



ANÁLOGOS ESPIROSTÁNICOS DE BRASINOESTEROIDES ESTIMULAN EL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE ARROZ (*Oryza sativa* L.) cv. INCA LP-7 SOMETIDAS A ESTRÉS POR NaCl

Spirostanic analogues of brassinosteroids enhance the rice (*Oryza sativa* L.) cv. INCA LP-7 seedling growth under NaCl stress

Miriam Núñez Vázquez¹✉, Geydi Pérez Domínguez¹,
Lisbel Martínez González¹, Yanelis Reyes Guerrero¹
y Yamilet Coll García²

ABSTRACT. Spirostanic analogues of brassinosteroids are synthesized, compounds in Cuba and some of their formulations have demonstrated to enhance the growth when plants grow under saline stress. Recently, a new analogue (Biobras-25) which should have a good biological activity has been synthesized. For this reason, the objective of this paper was to evaluate rice seedling growth under NaCl stress by fourteen days, when the seeds were treated with Biobras-25 or Biobras-16. Two experiments were performed, in the first one, rice seeds of cv. INCA-17 were soaked in BB-25 or BB-16 solutions (0; 0,005; 0,05 y 0,5 mg L⁻¹) and after germination, they were placed in pots which contained Hoagland nutritive solution with the addition or not of NaCl 0,1 mol L⁻¹ and remained during fourteen days in a growth room. At the end of the experiment, root and shoot length and dry mass were evaluated to 25 plants by treatment. Later, a second experiment was performed with the best concentrations of both formulations and, also, the growth indicators described above, leaf proline, a, b and total chlorophylls and total carotenes were determined. Results showed that both analogues exhibited a distinct behavior. Biobras-25 not only enhanced significantly seedling growth under NaCl stress but also increased significantly pigment concentration and decreased the proline content in leaves.

RESUMEN. Los análogos espirostánicos de brasinoesteroides son compuestos sintetizados en Cuba y algunas de sus formulaciones han demostrado estimular el crecimiento cuando las plantas son sometidas a estrés salino. Recientemente, se ha sintetizado un nuevo análogo (Biobras-25), que debe poseer una buena actividad biológica. Por tal motivo, el objetivo de este trabajo fue evaluar el crecimiento de plántulas de arroz sometidas a estrés por NaCl, durante catorce días, cuando sus semillas fueron tratadas con Biobras-25 o Biobras-16. Se montaron dos experimentos, en el primero las semillas de arroz cv. INCA LP-7 se sumergieron en soluciones de 0; 0,005; 0,05 y 0,5 mg L⁻¹ de BB-25 o BB-16 y después de germinadas se colocaron en potes que contenían solución nutritiva Hoagland diluida suplementada o no con NaCl 0,1 mol L⁻¹ y se mantuvieron durante catorce días en un cuarto de crecimiento. Al final del experimento se evaluaron 25 plantas por tratamiento, la longitud; la masa seca de raíces y la parte aérea. El segundo experimento se montó con las mejores concentraciones de ambas formulaciones y, además, de los indicadores de crecimiento descritos anteriormente, se determinaron las concentraciones de prolina, clorofilas a, b, totales y carotenos totales en las hojas. Los resultados mostraron que ambos análogos exhibieron un comportamiento diferencial, destacándose el BB-25, que no sólo estimuló el crecimiento de las plántulas sometidas a estrés por NaCl, sino que además, estimuló significativamente, la concentración de los pigmentos y disminuyó la concentración de prolina en las hojas.

Key words: plant growth regulators, pigments, proline, salt stress

Palabras clave: reguladores del crecimiento, pigmentos, prolina, estrés salino

¹ Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, gaveta postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. CP 32700.

² Estudios de Productos Naturales, Facultad de Química, Universidad de la Habana, Zapata y G, Vedado, La Habana, Cuba. CP 10400.

✉ mnunez@inca.edu.cu

INTRODUCCIÓN

El estrés salino es un factor limitante para el crecimiento y la productividad de los cultivos. Los efectos dañinos de este estrés en el crecimiento y la productividad de las plantas se debe al estrés osmótico e iónico que deprime severamente varios procesos fisiológicos y bioquímicos, tales como la fotosíntesis, la síntesis de proteínas y energía y el metabolismo de los lípidos (1). En el caso particular del arroz, se ha informado que la sensibilidad del cultivo a la sal varía de acuerdo con la etapa del crecimiento, siendo la fase de postura una de las más sensibles (2).

Existen varias estrategias para lograr revertir los efectos adversos que provoca el estrés salino en este cultivo. Entre ellas se encuentran: la utilización de variedades tolerantes y el uso de productos bioactivos, dentro de los cuales se incluyen algunos reguladores del crecimiento, como son los brasinoesteroides (3) y sus análogos (4).

Está bien documentado que los brasinoesteroides protegen a las plantas cuando son cultivadas en condiciones de estrés salino (5–7). Específicamente en el cultivo del arroz, varios autores han informado de la influencia positiva de la aplicación exógena de estos compuestos en estas condiciones de estrés (8–10). Sin embargo, es escasa aún la información existente en cuanto a la protección inducida por los análogos de brasinoesteroides, sintetizados en Cuba. Existen resultados de la efectividad de determinadas concentraciones de los análogos espirostánicos BB-6 y BB-16 en estimular el crecimiento de las plántulas de siete días de edad de los cultivares INCA LP-7 y J-104 (11). Resultados similares fueron informados con el BB-16 cuando plántulas del cv J-104 fueron sometidas a estrés salino por once días (12). Sin embargo, no se conoce si este efecto del BB-16 se mantiene al extender el tiempo de exposición de las plántulas al NaCl y mucho menos el efecto que el nuevo análogo denominado Biobras-25 pueda ejercer en el crecimiento de las plántulas de arroz en estas condiciones.

Por todo lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar si el tratamiento a las semillas con Biobras-16 ó con Biobras-25 estimula el crecimiento de las plántulas de arroz cv. INCA LP-7 sometidas a estrés por NaCl durante catorce días.

MATERIALES Y MÉTODOS

Semillas de arroz (*Oryza sativa* L.) cv. INCA LP-7 (cultivar recomendado para suelos afectados por salinidad) (13), fueron tratadas, durante 24 horas, con diferentes concentraciones (0, 0,005, 0,05 y 0,5 mg L⁻¹) de Biobras-16 y Biobras-25.

Biobras-16 (BB-16) tiene como ingrediente activo un análogo espirostánico de brasinoesteroide, el DI-31, mientras que el Biobras-25 (BB-25) tiene como ingredientes activos un análogo colestánico de brasinoesteroides (65 %) y un análogo espirostánico de brasinoesteroides, el DI-31 (35 %). Ambas formulaciones fueron suministradas por el Centro de Estudios de Productos Naturales de la Facultad de Química de la Universidad de la Habana.

Una vez finalizado el tratamiento a las semillas (200 por tratamiento) con las diferentes soluciones, éstas se colocaron en placas Petri con agua destilada en la oscuridad a 25 ± 2°C para propiciar la germinación. A las 48 horas, las semillas germinadas se transfirieron a potes, a los cuales se les adicionaron 50 x 10⁻³ L de solución nutritiva Hoagland diluida (1:1) suplementada o no con NaCl 0.1 mol L⁻¹. Se utilizaron seis potes por tratamiento y 20 plántulas por pote, es decir, 120 plántulas por tratamiento y los mismos permanecieron en un cuarto de crecimiento (temperatura media promedio de 25±2 °C, un fotoperíodo de 12 horas y una humedad relativa promedio de 70 %) durante catorce días. Los indicadores de crecimiento se evaluaron a 25 plántulas por tratamiento, al final del experimento y éstos fueron: longitud (cm) y masa seca de la parte aérea y de las raíces (mg planta⁻¹).

Con los tratamientos que propiciaron la mejor respuesta de crecimiento de las plántulas después de catorce días sometidas a estrés por NaCl, se procedió, entonces, a montar otro experimento similar con dichas concentraciones solamente.

Para este experimento, las semillas (250 por tratamiento) fueron tratadas, durante 24 horas, con agua, BB-16 0,05 mg L⁻¹ y BB-25 0,005 mg L⁻¹. Terminado este periodo, se colocaron en placas Petri con agua destilada en una cámara de crecimiento a 26±2 °C para propiciar la germinación. Después de 48 horas, las semillas germinadas fueron transferidas a potes y colocadas en el cuarto de crecimiento siguiendo la metodología descrita en el experimento anterior; con la diferencia de que en este caso se utilizaron diez potes por tratamiento. De forma similar a lo expuesto en el experimento anterior, se realizaron las evaluaciones de crecimiento a las plántulas catorce días con las que se calcularon los porcentajes de reducción que la salinidad provocaba en cada uno de los indicadores a través de la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de reducción (\%)} = (1 - \frac{V_{\text{SN+NaCl}}}{V_{\text{SN}}}) * 100$$

donde:

$V_{\text{SN+NaCl}}$ es el valor del promedio del indicador de las plántulas crecidas en la solución nutritiva suplementada con NaCl.

V_{SN} es el valor del promedio del indicador de las plántulas crecidas en la solución nutritiva.

Además, se realizaron las siguientes determinaciones bioquímicas a las hojas:

CLOROFILAS A, B, TOTALES Y CAROTENOS TOTALES

Para determinar la concentración de clorofilas (clorofila a, b y totales) y carotenos, se utilizaron tres muestras por tratamiento de 4×10^{-5} kg de tejido foliar, las mismas se sumergieron en 1×10^{-2} L de acetona (80% v/v) y se mantuvieron en la oscuridad por 24h (14). Transcurrido este tiempo se leyó la absorbancia a 440, 665 y 649 nm para los carotenos, la clorofila a y b, respectivamente. Para el cálculo de las concentraciones de clorofilas se utilizaron las ecuaciones siguientes (14):

$$C_a = (11.63 A_{665} - 2.39 A_{649}) / MF$$

$$C_b = (20.11 A_{649} - 5.18 A_{665}) / MF$$

$$C_{a+b} = (6.45 A_{665} + 17.72 A_{649}) / MF$$

donde:

A_{649}, A_{665} – absorbancia a 649 y 665 nm.
MF gramos de masa fresca de tejido

La concentración de carotenos totales se determinó utilizando una curva patrón de β -caroteno y se expresó en base a la masa fresca del tejido.

CONTENIDO DE PROLINA

El contenido de prolina fue determinado de acuerdo al método más utilizado a nivel internacional (15). Tres muestras de 0.25 g de tejido foliar fueron congeladas en nitrógeno líquido y homogenizadas con 1×10^{-2} L de agua destilada a 100° C. Posteriormente las muestras se filtraron. Luego, 2×10^{-3} L del extracto se colocaron en un tubo de ensayo y se hicieron reaccionar con 2×10^{-3} L de ácido acético glacial y 2×10^{-3} L de ninhidrina a 100° C por una hora. La reacción fue detenida cuando los tubos fueron colocados en baño con hielo. El cromóforo conteniendo la prolina fue extraído con 4×10^{-3} L de tolueno. La prolina fue cuantificada en un espectrofotómetro UV/Visible (Genesys 6, Thermo Electron Corporation), a 520 nm, usando L-prolina (Sigma) para la curva de calibración. A cada muestra se le hicieron dos lecturas espectrofotométricas.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos se analizaron por ANOVA de clasificación simple. En los casos en que se encontró diferencia significativa entre los tratamientos, se realizó la comparación de medias mediante la prueba de rangos múltiples de Tukey HSD a $p \leq 0,05$ (16).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los efectos de los tratamientos a las semillas de arroz con las diferentes concentraciones de BB-16 y BB-25 en los indicadores de crecimiento de las plántulas, catorce días después de ser colocadas en solución nutritiva Hoagland (SN) o en solución nutritiva suplementada con NaCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (SN + NaCl) se pueden apreciar en la Tabla I. Como se aprecia la concentración más baja ($0,005 \text{ mg L}^{-1}$) de ambos productos estimuló el crecimiento de la parte aérea (longitud y masa seca) y la longitud de las raíces cuando las plántulas crecieron en solución nutritiva.

Se conoce que los brasinoesteroides juegan un papel esencial en el crecimiento y desarrollo de las plantas (17); sin embargo, es importante determinar, en función del modo de aplicación, cuál debe ser la concentración que provoque una estimulación en el crecimiento. Por ejemplo, recientemente, se realizaron tratamientos a semillas de mostaza con 24-epibrasinólida extraída de ese mismo cultivo y se encontró que las concentraciones de 10^{-9} y $10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$ fueron las que estimularon el crecimiento de las plantas, no así la de $10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (18). En este trabajo la concentración más baja utilizada, que equivale a $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, resultó la más efectiva, lo que sugiere evaluar, en estudios futuros, concentraciones inferiores con el fin de determinar cuál es la concentración más adecuada para estimular el crecimiento inicial de plántulas de arroz de este cultivar en condiciones normales.

En presencia de NaCl, el BB-16 y el BB-25 se comportaron de forma diferente, pues el tratamiento con BB-25 $0,005 \text{ mg L}^{-1}$ revirtió totalmente la inhibición que la sal provocó en el crecimiento radical y parcialmente la inducida en la longitud de la parte aérea. Por otra parte, la salinidad no afectó la masa seca de la parte aérea; sin embargo, las plántulas procedentes de los tratamientos con BB-25 estimularon este indicador, alcanzando valores significativamente superiores a las plantas controles crecidas sin presencia de sal. Sin embargo, el BB-16 $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ solo revirtió totalmente el crecimiento radical.

Los resultados presentados en este trabajo demuestran que el Biobras-25 fue más efectivo que el Biobras-16 para revertir los efectos adversos que el estrés por NaCl provoca en las plántulas de arroz cv. INCA LP-7, después de catorce días de tratamiento.

Tabla I. Influencia del tratamiento a las semillas con diferentes concentraciones de BB-16 o BB-25 en algunos indicadores del crecimiento de plántulas de arroz cv. INCA LP-7 sometidas a estrés por NaCl por catorce días

Tratamientos	Medio de crecimiento	Longitud de raíces (cm)	Longitud de parte aérea (cm)	Masa seca raíces (mg planta ⁻¹)	Masa seca parte aérea (mg planta ⁻¹)
Control		6,7 bcd	14,7 de	5,0 cde	7,9 efg
BB-16 0,5 mg L ⁻¹		6,3 bcde	14,4 e	4,8 e	7,7 fg
BB-16 0,05 mg L ⁻¹	SN	7,7 a	15,5 cd	5,8 ab	8,1 cde
BB-16 0,005 mg L ⁻¹		6,6 bcd	16,4 bc	6,2 a	8,8 c
BB-25 0,5 mg L ⁻¹		5,9 def	18,1 a	5,4 bcd	10,0 a
BB-25 0,05 mg L ⁻¹		6,4 bcde	16,7 b	5,5 bc	8,7 cd
BB-25 0,005 mg L ⁻¹		7,0 abc	17,1 b	5,9 ab	9,7 ab
Control		5,5 ef	9,1 hi	3,5 g	7,1 g
BB-16 0,5 mg L ⁻¹		5,7 ef	10,0 gh	4,0 fg	7,8 efg
BB-16 0,05 mg L ⁻¹	SN+NaCl	6,9 abc	8,7 i	4,4 ef	7,1 g
BB-16 0,005 mg L ⁻¹		5,3 f	10,0 gh	4,0 fg	7,9 efg
BB-25 0,5 mg L ⁻¹		5,4 f	12,1 f	5,0 cde	9,9 a
BB-25 0,05 mg L ⁻¹		6,1 cdef	11,0 g	4,7 e	8,9 bc
BB-25 0,005 mg L ⁻¹		7,2 ab	12,1 f	4,9 de	10,2 a
ESx		0,28*	0,36*	0,20**	0,28*

Se conoce que la aplicación exógena de brasinoesteroides estimula el crecimiento de plantas de arroz cuando son sometidas a estrés salino y para esto se han empleado varios modos de aplicación, dentro de los cuales se encuentra el tratamiento a las semillas con y sin la presencia del NaCl (8–10, 19), aunque se debe señalar que las concentraciones más utilizadas, de forma general, han sido superiores a 10^{-6} mol L⁻¹, lo cual equivale a 0,5 mg L⁻¹. Sin embargo, la información existente relacionada con la protección de los análogos de brasinoesteroides, sintetizados en Cuba, es escasa, utilizándose los análogos conocidos como Biobras-6, Biobras-16 y MH-5 (11, 20) y de forma general, el cv. más estudiado ha sido J-104, que es un cultivar sensible.

En el presente trabajo se utilizó un cultivar tolerante, una nueva formulación (Biobras-25) y además el tratamiento con NaCl se extendió catorce días, aspectos no estudiados con anterioridad, de ahí la importancia de estos resultados preliminares. Debe destacarse que, en todos los casos, la concentración más efectiva de los análogos (10^{-8} y 10^{-7} mol L⁻¹) fue inferior a las informadas para los brasinoesteroides naturales. Por tal motivo, se seleccionaron las concentraciones de 0,05 y 0,005 mg L⁻¹ de BB-16 y BB-25, respectivamente para ejecutar el otro experimento y evaluar si la respuesta del crecimiento estaba asociada o no con algunos indicadores bioquímicos de las plantas.

En la Tabla II se presentan los porcentajes de reducción que la salinidad provocó en los indicadores de crecimiento de las plántulas de los diferentes tratamientos estudiados. El Biobras-25 logró revertir con mayor efectividad que el Biobras-16, la inhibición que en el crecimiento de las plántulas de arroz provoca la presencia del NaCl 100 mmol L⁻¹ durante catorce días.

Teniendo en cuenta que está bien documentada la influencia que la salinidad ejerce en la fotosíntesis y en especial en los pigmentos fotosintéticos y el efecto positivo que la aplicación exógena de brasinoesteroides ejerce en estos indicadores (5, 21–23), además de que se conoce que la prolina es un metabolito que actúa como osmoprotector, estabilizador de membrana y atrapador de especies activas de oxígeno (24), en la figura se presentan los resultados de la influencia que el tratamiento a las semillas con Biobras-16 y Biobras-25 ejercieron en la concentración de estos indicadores en las hojas de plántulas de arroz cv. INCA LP-7 crecidas en solución nutritiva con la adición o no de NaCl.

Se puede observar que la presencia de NaCl no modificó la concentración de pigmentos fotosintéticos en las hojas y el tratamiento con Biobras-16 no influyó en esta respuesta. Sin embargo, las plántulas cuyas semillas fueron tratadas con Biobras-25 exhibieron una concentración de pigmentos en las hojas que resultó significativamente superior a la mostrada por el tratamiento control crecido en solución nutritiva.

Tabla II. Influencia de los análogos de brasinoesteroides Biobras-16 y Biobras-25 en los porcentajes de reducción, inducidos por el estrés por NaCl durante catorce días, en algunos indicadores del crecimiento de plántulas de arroz cv. INCA LP-7

Tratamientos	Longitud de las raíces	Longitud de la parte aérea	Masa seca de las raíces	Masa seca de la parte aérea
Control	0	37,4	21,5	32,1
Biobras-16 (0,05 mg L ⁻¹)	5,7	19,4	21,3	0
Biobras-25 (0,005 mg L ⁻¹)	0	10,4	1,9	0

Este comportamiento de los pigmentos puede estar asociado a la tolerancia del cultivar al estrés salino, ya que se ha informado que en los cultivares tolerantes de arroz cuando son sometidos a este tipo de estrés hay un incremento de la actividad de la enzima fructosa 1,6-bifosfatasa en hojas y raíces, una alta concentración de azúcares y un retraso en la degradación de las clorofilas (25).

Por otra parte, se ha demostrado que la aplicación exógena de brasinoesteroides revierte la inhibición que la salinidad provoca en la concentración de pigmentos fotosintéticos (5, 22, 23, 26). En este caso, esto solo ocurrió cuando las semillas fueron tratadas con Biobras-25 y en especial en la clorofila a, las clorofilas totales y en los carotenos. Estos pigmentos fotosintéticos son los encargados de capturar la energía luminosa (clorofilas) y de proteger al aparato fotosintético de la fotooxidación (carotenos), disipando el exceso de luz absorbida por los pigmentos, de ahí la importancia que tiene que el BB-25 incremente la concentración de estos pigmentos en condiciones salinas.

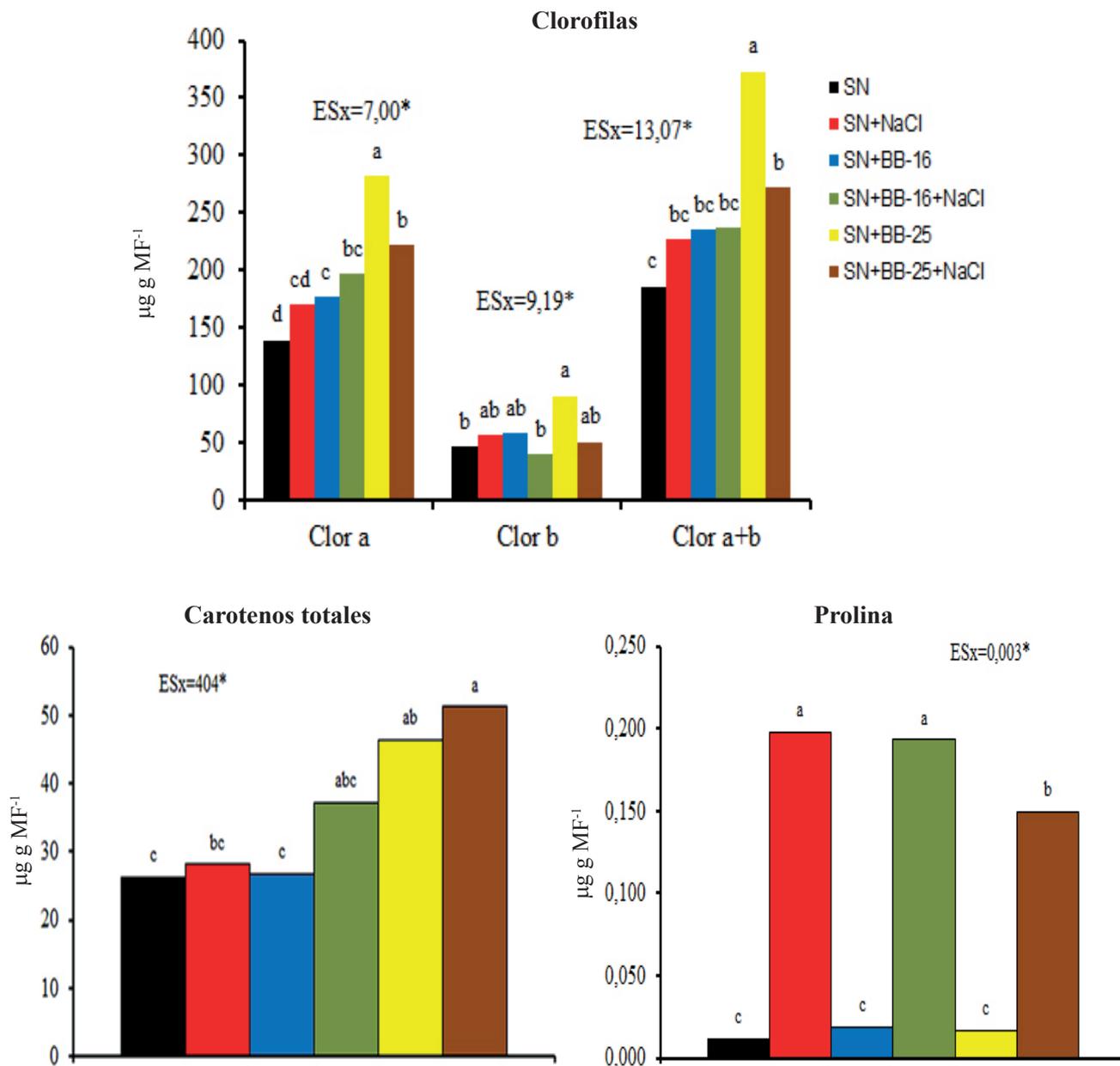
En cuanto a la prolina, se aprecia el incremento que el estrés salino produjo en este indicador; sin embargo, solamente el tratamiento con Biobras-25 pudo reducir significativamente este incremento. Hay que señalar que los resultados informados en la literatura internacional con relación a los efectos de la aplicación exógena de brasinoesteroides en la concentración de prolina en plantas sometidas a estrés salino son variables, pues mientras que hay autores que han encontrado que los brasinoesteroides incrementan aún más la concentración de prolina cuando las plantas están sometidas a estrés salino (5, 26), otros han informado lo contrario (9, 21, 27), argumentando que si el incremento de la prolina es una respuesta al estrés, los brasinoesteroides al proteger a las mismas contra éste, provocan una disminución en la síntesis de este metabolito. Por otra parte, en un experimento donde se realizó una aspersion foliar con 24-epibrasinólida, previo al tratamiento con NaCl en plántulas de arroz, se constató que la prolina actuó como un atrapador de radicales libres y como un protector de membrana, más que como un osmolito (27).

En relación con esto, se ha planteado que la prolina es sintetizada predominantemente del glutamato en condiciones de estrés salino y la actividad γ -glutamil quinasa de P5CS representa el paso limitante de la velocidad de reacción de esta vía. La expresión de P5CS es fuertemente inducida por el estrés salino, lo que sugiere que P5CS en la biosíntesis de la prolina juega un papel protector bajo las condiciones de estrés. Por otro lado, en *Arabidopsis thaliana*, la sequía y el estrés salino activan diferencialmente la expresión de dos genes de P5CS: AtP5CS1 (At2g39800) y AtP5CS2 (At3g55610). AtP5CS1 es responsable de la acumulación de prolina durante el estrés salino y la sequía. La expresión de AtP5CS1 es activada por una vía de traducción de señales dependiente de ABA y modulada por la luz y los brasinoesteroides. Esto pudiera sugerir un posible mecanismo por el cual los brasinoesteroides disminuyen los efectos adversos provocados por la salinidad (28).

En este caso, el Biobras-25 disminuyó la concentración de prolina; sin embargo, no se conoce el mecanismo que este análogo de brasinoesteroides utiliza para ejercer su acción.

En este trabajo se confirmó el efecto positivo que los análogos de brasinoesteroides ejercen en el crecimiento de plántulas de arroz sometidas a estrés por NaCl. Sin embargo, se deberán continuar las investigaciones en este tema, ya que los resultados que se han obtenido, hasta la fecha, con los análogos de brasinoesteroides, sintetizados en Cuba, se limitan a evaluar los efectos que las aplicaciones exógenas ejercen en las plantas, lo que hace necesario determinar cuáles son los mecanismos que estos análogos utilizan para realizar su protección.

Especial atención se debe prestar al nuevo análogo denominado Biobras-25 por sus potencialidades para ser utilizado como protector de las plantas de arroz crecidas en medio salino.



Medias con letras iguales no difieren significativamente según prueba de rangos múltiples de Tukey HSD p≤0,05 (16)

Figura. Efecto de dos análogos de brasinoesteroides en las concentraciones de clorofilas, carotenos y prolina en hojas de plántulas de arroz cv. INCA LP-7 crecidas en solución nutritiva Hoagland suplementada o no con NaCl 100 mmol L⁻¹ durante catorce días

BIBLIOGRAFÍA

- Hayat, S.; Hasan, S. A.; Yusuf, M.; Hayat, Q. y Ahmad, A. "Effect of 28-homobrassinolide on photosynthesis, fluorescence and antioxidant system in the presence or absence of salinity and temperature in *Vigna radiata*". *Environmental and Experimental Botany*, vol. 69, no. 2, noviembre de 2010, pp. 105-112, ISSN 00988472, DOI 10.1016/j.envexpbot.2010.03.004.
- Negrão, S.; Courtois, B.; Ahmadi, N.; Abreu, I.; Saibo, N. y Oliveira, M. M. "Recent Updates on Salinity Stress in Rice: From Physiological to Molecular Responses". *Critical Reviews in Plant Sciences*, vol. 30, no. 4, julio de 2011, pp. 329-377, ISSN 0735-2689, 1549-7836, DOI 10.1080/07352689.2011.587725.
- Fariduddin, Q.; Yusuf, M.; Ahmad, I. y Ahmad, A. "Brassinosteroids and their role in response of plants to abiotic stresses". *Biologia Plantarum*, vol. 58, no. 1, marzo de 2014, pp. 9-17, ISSN 0006-3134, 1573-8264, DOI 10.1007/s10535-013-0374-5.
- Reyes, Y.; Mazorra, L. M.; Martínez, L. y Núñez, M. "Efecto del análogo de brasinoesteroide (Biobras-16) en la germinación y el crecimiento inicial de las plantas de dos variedades de tomate en condiciones de estrés salino". *Cultivos Tropicales*, vol. 31, no. 3, septiembre de 2010, pp. 00-00, ISSN 0258-5936.
- Shahid, M. A.; Pervez, M. A.; Balal, R. M.; Mattson, N. S.; Rashid, A.; Ahmad, R.; Ayyub, C. M. y Abbas, T. "Brassinosteroid (24-epibrassinolide) enhances growth and alleviates the deleterious effects induced by salt stress in pea (*Pisum sativum* L.)". *Australian Journal of Crop Science*, vol. 5, no. 5, 2011, pp. 500-510, ISSN 1835-2707.
- Ekinci, M.; Yildirim, E.; Dursun, A. y Turan, M. "Mitigation of Salt Stress in Lettuce (*Lactuca sativa* L. var. Crispa) by Seed and Foliar 24-epibrassinolide Treatments". *HortScience*, vol. 47, no. 5, 5 de enero de 2012, pp. 631-636, ISSN 0018-5345, 2327-9834.
- Talaat, N. B. y Shawky, B. T. "24-Epibrassinolide alleviates salt-induced inhibition of productivity by increasing nutrients and compatible solutes accumulation and enhancing antioxidant system in wheat (*Triticum aestivum* L.)". *Acta Physiologiae Plantarum*, vol. 35, no. 3, marzo de 2013, pp. 729-740, ISSN 0137-5881, 1861-1664, DOI 10.1007/s11738-012-1113-9.
- Anuradha, S. y Seeta, R. R. S. "Effect of brassinosteroids on salinity stress induced inhibition of seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.)". *Plant Growth Regulation*, vol. 33, no. 2, 2001, pp. 151-153, ISSN 0167-6903, DOI 10.1023/A:1017590108484.
- Özdemir, F.; Bor, M.; Demiral, T. y Türkan, İ. "Effects of 24-epibrassinolide on seed germination, seedling growth, lipid peroxidation, proline content and antioxidative system of rice (*Oryza sativa* L.) under salinity stress". *Plant Growth Regulation*, vol. 42, no. 3, marzo de 2004, pp. 203-211, ISSN 0167-6903, 1573-5087, DOI 10.1023/B:GROW.0000026509.25995.13.
- Sharma, I.; Ching, E.; Saini, S.; Bhardwaj, R. y Pati, P. K. "Exogenous application of brassinosteroid offers tolerance to salinity by altering stress responses in rice variety Pusa Basmati-1". *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 69, agosto de 2013, pp. 17-26, ISSN 09819428, DOI 10.1016/j.plaphy.2013.04.013.
- 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.)". *Cultivos Tropicales*, vol. 28, no. 2, 2007, pp. 95-99, ISSN 1819-4087.
- Núñez, V. M.; Acebo, G. Y.; Rosabal, A. L.; Martínez, L. y González, C. M. C. "Brasinoesteroides y sus análogos estimulan el crecimiento de plántulas de dos genotipos de arroz (*Oryza sativa* L.) en medio salino". *Cultivos Tropicales*, vol. 34, no. 1, marzo de 2013, pp. 74-80, ISSN 0258-5936.
- González, M. C.; Cristo, E.; Pérez, N. y Delgado, P. "INCA LP-7, nueva variedad de arroz para suelos afectados por la salinidad". *Cultivos Tropicales*, vol. 23, no. 3, 1 de julio de 2002, pp. 89-90, ISSN 0258-5936.
- Arnon, D. I. "Copper enzymes in isolated chloroplasts. polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*". *Plant Physiology*, vol. 24, no. 1, enero de 1949, pp. 1-15, ISSN 0032-0889, PMID: 16654194, PMCID: PMC437905.
- Bates, L. S.; Waldren, R. P. y Teare, I. D. "Rapid determination of free proline for water-stress studies". *Plant and Soil*, vol. 39, no. 1, agosto de 1973, pp. 205-207, ISSN 0032-079X, 1573-5036, DOI 10.1007/BF00018060.
- Tukey, J. W. "Bias and confidence in not quite large samples". *The Annals of Mathematical Statistics*, vol. 29, no. 2, junio de 1958, pp. 614-623, ISSN 0003-4851, DOI 10.1214/aoms/1177706647.
- Gudesblat, G. E. y Russinova, E. "Plants grow on brassinosteroids". *Current Opinion in Plant Biology*, vol. 14, no. 5, octubre de 2011, pp. 530-537, ISSN 1369-5266, DOI 10.1016/j.pbi.2011.05.004.
- Kanwar, M. K.; Bhardwaj, R.; Chowdhary, S. P.; Arora, P.; Sharma, P. y Kumar, S. "Isolation and characterization of 24-Epibrassinolide from *Brassica juncea* L. and its effects on growth, Ni ion uptake, antioxidant defense of *Brassica* plants and *in vitro* cytotoxicity". *Acta Physiologiae Plantarum*, vol. 35, no. 4, abril de 2013, pp. 1351-1362, ISSN 0137-5881, 1861-1664, DOI 10.1007/s11738-012-1175-8.
- Anuradha, S. y Ram Rao, S. S. "Application of brassinosteroids to rice seeds (*Oryza sativa* L.) reduced the impact of salt stress on growth, prevented photosynthetic pigment loss and increased nitrate reductase activity". *Plant Growth Regulation*, vol. 40, no. 1, 2003, pp. 29-32, ISSN 0167-6903, DOI 10.1023/A:1023080720374.

20. Núñez, M.; Mazorra, L. M.; Martínez, L.; González, M. C. y Robaina, C. "Influencia de la 24-epibrasinolida y un análogo espirostanico de brasinoesteroides en el crecimiento de plantulas de dos variedades de arroz (*Oryza sativa* L.) en medio salino". *Cultivos Tropicales*, vol. 27, no. 1, 1 de enero de 2006, pp. 75-83, ISSN 0258-5936.
21. Karlidag, H.; Yildirim, E. y Turan, M. "Role of 24-epibrassinolide in mitigating the adverse effects of salt stress on stomatal conductance, membrane permeability, and leaf water content, ionic composition in salt stressed strawberry (*Fragaria x ananassa*)". *Scientia Horticulturae*, vol. 130, no. 1, agosto de 2011, pp. 133-140, ISSN 03044238, DOI 10.1016/j.scienta.2011.06.025.
22. Dalio, R. J. D.; Pinheiro, H. P.; Sodek, L. y Haddad, C. R. B. "The effect of 24-epibrassinolide and clotrimazole on the adaptation of *Cajanus cajan* (L.) Millsp. to salinity". *Acta Physiologiae Plantarum*, vol. 33, no. 5, septiembre de 2011, pp. 1887-1896, ISSN 0137-5881, 1861-1664, DOI 10.1007/s11738-011-0732-x.
23. Talaat, N. B. y Shawky, B. T. "24-Epibrassinolide ameliorates the saline stress and improves the productivity of wheat (*Triticum aestivum* L.)". *Environmental and Experimental Botany*, vol. 82, octubre de 2012, pp. 80-88, ISSN 0098-8472, DOI 10.1016/j.envexpbot.2012.03.009.
24. Hayat, S.; Maheshwari, P.; Wani, A. S.; Irfan, M.; Alyemeni, M. N. y Ahmad, A. "Comparative effect of 28 homobrassinolide and salicylic acid in the amelioration of NaCl stress in *Brassica juncea* L.". *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 53, abril de 2012, pp. 61-68, ISSN 0981-9428, DOI 10.1016/j.plaphy.2012.01.011.
25. Cha-um, S.; Charoenpanich, A.; Roytrakul, S. y Kirdmanee, C. "Sugar accumulation, photosynthesis and growth of two indica rice varieties in response to salt stress". *Acta Physiologiae Plantarum*, vol. 31, no. 3, mayo de 2009, pp. 477-486, ISSN 0137-5881, 1861-1664, DOI 10.1007/s11738-008-0256-1.
26. Rady, M. M. "Effect of 24-epibrassinolide on growth, yield, antioxidant system and cadmium content of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants under salinity and cadmium stress". *Scientia Horticulturae*, vol. 129, no. 2, junio de 2011, pp. 232-237, ISSN 0304-4238, DOI 10.1016/j.scienta.2011.03.035.
27. Reyes, G. Y.; Martínez, G. L.; Dell'Amico, J.; Núñez, M. y Pieters, A. J. "Reversion of deleterious effects of salt stress by activation of ROS detoxifying enzymes via foliar application of 24-epibrassinolide in rice seedlings". *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, vol. 27, no. 1, marzo de 2015, pp. 31-40, ISSN 2197-0025, DOI 10.1007/s40626-014-0029-8.
28. Reyes, G. Y.; Martínez, G. L.; Rosabal, A. L.; Mazorra, M. L. M.; Pieters, A. y Nunez, V. M. "Efecto de la 24-epibrasinolida en el crecimiento, los niveles de prolina y de malondialdehido de plantulas de arroz (*Oryza sativa* L.) sometidas a estres salino". *Cultivos Tropicales*, vol. 33, no. 1, 2012, pp. 19-27, ISSN 1819-4087.

Recibido: 22 de julio de 2015

Aceptado: 9 de marzo de 2016