones que oscilaron entre 0,001 y 1,0 mg.L⁻¹ en cultivos como ajo, café, arroz, caña de azúcar, cebolla, chile, papa, sorgo y tomate, entre otros, optimizó el rendimiento y protegió a las plantas ante el déficit hídrico.

IV. ANÁLOGOS DE BRASINOESTEROIDES COMO REGULADORES DEL CRECIMIENTO EN LA BIOTECNOLOGÍA VEGETAL

De todos es conocido, el auge que en los últimos años ha tenido la biotecnología vegetal, ya sea como una herramienta en el mejoramiento genético o como una vía para la obtención de «semillas» de alta calidad para la agricultura; por lo que de gran interés científico-técnico ha sido también la posibilidad

de utilizar estos análogos como reguladores del crecimiento en los medios de cultivo que se emplean en la micropropagación masiva de plantas, ya sea por organogénesis directa o indirecta.

EFFECTOS DE ANÁLOGOS DE BRASINOESTEROIDES EN PROCESOS DE ORGANOGÉNESIS DIRECTA

En la propagación *in vitro* del banano, Rayas *et al.* (1996) demostró que el BB-6 (0.06 ppm) fue efectivo en sustituir a la citoquinina 6-bencilaminopurina (6-BAP) en la fase de establecimiento. Por otra parte, en el clon Gran Enano se evidenció que el BIOBRAS-6 es capaz de sustituir al AIA en la fase de enraizamiento (Rodríguez *et al.*, 1998a) y que además puede ser útil en la fase de multiplicación (Rodríguez, *et al.*, 1998b), cuando se adiciona al medio de cultivo que contiene auxina (AIA) y citoquinina (6-BAP). Sin embargo, en el plátano clon FHIA-21 (Agramonte *et al.*, 1996a) y en el plátano macho clon Sobrino (Héctor *et al.*, 2007), se obtuvieron los mejores resultados en la multiplicación cuando el BB-6 se combinó con el 6-BAP en ausencia de AIA.

En otros estudios, utilizando el clon FHIA-18 (Izquierdo *et al.*, datos no publicados) se ha demostrado que este análogo puede ser utilizado con éxito en todas las fases de la micropropagación masiva, en sustitución de las auxinas (AIB, para la fase de establecimiento y AIA, para el resto de las fases).

Además, la inmersión de las vitroplantas en soluciones de este análogo, cuya formulación es conocida como BB-6 (denominada en este estudio como ABr), antes de la transferencia a la fase *ex vitro*, más la aspersion foliar, 15 días después del trasplante (Izquierdo *et al.*, 2012), no solo incrementó la supervivencia de las plántulas y promovió

el crecimiento de las mismas durante la aclimatización, sino que además estimuló en las hojas, la concentración de proteínas solubles totales y el grosor de la cutícula (Tabla XVI).

En el caso de la papa, Hernández *et al.* (1999) demostraron que cuando se colocan nudos de plantas crecidas *in vitro*, de 30 días de edad, de la variedad Desirée, en el medio de propagación de papa enriquecido con BB-6 (1 mg.L⁻¹), se estimuló de manera significativa la altura, el número de entrenudos y de raíces de las plántulas (Tabla XVII).

Tabla XVI. Efecto del tratamiento con un análogo de brasinoesteroides (ABr) en la masa seca total, el contenido de proteínas solubles totales y el grosor de la cutícula de vitroplantas de banano (*Musa spp.*) clon FHIA-18 al finalizar la fase de aclimatización (n=5) (tomado de Izquierdo *et al.*, 2012)

Tratamientos	Masa seca total (g)	Proteínas solubles totales (µg g ⁻¹ M.F.)	Grosor de la cutícula (µm)	
			ADA	ABA
Control	0.1064 d	1212.68 d	0.90 d	0.91 d
ABr 0.02 µM	0.1326 c	1551.32 c	0.95 c	0.96 c
ABr 0.1 µM	0.1500 b	1611.46 b	0.98 b	1.00 b
ABr 0.2 µM	0.1808 a	1991.55 a	1.05 a	1.07 a
E.S.x	0.0244	0.87	0.002	0.003
C.V. (%)	0.18	2.35	0.91	0.97

ADA (cara adaxial de las hojas)

ABA (cara abaxial de las hojas)

Si se tiene en cuenta que el entrenudo es el órgano empleado para la multiplicación *in vitro* de la papa y la cantidad de plántulas que se llevan al campo para la obtención de semilla básica es de cientos de miles, este resultado cobra una relevancia especial para los fines prácticos que se persiguen.

Tabla XVII. Efecto de dos análogos de brasinoesteroides en el crecimiento *in vitro* de plántulas de papa var. Desirée (tomado de Hernández *et al.*, 1999)

Tratamientos	Altura (cm)	Número de entrenudos	Número de raíces
Control	7.35 b	3.30 b	5.80 b
BB-16 1 mg.L ⁻¹	8.50 b	3.57 b	6.63 b
BB-6 1 mg.L ⁻¹	9.99 a	4.63 a	13.13 a
E.S.x	0.47**	0.20**	0.94**

En este mismo cultivo, Agramonte *et al.* (1996) demostraron que la inmersión de las vitroplantas en soluciones de BB-6 o BB-16 solas o en combinación con ácido naftalenacético (ANA), antes de la transferencia a la fase *ex vitro*, resultó beneficiosa para las vitroplantas, ya que estimularon el desarrollo radical y la longitud del tallo de las mismas.

En caña de azúcar, tanto el DAA-6 (BB-6) como el DI-31 (BB-16), ejercieron una influencia positiva en las fases de multiplicación y enraizamiento durante la micropropagación (Jiménez *et al.*, 1996).

También se estudió la influencia de diferentes concentraciones de BB-6 en la respuesta morfogénica *in vitro* del tomate. Se utilizaron como explantes segmentos apicales de hipocotilos y cotiledones provenientes de plántulas de la var. Amalia cultivadas en medio MS suplementado con BB-6 (10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} mg.L⁻¹) en presencia o no de 6-BAP (0.25, 0.5 y 1.0 mg.L⁻¹). Con la adición de BB-6 (10^{-4} mg.L⁻¹) en los medios de cultivo de los hipocotilos, se obtuvieron los mejores resultados en cuanto a eficiencia y frecuencia de regeneración directa (Plana *et al.*, 2002).

Estos compuestos se han utilizado, satisfactoriamente, en la micropropagación de flores y plantas ornamentales. Así, Montes *et al.* (1997) estudió la inclusión del BB-6 (0.5 y 1.0 mg.L⁻¹)

como sustituto de la auxina en el medio de cultivo en la micropropagación de tres variedades de clavel y demostró que la respuesta fue dependiente de la variedad. Por otra parte, Castilla, 2008 demostró la utilidad del empleo del BB-16 en la micropropagación del clavel.

Otro análogo, conocido como MH-5, se evaluó en la aclimatización de brotes de *Vriesea* propagadas *in vitro* en sistemas de inmersión temporal (Capote *et al.*, 2009).

En la Tabla XVIII se muestra el efecto que diferentes concentraciones de este análogo ejercieron en la supervivencia y la calidad morfológica de los brotes después de 49 días de ser transferidos a la fase *ex vitro*.

Tabla XVIII. Efecto de las aplicaciones del análogo de brasinoesteroides MH-5 en la supervivencia y la calidad morfológica de los brotes de *Vriesea* a los 49 días de la fase de aclimatización (tomado de Capote *et al.*, 2009)

Concentración ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	Supervivencia (%)	Número de raíces/brote	Número de hojas/brote	Masa fresca/brote (g)
0	66.00 b	1.89 b	11.3 b	0.39 b
0.021	88.00 a	3.06 a	11.9 ab	0.34 b
0.107	84.00 a	2.62 a	12.1 ab	0.42 ab
0.216	87.00 a	3.00 a	12.7 a	0.50 a
ES	8.16	0.09	0.15	0.01
Significación	*	*	*	*

Como se puede apreciar, las aspersiones con $0,021 \mu\text{mol.L}^{-1}$ estimularon significativamente la supervivencia y el número de raíces por brote; sin embargo, fueron necesarias las aspersiones con $0,216 \mu\text{mol.L}^{-1}$ para lograr incrementos significativos en el número de hojas y la masa fresca por brote.

Se estudió, también, el efecto del MH-5 en el crecimiento *in vitro* de dos genotipos de arroz en condiciones de déficit hídrico. Se evidenció una estimulación en la germinación de las semillas y en algunos indicadores del crecimiento de las plántulas por la presencia del análogo, especialmente después de someter a las plántulas a un déficit hídrico por 24 horas. Se constató que la concentración más efectiva del MH-5 dependió de la sensibilidad de la variedad al estrés (García *et al.*, 2005).

EFFECTOS DE ANÁLOGOS DE BRASINOESTEROIDES EN PROCESOS DE ORGANOGÉNESIS INDIRECTA

Se han estudiado diferentes combinaciones de análogos de brasinoesteroides y reguladores del crecimiento tanto para la formación de callos como para la regeneración de plantas.

Se constató que el BB-6 puede ser utilizado en sustitución de la citoquinina en la regeneración de plantas a partir de callos de arroz de las variedades Amistad-82 e INCA LP-10, ya que este análogo estimuló notablemente la diferenciación celular (González *et al.*, 1994). Resultados similares se obtuvieron en la diferenciación de callos de papa (Hernández, 1994), pues se evidenció que la concentración de 1 mg.L^{-1} de este análogo produjo un efecto similar al de la zeatina (2 mg.L^{-1})

Sin embargo, la combinación del BB-6 ($10^{-4} \text{ mg.L}^{-1}$) con 6-BAP (0.25 mg.L^{-1}) en el medio de cultivo benefició notablemente la formación de callos a partir de segmentos apicales de hipocotilos y cotiledones provenientes de plántulas de tomate var. Amalia, favoreciendo un lento proceso de regeneración indirecta (Plana *et al.*, 2002).

En la formación de callos de *Coffea canephora* var. Robusta, se llevaron a cabo varios ensayos, utilizando el DAA-6 (0.1, 0.05, 0.01 mg.L^{-1}), así como los análogos CR-44 y MH-5 (0.01

y 0.05 mg.L⁻¹). En todos los casos se emplearon en sustitución de la auxina (2,4- diclorofenoxiacético, 2,4-D) y de la citoquinina (kinetina). Los resultados evidenciaron que el DAA-6 y el MH-5 (0.01 mg.L⁻¹) en sustitución de la citoquinina, brindaron resultados satisfactorios en la evolución del callo, siendo el MH-5, el de mejor comportamiento; ya que no solo funcionó en el proceso sino que también favoreció su desarrollo en el tiempo (García *et al.*, 1997).

Partiendo de los resultados anteriores, se desarrolló otro experimento, donde se estudió la influencia de la inclusión en el medio de cultivo del MH-5 (0.01 mg.L⁻¹) en combinación con el 2,4-D (0.25 y 0.50 mg.L⁻¹) y con el 2,4-D (0.25 y 0.50 mg.L⁻¹) + kinetina (2 mg.L⁻¹) en la dinámica de crecimiento de callos de *Coffea canephora* var. Robusta. Los resultados permitieron establecer la actividad biológica del análogo MH-5, observándose valores adecuados de masa fresca de los callos y un favorecimiento en el balance de los reguladores del crecimiento, independientemente, de la presencia o no de kinetina y de la concentración de 2,4-D en el medio del cultivo (García *et al.*, 1998).

Se informaron, también, resultados satisfactorios en la formación de callos embriogénicos de papa, cuando se sustituyó en el medio de cultivo la kinetina por los análogos de brasinoesteroides BB-6 y MH-5 (Moré *et al.*, 2001).

En *Ipomoea batatas*, se obtuvieron buenos resultados en la inducción de callos cuando el BB-6 y el MH-5 se utilizaron tanto de forma independiente como en combinación con la auxina (2,4-D) y la citoquinina (6-BAP). Sin embargo, la generación de plantas solamente se favoreció con la adición del BB-6 al AIA y la kinetina (González *et al.*, 2003)

La adición de BIOBRAS-6 (0.01 mg.L⁻¹) a un medio de cultivo que contenía auxina (AIA) y citoquinina (6-BAP) incrementó

la germinación de embriones somáticos del cultivar híbrido FHIA-18 (AAAB), recomendándose este nuevo medio para la embriogénesis somática en medios líquidos (Gómez *et al.*, 2000).

Con anterioridad, se había demostrado la utilidad del BIOBRAS-6 en la conversión y adaptación de plantas de fruta bomba (*Carica papaya* L.) var. Maradol Rojo obtenidas a partir de embriones somáticos (Gómez *et al.*, 1996).

Estos resultados han demostrado que estos análogos de brasinoesteroides, sintetizados en Cuba, pueden ser incluidos como reguladores del crecimiento en los medios de cultivo para la micropropagación masiva de plantas, sin embargo, si se utilizan como sustitutos de las auxinas o de las citoquininas o como complementos de los reguladores que se emplean tradicionalmente, dependió del proceso biológico que se evaluó, así como del tipo de explante utilizado, entre otros factores.

Todo lo anterior pudiera ser de gran utilidad en el empeño de incrementar la eficiencia de la micropropagación masiva en diferentes especies vegetales, ya sea por organogénesis directa como a través de la embriogénesis somática; por lo que continuar evaluando la actividad biológica de estos análogos espirostánicos en dichos procesos es de gran importancia no solo científico-técnica sino además práctica.

V. EFECTOS DE LOS BRASINOESTEROIDES Y SUS ANÁLOGOS EN PLANTAS CULTIVADAS EN CONDICIONES DE ESTRÉS

De acuerdo con Marquardt y Adam (1991), un aspecto interesante que debe tenerse en cuenta en todos los experimentos de aplicación de brasinoesteroides, es la producción promedio por área, ya que la influencia de estos

compuestos parece ser superior cuando las plantas están en condiciones no óptimas de crecimiento. Esta funcionalidad de hormona antiestrés convierte a los brasinoesteroides en productos muy interesantes para aplicaciones prácticas potenciales.

Así, Schilling *et al.* (1991) informaron que plantas de remolacha tratadas con HBL y sometidas a un estrés hídrico ligero (45-50 % de la capacidad hídrica máxima) fueron capaces de compensar completamente los efectos de dicho estrés.

Por otra parte, se demostró que el tratamiento de semillas de maíz con BL promovió la recuperación de las posturas después de sometidas a un estrés por temperaturas bajas (He *et al.*, 1991). También, Abe (1989) informó que la inmersión de semillas de arroz y de posturas jóvenes (en fase de 2ª hoja) en soluciones de 10^{-3} - 10^{-4} ppm de BL estimularon la tolerancia al frío de las plantas.

En trigo, Sairam (1994 a y b) demostró que el tratamiento con HBL no solamente incrementó la actividad metabólica y el rendimiento del grano en condiciones de estrés hídrico sino también ayudó a la recuperación de las plantas. El autor, además, señala que esta respuesta puede estar asociada a una mayor estabilidad de la membrana o a la síntesis de proteínas específicas del estrés.

En condiciones de estrés también se observó una influencia positiva en el contenido relativo de agua de las hojas, a pesar del incremento en la velocidad de transpiración y la disminución en la resistencia a la difusión, lo que sugiere un incremento en el consumo de agua por las plantas tratadas.

En un experimento en plantas de mostaza (*Brassica juncea* L.), en condiciones de campo, se demostró que la aspersión foliar de BR (0.4 ppm) en las fases de pre-floración y desarrollo de la vaina, incrementó el rendimiento del cultivo en condición de déficit hídrico (Kumawat *et al.*, 1997). De igual forma, se había informado con anterioridad, en condiciones de campo, que la aspersión foliar con BL mejoró la tolerancia a la sequía de posturas de *Pinus elliottii* de un año de edad, incrementando la altura, el diámetro y el crecimiento radical (Wang *et al.*, 1995).

El tratamiento con EBL y ácido abscísico (ABA) en plantas de sorgo incrementó la capacidad de supervivencia de las mismas en condiciones de déficit hídrico severo. Se demostró que hubo una interacción sinérgica entre ambos reguladores (Xu *et al.*, 1994 a). Esta respuesta de las plantas se debe a que el tratamiento con EBL, ABA y su combinación no solo incrementó la retención de agua sino que también aceleró la tolerancia fisiológica a un estado hídrico bajo (Xu *et al.*, 1994 b).

El tratamiento a las semillas de tres variedades de sorgo con HBL y EBL resultaron efectivos en incrementar el porcentaje de germinación y el crecimiento de las posturas en condiciones de estrés osmótico (Vardhini y Rao, 2003).

En frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), Upreti y Murti (2004) demostraron que el pre-tratamiento con BRs y especialmente con EBL (5 μ M), previo a la imposición del déficit hídrico, incrementó el rendimiento de las legumbres de las plantas tanto en las del tratamiento control como en las sometidas a estrés (Tabla XIX).

Tabla XIX. Efecto de brasinoesteroides en el rendimiento de vainas de frijol Francés (tomado de Upreti y Murti, 2004)

Tratamientos	Conc. (µM)	Estrés (d)	Rendimiento de vainas (g.planta ⁻¹)	
			Control	Estrés
Control		0	139.6±5.08	-
		4	119.7±4.51	79.3±4.02
		8	126.5±2.09	64.1±3.16
EBL	1	0	129.8±3.15	-
		4	126.7±6.02	95.3±4.24
		8	135.3±1.83	68.9±4.57
	5	0	164.2±3.26	-
		4	157.6±4.39	128.7±3.32
		8	160.8±3.73	89.6±2.81
HBL	1	0	119.8±2.54	-
		4	126.7±4.12	85.4±2.32
		8	120.4±3.23	67.7±2.71
	5	0	151.3±3.77	-
		4	145.8±2.91	111.5±5.50
		8	148.7±5.36	75.6±2.11

Media±E.S., n=4

También, se estudió el efecto que la HBL o la EBL (0.01 µM), aplicados por tratamiento a la semilla o por aspersión foliar ejercía en el comportamiento de plantas jóvenes de arroz cultivadas en condiciones de déficit hídrico. Los resultados demostraron que ambos compuestos mejoraron la economía del agua de las hojas y la asimilación de CO₂, lo que permitió que las plantas soportaran mejor la sequía. Se constató que la aspersión foliar fue más efectiva que el tratamiento a las semillas y que la EBL fue mejor que la HBL (Farooq *et al.*, 2009).

Por otra parte, se ha documentado el efecto de la aplicación de los BRs en la recuperación de las plantas después de ser sometidas a un déficit hídrico. Así, se demostró que la aspersión foliar de EBL (0.001 mg.L⁻¹) a posturas de *Cicer arietinum* cv. Pusa 256, después de ser sometidas a déficit

hídrico, favoreció el crecimiento de la planta (Jai *et al.*, 1993). Por otra parte, se ha demostrado que la aspersión foliar con HBL (0.01 μM) estimuló el crecimiento de plantas de mostaza durante la recuperación de un déficit hídrico provocado por la suspensión del suministro hídrico por siete días en dos momentos del crecimiento (Fariduddin *et al.*, 2009).

Núñez *et al.* (1998c) utilizaron la aspersión foliar de plantas jóvenes de tomate cv. INCA-17 con el análogo BB-6 (0.05 mg.L^{-1}) y encontraron una protección, en cierta medida, de las plantas ante los efectos adversos que en el crecimiento provoca el déficit hídrico.

En cuanto al efecto de los BRs cuando las plantas son sometidas a estrés por metales pesados, se puede señalar que la aspersión foliar de EBL y HBL, en plantas de dos cultivares de tomate, fue efectiva en neutralizar los efectos adversos que provoca el estrés por cadmio y la respuesta fue más pronunciada en el cultivar tolerante (Hayat *et al.*, 2010). De igual forma, con anterioridad, Bilkisu *et al.* (2003) habían planteado que la aplicación de BL, EBL y HBL estimuló el crecimiento de posturas de frijol mungo ante condiciones de estrés por aluminio.

Se ha demostrado también la utilidad de la aplicación conjunta de BRs y varios fertilizantes para reducir la acumulación de metales pesados en cultivos crecidos en suelos donde existe contaminación con estos elementos (Pirogovskaya *et al.*, 1996).

Los BRs estimulan, además, la germinación de las semillas en condiciones salinas. Así, Sasse *et al.* (1995), demostraron que la presencia de EBL estimuló la germinación de semillas de *Eucalyptus camaldulensis* en una solución de NaCl 150 mM. En este mismo sentido, se constató que la aplicación de BL, EBL y HBL contrarrestaron los efectos inhibitorios

provocados por la salinidad en el crecimiento de posturas de maní cv. ICGS 44 (Vardhini y Rao, 1997).

Se ha informado, también, la influencia de los análogos de BRs en la germinación de las semillas y el crecimiento inicial de las plántulas de tomate y arroz sometidos a estrés salino. Así, el BB-6 (0.001 mg.L^{-1}) incrementó ligeramente el porcentaje de germinación de semillas de tomate var. Campbell-28 en soluciones de NaCl (50, 100 y 150 mM); sin embargo, la masa fresca y seca de las radículas se estimularon solamente en las concentraciones más bajas de la sal (Núñez, 2000).

En arroz, var. Perla de Cuba, se evaluó la germinación y el crecimiento inicial de las radículas cuando las semillas se colocaron en soluciones de NaCl (100 y 150 mM) en presencia de diferentes análogos de brasinoesteroides (BB-6, BB-16, MH-5, DI-43, CR-44, IRA-67). Los resultados mostraron que los análogos DI-43, MH-5 y CR-44 estimularon la masa seca de las plántulas cuando estas crecieron en solución de NaCl 100 mM; mientras que estos análogos y el BB-6 lo hicieron en la concentración más alta de NaCl (Núñez, 2000). En otras variedades de arroz tanto sensible a la salinidad (Jucarito-104, J-104) como tolerantes (Ginés e INCA LP-7) se ha demostrado que el tratamiento a las semillas con BB-16, durante 24 horas, es capaz de revertir la inhibición que en el crecimiento inicial de las plántulas provoca el estrés salino (Núñez *et al.*, 2007; Núñez *et al.*, datos no publicados).

En cuanto a los mecanismos que expliquen los efectos de los brasinoesteroides en plantas sometidas a estrés abióticos, se debe señalar que éstos se han asociado a diferentes indicadores tanto fisiológicos, como bioquímicos, anatómicos o moleculares. Así, Kulaeva *et al.* (1991) demostraron que en hojas de trigo sometidas a 40°C , la HBL y la EBL activaron la

síntesis *de novo* de polipéptidos. Además la HBL estimuló la formación de gránulos de choque térmico en el citoplasma e incrementó la termotolerancia. Por su parte, la EBL produjo un efecto protector en la ultraestructura de la célula en hojas colocadas en estrés salino (NaCl 500 mM) y previno la degradación del núcleo y del cloroplasto.

Evidencias experimentales han revelado que la aplicación exógena de brasinoesteroides es capaz de disminuir el daño oxidativo provocado por algunos estrés abióticos, incrementando la actividad de algunas enzimas antioxidantes (Mazorra *et al.*, 2002; Shang *et al.*, 2006; Lu y Zhu, 2006; Hasan *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2008; Ogweno *et al.*, 2008; Behnamnia *et al.*, 2009) y disminuyendo la peroxidación lipídica y el eflujo de electrolitos, lo que favorece el índice de estabilidad de las membranas (Ali *et al.*, 2008).

En otros experimentos, se ha podido constatar que el efecto de los BRs ha estado relacionado con una mejor economía del agua y una mayor asimilación de CO₂ por las plantas (Farooq *et al.*, 2009); así como a un incremento en la concentración de prolina de las hojas y a una regulación de la concentración endógena de otras hormonas vegetales como, por ejemplo, el ácido indolacético y el ácido abscísico (Hathout, 1996; Yuan *et al.*, 2010).

Por otra parte, Kagale *et al.* (2007) observaron niveles superiores de los transcritos de tres genes estructurales (*rd29A*, un homólogo de *BN115* y *COR47*) en posturas de *A. thaliana* tratadas con EBL y sometidas a estrés por frío por tres días. De igual forma, se incrementó hasta dos veces la expresión de transcritos de CBF1, un factor de transcripción de respuesta al frío, en las primeras tres, seis y nueve horas del tratamiento de estrés. En esa misma especie, se encontró que un total de 85 genes fueron regulados por la sequía y la BL (Huang *et al.*, 2008).

El incremento en la resistencia a la infección patogénica inducida por los brasinoesteroides ha sido informada, entre otros, por Korableva *et al.* (1990) citados por Marquardt y Adam (1991) quienes infestaron artificialmente tubérculos de papa con *Phytophthora infestans* o *Fusarium sulfuricum* y encontraron que los tratados mostraron una resistencia superior a los fitopatógenos en comparación con el control y además, formaron más sustancias protectoras en respuesta a la infección.

Al utilizar plantas de cebada como un sistema modelo en condiciones de campo y de laboratorio para estudiar el efecto protector de los BRs ante las enfermedades, se pudo constatar que, en condiciones de laboratorio, la aspersion de las plantas con EBL, en la fase de ahijamiento, disminuyó sensiblemente las enfermedades foliares provocadas por *Helminthosporium teres* Sacc.. En condiciones de campo, se demostró que la dosis de 15 mg.ha⁻¹ de EBL fue comparable con el efecto inducido por el fungicida Bayleton cuando se aplicó en la dosis usual, provocando además un incremento en la productividad de la planta (Khripach *et al.*, 1999).

También, se evaluó el efecto de la EBL 694 en el contenido de compuestos fenólicos y en la actividad peroxidasa de plantas de cebada sanas e infectadas con *Helminthosporium teres* [*Pyrenophora teres*] y se demostró que la EBL incrementó el contenido de ácidos fenilcarbónicos libres y la actividad de la enzima y con ello la resistencia de las plantas, por lo que se sugirió que los BRs resultan prometedores como inductores de la inmunidad de la cebada al *P. teres* (Manzhelesova, 1997).

En otro estudio, se evaluó la inducción de resistencia en plantas provocada por un extracto de *Lychnis viscaria* que contiene BRs. Se demostró que la aplicación de soluciones acuosas de ese extracto en concentraciones que oscilaron

entre 0.5 y 10 mg.L⁻¹ incrementó la resistencia de plantas de tabaco, pepino y tomate a patógenos virales y fúngicos hasta en un 36 %, en comparación con las plantas tratadas con agua. Se evidenció, además, que no existió efecto antifúngico directo (Roth *et al.*, 2000).

Además, se informó que luego del tratamiento e inoculación con «*Mildew*», en pepino, ocurrió una estimulación de diferentes proteínas PR como fue un 20 % para la peroxidasa y un 30 y hasta un 68 % para la quitinasa y la β -1,3-glucanasa, respectivamente.

Posteriormente, Nakashita *et al.* (2003) analizaron la capacidad de la BL de inducir resistencia a enfermedades en plantas de arroz y tabaco. Las plantas de tabaco tratadas con BL exhibieron una mayor resistencia a patógenos de origen viral como el virus del mosaico del tabaco (TMV), de origen bacteriano como *Pseudomonas syringae* pv. Tabaco (*Pst*) y de origen fúngico como *Oidium* sp. Además, este compuesto, indujo resistencia en plantas de arroz ante enfermedades bacterianas causadas por *Magnaphorte grisea* y *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*.

Otro ejemplo, en cuanto a la capacidad de los brasinoesteroides de estimular la resistencia a la infección por virus en las plantas, se observó en la micropropagación de papa, donde se incluyeron en el medio de cultivo varios BRs (BL, HBL y EBL) y se encontró una reducción en la infección por virus en el material utilizado para la plantación. Este efecto se encontró en todas las etapas del desarrollo de la planta y se observó, también, en la primera y segunda generación de tubérculos producidos del material vegetal de partida crecidos en un medio que contenía BR (Khripach *et al.*, 1999).

En relación con los mecanismos que utilizan los BRs para inducir la resistencia a enfermedades en plantas, se debe señalar, que Szekeres *et al.* (1996) informaron que mutantes deficientes en expresar un gen involucrado en la biosíntesis de los BRs, mostraron una expresión marcadamente baja de proteínas PR. Sin embargo, mutantes que sobreexpresaron este gen, mostraron una inducción significativa de proteínas PR.

Todos estos resultados revelan las potencialidades de los BRs como inductores de resistencia de las plantas ante el ataque de determinados patógenos. Hay que destacar, que en 1994, Adam y Petzold hicieron un resumen de aspectos relacionados con la química, la fisiología y la bioquímica de los BRs e indicaron que el amplio espectro de efectos biorregulatorios y antiestrés que presentan estos compuestos los convierten en reguladores del crecimiento vegetal ecológicamente adecuados para su aplicación en la agricultura.

CONCLUSIONES

Los brasinoesteroides y sus análogos poseen amplias potencialidades para ser utilizados en la agricultura como estimuladores del crecimiento y el rendimiento de los cultivos o como inductores de tolerancia de las plantas ante determinados estrés abióticos y bióticos y poseen la ventaja de ser compuestos ecológicamente seguros. Sin embargo, el éxito de las aplicaciones de estos compuestos en condiciones de campo radica en la formulación que se emplee, la selección adecuada de las dosis, el modo y los momentos de aplicación en cada cultivo, así como tener en cuenta las condiciones edafoclimáticas en la que el mismo se desarrolla.

Es bueno destacar, que los análogos espiroestánicos de Brasinoesteroides, sintetizados en Cuba, son más factibles de ser usados en la práctica, ya que su costo es mejor al de

los Brasinoesteroides naturales y los resultados presentados en este documento reflejan que, por ejemplo, el rango de dosis más adecuado de la formulación conocida como Biobras-16 (10-50 mg.ha⁻¹) para estimular los rendimientos agrícolas se encuentran dentro del rango que resultó efectivo en el caso de la epibrasinólida (5-50 mg.ha⁻¹), que es uno de los brasinoesteroides naturales más utilizados en condiciones de campo.

Por otra parte, las potencialidades que poseen estos análogos de proteger a las plantas o de estimular la recuperación ante condiciones de estrés ambiental, los hace aun más atractivos para su uso en la agricultura.

Además, la posibilidad de incrementar la eficiencia de la micropropagación masiva de algunas especies vegetales por la inclusión en los medios de cultivo de los análogos espirostánicos de brasinoesteroides debe ser objeto de atención tanto de investigadores como de productores dedicados a esta actividad.

REFERENCIAS

- Abe, H. Advances in brassinosteroid research and prospects for its agricultural application. *Japan Pesticide Information*, 1989, vol. 55, p. 10-14.
- Adam, G. y Petzold, U. Brassinosteroid-eine neue Phytohormon-Gruppe?. *Naturwissenschaften*, 1994, vol. 81, p. 210-217.
- Adam, G. y Marquardt, V. Brassinosteroids. *Phytochem.*, 1986, vol. 25, p. 1787-1799.
- Agramonte, D.; Jiménez, F. A.; Pérez, M.; Gutiérrez, O.; Ramírez, D. y Núñez, M. Empleo de sustancias bioestimuladoras (Biobras-6 y Biobras-16) en la fase de adaptación de vitroplantas de papa (*Solanum tuberosum* L.). Programa y Resúmenes X Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana: INCA., 1996b, p. 162.

- Agramonte, D.; Ramírez, D.; Jiménez, F.; Pérez, M.; Gutiérrez, O. y Núñez, M. Efecto del DAA-6 en la micropropagación in vitro del plátano (*Musa spp.*) clon FHIA-21. Programa y Resúmenes X Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana: INCA., 1996a, p. 158.
- Alfonso, J. y Núñez, M. Biobras-16, nuevo modo de aplicación en hortalizas. Programa y Resúmenes X Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana: INCA, 1996, p. 159.
- Ali, B.; Hayat, S.; Fariduddin, Q. y Ahmad, A. 24-epibrassinolide protects against the stress generated by salinity and nickel in *Brassica juncea*. *Chemosphere*, 2008, vol. 72 p. 1387-1392.
- Almenares, G. R.; Pozo, L.; Martínez, J. L. e Iglesias, M. Efecto de compuestos brasinoesteroides en la germinación de semillas de cítricos. Programa y Resúmenes IX Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. *Cult. Trop.*, 1994, vol. 15, no. 3, p. 86.
- Almenares, J. C.; Cuñarro, R.; Ravelo, R.; Fitó, E.; Moreno, I. y Núñez, M. Influencia de diferentes dosis y momentos de aplicación del BIOBRAS-16 en el cultivo del maíz (*Zea mays*). *Cult. Trop.*, 1999, vol. 20, no. 3, p. 77-81.
- Alonso, E. Síntesis de análogos espiroestánicos de brasinoesteroides. Esther Alonso/F. Coll, Tutor. Tesis de Dr. en Ciencias Químicas; Universidad de la Habana, 1990.
- Arteca, J. M. y Arteca, R. N. Brassinosteroid-induced exaggerated growth in hydroponically grown in *Arabidopsis* plants. *Physiol. Plant.*, 2001, vol. 112, p. 104-112.
- Behnamnia, M.; Kalantari, K. M. y Ziaie, J. The effects of brassinosteroid on the induction of biochemical changes in *Lycopersicon esculentum* under drought stress. *Turk. J. Bot.*, 2009, vol. 33, p. 417-428.
- Bilkisu, A. A.; Xiao-Gang, G.; Ping-Lei, G. y Yong-Hua, Y. Brassinolide amelioration of aluminium toxicity in mung bean seedling growth. *J. Plant Nutr.*, 2003, vol. 26, p. 1725-1734.

- Capote, I.; Escalona, M.; Daquinta, M.; Pina, D.; González, J. y Aragón, C. Efectos del análogo de brasinoesteroides (MH 5) en la aclimatización de brotes de *Vriesea* propagados en sistema de inmersión temporal. *Ciencia y Tecnología*, 2009, no. 3, p. 29-33.
- Castilla, Y. Micropropagación del clavel español (*Dianthus caryophyllus* L.) con el empleo de Biobras-16. Yanelis Castilla/ María E. González, tutora. Tesis de Maestría en Biología Vegetal, Universidad de La Habana, 2008.
- Corbera, J. y Núñez, M. Evaluación agronómica del análogo de brasinoesteroides BB-6 en soya, inoculada con *Bradyrhizobium japonicum* y HMA, cultivada en invierno en un suelo ferralsol. *Cult. Trop.*, 2004, vol. 25, no. 3, p. 9-13.
- Costales, D.; Nápoles, M. C.; Falcón, A. y Núñez, M. Influencia de un análogo de brasinoesteroide sobre la nodulación de plántulas de soya (*Glycine max* (L) Merrill). *Cult. Trop.*, 2008, vol. 29, no. 2, p. 65-69.
- Cuñarro, R.; Almenares, J. C.; Ravelo, R. y Fitó, E. Influencia de diferentes dosis y momentos de aplicación del BIOBRAS-16 en el cultivo del frijol. Programa y Resúmenes XI Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana: INCA, 1998, p. 124.
- Díaz, G.; Pérez, N.; Núñez, M. y Torres, W. Efecto de un análogo de brasinoesteroide -DAA-6- en el cultivo del tabaco (*Nicotiana tabacum* L.). *Cult. Trop.*, 1995, vol. 16, no. 3, p. 53-55.
- Díaz, S.; Morejón, R. y Núñez, M. Effects of BIOBRAS-16 on rice (*Oryza sativa* L.) yield and other characters. *Cult. Trop.*, 2003, vol. 24, no. 2, p. 35-40.
- Fariduddin, Q.; Ahmad, A. y Hayat, S. Responses of *Vigna radiata* to foliar application of 28-homobrassinolide and kinetin. *Biol. Plant.*, 2004. vol. 48, no. 3, p.465-468.
- Fariduddin, O.; Khanam, S.; Hasan, S. A.; Ali, B.; Hayat, S. y Ahmad, A. Effect of 28-homobrassinolide on the drought stress-induced changes in photosynthesis and antioxidant system of *Brassica juncea* L. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2009, vol. 31, no. 5, p. 1-9.

- Farooq, M.; Wahid, A.; Basra, S. M. A. y Din, I-ud. Improving water relations and gas exchange with brassinosteroids in rice under drought stress. *J. Agron. Crop Sci.*, 2009, vol. 195, p. 262-269.
- Fernández, A. Efecto del Biobras-6 en el crecimiento y desarrollo del ajo (*Allium sativum* L.). A. Fernández/ M. Núñez y P. Pérez, tutores. Tesis de Maestría en Biología Vegetal, mención Fisiología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad de la Habana, 1999.
- Fernández, F. Efecto del uso del biofertilizante comercial Biofert y el estimulador del crecimiento Biomex sobre el crecimiento y desarrollo del cultivo del algodón en suelos colombianos. Programa y Resúmenes X Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana: INCA, 1996, p. 161.
- Fitó, E.; Almenares, J. C.; Cuñarro, R.; Ravelo, R. y Covas, B. Influencia de diferentes momentos de aplicación del BIOBRAS-16 en el rendimiento de diferentes cultivos hortícolas. Programa y Resúmenes XI Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana: INCA, 1998, p. 131.
- Franco, I. Efectividad del brasinoesteroide DAA-6 en el cultivo del arroz. Programa y Resúmenes IX Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. *Cult. Trop.*, 1994, vol. 15, no. 3, p. 79.
- Franco, I. Efectividad del brasinoesteroide DAA-6 en el cultivo del arroz. Programa y Resúmenes X Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana: INCA, 1996, p. 160.
- Fujii, S.; Hirai, K. y Saka, H. Growth-regulating action of brassinolide in rice plants. En: *Brassinosteroids. Chemistry, Bioactivity and Applications.*- Washington: Am. Chem. Soc., 1991.
- García, A.; Rodríguez, T.; Héctor, E. y Núñez, M. Efecto del análogo de brasinoesteroide MH-5 en el crecimiento *in vitro* del arroz (*Oryza sativa* L.) en condiciones de déficit hídrico. *Cult. Trop.*, 2005, vol. 26, no. 1, p. 89-93.
- García, D.; Marrero, M. T.; Cuba, M. y Núñez, M. Efecto cualitativo de análogos de brasinoesteroides como sustitutos hormonales en la calogénesis de café (*Coffea canephora* variedad Robusta). *Cult. Trop.*, 1997, vol. 18, no. 2, p. 44-46.

- García, D.; Torres, W.; Cuba, M. y Núñez, M. Análisis del crecimiento de callos de *Coffea canephora* var. Robusta en presencia del análogo de brasinoesteroides MH-5. *Cult. Trop.*, 1998, vol. 19, no. 3, p. 55-60.
- García, M. E., Cáceres, I., Betancourt, M., Pozo, L., Coll, F., Robaina, C. y Altuna, B. Adelanto del inicio de la cosecha de frutos de toronja (*Citrus paradisi* Macf) mediante aspersiones foliares de fitorreguladores. Programa y Resúmenes XI Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana: INCA, 1998, p. 123.
- Gomes, M.; Campostrini, E.; Rocha, N.; Pio, A.; Massi, T.; Siqueira, L.; Carriello, R.; Torres, A.; Núñez, M. y Zullo, M. A. T. Brassinosteroid analogue effects on the yield of yellow passion fruit plants (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). *Sci. Hort.*, 2006, vol. 110, p. 235-240.
- Gómez, R.; Gilliard, T.; Barranco, L. y Reyes, M. Embriogénesis somática en medios líquidos. Maduración y aumento de la germinación en el cultivar híbrido FHIA-18 (AAAB). *InfoMusa*, 2000, vol. 9, no. 1, p. 12-16.
- Gómez, R.; Posada, L.; Reyes, M. y Núñez, M. Empleo de sustancias biorreguladoras (BIOBRAS-6) en la conversión y adaptación de plantas de fruta bomba (*Carica papaya* L.) var. Maradol Rojo obtenidas a partir de embriones somáticos. Programa y Resúmenes X Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana: INCA, 1996, p. 158.
- González, M. C.; Merrys, A. K. y Núñez, M. Utilización del brasinoesteroide como posible sustituto de citoquininas *in vitro*. Programa y Resúmenes IX Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. *Cult. Trop.*, 1994, vol.15, no. 3, p. 78.
- González, O.; Núñez, M.; Hernández, M. M.; Silva, J. J. y Espinosa, A. Efecto de dos análogos de brasinoesteroides en la inducción y regeneración de callos de *Ipomoea batatas*. *Biotecnología Vegetal*, 2003, vol. 3, no. 2, p. 173-175.

- Guan, M. y Roddick, J. G. Epibrassinolide-inhibition of development of excised, adventitious and intact roots of tomato (*Lycopersicon esculentum*): comparison with the effects of steroidal estrogens. *Physiol. Plant.*, 1988, vol. 74, p. 720-726.
- Hasan, S. A.; Hayat, S.; Ali, B. y Ahmad, A. 28-homobrassinolide protects chickpea (*Cicer arietinum*) from cadmium toxicity by stimulating antioxidants. *Environmental Pollution*, 2008, vol. 151, p. 60-66.
- Hathout, T. A. Salinity stress and its counteraction by the growth regulator «Brassinolide» in wheat plants (*Triticum aestivum* L. cultivar Giza 157). *Egyptian J. Physiol. Sci.*, 1996, vol. 20, no. 1-2, p. 127-152.
- Hayat, S.; Hasan, S.; Hayat, Q. y Ahmad, A. Brassinosteroids protect *Lycopersicon esculentum* from cadmium toxicity applied as shotgun approach. *Protoplasma*, 2010, vol. 239, p. 3-14.
- He, R-Y.; Wang, G-J. y Wang, X-S. Effects of brassinolide on growth and chilling resistance of maize seedlings. En: *Brassinosteroids. Chemistry, Bioactivity and Applications.*- Washington: American Chem. Society, 1991.
- Héctor, E.; Torres, A.; Algoe, S.; Cabañas, M. y López, A. Propagación *in vitro* del plátano macho clon Sobrino con los bioestimulantes cubanos BB-6 y Biostan como sustitutos de los reguladores del crecimiento. *Cultivos Tropicales*, 2007, vol. 28, no. 1, p. 13-18.
- Hernández, M. M. Empleo de brasinoesteroides para la diferenciación en callos de papa (*Solanum tuberosum* Lin.). Programa y Resúmenes IX Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. *Cult. Trop.*, 1994, vol. 15, no. 3, p. 78.
- Hernández, M. M.; Moré, O. y Núñez, M. Empleo de análogos de brasinoesteroides en el cultivo *in vitro* de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Cult. Trop.*, 1999, vol. 20, no. 4, p. 41-44.
- Holá, D.; Rothová, O.; Koèová, M.; Kohout, L. y Kvasnica, M. The effect of brassinosteroids on the morphology, development and yield of field-grown maize. *Plant Growth Regul.*, 2010, vol. 61, p. 29-43.

- Huang, D.; Wu, W.; Abrams, S. y Cutler, A. The relationship of drought-related gene expression in *Arabidopsis thaliana* to hormonal and environmental factors. *J. Exp. Botany*, 2008, vol. 59, p. 2991-3007.
- Ikekawa, N. y Zhao, Y-J. Application of 24-epibrassinolide in agriculture. En: *Brassinosteroids. Chemistry, Bioactivity and Applications*. ACS Symposium Series. H. G. Cutler, T. Yokota y G. Adams, Eds. American Chem. Society, Washington, 1991, vol. 474, p. 280-291.
- Izquierdo, H.; González, M. C.; Núñez, M.; Proenza, R. y Álvarez, I. Efectos de la aplicación de un análogo espiroestano de brasinoesteroides en vitroplantas de banano (*Musa spp.*) durante la fase de aclimatización. *Cult. Trop.*, 2012, vol. 33, no. 1, p. 71-76.
- Jai, S.; Nakamura, S.; Ota, Y. y Singh, J. Effect of epibrassinolide on gram (*Cicer arietinum*) plants grown under water stress in juvenile stage. *Indian J. Agric. Sci.*, 1993, vol. 63, no. 7, p. 395-397.
- Jiménez, M.; Ortiz, R. y de la Fe, C. Efecto de dos análogos de brasinoesteroides como suplementos o sustitutos de auxinas en la micropropagación de la caña de azúcar. Programa y Resúmenes X Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana: INCA, 1996, p. 157.
- Jomarrón, I. Síntesis de espirostanonas y espirostanlactonas biológicamente activas. Isabel Jomarrón/F. Coll, tutor.- Tesis de grado Dr. en Ciencias Químicas, Universidad de la Habana, 1995.
- Kagale, S.; Divi, U. K.; Krochko, J. E.; Keller, W. A. y Krishna, P. Brassinosteroid confers tolerance in *Arabidopsis thaliana* and *Brassica napus* to a range of abiotic stresses. *Planta*, 2007, vol. 225, p. 353-364.
- Kajita, F.; Furushima, M. y Takematsu, T. Composition for increasing the quantity and quality of fruits and flowers of plants. EP 0220514, 1986.
- Kamuro, Y. y Takatsuto, S. Practical application of brassinosteroids in agricultural fields. En: *Brassinosteroids. Steroidal Plant Hormones*. Eds. Sakurai, A., Yokota, T., Clouse, S. D. Springer-Verlag, Tokyo, 1999, Cap. 10, p. 223-241.

- Kamuro, Y.; Takatsuto, S.; Noguchi, T.; Watanabe, T. y Fujisawa, H. Application of long-lasting brassinosteroids in combination with other plant growth regulators. *Proc. Plant Growth Regul. Soc. Am.*, 1996, vol. 23, p. 27-31.
- Khripach, V. A.; Zhabinskii, A. y de Groot, A. E. Brassinosteroids. A new class of plant hormones. San Diego: Academic Press, 1999.
- Khripach, V. A.; Zhabinskii, V. y Litvinovskaya, R. Synthesis and some practical aspects of brassinosteroids. En: Brassinosteroids. Chemistry, Bioactivity and Applications. ACS Symposium Series. H. G. Cutler, T. Yokota, G. Adams, Eds. American Chem. Society, Washington, 1991, vol. 474, p. 43-55.
- Kulaeva, O. N.; Burkhanova, E. A.; Fedina, A. B.; Khokhlova, V. A.; Bokebayeva, G. A.; Vorbrodt, H. M. y Adam, G.. Effect of brassinosteroids on protein synthesis and plant-cell ultrastructure under stress conditions. En: Brassinosteroids. Chemistry, Bioactivity and Applications. ACS Symposium Series. H. G. Cutler, T. Yokota y G. Adams, Eds. American Chem. Society, Washington, 1991, vol. 474, p. 141-155.
- Kumawat, B. L.; Sharmat, D. D. y Jat, S. C. Effect of brassinosteroid on yield attributing characters under water deficit stress condition in mustard (*Brassica juncea* (L.) Czern and Coss.). *Annals Biol. Ludhiana*, 1997, vol. 13, no. 1, p. 91-93.
- Kuraishi, S.; Sakurai, N.; Eun, J. S. y Sugiyama, K. Effect of brassinolide on levels of indoleacetic acid and abscisic acid in squash hypocotyls. Possible application for preventing fruit abortion. En: Brassinosteroids. Chemistry, Bioactivity and Applications. ACS Symposium Series. H. G. Cutler, T. Yokota y G. Adams, Eds. American Chem. Society, Washington, 1991, vol. 474, p. 312-319.
- Li, K. R.; Wang, H. H.; Wang, O. J. y Fan, J. Effects of brassinolide on the survival, growth and drought resistance of *Robinia pseudoacacia* seedlings under water stress. *New Forests*, 2008, vol. 35, p. 255-266.
- Lim, U-K. Studies of the effects of brassinosteroid treatment on the growth and yield of crops. *Proc. Plant Growth Regul. Soc. Amer.*, 1985, p. 213-219.

- Lu, X. M. y Zhu, S. D. Effects of some drugs on resistance of early -maturing *Glycine max* under water stress. *Acta Praticulturae Sinica*, 2006, vol. 15, p. 86-92.
- Manzhelesova, N. E. The content of phenolic compounds and peroxidase activity at brassinosteroid-induced resistance of barley to spot disease. *Vestsi-Akademii-Navuk-Belarusi-Seriya-Biyalagichnykh-Navuk*, 1997, vol. 3, p. 20-24.
- Marquardt, V. y Adam, G.. Recent advances in brassinosteroid research. *Chem. Plant Prot.* (Review), 1991, vol. 7, p. 103-139.
- Martínez, M. A. y Núñez, M. Influencia de los brasinoesteroides (DI-31 y DAA-6) en el cultivo del maíz. Programa y Resúmenes X Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana: INCA, 1996, p. 159.
- Mazorra, L.; Núñez, M.; Hechavarría, M.; Coll, F. y Sánchez-Blanco, M. J. Influence of brassinosteroids on antioxidant enzymes activity in tomato under different temperatures. *Biol. Plant.*, 2002, vol. 45, no. 4, p. 593-596.
- Mirabal, M. y Herrera, R. Efecto el BIOBRAS-16 en algunos indicadores morfológicos de la hierba de guinea (*Panicum maximum*). Programa y Resúmenes XI Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana: INCA, 1998, p. 121.
- Montes, S.; Mesa, O.; Hernández, M. M.; Santana, N.; Núñez, M. y Varela, M. Uso del análogo de brasinoesteroide BB-6 en la micropropagación del clavel. *Cult. Trop.*, 1997, vol. 18, no. 2, p. 51-55.
- Moré, O.; Hernández, M. M.; Núñez, M.; Estévez, A. y González, M. E. Empleo de dos análogos de brasinoesteroides en la formación de callos embriogénicos en papa (*Solanum tuberosum* L.). *Cult. Trop.*, 2001, vol. 22, no. 4, p. 29-35.
- Morejón, R.; Díaz, S. y Núñez, M. Efecto del análogo de brasinoesteroides BIOBRAS-6 en el rendimiento y otros caracteres en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). *Cult. Trop.*, 2004, vol. 25 no. 1, p. 55-59.
- Morejón, R.; Díaz, S. y Núñez, M. Uso del BIOBRAS-16 en áreas de pequeños productores de la provincia de Pinar del Río. *Cult. Trop.*, 2007, vol. 28 no. 2, p. 91-93.

- Müssig, C. Brassinosteroid-promoted growth. *Plant Biol.*, 2005, vol. 7, p. 110-117.
- Müssig, C.; Shin, G-H. y Altmann, T. Brassinosteroids promote root growth in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, 2003, vol. 133, p. 1-11.
- Nakashita, H.; Yasuda, M.; Nitta, T.; Asami, T.; Fujioka, S.; Arai, Y.; Sekimata, K.; Takatsuto, S.; Yamaguchi, I. y Yoshida, S. Brassinosteroid functions in a broad range of disease resistance in tobacco and rice. *The Plant J.*, 2003, vol. 33, p. 887-898.
- Noriega, C.; Pozo, L. y Rodríguez, M. E. Aplicación de bioestimulantes en el cultivo de la fresa. Programa y Resúmenes XI Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana: INCA, 1998, p. 124.
- Núñez, M. Análogos de brasinoesteroides cubanos como biorreguladores en la agricultura. Informe final de Proyecto de Investigaciones. Código 00300047. PNCT Biotecnología Agrícola. CITMA, La Habana, junio 2000.
- Núñez, M.; Alfonso, J. L.; Arzuaga, J.; Hernández, A. y Coll, F. Influencia de nuevos biorreguladores cubanos en la producción de hortalizas en condiciones tropicales. Resúmenes XLIV Reunión Anual de la Sociedad Interamericana de Horticultura Tropical. Barquisimeto, Venezuela, 1998 a, p. 23.
- Núñez, M.; Benítez, B.; Domingos, P. J.; Torres, W.; Coll, F. y Jomarrón, I. Influencia de análogos de brasinoesteroides en el rendimiento de diferentes cultivos hortícolas. Programa y Resúmenes IX Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. *Cult. Trop.*, 1994, vol. 15, no. 3, p. 87.
- Núñez, M.; Domingos, J. P.; Torres, W.; Coll, F.; Alonso, E. y Benítez, B. Influencia del análogo de brasinoesteroide Biobras-6 en el rendimiento de plantas de tomate cultivar INCA-17. *Cult. Trop.*, 1995, vol. 16, no. 3, p. 49-52.
- Núñez, M.; Dell'Amico, J.; Pérez, I.; Pérez-Pastor, A.; Ruiz-Sánchez, M. C. Efecto de tratamientos con brasinoesteroides sobre las relaciones hídricas y el crecimiento de plantas de tomate bajo estrés hídrico. Actas del 4º Simposium Hispano-Portugués. Relaciones hídricas en las plantas, Murcia, España, 1998, p. 206-209.

- Núñez, M.; Mazorra, L. M.; Martínez, L.; González, M. C. y Robaina, C. Análogos de brasinoesteroides revierten parcialmente el impacto del estrés salino en el crecimiento inicial de las plántulas de dos genotipos de arroz (*Oryza sativa* L.). *Cult. Trop.*, 2007, vol. 28, no. 2, p. 95-99.
- Núñez, M.; Robaina, C. y Coll, F. Synthesis and practical applications of brassinosteroid analogs in agriculture. En: *Brassinosteroids: Bioactivity and Crop Productivity*. S. Hayat y A. Ahmad, Eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2003, p. 87-117.
- Núñez, M.; Sosa, J. L.; Alfonso, J. L. y Coll, F. Influencia de dos nuevos biorreguladores cubanos en el rendimiento de plantas de cebolla (*Allium cepa*) cv. Red Creole. *Cult. Trop.*, 1998 b, vol. 19, no. 1, p. 21-24.
- Núñez, M.; Torres, W. y Coll, F.. Efectividad de un análogo de brasinoesteroide sobre el rendimiento de plantas de papa y tomate. *Cult. Trop.*, 1995, vol. 16, no. 1, p. 26-27.
- Núñez, M.; Torres, W. y Echevarría, I. Influencia de un análogo de brasinoesteroide en el crecimiento y la actividad metabólica de plantas jóvenes de tomate. *Cult. Trop.*, 1996, vol. 17, no. 3, p. 26-30.
- Ogwen, J. O.; Song, X. S.; Shi, K.; Hu, W. H.; Mao, W. H.; Zhou, H.; Yu, J. O. y Nogués, S. Brassinosteroids alleviate heat-induced inhibition of photosynthesis by increasing carboxylation efficiency and enhancing antioxidant systems in *Lycopersicon esculentum*. *J. Plant Growth Regul.*, 2008, vol. 27, p. 49-57.
- Ortega, P.; Rodés, R.; Ortega, E.; Fernández, L.; Diez, M. y García, V. Efecto de un brasinoesteroide sintético (DAA-6) sobre el crecimiento del vástago y las raíces de la caña de azúcar. *Rev. CENIC, Ciencias Biológicas*, 2003, vol. 34, no. 2, p. 67-72.
- Pipattanawong, N. Effects of brassinosteroid on vegetative and reproductive growth in two day-neutral strawberries. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.*, 1996, vol. 65, no. 3, p. 651-654.
- Pirogovskaya, G. V.; Bogdevitch, I. M.; Naumova, G. V.; Khripach, V. A.; Azizbekyan, S. G. y Krul, L. P. New forms of mineral fertilizers with additives of plant growth regulators. *Proc. Plant Growth Regul. Soc. Am.*, 1996, vol. 23, p. 146-151.

- Pita, O.; Cuéllar, A. Y.; Coll, F. y Robaina, C. Influencia de un análogo de brasinoesteroide, DI-31, en el rendimiento y calidad del tabaco (*Nicotiana tabacum* L). Programa y Resúmenes X Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana: INCA, 1996, p. 155.
- Pita, O.; Cuéllar, A. Y. y Coll, F., Robaina, C. Efecto de diferentes concentraciones de un análogo de brasinoesteroide DI-31 en el rendimiento y la calidad del tabaco. Programa y Resúmenes XI Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana: INCA, 1998, p. 123.
- Plana, D.; Alvarez, M.; Florido, M.; Lara, R. M. y Núñez, M. Efecto del Biobras-6 en la morfogénesis *in vitro* del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) var. Amalia. *Cult. Trop.*, 2002, vol. 23, no. 2, p. 21-25.
- Platonova, T. A. y Korableva, N. P. Effect of 24-epibrassinolide on growth of apical meristem of potato tubers. *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.*, 1994, vol. 30, p. 923-930.
- Pozo, L.; Rivera, T.; Noriega, C.; Iglesias, M.; Coll, F.; Robaina, C.; Velázquez, B.; Rodríguez, O. L. y Rodríguez, M. E. Algunos resultados en el cultivo de los frutales mediante la utilización de brasinoesteroides o compuestos análogos. Programa y Resúmenes IX Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. *Cult. Trop.*, 1994, vol. 15, no. 3, p. 79.
- Pozo, L.; Muñoz, S.; Noriega, C.; Reyes, C.; Velázquez, B.; Rodríguez, M. E.; Ortiz, M.; Coll, F.; Robaina, C.; Iglesias, M.; Jomarrón, I. y Alonso, E. Efecto de cuatro brasinoesteroides sintéticos sobre la germinación, el crecimiento y la fructificación de una variedad colombiana de *C. papaya*. Programa y Resúmenes X Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana: INCA, 1996, p. 154.
- Prusakova, L. D.; Chizhova, S. I. y Khripach, V. A. K.. Lodging resistance and productivity of spring barley and perennial wheat under the effect of brassinosteroids. *Sel'skokhozyaistvennaya Biol.*, 1995, no. 1, p. 93-97.
- Ramírez, A. Respuesta del injerto en el mamey Colorado (*Pouteria sapota* Jacq.) al uso del BIOBRAS-16. *Cult. Trop.*, 2007, vol. 28, no. 1, p. 37-39.

- Ramírez, J.; Brosa, C. y Galagovsky, L. Synthesis and bioactivity of C-29 brassinosteroid analogues with different functional groups at C-6. *Phytochem.*, 2005, vol. 66, p. 581-587.
- Ramraj, V. M.; Vyas, B. N.; Godrey, N. B.; Mistry, K. B.; Swami, B. N. y Singh, N. Effects of 28-homobrassinolide on yields of wheat, rice, groundnut, mustard, potato and cotton. *J. Agric. Sci.*, 1997, vol. 128, p. 405-413.
- Rayas, A.; Sánchez, R.; Ventura, J. de la C. y López, J. Efectos del DAA-6 en el medio de implantación para la micropropagación *in vitro* del banano (*Musa spp.*). Programa y Resúmenes X Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana: INCA, 1996, p. 158.
- Robaina, C. Síntesis de espirobrasinoesteroides a partir de hecogenina. Caridad Robaina/F. Coll, tutor. Tesis de Dr. en Ciencias Químicas. Universidad de la Habana, 1995.
- Robaina, C. y Scovino, J. I. Algunos resultados de la aplicación de BIOCRECE en la agricultura venezolana. Programa y Resúmenes XI Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana: INCA, 1998, p. 132.
- Rodríguez, R. y Núñez, M. Efecto de dos tipos de brasinoesteroides sobre algunas variables morfológicas y el rendimiento en el cultivo del maíz. Programa y Resúmenes XI Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana: INCA, 1998, p. 132.
- Rodríguez, T.; Núñez, M. y Vento, H. Influencia de un análogo de brasinoesteroides en la fase de multiplicación *in vitro* del banano (*Musa spp.*) variedad Gran Enano. *Cult. Trop.*, 1998b, vol. 19, no. 2, p. 19-22.
- Rodríguez, T.; Núñez, M.; Vento, H. y Velázquez, M. Efecto del BB-6 en la fase de enraizamiento *in vitro* del plátano var. Gran Enano. Programa y Resúmenes XI Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana: INCA, 1998a, p. 130.
- Romero-Ávila, M.; Dios-Bravo, G.; Mendez-Stivalet, J. M.; Rodríguez-Sotres, R. e Iglesias-Arteaga, M. Synthesis and biological activity of furostanic analogues of brassinosteroids bearing the 5 α -hydroxy-6-oxo moiety. *Steroids*, 2007, vol. 72, p. 955-959.

- Rönsch, H.; Adam, G.; Matschke, J. y Schachler, G. Influence of (22S, 23S)-homobrassinolide on rooting capacity and survival of adult Norway spruce cuttings. *Tree Physiol.*, 1993, vol. 12, p. 71-80.
- Rosales, A., Mastrapa, E. y Jomarrón, I. Tecnología para elevar los rendimientos de la papa (*Solanum tuberosum* L.) en Holguín. En: I Taller de Productos Bioactivos, IV Taller de Brasinoesteroides. (nov. 30-dic. 1, 1995: La Habana), INCA, 1995b.
- Rosales, A.; Martínez, L. y Jomarrón, I. Efecto de la aplicación de biorreguladores en el cultivo del tomate. En: I Taller de Productos Bioactivos, IV Taller de Brasinoesteroides. (nov. 30-dic. 1, 1995: La Habana), INCA, 1995a.
- Roth, U.; Friebe, A. y Schnabl, H. Resistance inductive in plants by a brassinosteroid-containing extract of *Lychnis viscaria* L. *Z. Naturforsch.*, 2000, vol. 55c, p. 552-559.
- Sairam, R.K. Effects of homobrassinolide application on plant metabolism and grain yield under irrigated and moisture-stress conditions of two wheat varieties. *Plant Growth Regul.*, 1994 a, vol. 14, p. 173-181.
- Sairam, R. K. Effect of homobrassinolide application on metabolic activity and grain yield of wheat under normal and water-stress condition. *J. Agron. Crop Sci.*, 1994 b, vol. 173, p. 11-16.
- Salgado, R.; Cortés, M. A. y Del Río, R. E. Uso de brasinoesteroides y sus análogos en la agricultura. *Biológicas* (Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo), 2008, no. 10, p. 18-27.
- Sasse, J. M. Recent progress in brassinosteroid research. *Physiol. Plant.*, 1997, vol. 100, p. 696-701.
- Sasse, J. M.; Smith, R. y Hudson, I. Effect of 24-epibrassinolide on germination of seeds of *Eucalyptus camaldulensis* in saline conditions. *Proc. Plant Growth Regul. Soc. Amer.*, 1995, vol. 22, p. 136-141.
- Sathiyamoorthy, P. y Nakamura, S. *In vitro* root induction by 24-epibrassinolide on hypocotyl segments of soybean (*Glycine max* L.) Merr. *Plant Growth Regul.*, 1990, vol. 9, p. 73-76.

- Schilling, G.; Schiller, C. y Otto, S. Influence of brassinosteroids on organ relations and enzyme activities of sugar-beet plants. En: *Brassinosteroids, Chemistry, Bioactivity and Applications*. ACS Symposium Series. H. G. Cutler, T. Yokota y G. Adams, Eds. American Chem. Society, Washington, 1991, vol. 474, p. 208-219.
- Shang, O. M.; Song, S. O.; Zhang, Z. G. y Guo, S. R. Exogenous brassinosteroid induced the salt resistance of cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings. *Scientia Agricultura Sinica*, 2006, vol. 39, p. 1872-1877.
- Šiša, M.; Vilaplana, M.; Brosa, C. y Kohout, L. Brassinolide activities of $2\alpha,3\alpha$ -diols versus $3\alpha,4\alpha$ -diols in the bean second internode bioassay: Explanation by molecular modeling methods. *Steroids*, 2007, vol. 72, p. 740-750.
- Soto, F.; Tejada, T. y Núñez, M. Estudio preliminar sobre el uso de brasinoesteroides en cafetos. *Cult. Trop.*, 1997, vol. 18, no. 1, p. 52-54.
- Suárez, L. Efectos que ejercen las aspersiones foliares de una mezcla de oligogalacturónidos (Pectimorf) y la formulación a base de un análogo de brasinoesteroides (Biobras-16) en dos especies de orquídeas (*Cattleya leuddemanniana* y *Guarianthe skinneri*). *Cultivos Tropicales*, 2007, vol. 28, no. 4, p. 87-91.
- Swamy, K. N. y Ram Rao, S. S. Influence of brassinosteroids on rooting and growth of geranium (*Pelargonium* sp.) stem cuttings. *Asian J. Plant Sci.*, 2006, vol. 5 no. 4, p. 619-626.
- Szekeres, M.; Németh, K.; Koncz-Kálmán, Z.; Mathur, J.; Kauschmann, A.; Altmann, T.; Rédei, G. P.; Nagy, F.; Schell, J. y Koncz, C. Brassinosteroids rescue the deficiency of CYP90, a cytochrome P450, controlling cell elongation and de-etiolation in *Arabidopsis*. *Cell*, 1996, vol. 85, p. 171-182.
- Takatsuto, S. e Ikekawa, N.. Short-step synthesis of plant growth-promoting brassinosteroids. *Chem. Pharm. Bull.*, 1984, vol. 32, p. 2001-2004.
- Takatsuto, S.; Kamuro, Y.; Watanabe, T.; Noguchi, T. y Kuriyama, H. Synthesis and plant growth promoting effects of brassinosteroid compound TS 303. *Proc. Plant Growth Regul. Soc. Am.*, 1996, vol. 23, p. 15-20.

- Takeuchi, Y.; Worsham, A. y Awad, A. Effects of brassinolide on conditioning and germination of witchweed (*Striga asiatica*) seeds. En: Brassinosteroids. Chemistry, Bioactivity and Applications. ACS Symposium Series. H. G. Cutler, T. Yokota y G. Adams, Eds. American Chem. Society, Washington, 1991, vol. 474, p. 298-305.
- Takeuchi, Y.; Omigawa, Y.; Ogasawara, M.; Yoneyama, K.; Konnai, M. y Worsham, A. D. Effects of brassinosteroids on conditioning and germination of clover broomrape (*Orobancha minor*) seeds. *Plant Growth Regul.*, 1995, vol. 16, p. 153-160.
- Takeuchi, Y.; Ogasawara, M.; Konnai, M. y Kamuro, Y. Promotive effectiveness of brassinosteroid (TS 303) and jasmonoid (PDJ) on emergence and establishment of rice seedlings. *Proc. Jpn. Soc. Chem. Regul. Plants*, 1996, vol. 31, p. 100-101.
- Terry, E.; Núñez, M.; Pino, M. y Medina, N. Efectividad de la combinación biofertilizantes-análogo de brasinoesteroides en la nutrición del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Cult. Trop.*, 2001, vol. 22, no. 2, p. 59-65.
- Terry, E.; Ruiz, J.; Tejeda, T.; Reynaldo, I. y Díaz, M. M. Respuesta del cultivo de la lechuga a la aplicación de diferentes productos bioactivos. *Cultivos Tropicales*, 2001, vol. 32, no. 1, p. 77-82.
- Torres, W. y Núñez, M. The application of Biobras-6 and its effect on potato (*Solanum tuberosum* L.) yields. *Cult. Trop.*, 1997, vol. 18, no. 2, p. 8-10.
- Uesusuki, S.; Watanabe, B.; Yamamoto, S.; Otsuki, G.; Nakawaga, Y. y Miyawaga, H. Synthesis of brassinosteroids of varying acyl side chains and evaluation of their brassinosteroid-like activity. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 2004, vol. 68, no. 5, p. 1097-1105.
- Upreti, K. K. y Murti, G. S. R. Effects of brassinosteroids on growth, nodulation, phytohormone content and nitrogenase activity in French bean under water stress. *Biol. Plant.*, 2004, vol. 48 no. 3, p. 407-411.
- Vardhini, S. V. y Rao, S. S. Effect of brassinosteroids on salinity induced growth inhibition of groundnut seedlings. *Indian J. Plant Physiol.*, 1997, vol. 2, no. 2, p. 156-157.

- Vardhini, B. V. y Rao, S. S. Amelioration of osmotic stress by brassinosteroids on seed germination and seedling growth of three varieties of sorghum. *Plant Growth Regul.*, 2003, vol. 41, p. 25-31.
- Vargas, M. L. P. e Irizar, M. B. G. Efecto del brasinoesteroide y densidad de población en la acumulación de biomasa y rendimiento de fíjol ayacote (*Phaseolus coccineus* L.). *Revista Chapingo, Serie Horticultura*, 2005, vol. 11, p. 269-272.
- Vidya, B. y Ram, S. Effect of brassinosteroids on growth, metabolite content and yield of *Arachis hypogaea*. *Phytochem.*, 1998, vol. 48, no. 6, p. 927-930.
- Wang, A. L.; Gao, Q. A. y Chen, Y. J. The physiological effects of brassinolide in *Pinus elliottii* seedlings. *J. Nanjing Forestry Univ.*, 1995, vol. 19, no. 4, p. 1-6.
- Wang, Y-Q.; Luo, W. y Zhao, Y.-J. Effect of epibrassinolide on growth and fruit quality of watermelon. *Plant Physiol. Comm.*, 1994, vol. 30, p. 423-425.
- Xu, H. I.; Shida, A.; Futatsuya, F. y Kumura, A. Effects of epibrassinolide and abscisic acid on sorghum plants growing under soil water deficit. I. Effects on growth and survival. *Jpn. J. Crop Sci.*, 1994 a, vol. 63, p. 671-675.
- Xu, H. I.; Shida, A.; Futatsuya, F. y Kumura, A. Effects of epibrassinolide and abscisic acid on sorghum plants growing under soil water deficit. II. Physiological basis for drought resistance induced by exogenous epibrassinolide and abscisic acid. *Jpn. J. Crop Sci.*, 1994 b, vol. 63, p. 676-681.
- Yuan, G-F.; Jiang, Ch-G.; Li, Z.; Sun, B.; Zhang, L-P.; Liu, N. y Wang, Q-M. Effect of brassinosteroids on drought resistance and abscisic acid concentration in tomato under water stress. *Sci. Hort.*, 2010, vol. 126, p. 103-108.
- Zullo, M. A.; Feijao, P. y Miyasaka, S. Efeito da aplicacao de brassinosteroides em feijao. Programa y Resúmenes XI Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana: INCA, 1998, p. 124.

Editorial: Ediciones_INCA
Carretera San José-Tapaste, km 3½
San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba
Gaveta postal 1. CP 32700

ISBN 978-959-7023-59-3



9 789597 023593