

# Revisión bibliográfica

## ASPECTOS FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS DE LA TOLERANCIA DEL ARROZ AL ESTRÉS SALINO Y SU RELACIÓN CON LOS BRASINOESTEROIDES

Yanelis Reyes<sup>✉</sup>, L. M. Mazorra y Miriam Núñez

**ABSTRACT.** Some aspects on the physiologic and biochemical mechanisms of salinity tolerance in rice plants, such as osmotic adjustment, ion extrusion, protein induction and oxidative stress are collected in this work. Brassinosteroid protective effects on salt stress as well as some results from our institute about Cuban brassinosteroid analogue effects on saline-stressed rice plants are also discussed.

**RESUMEN.** En el presente trabajo se recogen algunos aspectos sobre los mecanismos fisiológicos y bioquímicos de la tolerancia a la salinidad en las plantas de arroz, como el ajuste osmótico, la exclusión de iones, inducción de proteínas y el estrés oxidativo; también se discuten los efectos protectores de los brasinoesteroides en el estrés salino así como algunos resultados de nuestro centro acerca del efecto de análogos de brasinoesteroides cubanos en plantas de arroz sometidas a estrés salino.

*Key words:* rice, salinity, salt tolerance, brassinosteroids

*Palabras clave:* arroz, salinidad, tolerancia a la sal, brasinoesteroides

### INTRODUCCIÓN

La salinidad es uno de los estrés más perjudiciales en la actualidad. La inadecuada irrigación de los suelos, así como el cambio climático hacen que este fenómeno alcance un nivel global. Existen informes que demuestran que el área de nuestro planeta afectada por la salinización oscila entre un 40-50 % (1). En nuestro país, la superficie agrícola está afectada en un 14 %, y otro 15 % más presenta peligros potenciales de salinización (2). Este fenómeno tiene una incidencia directa en la producción de alimentos y en la economía del agricultor, que vive en dichas zonas (3). Los problemas asociados a la salinidad son: el déficit hídrico impuesto por la mayor osmolaridad del suelo y el daño celular infligido por la excesiva acumulación de iones en los tejidos vegetales (3).

El arroz (*Oryza sativa* L.) es la fuente principal de alimento de más de un tercio de la población mundial, pero su productividad es seriamente afectada por la salinidad en cada etapa del desarrollo, especialmente en la etapa de plántula, cuando es más susceptible al estrés salino (4).

El conocimiento de los mecanismos fisiológicos y bioquímicos de la tolerancia al estrés salino es fundamental, pues nos permite comprender mejor cómo las plantas manejan el estrés y, por ende, en el futuro modificar estas características ya sea genéticamente o con la utilización de productos bioactivos, que de alguna manera potencien estos mecanismos.

Los brasinoesteroides son potentes reguladores del crecimiento vegetal de naturaleza esteroidea. Estas hormonas tienen efectos pleiotrópicos como son: estimulación del alargamiento celular y de la desdiferenciación de protoplastos, regeneración de la pared celular, regulación de la diferenciación de elementos traqueales e incremento de la biomasa y del rendimiento (5). Además, se ha informado el efecto

protector de los brasinoesteroides ante diferentes condiciones de estrés abiótico, como altas y bajas temperaturas, sequía y salinidad (6, 7, 8).

El objetivo de este trabajo es abordar los principales aspectos fisiológicos y bioquímicos de los mecanismos de tolerancia a la salinidad en plantas de arroz, así como el efecto protector que tienen los brasinoesteroides en la respuesta a este estrés.

### ASPECTOS FISIOLÓGICOS DE LOS MECANISMOS DE TOLERANCIA

La tolerancia es una propiedad desarrollada por las plantas durante el proceso evolutivo, para poder perpetuar la especie en condiciones donde se producen estrés climáticos o edáficos constantes, o ante el ataque de agentes patógenos.

La tolerancia a los diferentes agentes estresantes se encuentra conferida por caracteres expresados en los cuatro niveles de organización: desarrollo, estructural, fisiológico y metabólico.

Yanelis Reyes, Reserva Científica, Dr.C. L. M. Mazorra, Investigador Agregado y Dra.C. Miriam Núñez, Investigadora Titular del departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), gaveta postal 1, San José de las Lajas, La Habana, Cuba, CP 32 700

✉ yanelisrg@inca.edu.cu

De este modo, mientras que algunas plantas presentan gran plasticidad fenotípica, en otras la tolerancia muestra una base genética, que parece depender de varios genes con caracteres aditivo y dominante (9).

Para definir el concepto de tolerancia a la salinidad, es necesario establecer dos aspectos fundamentales: uno biológico y otro agronómico. Desde el punto de vista biológico, la tolerancia a la salinidad en una especie o variedad es aquel nivel de salinidad hasta el cual las plantas son capaces de completar su ciclo de desarrollo y producir semillas viables (10). Desde el punto de vista agronómico, la tolerancia a la salinidad se define como la habilidad de las plantas de sobrevivir y producir rendimientos económicos en condiciones de estrés, y se expresa como la relación entre el rendimiento de una variedad en condiciones salinas, con respecto a su rendimiento en condiciones normales (3).

En este artículo vamos a estar tratando la tolerancia desde el punto de vista biológico.

La tolerancia a la salinidad es un fenómeno complejo, que comprende cambios morfológicos y de desarrollo, en estrecha relación con los principales procesos fisiológicos y bioquímicos que operan en las plantas (11).

Entre los mecanismos que explican la capacidad de las especies vegetales para tolerar el estrés por sales, se encuentran: el ajuste osmótico, la exclusión de iones a nivel radicular, la retención de iones en las vacuolas, la eliminación del exceso de sales a través de glándulas o estructuras especializadas y la pérdida de sales a través de la caída de las hojas y pérdida de los frutos. A continuación se abordarán, detalladamente, cada uno de ellos.

**Ajuste osmótico.** Las plantas al crecer, en condiciones de salinidad, pueden disminuir su potencial osmótico interno para compensar el potencial osmótico externo y mantener la actividad enzimática y el transporte a través del floema y de esta manera evitar la deshidratación

y la muerte (12). El ajuste osmótico está generalmente ligado a la síntesis de solutos orgánicos, como la betaína, colina, glicina-betaína, prolina y sacarosa o a la acumulación de iones inorgánicos. Estos llamados solutos compatibles tienen la función de estabilizar la estructura cuaternaria de las proteínas y algunos sirven de aceptores de radicales libres. Entre estos metabolitos, el estudio de los niveles de prolina durante la respuesta a estrés salino en arroz, ha tenido especial atención (13, 14, 15).

Las plantas superiores pueden acumular L-prolina (Pro) en respuesta a diversos estrés medioambientales, como sequía y salinidad, bajas temperaturas o radiación ultravioleta (16, 17, 18). La acumulación de prolina estabiliza las membranas y los componentes subcelulares, incluyendo el complejo II de la cadena de transporte electrónico mitocondrial (16, 19). Existen estudios que proponen a la prolina como aceptor final de los radicales libres y estabilizador del potencial redox por reaprovisionamiento de la provisión de NADP<sup>+</sup> (16, 18, 20, 21). Además, la prolina induce la expresión de genes de respuesta a estrés salino que tienen elementos de respuesta a prolina (*PRE*, *ACTCAT*) en sus promotores (22, 23).

En plantas, la prolina es sintetizada a partir del glutamato o la ornitina. La primera es considerada la vía predominante en el estrés salino, ya que en estas condiciones disminuyen las actividades de la alanina y aspartato aminotransferasas, acumulándose glutamato (16). En esta vía, la biosíntesis de la prolina comienza con la fosforilación y reducción del glutamato a glutamyl-5-semialdehído (G5SA) por la enzima bifuncional  $\Delta^1$ -pirrolina-5-carboxilato sintasa (P5CS). G5SA es convertido a prolina a partir del pirrolina-5-carboxilato (P5C) por la  $\Delta^1$ -pirrolina-carboxilato reductasa (P5CR) (16). La actividad  $\alpha$ -glutamyl quinasa de P5CS representa el paso limitante de la velocidad de reacción de esta vía y es sensible a retroinhibición por Pro (24).

El catabolismo de la prolina involucra su oxidación a glutamato por una reacción en dos etapas que incluye dos enzimas mitocondriales: prolina deshidrogenasa (ProDH) y P5C-deshidrogenasa (P5CDH) (25, 26).

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 ácido abscísico (ABA) y modulada por la luz y los brasinoesteroides (17, 27). La transcripción de AtP5CS2 es ligeramente elevada por el estrés salino (27) e inducida por bajas temperaturas a través del factor de transcripción CBF3 (28). El catabolismo de la Pro es controlado por la ProDH (At3g30775), cuya transcripción es activada por incrementos en los niveles de prolina y reprimida en condiciones de estrés osmótico (25, 26).

Aunque la acumulación de prolina ha sido observada en arroz expuesto a estrés salino, su papel exacto es muy controversial (14, 29), pues es considerada más un síntoma de daño que un indicador de tolerancia al estrés (30). La acumulación de prolina ha sido correlacionada con el grado de deterioro inducido por el estrés (31). Por otro lado, la expresión de P5CS fue fuertemente inducida por el estrés salino. Esto sugiere que P5CS en la biosíntesis de la prolina juega un papel protector en las condiciones de estrés, quizás controlando el potencial redox y estimulando la vía de las pentosas fosfato para la regeneración del NADP<sup>+</sup> (20). Algunos sugirieron que la acumulación de prolina inducida por el estrés salino puede ser causada por la expresión de P5CS (32). Por otra parte, el arroz transgénico que sobreexpresa P5CS produce más biomasa en condiciones de estrés salino, que el arroz no transformado (15) y se ha discutido que el papel principal de P5CS es más

en la respuesta al estrés que en el metabolismo de la prolina (15).

**Exclusión de iones.** La exclusión de iones a nivel radicular y la retención de iones en las vacuolas de las raíces en crecimiento y en los diferentes órganos, permiten que las plantas toleren concentraciones extracelulares muy elevadas de sales. Muchas plantas responden al estrés salino mediante la exclusión del  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  de las hojas.

El antitransportador  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  SOS1 (del inglés *salt overly sensitive*) es la única proteína, caracterizada hasta el momento, involucrada en el eflujo de  $\text{Na}^+$  de la membrana plasmática de células vegetales. Los mutantes de *Arabidopsis thaliana* deficientes de SOS1 son extremadamente sensibles a la sal y tienen defectos combinados en la exclusión de  $\text{Na}^+$  y su transporte a larga distancia desde la raíz a los brotes (33, 34). SOS1 se encuentra expresado en la epidermis de la punta de la raíz y en el parénquima del xilema a lo largo de toda la planta (34). En la interfase suelo-raíz, SOS1 pudiera actuar extrayendo el exceso de iones  $\text{Na}^+$  de las células epidérmicas de la raíz. Los análisis de la distribución de  $\text{Na}^+$  entre la raíz y los meristemos en mutantes *sos1*, en diferentes condiciones salinas, indican que SOS1 también participa en la redistribución de sodio entre las raíces y los meristemos por una vía compleja (34). La actividad del intercambiador SOS1 es regulada por fosforilación mediada por el complejo con actividad quinasa SOS2/SOS3 (33). SOS2 es una Serina-Treonina quinasa perteneciente a la familia de quinazas (SnRK3) relacionada con SNF1 (Sucrose Non-Fermenting) de levaduras (35, 36). SOS3 es un sensor de  $\text{Ca}^{2+}$  miristoilado perteneciente a la familia de los sensores de  $\text{Ca}^{2+}$  semejantes a SOS3 [proteínas enlazantes (SCaBPs)/proteínas semejantes a calcineurina B (CBL) (35, 36). Cuando se une el  $\text{Ca}^{2+}$ , SOS3 se dimeriza y promueve la actividad quinasa de SOS2 (37). Además de activar SOS2, se ha obser-

vado que SOS3 participa en el reclutamiento de SOS2 a la membrana plasmática para lograr una interacción más eficiente con SOS1 (33). Las plantas mutantes de ambos genes *sos2* y *sos3* tienen un fenotipo más sensible a la salinidad que las mutantes *sos1*. Otros encontraron los homólogos de estos genes en arroz (OsSOS1, SOS2:OsCIPK24 y SOS3: OsCBL4), lo cual demuestra que la vía SOS para la tolerancia a la salinidad funciona en cereales (38). Además, demostraron que las vías de activación son similares entre especies y tienen un alto grado de conservación estructural entre mono y dicotiledóneas. También concluyeron que el gen OsSOS1 tiene una única copia en arroz, mientras que OsCIPK24 y OsCBL4 pertenecen a una familia de genes, que pudieran tener isoformas con un posible papel redundante (38).

Otras plantas, a través de la succulencia, han desarrollado habilidades para incrementar los compartimentos celulares de las hojas y retener altas concentraciones de sales en las vacuolas.

El secuestro vacuolar del  $\text{Na}^+$  es una importante y costosa estrategia para disminuir las concentraciones de sodio en el citosol. Este secuestro depende de antitransportadores  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  y de fosfatasa como  $\text{H}^+$ -ATPasa tipo V y  $\text{H}^+$ -PPasa, que generan el gradiente de protones necesario para la actividad de los antitransportadores.

La sobreexpresión de *AVP1*, una  $\text{H}^+$ -pirofosfatasa vacuolar, aumenta el secuestro de  $\text{Na}^+$  en las vacuolas y mantiene alto el contenido relativo de agua en las hojas. Estas plantas son más tolerantes a la sequía y a la salinidad que el fenotipo salvaje (39). El gen *NHX1*, que codifica para el antitransportador  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  de tonoplasto, es inducido por salinidad y ABA en *Arabidopsis* (40) y arroz (41). La expresión de *AtNHX1*, en condiciones de estrés salino, es parcialmente dependiente de la biosíntesis y señalización de ABA a través de ABI1. Esta sobreexpresión de la expresión de

*AtNHX1* ante estrés salino es baja en mutantes deficientes (*aba2-1* y *aba3-1*) e insensibles a ABA (*abi1-1*) (40). Comparando la actividad intercambiadora  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  de tonoplasto entre la especie silvestre y los mutantes (*sos1*, *sos2*, *sos3*) se demostró que SOS2 también regula la actividad intercambiadora del tonoplasto. Se ha demostrado que SOS3 no regula el intercambio, pues en los mutantes *sos3* no hay cambios.

Aunque la potenciación de la compartimentación de iones en las vacuolas pudiera incrementar la tolerancia del arroz a la salinidad (42), las especies que son glicófitas típicas se basan primeramente en la exclusión de sodio para el crecimiento en ambientes salinos (43, 44).

Otra estrategia para aumentar la tolerancia al estrés salino es la eliminación del exceso de sales, directamente a través de glándulas o estructuras especializadas como los pelos vesiculares. Estas permiten la eliminación del exceso de sales y mantienen el equilibrio iónico-osmótico del citoplasma y un buen funcionamiento en la permeabilidad de las membranas (45). Además, las plantas son capaces de tolerar el estrés salino a través de la eliminación de sales, mediante la regulación de la caída de sus hojas y en casos extremos de sus frutos (46).

## ASPECTOS BIOQUÍMICOS DE LOS MECANISMOS DE TOLERANCIA

**Inducción de proteínas.** Es bien conocido que el estrés salino provoca la inducción de numerosos genes. Estos se traducen en proteínas que contribuyen a la tolerancia al estrés. Sin embargo, hay una diferencia notable en la inducción de proteínas a corto (24 h) y a largo (siete días) plazo.

Los efectos tempranos de la salinidad en el crecimiento son transitorios, después de las 24 h de salinización con 50 mM NaCl, la tasa de crecimiento de las hojas recupera sus valores iniciales y sus efectos no son notables en la fotosíntesis (47).

No obstante, se observa un incremento notable de la fosfoglicerato quinasa de cloroplasto a las 24 h (48). Esta enzima cataliza la segunda reacción de la etapa reductiva del ciclo de Calvin: la fosforilación del fosfoglicerato a 1,3-difosfoglicerato. La expresión incrementada de esta enzima durante la fase inicial del estrés, podría indicar un incremento en la asimilación fotosintética del carbono, quizás como consecuencia de un incremento transitorio en la concentración interna de  $\text{CO}_2$  después de la exposición a la sal (47).

Tanto a corto como a largo plazo, se ha observado la inducción de las siguientes proteínas:

⌘ *RuBisCO activasa (RCA)*: Se ha demostrado que esta enzima aumenta su concentración tanto a las 24 horas como a los siete días de estrés salino (48). Esta enzima pertenece a la familia de proteínas AAA+ que tienen diversas funciones semejantes a chaperonas. La misión principal de esta enzima es mantener la actividad catalítica de la RuBisCO por eliminación de los azúcares inhibitorios del sitio activo de carboxilación-descarboxilación de esta enzima (49). Los niveles incrementados de esta enzima pudieran requerirse para tolerar el estrés salino a largo plazo, debido a una reducción directa de la conductancia estomática y sus subsiguientes bajos niveles de  $\text{CO}_2$ , permitiendo la carboxilación en estas condiciones.

⌘ *Ferritina*: Se ha encontrado que esta proteína se acumula ante estrés a corto y largo plazo (48). La ferritina vegetal es una proteína almacenadora de hierro, que es capaz de acomodar 4500 átomos de hierro en su cavidad central (50) y puede ser utilizada para regular la concentración de este ion y prevenir su toxicidad. Durante el estrés salino un incremento en el estrés oxidativo pudiera resultar en la formación de radicales hidroxilo por la reacción de Fenton (entre el  $\text{Fe}^{2+}$  y el  $\text{H}_2\text{O}_2$ ). El secuestro de los iones  $\text{Fe}^{2+}$  a

través del incremento de la expresión de ferritina, pudiera reducir la formación de radicales hidroxilo, la más peligrosa de las especies reactivas del oxígeno.

⌘ *ATP sintasa*: Se ha encontrado que la subunidad b de la ATP sintasa es sobreexpresada a las 24 horas y a los siete días de estrés. La ATP sintasa es un gran complejo proteico de 400 kDa. Consiste en una porción integral de membrana  $\text{CF}_0$  y una porción extrínseca  $\text{CF}_1$ .  $\text{CF}_0$  forma un canal transmembrana para la translocación de protones. La subunidad b se ha encontrado sin la porción  $\text{CF}_1$  y está involucrada en la catálisis de la formación de ATP a partir de ADP y fósforo inorgánico (51). El incremento de la ATP sintasa pudiera estar asociado con un aumento transitorio de la tasa fotosintética y el incremento de la enzima fosfoglicerato quinasa, que participa en el ciclo de Calvin. El aumento de la síntesis de ATP en plantas de arroz estresadas pudiera estar dado por la necesidad de energía para los mecanismos de transporte secundario. El ATP puede transportarse desde el estroma, para sostener el incremento en la actividad de las  $\text{H}^+$ ATPasas requeridas para incrementar la actividad antiporte (NHX1 y SOS1), en la membrana plasmática y en los tonoplastos, durante el estrés salino. Ante estrés salino a largo plazo, no solo se ha encontrado inducción de proteínas, sino que además se ha observado regulación negativa principalmente de enzimas y factores de transcripción.

⌘ *Porfobilinógeno desaminasa (PBG desaminasa)*: Esta enzima cataliza la desaminación del porfobilinógeno a hidroximetilbilano (52) y está envuelta en la síntesis de los tetrapirroles. Está demostrada la disminución de esta enzima a los siete días de estrés. En células fotosintéticas, el principal tetrapirrol sintetizado es la clorofila. Por lo tanto, la su-

presión de la PBG desaminasa pudiera alterar la síntesis. Esto pudiera ser una consecuencia patológica del incremento de la toxicidad del  $\text{Na}^+$  y el comienzo de una senescencia prematura.

⌘ *Factor de iniciación de la traducción 5A (eIF-5A del inglés Eukaryotic initiation factor-5A)*. Se ha visto que este factor es regulado negativamente ante tratamiento con sal a largo plazo. El eIF-5A no se requiere para que la traducción ocurra, sino que está involucrado en la transportación de ARNm específicos del núcleo al citoplasma (53, 54). En suspensiones celulares de arroz, se ha observado una caída inicial en los niveles de OsEIF-5A-1 en respuesta al estrés salino (55), con una recuperación posterior. Su reducida expresión en hojas de arroz después del estrés salino puede indicar alteraciones del ciclo celular, lo que podría ser un indicio de senescencia prematura.

⌘ *S-adenosil-L-metionina sintetasa (SAMS)*: Se ha encontrado que esta proteína también es regulada negativamente por estrés salino a largo plazo. La disminución de la expresión de numerosos transcritos de SAMS, ha sido observada en respuesta al estrés salino en arroz (56). La SAMS cataliza la formación de S-adenosil-L-metionina (AdoMet) a partir de L-metionina y ATP. La AdoMet es un importante donador de grupos metilo, utilizado en reacciones de transmetilación. Estas reacciones son muy importantes en la síntesis de lípidos, ácidos nucleicos, proteínas y otros productos del metabolismo secundario. La AdoMet es utilizada también como precursor en la biosíntesis de etileno, poliaminas y es requerida para la producción de fenilpropanoide, un constituyente de la pared celular. Una reducción de los niveles de SAMS pudiera resultar en una producción reducida de etileno, aunque en arroz la salinidad estimula la biosíntesis de etileno en cultivos

tolerantes, pero este efecto es pequeño en líneas más sensibles (14).

Además de estas proteínas, existen otras que se sobreexpresan ante condiciones determinadas de estrés como por ejemplo:

⌘ *Proteínas LEA* (del inglés *late-embryogenesis-abundant*): Estas proteínas tienen promotores comunes en diferentes especies vegetales. Su aumento se ha correlacionado con resistencia a la sequía y a la salinidad. Estos genes se inducen por dos vías: una dependiente de ABA, que incluye al  $\text{Ca}^{2+}$ , al inositol trifosfato ( $\text{IP}_3$ ) y al  $\text{H}_2\text{O}_2$  como segundos mensajeros y es regulada por los factores de transcripción del tipo MYB/MYC (57) y una independiente de ABA, que es regulada por los factores de transcripción *DREBs* (*Dehydration Responsive Element Binding Proteins*), que son inducidos por salinidad y sequía en arroz [58]. Se piensa que la función de estas proteínas es proteger de la desecación, estabilizando la estructura de otras proteínas y lípidos (59).

⌘ *Proteínas salt*: Es una proteína de 14.5 kDa de masa molecular, que tiene actividad lectina de unión a manosa y se une a los carbohidratos que están presentes en la célula. Es activa como dímero (60, 61). Se ha encontrado su sobreexpresión ante estrés salino, principalmente en las etapas tempranas del crecimiento, aunque no es exclusiva de este estrés, pues se expresa también en situaciones de estrés por calor, frío y heridas. No se ha establecido una correlación clara, entre su sobreexpresión y el incremento de la tolerancia (62).

*Salinidad y estrés oxidativo*. El cierre estomático causado por los efectos hiperosmóticos de la sal reduce la disponibilidad de  $\text{CO}_2$  en las hojas, inhibiendo la asimilación de este, lo cual resulta en una sobreredución de la cadena de transporte electrónico fotosintética en los cloroplastos (63). Además, el estrés salino daña severamente el aparato fotosintético (64).

En estas condiciones, las especies reactivas del oxígeno (ROS) como los radicales superóxido e hidroxilo y el  $\text{H}_2\text{O}_2$  son producidos en exceso (65, 67). Las ROS son eliminadas por enzimas desintoxicantes como superóxido dismutasa (SOD), ascorbato peroxidasa (APX), glutatión reductasa (GR) y catalasa (CAT), las cuales existen en diferentes localizaciones subcelulares (68). Numerosos informes han demostrado el aumento de SOD, APX y GR en la respuesta al estrés salino (69, 71); mientras que la actividad catalasa, una enzima fundamental en la eliminación del  $\text{H}_2\text{O}_2$  en hojas de arroz, al parecer se reduce en respuesta al estrés salino (72, 73). Esto podría ser debido al papel de segundo mensajero del  $\text{H}_2\text{O}_2$  ante el déficit hídrico (74).

## EFFECTO PROTECTOR DE LOS BRASINOESTEROIDES ANTE ESTRÉS SALINO

Se ha informado ampliamente el efecto protector de los brasinoesteroides ante distintos tipos de estrés como altas y bajas temperaturas (6), sequía y salinidad (7, 8). Además, disminuyen los efectos del estrés causado por la falta de nutrientes y por exceso de metales pesados y también incrementan la resistencia a herbicidas y a agentes patógenos (75).

En cuanto a la protección al estrés salino, desde 1983 se demostró que la brasinólida (BL) era capaz de mejorar la tolerancia de plantas de arroz cultivadas en condiciones de invernadero (76). Se ha demostrado que el pretratamiento con brasinólida preservó la ultraestructura del núcleo y el cloroplasto en segmentos de hoja de cebada expuestos a 500 mM de NaCl (77). También se evidenció que la 24-epibrasinólida (EBL) fue capaz de estimular la germinación de semillas de *Eucalyptus camaldulensis* (78).

Por otra parte, la brasinólida, la 24-epibrasinólida y la 28-homobrasinólida (HBL) fueron capaces de revertir los efectos inhibitorios del crecimiento en posturas de maní sometidas a salinidad (79).

Es de destacar cómo la forma de aplicación y el órgano influyen en el efecto de estas hormonas, pues el suministro de 24-EBL a las raíces de posturas de arroz crecidas en salinidad aumentó el daño, mientras que los efectos fueron positivos cuando se realizó la aspersión repetida a los tallos (5).

Específicamente en arroz, existen pocos estudios sobre la protección de los brasinoesteroides ante el estrés salino.

Anuradha y Rao informaron una recuperación en el crecimiento y un incremento de los niveles de proteínas solubles y RNA en semillas de arroz var IR-64 tratadas durante 24h con NaCl (150 mM) y EBL (3  $\mu\text{M}$ ) (7). Estos, en un trabajo posterior, demostraron que la imbibición de las semillas con BL, EBL y HBL (3  $\mu\text{M}$ ) restauró considerablemente el crecimiento, los niveles de clorofila y la actividad de la nitrato reductasa ante estrés salino (150 mM) (8). Sin embargo, no utilizaron los controles respectivos sin NaCl y con BR, por lo que el efecto observado pudiera ser producto de la capacidad de estas hormonas para inducir el crecimiento y no de una verdadera protección ante el estrés salino.

Por otra parte, en Turquía, otros evaluaron la germinación de las semillas y el crecimiento inicial de plántulas de arroz variedad IR-28 ante estrés salino (120 mM) con 24-EBL (3  $\mu\text{M}$ ). Los resultados mostraron que los tratamientos con BR aumentaron el crecimiento de las plántulas, pero no la germinación. Además, la EBL logró disminuir la peroxidación lipídica y la acumulación de prolina causada por el estrés salino. Entre las enzimas antioxidantes, solo se incrementó la ascorbato peroxidasa ante el tratamiento con esta hormona (80).

En nuestro centro también se ha trabajado con los brasinoesteroides, fundamentalmente con la 24-epibrasinólida. Además, se han estado investigando algunas formulaciones a base de análogos espirostánicos de brasinoesteroides obtenidas por el Centro de Estudios

de Productos Naturales de la Facultad de Química de la Universidad de La Habana, conocidas como Biobras-6 (BB-6), Biobras-16 (BB-16) y MH-5. Estos análogos espiroestánicos sintetizados en nuestro país son mucho más económicos que los brasinoesteroides naturales y, por lo tanto, mucho más factible su aplicación en la agricultura a gran escala.

Se ha demostrado que el tratamiento a las semillas por siete días con EBL (1  $\mu$ M) fue capaz de incrementar significativamente las velocidades de crecimiento de las raíces y la parte aérea de las plántulas de arroz variedad INCA LP-7 (menos sensible) en medio salino (100 mM NaCl), mientras que en la variedad J-104 (más sensible) el tratamiento con EBL (0.1  $\mu$ M) fue el mejor, aunque solo aumentó la masa fresca de las raíces (81).

El MH-5 fue capaz de incrementar significativamente la altura de las plántulas, la longitud del sistema radical, las masas fresca y seca y el contenido relativo de agua, con respecto a las plantas no tratadas, ante déficit hídrico en dos variedades de arroz (Perla de Cuba y J-104), siendo más notable su efecto en la variedad Perla de Cuba, más tolerante (82). Este comportamiento al parecer está relacionado con un mayor contenido relativo de agua y una menor tasa de transpiración observada en la variedad Perla de Cuba.

Diferentes análogos evaluados en la variedad de arroz Perla de Cuba incrementaron la masa seca de las plántulas en condiciones de salinidad (83).

Por otra parte, el Biobras-16 a las concentraciones de 0.001 y 0.01  $\text{mg.L}^{-1}$  fue capaz de estimular la actividad de algunas enzimas antioxidantes de plántulas de arroz crecidas *in vitro* en un medio suplementado con 75 mM de NaCl, aunque no se evaluó si este comportamiento estaba asociado a la protección contra este estrés (84).

El tratamiento de las semillas con los análogos de brasinoesteroides BB-16 y BB-6 fue capaz de revertir

los efectos adversos de la salinidad en las variedades de arroz J-104 e INCA LP-7. En el caso del BB-16, las mejores respuestas para ambas variedades se obtuvieron con la concentración de 0.005  $\text{mg.L}^{-1}$  del análogo. Sin embargo, en el caso del BB-6 las mejores respuestas, en las variedades J-104 e INCA LP-7, se obtuvieron con las concentraciones de 0.5 y 0.005  $\text{mg.L}^{-1}$  y 0.05  $\text{mg.L}^{-1}$ , respectivamente (85). Esta diferencia de concentración entre los diferentes análogos pudiera estar dada por una actividad biológica diferencial, pues a pesar de ser isómeros se diferencian en la posición de uno de los grupos hidroxilo del anillo esferoidal (83).

## CONSIDERACIONES GENERALES

En la literatura revisada el mecanismo más utilizado para medir de alguna manera la tolerancia a la salinidad es la capacidad de exclusión de sodio, para lo cual se miden las concentraciones de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{K}^+$ . No obstante, los otros posibles mecanismos no están descartados como las enzimas antioxidantes o los solutos compatibles; sin embargo, en estos casos hay que profundizar en la investigación, pues hay divergencias en la correlación entre estos parámetros y la tolerancia a la salinidad de las diferentes variedades, fundamentalmente por las diferencias en las condiciones experimentales. En el caso de los mecanismos moleculares, como sobreexpresión de genes y proteínas, es todavía más difícil, pues a la necesidad de equipos especializados se une lo costoso de los reactivos para la biología molecular y la poca disponibilidad de anticuerpos monoclonales para proteínas vegetales y su elevado costo. Por lo anteriormente planteado, es evidente la necesidad de seguir investigando para poner a punto nuevas técnicas, que sean capaces de ser utilizadas a diario en el mejoramiento vegetal y que den idea de los mecanismos fisiológicos y moleculares involucrados en

la tolerancia de nuevas variedades a diferentes tipos de estrés abiótico.

Por otra parte, los brasinoesteroides pudieran actuar como productos bioactivos que potencien o induzcan estos mecanismos de tolerancia. Es evidente que aún falta un largo camino por recorrer para comprender los mecanismos de acción de estas hormonas esteroidales, sobre todo en su efecto antiestrés; puesto que a pesar de que existen informes sobre el tema estos no son concluyentes, pues la diversidad de las condiciones experimentales como momento y forma de aplicación, y también momento y severidad del estrés inducido no permiten llegar a un consenso.

Todavía quedan muchas incógnitas en el esclarecimiento de las vías de transducción de señales, a través de las cuales los brasinoesteroides inducen tolerancia a la salinidad. Por ejemplo, ¿qué genes están involucrados?, ¿cómo se regulan estas vías?, ¿son comunes para los distintos tipos de estrés?, ¿es importante el contenido endógeno de brasinoesteroide para la tolerancia varietal?

Como se puede apreciar las áreas de investigación en este campo son inmensas y poco exploradas y deben estar encaminadas fundamentalmente a encontrar los mecanismos de acción moleculares, ya que estos conocimientos permitirían una aplicación en la agricultura más racional y efectiva de estos productos ecológicamente inocuos, capaces de proteger a las plantas ante determinados estrés de tipo abiótico.

## REFERENCIAS

1. Mashali, M. Overview of FAO Global Network on soil management for sustainable use of salt affected soils. En: Proceedings of International Workshop on integrated soil management for sustainable use of salt affected soils. *Bureau of Soils and Water Management*, 1999, vol. 3, p. 1-36.

2. Rivero, L.; Galvez, V.; Navarro, N.; Sánchez, I.; Ortiz, C.; Otero, L. y Hernández, A. Sistema de información y monitoreo para la toma de decisiones en la lucha contra la salinización de los suelos y el deterioro del medio ambiente en cuencas hidrográficas. Taller Nacional ABIOTIC (dic.13-14: Bayamo), 2001, p. 10-11.
3. González, L. M. Extent, cause and management of salt affected soils in Cuba. *FAO. Newsletter on Sustainable Productive Use of Salt Affected Habitats*, 2000, vol. 4, p. 8-11.
4. Flowers, T. y Yeo, A. R. Variability in the resistance of sodium chloride salinity within rice *Oryza sativa* L. varieties. *New Phytologist*, 1981, vol. 81, p. 363-373.
5. Sasse, J. M. Physiological actions of brassinosteroids. En *Brassinosteroids: Steroidal Plants Hormones*. 1999, Tokyo:Springer-Verlag.
6. Dhaubhadel, S.; Browning, K. S.; Gallie, D. R. y Krishna, P. Brassinosteroid functions to protect the translational machinery and heat-shock protein synthesis following thermal stress. *Plant J.*, 2002, vol. 29, p. 681-691.
7. Anuradha, S. y Rao, S. S. R. Effect of brassinosteroids on salinity stress induced inhibition of seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Growth Regul.*, 2001, vol. 33, p. 151-153.
8. Anuradha, S. y Rao, S. S. R. Application of brassinosteroids to rice seeds (*Oryza sativa* L.) reduced the impact of salt stress on growth, prevented photosynthetic pigment loss and increase nitrate reductase activity. *Plant Growth Regul.*, 2003, vol. 40, p. 29-32.
9. Iglesias, L. Revisión sobre diversos aspectos relacionados con la tolerancia al estrés de calor en plantas. *Cultivos Tropicales*, 1994, vol. 15, no. 2, p. 99-107.
10. Udovenko, G. V. Resistencia de las plantas cultivadas a la salinidad L. Editorial Kolos, Editor. 1977.
11. Irekti, A.; Drevon, T. J. y Jaillad, B. Salt effect on the symbiotic nitrogen fixation of bean. Relation with nodule conductance to oxygen diffusion. *Mediterranean Conference of Rhizobiology* (2000:Jul. 9-13:Montpellier), 2000, p. 27-32.
12. Gómez-Cadena, A. E. A. Alteraciones en la fisiología de los cítricos inducidas por salinidad. *Levante Agrícola*, 2001, vol. 356, p. 187-193.
13. Krishnamurthy, R. Amelioration of salinity effect in salt tolerant rice (*Oryza sativa* L.) by foliar application of putrescine. *Plant Cell Physiol.*, 1991, vol. 32, p. 699-703.
14. Lutts, S.; Kinet, J. M. y Bouharmont, J. Ethylene production by leaves of rice *Oryza sativa* L. in relation to salinity tolerance and exogenous putrescine application. *Plant Science*, 1996, vol. 116, p. 15-25.
15. Su, J. y Wu, R. Stress-inducible synthesis of proline in transgenic rice confers faster growth under stress that with constitutive synthesis. *Plant Sci.*, 2004, vol. 166, p. 941-948.
16. Delauney, A. y Verma, D. P. S. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant J.*, 1993, vol. 4, p. 215-223.
17. Savouré, A.; Hua, X. J.; Bertauche, N.; Van Montagu, M. y Verbruggen, N. Abscisic acid-independent and abscisic acid-dependent regulation of proline biosynthesis following cold and osmotic stresses. *Mol Gen Genet.*, 1997, vol. 254, p. 104-109.
18. Saradhi, P.; Arora, S. y Prasad, A. V. Proline accumulates in plants exposed to UV radiation and protects them against UV induced peroxidation. *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, 1995, vol. 209, p. 1-5.
19. Hamilton, E. y Heckathorn, S. A. Mitochondrial adaptations to NaCl. Complex I is protected by antioxidants and small heat shock proteins, whereas complex II is protected by proline and betaine. *Plant Physiol.*, 2001, vol. 126, p. 1266-1274.
20. Hare, P. y Cress, W. A. Metabolic implications of stress-induced proline accumulations in plants. *Plant Growth Regul.*, 1997, vol. 21, p. 79-103.
21. Siripornadulsil, S.; Traina, S.; Verma, D. P. y Sayre, R. T. Molecular mechanism of proline-mediated tolerance to toxic heavy metals in transgenic microalgae. *Plant Cell*, 2002, vol. 14, p. 2837-2847.
22. Satoh, R.; Nakashima, K.; Seki, M.; Shinozaki, K. y Yamaguchi-Shinozaki, K. ACTCAT, a novel cis-acting element for proline and hypoosmolarity-responsive expression of the ProDH gene encoding proline dehydrogenase in Arabidopsis. *Plant Physiol.*, 2002, vol. 130, p. 709-719.
23. Oono, Y.; Seki, M.; Nanjo, T.; Narusaka, M.; Fujita, M.; Satoh, R.; Satou, M.; Sakurai, T.; Ishida, J.; Akiyama, K.; Iida, K.; Maruyama, K.; Satoh, S.; Yamaguchi-Shinozaki, K. y Shinozaki, K. Monitoring expression profiles of Arabidopsis gene expression during rehydration process after dehydration using ca. 7000 full-length cDNA microarray. *Plant J.*, 2003, vol. 34, p. 868-887.
24. Kishor, P.; Hong, Z.; Miao, G. H.; Hu, C. y Verma, D. P. S. Overexpression of ( $\delta$ ) Pyrroline-5-Carboxylate synthetase increase proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. *Plant Physiol.*, 1995, vol. 108, p. 1387-1394.
25. Kiyosue, T.; Yoshida, Y.; Yamaguchi-Shinozaki, K. y Shinozaki, K. A nuclear gene encoding mitochondrial proline dehydrogenase, an enzyme involved in proline metabolism, is upregulated by proline but downregulated by dehydration in Arabidopsis. *Plant Cell*, 1996, vol. 8, p. 1323-1335.
26. Verbruggen, N.; Hua, X. J.; May, M. y Van Montagu, M. Environmental and developmental signals modulate proline homeostasis: evidence for a negative transcriptional regulator. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, vol. 93, p. 8787-8791.
27. Strizhov, N.; Abraham, E.; Okresz, L.; Blickling, Z. A.; Schell, J.; Koncz, C. y Szabados, L. Differential expression of two P5CS genes controlling proline accumulation during salt-stress requires ABA and is regulated by ABA1, ABI1 and AXR2 in Arabidopsis. *Plant J.*, 1997, vol. 12, p. 557-569.
28. Gilmour, S. J.; Sebolt, A. M.; Salazar, M. P.; Everard, J. D. y Thomashow, M. F. Overexpression of the Arabidopsis CBF3 transcriptional activator mimics multiple biochemical changes associated with cold acclimation. *Plant Physiol.*, 2000, vol. 124, p. 1854-1865.

29. Garcia, A.; Engler, J.; Iyer, S.; Cerats, T.; Van Montagu, M. y Caplan, A. B. Effects of osmoprotectants upon NaCl stress in rice. *Plant Physiol.*, 1997, vol. 115, p. 159-169.
30. Lutts, S.; Majerus, V. y Kinet, J. M. NaCl effects on proline metabolism in rice (*Oryza sativa*) seedlings. *Physiol. Plant.*, 1999, vol. 105, p. 450-458.
31. Zhu, J. K. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2002, vol. 53, p. 247-273.
32. Igarashi, Y.; Yoshida, Y.; Sanada, Y.; Yamaguchi-Shinozaki, K. y Wada, K. Characterization of the gene for  $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase and correlation between the expression of the gene and salt tolerance in *Oryza sativa* L. *Plant Mol. Biol.*, 1997, vol. 33, p. 857-65.
33. Qiu, Q.; Guo, Y.; Dietrich, M. A.; Schumaker, K. S. y Zhu, J. K. Regulation of SOS1, a plasma membrane  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger in *Arabidopsis thaliana*, by SOS2 and SOS3. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, vol. 99, p. 8436-8441.
34. Shi, H.; Quintero, F. J.; Pardo, J. M. y Zhu, J. K. The putative plasma membrane  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter SOS1 controls long-distance  $\text{Na}^+$  transport in plants. *Plant Cell*, 2002, vol. 14, p. 465-477.
35. Gong, D.; Guo, Y.; Schumaker, K. S. y Zhu, J. K. The SOS3 family of calcium sensors and SOS2 family of protein kinases in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, 2004, vol. 134, p. 919-926.
36. Kolukisaoglu, U.; Weinl, S.; Blazevic, D.; Batistic, O. y Kudla, J. Calcium sensors and their interacting protein kinases: genomics of the *Arabidopsis* and rice CBL-CIPK signaling networks. *Plant Physiol.*, 2004, vol. 134, p. 43-58.
37. Sánchez-Barrena, M.; Martínez-Ripoll, M.; Zhu, J. K. y Albert, A. The structure of the *Arabidopsis thaliana* SOS3: molecular mechanism of sensing calcium for salt stress response. *J. Mol. Biol.*, 2005, vol. 345, p. 1253-1264.
38. Martínez-Atienza, J.; Jiang, X.; Garcíadeblas, B.; Mendoza, I.; Zhu, J. K.; Pardo, J. M. y Quintero, F. J. Conservation of the salt overly sensitive pathway in rice. *Plant Physiology*, 2007, vol. 143, p. 1001-1012.
39. Gaxiola, R. A.; Li, J.; Undurraga, S.; Dang, V.; Allen, G. J.; Alper, S. L. y Fink, G. R. Drought and salt-tolerant plants result from overexpression of the AVP1  $\text{H}^+$ -pump. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, vol. 98, p. 11444-11449.
40. Shi, H. y Zhu, J. K. Regulation of expression of the vacuolar  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter gene AtNHX1 by salt stress and ABA. *Plant Mol. Biol.*, 2002, vol. 50, p. 543-550.
41. Fukuda, A.; Nakamura, A. y Tanaka, Y. Molecular cloning and expression of the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger gene in *Oryza sativa*. *Biochim. Biophys. Acta*, 1999, vol. 1446, p. 149-155.
42. Ohta, M.; Guo, Y.; Halfter, U. y Zhu, J. K. A novel domain in the protein kinase SOS2 mediates interaction with the protein phosphatase 2C ABI2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, vol. 100, p. 11771-11776.
43. Gollidack, D.; Quigley, F.; Michalowski, C. B.; Kamasani, U. R. y Bohnert, H. J. Salinity stress-tolerant and -sensitive rice (*Oryza sativa* L.) regulate AKT1-type potassium channel transcripts differently. *Plant Mol. Biol.*, 2003, vol. 51, p. 71-81.
44. Lee, K.; Choi, W. Y.; Ko, J. C.; Kim, T. S. y Gregorio, G. B. Salinity tolerance of japonica and indica rice (*Oryza sativa* L.) at the seedling stage. *Planta*, 2003, vol. 216, p. 1043-1046.
45. Jacoby, B. Mechanism involved in salt tolerance by plants In Handbook of Plant Crops Stress, 1993, p. 123.
46. Amor, F.; Martínez, V. y Cerdá, A. Optimización del manejo de aguas salinas en el cultivo del tomate en invernadero. *Agrícola Vergel*, 2001, vol. 239, p. 588-592.
47. Yeo, A.; Lee, K. S.; Izard, P.; Boursier, P. J. y Flowers, T. J. Short and long term effects of salinity on leaf growth in rice (*Oryza sativa*). *J. Exp. Bot.*, 1991, vol. 42, p. 881-889.
48. Parker, R.; Flowers, T. J.; Moore, A. L. y Harpham, N. V. J. An accurate and reproducible method for proteome profiling of the effects of salt stress in the rice leaf lamina. *Journal of Experimental Botany*, 2006, vol. 57, no. 5, p. 1109-1118.
49. Portis, A. Rubisco activase: Rubisco's catalytic chaperone. *Photosynthesis Research*, 2003, vol. 751, p. 11-27.
50. Arosio, P. y Levi, S. Ferritin, iron homeostasis, and oxidative damage. *Free Radical Biology and Medicine*, 2002, vol. 33, p. 457-463.
51. Senior, A.; Nadanaciva, S. y Weber, J. The molecular mechanism of ATP synthesis by F1F0-ATP synthase. *Biochimica et Biophysica Acta: Bioenergetics*, 2002, vol. 1553, p. 188-211.
52. Cornah, J.; Terry, M. J. y Smith, A. G. Green or red: what stops the traffic in the tetrapyrrole pathway? *Trends in Plant Science*, 2003, vol. 85, p. 224-230.
53. Ruhl, M.; Himmelsbach, M. y Bahr, G. M. Eukaryotic initiation factor-5a is a cellular target of the human-immunodeficiencyvirus type-1 Rev activation domain mediating transactivation. *Journal of Cell Biology*, 1993, vol. 123, p. 1309-1320.
54. Thompson, J.; Hopkins, M. T.; Taylor, C. y Wang, T. W. Regulation of senescence by eukaryotic translation initiation factor 5A: implications for plant growth and development. *Trends in Plant Science*, 2004, vol. 9, p. 174-179.
55. Chou, W.; Huang, Y. W.; Tsay, W. S.; Chiang, T. Y.; Huang, D. E. y Huang, H. J. Expression of genes encoding the rice translation initiation factor, eIF5A, is involved in developmental and environmental responses. *Physiologia Plantarum*, 2004, vol. 121, p. 50-57.
56. Kawasaki, S.; Borchert, C.; Deyholos, M.; Wang, H.; Brazille, S.; Kawai, K.; Galbraith, D. y Bohnert, H. J. Gene expression profiles during the initial phase of salt stress in rice. *The Plant Cell*, 2001, vol. 13, p. 889-905.
57. Chinnusamy, V. y Zhu, J. K. Plant salt tolerance. *Topics Curr. Genet.*, 2003, vol. 4, p. 241-270.
58. Dubouzet, J. G.; Sakuma, Y.; Ito, Y.; Kasuga, M.; Dubouzet, E. G.; Miura, S.; Seki, M.; Shinozaki, K. y Yamaguchi-Shinozaki, K. OsDREBgenes in rice, *Oryza sativa* L., encode transcription activators that function in drought-, high-salt- and cold responsive gene expression. *Plant J.*, 2003, vol. 33, p. 751-763.
59. Shinozaki, K. y Yamaguchi-Shinozaki, K. Molecular response in to dehydration and low temperature: Differences and cross-talk between two stress signaling pathways. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2000, vol. 3, p. 217-223.



60. Hirano, K.; Teraoka, T.; Yamanaka, H.; Harashima, A.; Kunisaki, A.; Takahashi, H. y Hosokawa, D. Novel mannose-binding rice lectin composed of some isolectins and its relation to a stress inducible salT gene. *Plant Cell Physiol.*, 2000, vol. 41, p. 258-267.
61. Zhang, W.; Peumans, W. J.; Barre, A.; Astoul, C. H.; Rovira, P.; Rouge, P.; Proost, P.; Truffa-Bachi, P.; Jalali, A. A. y Van Damme, E. J. Isolation and characterization of a jacalin-related mannosebinding lectin from salt-stressed rice (*Oryza sativa*) plants. *Planta*, 2000, vol. 210, p. 970-978.
62. Souza-Filho, G. A.; Ferreira, B. S.; Dias, J. M. y Queiroz, K. S. Accumulation of salt protein in rice plants as a response to environmental stresses. *Plant Science*, 2003, vol. 164, p. 623-628.
63. Wingler, A.; Lea, P. J.; Quick, W. P. y Leegood, R. C. Photorespiration: metabolic pathways and their role in stress protection. *Phyl. Trans. R. Soc. Lond. B.*, 2000, vol. 355, p. 1517-1529.
64. Dionisio-Sese, M. y Tobita, S. Effects of salinity on sodium content and photosynthetic responses of rice seedlings differing in salt tolerance. *Journal of Plant Physiology*, 2000, vol. 157, p. 54-58.
65. Asada, K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1999, vol. 50, p. 601-639.
66. Dionisio-Sese, M. y Tobita, S. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science*, 1998, vol. 135, p. 1-9.
67. Menezes-Benavente, L.; Teixeira, F. K.; Kamei, C. L. A. y Margis-Pinheiro, M. Salt stress induces altered expression of genes encoding antioxidant enzymes in seedlings of a *Brazilian indica* rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Sci.*, 2004, vol. 166, p. 323-331.
68. Breusegem, F. V.; Vranová, E.; Dat, J. F. e Inzé, D. The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Sci.*, 2001, vol. 161, p. 405-414.
69. Lee, D. H.; Kim, Y. S. y Lee, C. B. The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.). *J. Plant Physiol.*, 2001, vol. 158, p. 737-745.
70. Tanaka, Y.; Hibino, T.; Hayashi, Y.; Tanaka, A. y Kishitani, S. Salt tolerance of transgenic rice overexpressing yeast mitochondrial Mn-SOD in chloroplasts. *Plant Sci.*, 1999, vol. 148, p. 131-138.
71. Vaidyanathan, H.; Sivakumar, P.; Chakrabarty, R. y Thomas, G. Scavenging of reactive oxygen species in NaCl stressed rice (*Oryza sativa* L.)-differential response in salt tolerant and sensitive varieties. *Plant Sci.*, 2003, vol. 165, p. 1411-1418.
72. Demiral, T. y Türkan, I. Does exogenous glycinebetaine affect antioxidative system of rice seedlings under NaCl treatment? *J. Plant Physiol.*, 2004, vol. 161, p. 1089-1100.
73. Khan, M. H. y Panda, S. K. Induction of oxidative stress in roots of *Oryza sativa* L. in response to salt stress. *Biol. Plant.*, 2002, vol. 45, p. 625-627.
74. Schroeder, J. I.; Allen, G. J.; Hugouvieux, V.; Kwak, J. M. y Waner, D. Guard cell signal transduction. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 2001, vol. 52, p. 627-658.
75. Clouse, S. y Sasse, J. M. Brassinosteroids: Essential regulators of plant growth and development. *Annu Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1998, vol. 49, p. 427-451.
76. Meudt, W. J.; Thompson, M. J. y Bennett, H. W. Investigations on the mechanism of the brassinosteroid response. III. Techniques for potential enhancement of crop production. *Proc. Plant Growth Regul. Soc. Am.*, 1983, vol. 10, p. 312.
77. Kulaeva, O.; Burkhanova, E. A.; Fedina, A. B.; Khokhlova, V. A.; Bokebayeva, Ga, H. M. y Adam, G. Effect of brassinosteroids on protein synthesis and plant-cell ultrastructure under stress conditions. En: Brassinosteroids: chemistry, bioactivity and applications. American Chemical Society Symposium Series 474. American Chemical Society, Washington, 1991, p. 141-155.
78. Sasse, J. M. S. 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.
79. Vardhini, S. V. y Rao, S. S. R. Effect of brassinosteroids on salinity induced growth inhibition of groundnut seedlings. *Indian J. Plant Physiol. Plant*, 1997, vol. 2, no. 2, p. 156-161.
80. Ozdemir, R. 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 Regul.*, 2004, vol. 42, p. 203-211.
81. Núñez, M.; Mazorra, L. M.; Martínez, L.; González, M. C. y Robaina, C. Influencia de la 24-epibrasinólida y un análogo espiroestánico de brasinoesteroides en el crecimiento de plántulas de dos variedades de arroz (*Oryza sativa* L.) en medio salino. *Cultivos Tropicales*, 2006, vol. 27, no. 1, p. 75-82.
82. García, A. R. T.; Héctor, E. y Núñez, M. Efecto del análogo de brasinoesteroides MH-5 en el crecimiento del arroz (*Oryza sativa* L.) en condiciones de déficit hídrico. *Cultivos Tropicales*, 2005, vol. 26, p. 87-91.
83. Núñez, M. Synthesis and practical applications of brassinosteroid analogs. En: Brassinosteroids. Bioactivity and Crop Productivity. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2003.
84. Núñez, M.; Mazorra, L. M.; Siquiera, W. J. y Zullo, M. A. T. Influence of a brassinosteroid analogue on antioxidant enzymes in rice grown in culture medium with NaCl. *Biol. Plant.*, 2003-2004, vol. 47, p. 67-70.
85. 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*, 2007, vol. 28, no. 2, p. 95-99.

Recibido: 2 de octubre de 2008

Aceptado: 2 de diciembre de 2008