

Revisión bibliográfica ESTADO ACTUAL SOBRE EL CONOCIMIENTO DE LA BIOSÍNTESIS Y LOS MECANISMOS MOLECULARES DE ACCIÓN DE LOS BRASINOESTEROIDES EN LAS PLANTAS

L. M. Mazorra[✉] y Miriam Núñez

ABSTRACT. This review focuses the evolution of studies on biosynthesis of BRs, regulation of gene expression, BR perception and signalling transduction since the early 90's. It contains key findings related to the chemical characterization of BR intermediates and biosynthetic pathways, studies on gene expression done through applying several genomic tools and analysis of BR biosynthetic and perception mutants. Recent progresses on identifying BR receptor and signalling transduction cascade have allowed confirming the essential role of these compounds in plant growth and development regulation.

Key words: biosynthesis, mode of action, brassinosteroids, *Solanum lycopersicum*, *Oryza sativa*

RESUMEN. Esta revisión enfoca la evolución de los estudios de la biosíntesis, la regulación de la expresión génica, percepción y transducción de las señales de los BR desde los inicios de los años 90. Se presentan los principales hallazgos relacionados con la caracterización química de los intermediarios y las rutas biosintéticas, los estudios de la expresión génica realizados a través de varias herramientas de genómica y los análisis de mutantes biosintéticos y de percepción de estos compuestos. Los avances recientes en la identificación del receptor y los elementos de la cascada de transducción de señales han permitido confirmar el papel esencial de estos compuestos en la regulación del crecimiento y desarrollo.

Palabras clave: biosíntesis, mecanismos de acción, brasinoesteroides, *Solanum lycopersicum*, *Oryza sativa*

INTRODUCCIÓN

El estudio de las sustancias promotoras del crecimiento vegetal ha tenido gran relevancia dentro del campo de la fisiología vegetal. Después del aislamiento y la caracterización inicial de la brasinólida (1), a partir del polen del nabo (*Brassica napus*), estudios posteriores demostraron que los brasinoesteroides (BR) son compuestos que están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, tanto en las angiospermas como en las gimnospermas (2). A finales de los 80 se habían caracterizado alrededor de 16 BR (3); sin embargo, hasta la fecha, más de 50 BR han sido aislados y caracterizados (4), siendo la brasinólida y la

castasterona los BR más abundantes y de más amplia distribución.

Desde un inicio, el estudio de estos compuestos estuvo acompañando al desarrollo de métodos sensibles y específicos para su detección. Se ha usado un gran número de bioensayos para detectar la actividad de los BR (3). Sin embargo, en general, de los diferentes bioensayos el de la inclinación de la lámina del arroz (5) y el del segundo entrenudo del frijol (6) representan los más específicos para los brasinoesteroides.

En los primeros momentos de su descubrimiento, los BR no recibieron gran aceptación como hormonas esenciales del crecimiento y desarrollo de las plantas, porque su actividad es similar a la de otras fitohormonas (7, 8). No fue hasta el establecimiento de las rutas de biosíntesis de los BR, así como el aislamiento y la caracterización de mutantes biosintéticos e insensibles, fundamentalmente en *Arabidopsis*, que estas sustancias comenzaron a

considerarse como una nueva clase de fitohormonas (9). Precisamente, el aislamiento y la caracterización de los genes que codifican las enzimas responsables de la producción de distintos brasinoesteroides y sus precursores se desarrollaron en paralelo, con la caracterización de un gran número de diferentes mutaciones insensibles (10).

Después del aislamiento y la caracterización del gen del receptor *bri1* (11), el cual codifica para una proteína quinasa receptora con repeticiones ricas en leucina (LRR-RLK, siglas en inglés), se han identificado nuevos componentes clave de las rutas de señalización a los BR. Ejemplos de ellos son la proteína BAK1, también una LRR-RLK que interactúa directamente con el receptor BRI1 de los BR (12, 13); la proteína BIN2, quinasa involucrada en la regulación negativa de las señales de los BR (14, 15) y los genes homólogos *bes1* y *bzr1* (16, 17), los cuales codifican para las proteínas del núcleo (BES1

Ms.C. L. M. Mazorra, Investigador 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 32700.

✉ lmazorra@inca.edu.cu

y BZR1), implicadas en la señalización por los BR (18, 19). Sin embargo, aún se desconocen los mecanismos de acción de estos componentes de la transducción de las señales y quedan por identificarse los factores de la transcripción y las secuencias específicas en los promotores de los genes regulados directamente por los BR (20).

Los estudios realizados con los BR han demostrado sus efectos múltiples en la elongación de los tallos, la actividad en la fotomorfogénesis, la inhibición del crecimiento de la raíz, la senescencia, la división celular, la inducción de la biosíntesis del etileno, el desarrollo vascular y reproductivo, el crecimiento del tubo polínico, la polarización de la membrana y el bombeo de protones, las relaciones fuente/sitio de consumo, la modulación del estrés, entre otros (10).

Los BR generaron desde muy temprano interés práctico en la agricultura, debido a sus efectos como estimuladores del crecimiento. Inicialmente se realizaron aplicaciones de los compuestos naturales, para promover el rendimiento de los cultivos (21). Sin embargo, los problemas de las aplicaciones de los BR naturales en condiciones de campo posibilitaron que se introdujeran algunos análogos de los BR obtenidos por vía sintética; estos últimos compuestos eran más económicos y sobre todo sus efectos tenían una duración más prolongada en estas condiciones (22).

No obstante, dado que estos compuestos esteroidales pudieran regular una diversidad de funciones fisiológicas en las plantas, cuyo manejo indudablemente tendría efectos prácticos y económicos favorables en la producción vegetal, existe un gran potencial de aplicaciones de los BR que aún no han sido explotadas.

La presente revisión pretende ofrecer una actualización del estado de las investigaciones en la biosíntesis, la regulación de la expresión génica y la transducción de señales por esta fitohormona. Se hace énfasis particular en los progresos relacionados con la planta mo-

delo *Arabidopsis* y en dos especies de interés agrícola, el tomate (*Solanum lycopersicon* L.) y el arroz (*Oryza sativa*).

BIOSÍNTESIS DE LOS BRASINOESTEROIDES

Después de los progresos importantes en la síntesis química y la evaluación de la actividad biológica de los BR a nivel de bioensayos, se destaca la necesidad de la realización de estudios de la biosíntesis endógena de los BR (3). Los brasinoesteroides más ampliamente distribuidos en las plantas son los que poseen 28 átomos de carbono (C_{28}), grupo en que la brasinólida (Figura 1) es el representante más activo. Las variaciones estructurales de los BR naturales se originan de la presencia de oxígeno en las posiciones C-2, C-3 y C-6 del núcleo esteroidal central (anillos A/B) y en las posiciones C-22 y C-23 de la cadena lateral. La presencia de diferentes BR con actividad biológica en los tejidos sugirió desde muy temprano la funcionalidad de las rutas de biosíntesis y transformación de estos compuestos. A finales de la década de los 80, ya se había indicado la posibilidad de la síntesis de estas hormonas a partir del campesterol, para dar lugar a la teasterona, el tifasterol, la castasterona y la brasinólida, aunque no existían demostraciones conclusivas de esta ruta en las plantas (Figura 2).

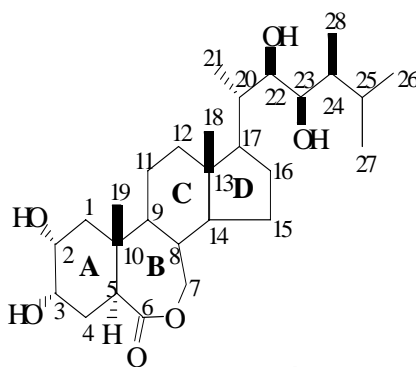


Figura 1. Estructura química de la brasinólida con la numeración de los carbonos

En general, los experimentos de marcaje isotópico de los intermediarios han sido herramientas valiosísimas en la dilucidación de las reacciones biosintéticas. Yokota *et al.* (23) fueron los primeros en demostrar la conversión de la castasterona a la brasinólida, utilizando marcaje isotópico con el 3H en los cultivos celulares de *Catharanthus roseus*. Estos cultivos de células son útiles para estos fines, ya que producen los BR a niveles similares a los encontrados en las semillas inmaduras y en el polen, órganos donde estos compuestos son abundantes. Este paso de la biosíntesis fue confirmado posteriormente en las posturas de *Catharanthus roseus*, *Nicotiana tabacum* y *Oryza sativa* (24). En los cultivos celulares de *Catharanthus roseus* se ha demostrado la secuencia (25):

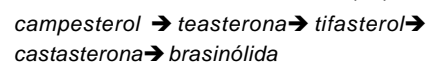


Figura 2. Secuencia de reacciones de transformación del campesterol a la brasinólida

Otros estudios también demostraron la existencia de los 6-desoxo-derivados de los BR como el 6-desoxo-tifasterol (26, 27). Sin embargo, como los 6-desoxo-derivados tuvieron una actividad débil en los bioensayos, ellos inicialmente se consideraron productos de la degradación de los BR. Los experimentos del marcaje isotópico de estos 6-desoxo-BR revelaron la siguiente secuencia de conversión a la brasinólida en células de *Catharanthus roseus* (Figura 3):

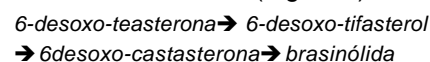


Figura 3. Secuencia de reacciones de la conversión de la 6-desoxo-teasterona a la brasinólida

Estos hallazgos han permitido plantear dos rutas biosintéticas para los brasinoesteroides (2), denominada ruta de la oxidación temprana del C_6 y ruta de la oxidación tardía del C_6 (Figura 4).

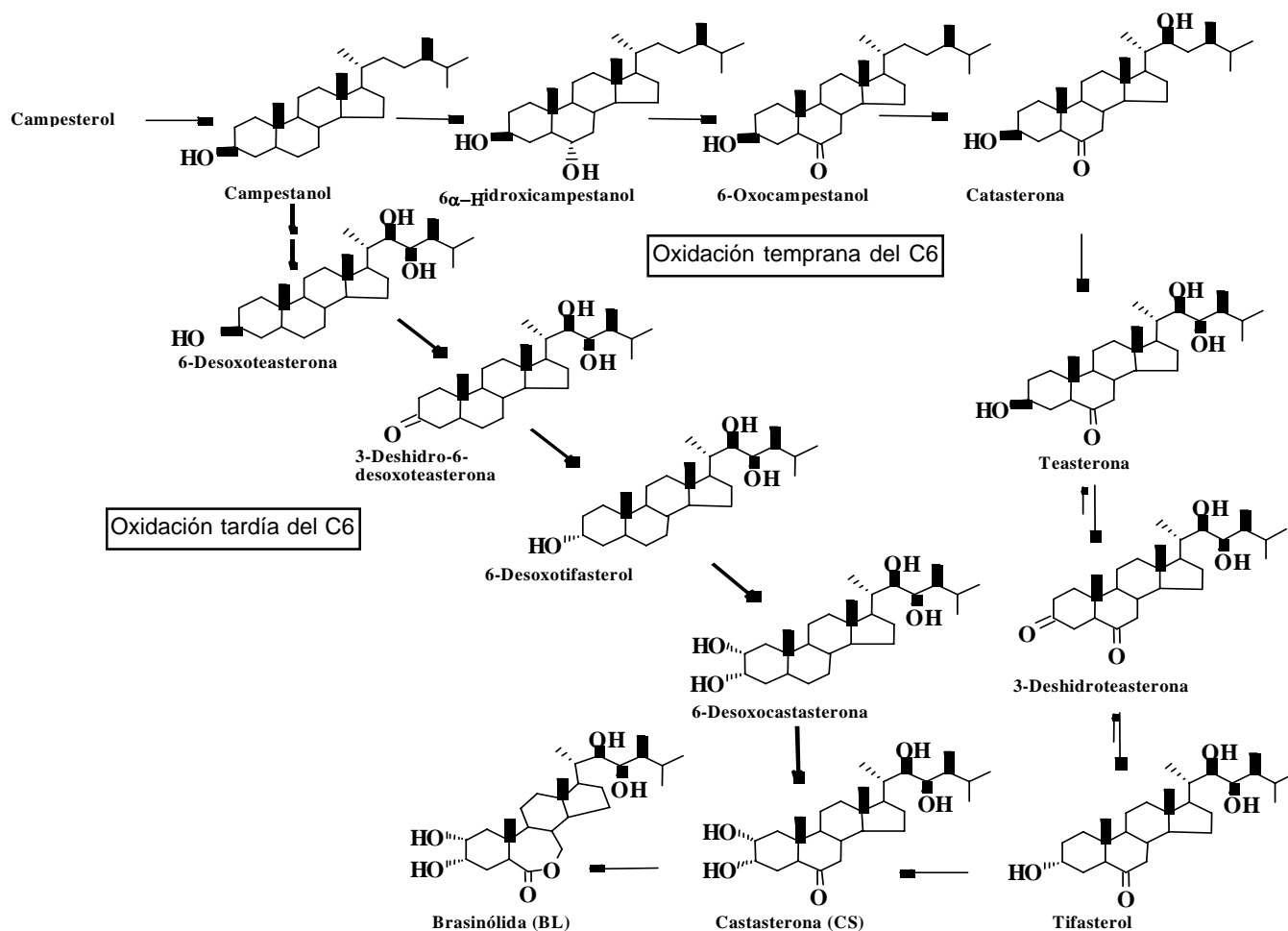


Figura 4. Rutas de biosíntesis de los BR (oxidación temprana y tardía del C6)

Es importante notar que la biosíntesis de los BR se estableció inicialmente en los cultivos de las células transformadas de *Catharanthus roseus* (productoras de altos niveles de los BR) y no en la *Arabidopsis thaliana*, a pesar de que esta última, por la facilidad de su manipulación, el conocimiento de su genética y secuencia genómica completa, ha sido ampliamente utilizada como planta modelo. En esta planta se demuestra que la biosíntesis endógena de los BR ocurre a partir de los esteroides precursores (28).

Después de la propuesta de las rutas de la oxidación temprana y tardía del C6 (2), se han acumulado nuevas pruebas que han permitido postular la interconexión de estas rutas de la oxidación temprana y tardía (29) a través de múltiples pasos de hidroxilación a nivel del carbono 22,

entre el campesterol y el campestanol (Figura 5).

Así, se demostró que varios compuestos generados por la oxidación del carbono 22 dan lugar a intermediarios hidroxilados en las células de *Catharanthus roseus* y en las plántulas de *Arabidopsis* (30). Los compuestos (24R)-24-metil-colestano-4-en-3-ona, (24R)-24-metil-5 α -colestano-3-ona, el campesterol y el campestanol pueden ser hidroxilados en su carbono 22. Estas evidencias demostraron una nueva rama de hidroxilación del carbono 22 de la cadena lateral que opera en los tejidos (Figura 5), además de la clásica conversión del 6-oxo-campestanol a la catasterona (Figura 4).

Ha sido difícil la detección en los extractos vegetales de las actividades enzimáticas implicadas en las diferentes reacciones de las rutas de

la biosíntesis de los BR. En este camino ha sido útil la identificación, en paralelo al establecimiento de la secuencia de reacciones, de los mutantes con afectaciones en los pasos que controlan la producción de estos compuestos. El primer mutante enano de la *Arabidopsis* con deficiencias de los BR endógenos fue *det2* (31). Se encontró que la secuencia del gen *det2* tiene una estrecha similitud con la de las de la enzima 5 α -reductasa de los esteroides de los mamíferos que cataliza la reducción dependiente del NADPH de la testosterona a la deshidrotestosterona. Se demostró subsiguientemente que la proteína *DET2* es un ortólogo de estas enzimas animales (32). El producto del gen *det2* reduce la (24R)-24-metil-colestano-4-en-3-ona a la (24R)-24-metil-5 α -colestano-3-ona durante la conversión del campesterol al campestanol (33, 34).

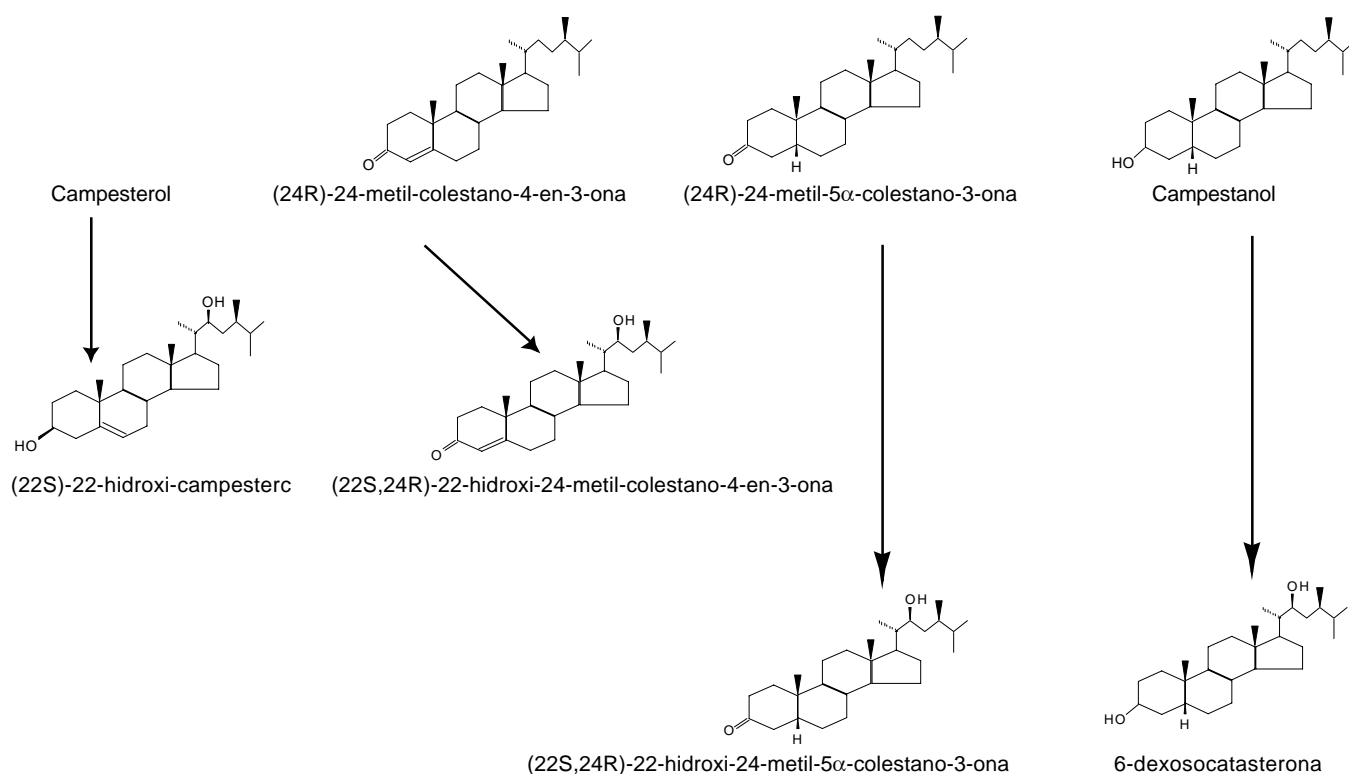


Figura 5. Hidroxilación del carbono 22 de distintos intermediarios biosintéticos

Por otra parte, se caracteriza el mutante enano *cpd* de *Arabidopsis*, realizándose el clonaje del gen *cpd*. Se encuentra que este codifica para una monooxigenasa dependiente del citocromo P450 (la CYP90A1 perteneciente a la familia de las citP450, CYP90), mostrando la secuencia del gen *cpd* alta similitud con las hidroxilasas esteroidales (35). Este mutante está bloqueado en el paso de la hidroxilación del C₂₃ de la castasterona para producir la teasterona, aunque no se ha determinado la función bioquímica de esta proteína (35).

Otros caracterizaron los mutantes alélicos *dwf1* y *cbb1*, respectivamente (36, 37). Por otra parte, se aisló un mutante enano (*dim*); este también fue alélico a *dwf1* y *cbb1* (38). Unos años después, se confirmó el defecto del mutante *dim/dwf1*, demostrándose la función de la proteína DIM/DWARF en la biosíntesis de los BR (39). Posteriormente, se definió que la conversión del 24-metilen-colesterol al campesterol es el paso biosintético defectuoso en este mutante *dwf1* (40).

Por esos años, también se caracterizaron los mutantes *dwf4* (41) y el producto génico del gen *dwf4* (la proteína DWF4) (42), sugiriéndose que cataliza los distintos pasos de la hidroxilación del C22 de varios intermediarios (Figura 5) (43). En este sentido, se probó recientemente que la conversión del campestanol a la 6-desoxo-casterona se cataliza por la enzima DWF4 (CYP90B1) (44).

Por su parte, el mutante *dwf7* (45) es defectuoso en la formación del 24-metilen-colesterol. También se demostró que los mutantes enanos de *Arabidopsis* *dwf3*, *dwf5/le/cro6*, *dwf8* y *cbb3* son variantes alélicas de estas mutaciones descritas anteriormente (37, 45, 46), a la vez que se han estudiado otras mutaciones en *Arabidopsis* como *rot3* (47).

Los mutantes *dwf5*, *dwf*, *dwf1/dim*, entre otros, presentan afectaciones en las etapas tempranas de la síntesis de los esteroides y sus defectos son más moderados que los del resto de los mutantes, aunque las razones de este comportamiento son desconocidas. Todos los mutantes biosintéticos pueden res-

tablecerse, total o parcialmente, por las aplicaciones exógenas de diferentes BR.

A finales de los 90, se habían demostrado las rutas de la oxidación del C6 temprana y/o tardía en especies vegetales como *Solanum lycopersicum* L. (48) y *Pisum sativum* (49, 50), entre otras. Además, se sugirió que estas rutas de la oxidación del C6 temprana y tardía podrían regularse diferencialmente por varios estímulos y señales ambientales. Experimentos con los mutantes *det2* y *dwf4* demostraron que los intermediarios de la ruta de la oxidación tardía son más efectivos en la luz, mientras que los de la oxidación temprana tienen una actividad marcada en la oscuridad (2, 42).

La oxidación del carbono 6 en la ruta de la biosíntesis temprana (del campestanol al 6-oxo-campestanol) o la tardía (de la 6-desoxo-casterona a la castasterona) es catalizada por las enzimas monooxigenasas citP450 de la familia CYP85A. Las proteínas CYP85A1 y CYP85A2 de la *Arabidopsis* catalizan la oxidación del C6 de múl-

tiples intermediarios hidroxilados o no en los C22 y/o C23 de la cadena lateral (51, 52).

Se han obtenido pocas pruebas bioquímicas y enzimáticas sobre cómo ocurre la biosíntesis de los BR con 27 y 29 átomos de C, como la 28-norcastasterona y la 28-homobrasinólida, respectivamente. Recientemente, se demostró que la enzima biosintética DWF4 (CYP90B1) muestra una alta afinidad por el colesterol (precursor de los BR con 27 átomos de C) y menor por el sitosterol (precursor de los BR con 29 átomos de C) (44).

Casi 15 años después del descubrimiento de la conversión de la castasterona en la brasinólida (23), se identificó y caracterizó la enzima responsable de este paso, probándose que la monooxigenasa citP450 (CYP85A2) cataliza la oxidación de la castasterona a la brasinólida en *Arabidopsis* (53, 54). Se encontró la enzima homóloga en el tomate (CYP85A3), la cual desempeña un papel similar en esta última especie (54). Estos estudios han corroborado lo esenciales que son estas hormonas en las plantas, aun cuando se cree que una ruta puede predominar más que otra entre las distintas especies vegetales.

En el tomate, se han caracterizado dos mutantes biosintéticos de los BR, el *d^r* (48) y el mutante *dpy* (55). Las plantas *d^r* (enanas extremas) manifiestan un fenotipo característico con reducción severa del crecimiento del tallo, alteraciones en la morfología foliar y deficiencia de la castasterona en sus tejidos vegetativos, aunque producen la brasinólida durante el desarrollo reproductivo (54). El gen *d* codifica para la enzima CYP85A1, que cataliza la síntesis de la castasterona a partir de la 6-desoxo-castasterona (48).

El mutante *dpy* es defectuoso en la síntesis de la 6-desoxo-teasterona a partir de la 6-desoxo-castasterona, debido a la alteración de la hidroxilación del C23 (55). Este paso es catalizado por el gen *cpd* en la *Arabidopsis*. El mutante *dpy* exhibe una estatura corta, la reducción de las ramas laterales, las alteraciones

de la morfología foliar y su crecimiento se restablece por la aplicación exógena de diferentes BR (55).

En tomate también se confirmó la ruta de la oxidación del C6 tardía desde la 6-desoxoteasterona, la 3-desidro-6-desoxoteasterona, el 6-desoxotifasterol hasta la 6-desoxocastasterona (Figura 4). En los tejidos vegetativos de esta especie radica la castasterona, mientras que la brasinólida aparece en los órganos reproductivos de la planta, lo que sugiere que este último compuesto juega su papel fundamentalmente durante la fase reproductiva (54).

En contraste con los rápidos progresos en el estudio de los BR en las especies dicotiledóneas *Arabidopsis thaliana*, y, en menor medida, el tomate y el guisante, a inicios del 2000, poco se conocía de la biosíntesis y la acción molecular de estas hormonas en las monocotiledóneas. En años recientes se han aislado cuatro mutantes deficientes de los BR en el arroz (*d11*, *d2* y *brd1*, *brd2*). El análisis fenotípico de las plantas de estos mutantes ha corroborado que los BR son importantes en la elongación del segundo entrenudo, la inclinación de la lámina del arroz y la fotomorfogénesis (56, 57, 58, 59). Sin embargo, varias evidencias demuestran que es posible que los mecanismos de acción de los BR difieran entre las plantas monocotiledóneas y las dicotiledóneas (58, 59).

Los estudios moleculares de los mutantes han probado que estas mutaciones determinan enzimas monooxigenasas citP450 involucradas en los pasos finales de la biosíntesis de los BR en el arroz (56, 57, 58, 59). Así, los mutantes *d2* y *d11* demostraron defectos en la oxidación del C3, un paso catalizado por las oxidasas CYP90D2 y CYP724B1, respectivamente; mientras que el mutante *brd1* presenta la alteración en la oxidación del C6 catalizado por una enzima monooxigenasa citP450 del tipo CYP85. Por su parte, el genotipo *brd2* posee una mutación alélica a la de los mutantes *dim/dwf1* de la *Arabidopsis*; sin embargo, la

proteína BRD2 sintetiza el brasinoesteroide poco común, dolicoasterona, a través de una posible ruta de biosíntesis alternativa aún desconocida (59). Se ha sugerido que la proteína D11 participa en el suministro del 6-desoxotifasterol y el tifasterol en las rutas de oxidación del C6 tardía y temprana, respectivamente (58).

La biosíntesis de los BR ocurre en todos los órganos de la planta; sin embargo, estos compuestos se sintetizan más activamente en los tejidos jóvenes, mientras que sus niveles son reducidos en los órganos maduros (52). Este hecho es consistente con las observaciones de que los BR tienen efectos marcados en los tejidos durante el crecimiento activo (10).

Se ha visto que, en las condiciones de desarrollo normal, la producción de los BR es controlada por la retroalimentación negativa de los genes de la biosíntesis, puesto que la expresión de estos es parcialmente reprimida por las concentraciones fisiológicas de estas hormonas (43). En el arroz, la expresión del gen *brd2* (*dim/dwf1*) no se regula por la brasinólida; en contraste, los genes *d2* y *brd1* son regulados negativamente por esta hormona (56, 57). Por su parte, la regulación de la expresión del gen *dwf4* debe ser un mecanismo crítico para mantener la homeostasis de los BR en la *Arabidopsis* (60). En el tomate, la *Arabidopsis* y el guisante, el gen *d* se expresa en los tejidos vegetativos y los frutos. Este se considera esencial para la fase de activación final de la biosíntesis de los BR en estas especies (48, 61), demostrándose que la expresión del gen *d* se localiza fundamentalmente en los meristemas apicales de las plántulas (62, 63, 64).

Por su parte, también un nivel alto de la hormona activa resulta en la represión de genes biosintéticos y en la inducción del gen catabólico *bas1* (43). Varios estudios han probado que los genes de la biosíntesis *dwf4* y *cpd* se reprimen significativamente por la aplicación exógena de los brasinoesteroides

(16, 65). La acumulación de los genes biosintéticos es pronunciada y fluctuante en las primeras etapas del desarrollo de la plántula (54). En cuanto a la localización de la expresión de los genes de respuesta a los BR, se ha encontrado que estos se expresan marcadamente en los extremos apicales, las semillas y los embriones en desarrollo activo (52).

La luz puede ser un factor decisivo en el control de la biosíntesis de los BR. Se ha observado la oscilación de la expresión de genes de la biosíntesis de los BR durante el día, detectándose un incremento sustancial del contenido de la hormona en la mitad del día (66). Los cambios diurnos de la expresión del gen *cpd* parecen depender poco de la señalización por los BR y de la retroalimentación negativa; sin embargo, la represión del gen *cpd* durante la noche se mantiene por esta retroalimentación. Estos hallazgos son consistentes con las investigaciones previas sobre las diferentes intensidades de la respuesta a los BR en presencia de luz u oscuridad (33, 42, 67). La elevada expresión del gen *cpd* y *cyp85a2* así como el incremento de la acumulación de la BL durante el día se contradicen con la reducción del alargamiento del hipocotilo durante periodos de luz. Esto puede explicarse por un decremento de la sensibilidad a los BR en la presencia de la luz.

Por otro lado, la regulación diurna de los genes de la biosíntesis de los BR puede influir en el inicio de la floración en la *Arabidopsis*, demostrándose la síntesis intensa de los BR durante esta etapa del desarrollo reproductivo (54, 64, 68).

Como se ha dicho anteriormente, la biosíntesis de los BR juega un papel esencial en el establecimiento de los niveles endógenos de estos compuestos. Los pasos de hidroxilación del C22 (reacción del 6-oxocampestanol a la castasterona) y del C23 de la cadena lateral (reacción de la castasterona a la teasterona), ambos controlados por los genes *dwf4* y *cpd*, respectivamente, son considerados limitantes de

la biosíntesis de los BR en la *Arabidopsis*. Por su parte, en el tomate, esta limitación ocurre en el paso de la oxidación del C6 (6-desoxocastasterona a la castasterona) regulado por el gen *d* (69).

Un aspecto que no ha sido examinado es el papel de las enzimas de la biosíntesis de los BR en las transformaciones metabólicas de los diferentes análogos espirostánicos de estos compuestos, estudio que se ha limitado por las dificultades del marcaje isotópico de los análogos.

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA POR LOS BR

Un aspecto esencial del mecanismo de acción de los BR es la regulación que ellos hacen sobre la expresión génica. Los primeros estudios sobre la identificación de los genes directamente regulados por los BR estuvieron relacionados con el alargamiento celular y comienzan a principios de la década de los 90. En los epicotilos de plantas de la soya, la aplicación de la 24-epibrasinólida (EBL) incrementó el nivel del ARNm del gen *bru1*, el cual codifica para una enzima xiloglucano-endotransglucosilasa (XET). Este gen se regula específicamente por los BR durante los estados iniciales del alargamiento celular (70), comprobándose uno años después que la proteína BRU1 es una XET funcional (71). En la *Arabidopsis*, la aplicación de la brasinólida incrementa la expresión del gen *tch4* (también codifica para una XET) en 30 minutos, obteniéndose un máximo de la expresión del gen a las dos horas posteriores al tratamiento hormonal (72). En el tomate, también se demostró la regulación de las enzimas XET por los brasinoesteroides (73). Sin embargo, las auxinas inducen más rápidamente la expresión del gen *tch4* (72); de ahí que se concluya que las diferencias en la rapidez de la respuesta a las auxinas y los BR se manifiestan a nivel genético.

Junto con las demostraciones de la inducción de los genes *xet* por los BR asociada al alargamiento celular (10), se

sucedieron las evidencias de la expresión génica relacionada con otros efectos de los BR, como la síntesis del etileno, la interacción con otras hormonas, el desarrollo vascular, la fotomorfogénesis y la modulación de las respuestas al estrés. Así, en el frijol mungo (*Vigna radiata*), se determinó que los BR inducen genes de la enzima, que sintetiza el ácido 1-amino-ciclopropano-1-carboxílico (ACC), denominada ACC sintasa, la cual participa en la síntesis del etileno (74). Por otra parte, se encontró que la expresión del gen *bru1* inducida por la brasinólida fue más intensa en las células del parénquima paratraqueario, lo que sugiere una función de los BR en la formación del xilema (72). En la *Arabidopsis*, se detecta la expresión del gen *opr3*, relacionado con la síntesis del ácido jasmónico (75). Por otra parte, se conoce que la brasinólida induce la expresión del gen *ga20ox1* del metabolismo de las giberelinas (76). Además, la inducción del gen *cyd3* por la EBL puede indicar un mecanismo de la regulación de la división celular por este tipo de hormona (77).

En la modulación del estrés, se ha visto un efecto positivo de la EBL en la expresión de los genes de respuesta a las bajas temperaturas (78). Asimismo, en cuanto al estrés por altas temperaturas, la EBL induce la acumulación mayor de genes que codifican para la síntesis de algunas proteínas de choque térmico, HSP, (79, 80, 81).

Con la identificación de los mutantes biosintéticos e insensibles a los BR, se posibilita un enfoque alternativo para demostrar la regulación de los genes controlados por esta hormona. Así, se ha demostrado (37) que la expresión de los genes *tch4* y *meri5* se reduce apreciablemente en los mutantes deficientes de *Arabidopsis cpd* y *dim/dwf1*, y se incrementa con la aplicación de la 24-epibrasinólida (EBL). Sin embargo, los genes *tch4* y *meri5* no se detectan o no responden a la EBL en el mutante insensible *cbb2* (37). El gen *s10* que también codifica para

una XET se induce pronunciadamente en las plantas mutantes de *Arabidopsis dim/dwf1* (39). Además, un gen homólogo a *bru1* en el tomate, el LeBR1, tiene una expresión reducida en el mutante deficiente *dpy* y se induce rápidamente (a partir de dos horas) después del tratamiento con el BR (55). Los estudios confirmaron en estos mutantes las pruebas encontradas a inicios de la década de los 90 sobre la regulación de los genes *xets* por los BR.

En relación con otros efectos de los BR, se demostró la alteración de la expresión de genes de respuesta a la luz y al estrés en el mutante deficiente *cpd* (35). En este mutante se observó una ligera inducción de genes, que codifican para la subunidad menor de la enzima RUBISCO y las proteínas de unión a la clorofila *a/b*. Por otra parte, en este mismo mutante *cpd*, se encontró una des-represión de genes asociados a la luz y el estrés, como los que codifican para la chalcona sintasa, la alcohol deshidrogenasa, la lipooxigenasa y algunas proteínas de choque térmico (35).

Recientemente, se ha probado una expresión elevada de proteínas y genes *hsps* en plántulas de *Arabidopsis* de los mutantes *det2-1* y *dwf4* durante el tratamiento térmico y en la recuperación pos-choque térmico; sin embargo, la expresión de los genes *hsps* en estos mutantes respondió poco a la aplicación de la EBL (82). En ausencia del estrés, los mutantes *det2-1* y *cpd* tienen niveles elevados de los genes que codifican para las HSP (82, 83).

En su conjunto, los resultados de la expresión génica obtenidos con el estudio de plantas mutantes y no mutantes, tratadas o no con los BR, son insuficientes para precisar el papel específico de estas hormonas en las plantas. De hecho, se ha evaluado un número reducido de genes regulados por la hormona. Además, varios de los efectos fisiológicos de los BR se confunden con los de otras fito-hormonas; de ahí que los cambios en la expresión génica no tienen necesariamente que originarse de la acción directa de los BR.

A pesar de que la identificación de genes regulados por los BR, a través de la comparación de la respuesta génica entre plantas de genotipo silvestre y mutantes deficientes, ha resultado útil (35, 37); también los efectos secundarios resultantes de las mutaciones pueden comprometer el análisis, de manera que las alteraciones fisiológicas y morfológicas pueden cambiar la expresión génica y generar variaciones muy poco relacionadas específicamente con los efectos primarios de los BR.

En algunos casos, con el uso de los genotipos silvestres tratados o no con los BR (69, 72), la respuesta a estos compuestos puede depender de la presencia de niveles de los BR apropiados y, por tanto, los genes pueden escapar a la identificación. Esta limitación puede contrarrestarse por la comparación de los perfiles de la expresión génica entre las plantas mutantes deficientes tratadas o no con los BR (37, 55). Sin embargo, con la liberación rápida de la planta de una situación de deficiencia de hormona endógena, se pueden disparar algunas respuestas inusuales.

Una estrategia interesante en la búsqueda de los genes que codifican proteínas de las cascadas de la transducción de señales a los BR ha sido la identificación de aquellos genes de respuesta rápida a estos compuestos (72). Estos genes deben mostrar cambios ante la aplicación de los BR, independientes de la síntesis *de novo* de proteínas. Esta investigación se ha hecho frecuentemente a través del análisis de los patrones de la expresión de genes en presencia del inhibidor de la síntesis de proteína (cicloheximida). Sin embargo, este análisis puede obstaculizarse por la presencia de represores de los genes bajo investigación, con un tiempo de vida media corto, que pudieran des-reprimirse independientemente de los BR por la aplicación del inhibidor.

La técnica del microarreglo (microarray) es una herramienta poderosa para conocer sobre la acción hormonal, permitiendo el análisis de la expresión simultánea de numero-

sos genes. Con los primeros microarreglos de los genes regulados por los BR, se establecieron los perfiles de la expresión de estos genes a través del uso de plantas silvestres y mutantes de la *Arabidopsis* (16, 65, 84). En general, se han empleado diferentes materiales, concentraciones y periodos de exposición a la hormona. Así, los microarreglos se realizaron con el uso de los mutantes *dwf1-6* (84), *cpd* y *bri1* (65) y sus correspondientes genotipos silvestres, tratados con la brasinólida.

Los resultados de los microarreglos corroboraron las evidencias previas sobre la represión de los genes de la biosíntesis de los BR ante la aplicación exógena de estos compuestos, sugiriéndose un mecanismo de regulación de los niveles de los BR endógenos por la retroalimentación negativa (43, 56, 57, 60, 85).

En general, se encontró que la respuesta a la brasinólida es moderada (86), detectándose incrementos entre 1-5 veces mientras que la de otras fitohormonas puede variar entre 1-100 veces. Se sugiere que los cambios pequeños en la expresión génica constituyen una parte importante de la respuesta a los BR (86, 87). También se observó que los BR regulan genes de la biosíntesis y el metabolismo de las auxinas, hecho que sugiere la existencia de las interacciones entre ambas hormonas a nivel genético (10). Asimismo, los resultados de los microarreglos fueron consistentes con los efectos de los BR en la regulación del alargamiento celular y el estrés, demostrándose la inducción de genes ligados a la modificación de la pared celular (XET, expansinas, etc), la defensa ante el estrés biótico y abiótico (peroxidasas, quitinasas, proteínas PR), el metabolismo primario del carbono, la distribución de los fotoasimilados, la respuesta a la luz, entre otros. También se detectaron alteraciones en la expresión de genes, que codifican para proteínas transportadoras del nitrógeno, algunos factores de la transcripción, proteínas de la cromatina y de respues-

ta al ácido jasmónico. En conjunto, las pruebas sustentan la participación de los BR en la regulación de múltiples efectos en las plantas por la vía de la expresión génica.

En los próximos años se impone la realización de una caracterización detallada de la expresión de los numerosos genes, en función de la amplia variedad de procesos fisiológicos modulados por estas hormonas. La identificación de los genes de respuesta directa a los BR debe ser la base para la dilucidación de los elementos cis y promotores responsables de regular la expresión de dichos genes. De hecho, recientemente se ha confirmado, en los genes biosintéticos *cpd* y *dwf4*, que la secuencia CGTG(T/C)G puede constituir un elemento cis en las respuestas a los BR y, por tanto, puede funcionar en la regulación de la acción de esta fitohormona (18, 19).

En resumen, puede decirse que si bien la aplicación de los bioensayos constituyó, en los inicios, una herramienta valiosa para revelar los efectos biológicos de estos compuestos (3), actualmente la utilización de la biología molecular puede ayudar a dilucidar los mecanismos de expresión génica en la amplia gama de procesos fisiológicos modulados por esta clase de compuestos.

PERCEPCIÓN Y TRANSDUCCIÓN DE LAS SEÑALES DE LOS BR

Otro campo de atención en el estudio de la acción de las hormonas esteroideas ha sido la búsqueda del posible receptor y los mecanismos de la transducción de las señales a los BR. En el estudio de las hormonas como el etileno (88) y el ácido abscísico (89), los mutantes insensibles han sido útiles para dilucidar cómo estos compuestos se perciben por las plantas y cómo el estímulo hormonal se transmite hacia el interior celular.

En 1996, el grupo de Clouse identificó el primer mutante de *Arabidopsis* insensible a la

brasinólida, por la capacidad de las plantas mutantes de alargar sus raíces en la presencia de las concentraciones inhibitorias del BR (90). La caracterización de este mutante, que se denominó *bri1*, mostró los defectos pleiotrópicos severos de los mutantes deficientes como el enanismo, la des-etiolación, la esterilidad masculina y la morfología foliar alterada; sin embargo, a diferencia de los mutantes biosintéticos, *bri1* no restablece el fenotipo silvestre por la aplicación de BR exógenos (90). Este mutante retiene, no obstante, su sensibilidad a las auxinas, las citoquininas, las giberelinas, el ácido abscísico y el etileno. Por otra parte, se identifica el mutante insensible *cbb2*, que poseyó una mutación alélica a la de *bri1* (37).

La caracterización del mutante permitió el clonaje del gen *bri1*, que tiene una secuencia con elevada homología a la de los genes de las proteínas receptoras quinasa (RLK, siglas en inglés). La posible proteína receptora BRI1 presenta dominios hacia el lado extracelular ricos en el aminoácido leucina, denominados LRR (siglas en inglés), que pueden funcionar en el reconocimiento de las señales extracelulares en la superficie celular. Posteriores estudios corroboraron la evidencia de que la proteína BRI1 es el receptor de los BR en las plantas (91, 92, 93) y demostraron la importancia del dominio extracelular de BRI1, para el reconocimiento de la brasinólida a través del análisis de plantas transgénicas, que expresan una proteína quimérica entre el dominio quinasa del gen *xa21* del arroz y el dominio LRR extracelular del receptor BRI1 (94). Posteriormente, se demostró que los BR se unen directa o indirectamente a la proteína BRI1, para la transducción de la señal (95), unión que ocurre a través de una región específica dentro del dominio extracelular del receptor BRI1 (96).

Se halló una gran similitud entre el dominio extracelular LRR del receptor BRI1 con el de muchas proteínas relacionadas con la resistencia a las enfermedades (11). Esta

evidencia sugiere la existencia de interacciones entre las rutas de la señalización a los esteroides y la resistencia a las enfermedades. De hecho, se conoce que los BR aumentan la resistencia a los ataques de los patógenos (3).

Otra característica de la molécula del receptor BRI1 es la presencia de un dominio citoplasmático con actividad quinasa, indispensable para transmitir la señal hacia el interior celular (11). Este dominio posee los sitios potenciales de fosforilación con residuos de la serina y la treonina, sugiriéndose recientemente que estos sitios pueden utilizarse en la activación de la quinasa a través de la homodimerización del receptor BRI1 (97). Se cree que estos sitios son clave en la transmisión de la señal de los BR (98).

Por otra parte, se observó que la acumulación de la brasinólida (BL) y sus precursores, así como la activación de los genes biosintéticos *dwf4* y *cpd*, es dependiente del receptor BRI1, sugiriéndose que este es importante en la regulación de la biosíntesis de los BR (34). En general, la expresión de los genes de respuesta a los BR necesita del receptor BRI1, aunque algunos genes pueden necesitar de otros mecanismos no necesariamente dependientes de la proteína BRI1 (91). En este sentido, algunos sugieren que se requiere el receptor BRI1 (66), para la represión del gen biosintético *cpd* por retroalimentación negativa en la oscuridad. Sin embargo, la expresión del gen *bri1* es constitutiva y no se altera en respuesta a la luz (11).

Después de la caracterización del mutante *bri1*, la búsqueda subsiguiente de otros mutantes insensibles a la hormona, en las selecciones genéticas independientes, no ha permitido generar los resultados esperados, obteniéndose varias mutaciones alélicas del gen *bri1*; sin embargo, ninguna de estas mutaciones correspondió a otros genes de la percepción y/o la transducción de la señal. Se presumió que este fenómeno se deba a que las mutaciones generadas habrían resultado

redundantes o letales en los genes de la transducción (99).

En la identificación de otros componentes de la señalización por los BR, se han empleado estrategias de análisis de mutantes diferentes, debido a las limitaciones de la selección de los mutantes insensibles en la *Arabidopsis* mencionada anteriormente. Esto permitió que, durante el 2002, en dos artículos publicados en la revista Cell, investigadores (12, 13) informaran la segunda proteína quinasa (RLK) con dominios ricos en leucina (LRR) relacionada con la percepción de los BR, denominada BAK1. La interacción directa de las proteínas BRI1 y BAK1, a través de la formación de un heterodímero entre ambas proteínas, se confirmó en levadura y *Arabidopsis*, mostrando estas quinasas un patrón de expresión similar en todos los tejidos de la planta (100). Posteriormente, otros también corroboran la heterodimerización BRI1-BAK1 (101), demostrándose que esta se asocia con la señalización en respuesta a la hormona. De hecho, se encontró que la fosforilación *in vivo* de las proteínas BRI1 y BAK1 se incrementa en respuesta a la brasinólida y se inhibe al reducirse el contenido de la hormona por tratamiento de un inhibidor de la biosíntesis endógena de los BR. Se ha sugerido que la proteína BAK1 participa en la activación del receptor BRI1 y en la transducción de la señal desde el receptor hacia el interior celular (99).

En general, se desconoce el mecanismo de la activación del complejo receptor BRI1. Una hipótesis sugiere la heterodimerización BRI1-BAK1 inducida por los BR; mientras que una segunda teoría plantea que los monómeros de BRI1 interactúan para formar homo-dímeros y que no se requiere inicialmente BAK1 para que el receptor reconozca al ligando (20).

El re-examen de los mutantes enanos que se obtuvieron en la selección de los genotipos insensibles a los BR permitió informar, en el 2001, el mutante *bin2*, que en el estado de homocigocis posee un fenotipo similar a *bri1* (102). A diferencia de los

alelos *bri1*, el mutante *bin2* provino de una mutación semi-dominante, que dio lugar a una ganancia de función con efecto inhibitorio en la señalización por los BR.

Posteriormente, se demostró que el gen *bin2* codifica para una quinasa Serina-Treonina citoplasmática, comprobándose a través de enfoques genéticos y bioquímicos que la proteína BIN2 constituye un regulador negativo de la señalización por los BR (14). La sobre-expresión del gen *bin2* también inhibió la señales de los BR, mientras que la supresión de este suprimió la mutación *bri1* (14, 15), sugiriéndose que la actividad de esta proteína se reduce ante la percepción de los BR por el receptor BRI1, lo cual ocurre a través de un mecanismo de degradación de proteínas mediado proteosoma (103). Posteriormente, se probó que al menos dos proteínas quinasas pueden actuar con BIN2 en la regulación negativa de la señalización por los BR (104). Es importante señalar que las proteínas BRI1 y BAK1 no interactúan ni fosforilan directamente a la quinasa BIN2, sugiriéndose que otras proteínas señalizadoras participan en la desactivación de esta última (20).

Recientemente, se presentó otro regulador negativo de la señalización por los BR, la proteína inhibidora del receptor BRI1 denominada, BKI1. La sobre-expresión del gen *bki1* produjo plantas enanas con una reducción de la sensibilidad a los BR, mientras que el silenciamiento de este gen generó las plantas con el hipocotilo largo (105). No obstante, se desconoce el mecanismo de acción de la proteína BKI1, aunque se ha especulado que la unión de los BR al complejo receptor BRI1 causa la liberación de la proteína BKI1 (105).

Por otra parte, en una estrategia de selección basada en la búsqueda de los supresores de los mutantes *bri1* y de las mutaciones resistentes al inhibidor de la biosíntesis de los BR (brassinazole), se identificaron los mutantes semi-dominantes o dominantes, *bes1-D* y *bzr1-D*. Estos mostraron los peciolos

largos, las hojas rugosas, la senescencia acelerada y una expresión constitutiva de los genes regulados por los BR (16, 17). Las proteínas BES1 y BZR1 comparten un 88 % de identidad en su secuencia aminoacídica y ambas exhiben las señales nucleares y las secuencias consenso múltiples de los posibles sitios de fosforilación, demostrándose, *in vivo* e *in vitro*, que la proteína BIN2 fosforila estas proteínas quinasas (16, 106). Se ha sugerido que la fosforilación catalizada por BIN2 de las proteínas nucleares BES1 y BZR1 regula negativamente la señalización por los BR a través de la degradación nuclear de estas últimas proteínas, su translocación y retención en el citoplasma y, consecuentemente, la inhibición de la actividad de unión al ADN de estas dos proteínas (20, 107). Los estados de la fosforilación y des-fosforilación de estas proteínas se afectan rápidamente por los tratamientos con la brasinólida (16, 17) y estos también pueden regularse por una fosfatasa específica de las plantas BSU1 (108) y por la acción de proteínas reguladoras de la transducción de las señales denominadas 14-3-3 (107). Recientemente, se demostró que las proteínas BES1 y BZR1 son capaces de unirse directamente a secuencias cis reguladoras dentro de genes de respuesta a los BR (18, 19). Sin embargo, parece ser que los mecanismos de acción de BES1 y BZR1 son distintos. Así, la primera proteína es capaz de unirse a la secuencia CANNTG localizada en el promotor SAUR-AC1, responsable de la inducción de la expresión génica (18). Por su parte, la proteína BZR1 se une a la secuencia CGTG(T/C)G de los promotores de los genes *cpd* y *dwf4*, para suprimir la expresión de estos (19). A pesar de los avances descritos, quedan por dilucidarse aspectos esenciales sobre los mecanismos de acción de las proteínas BES1 y BZR1 en la transducción de las señales a los BR.

A pesar de que se han caracterizado algunas proteínas de la transducción de las señales por los

BR en otras especies, los avances más significativos se han realizado en la identificación de los homólogos del receptor BRI1. En particular, la caracterización de mutantes insensibles a los BR y el estudio de los mecanismos de la percepción y la transducción de señales a esta hormona ha comenzado a realizarse principalmente en el tomate y el arroz. En el tomate, se identificó el mutante insensible *cu3*, por la capacidad de las plantas de alargar sus raíces en presencia de 24-epibrasinólida (55). Las plantas de este mutante presentan enanismo extremo, alteración de la morfología foliar, defecto en la foto-morfogénesis, contenido de BR endógeno elevado y reducción de la fertilidad, características similares a las encontradas en el mutante *bri1* (55). Se caracteriza el mutante *cu3* (109), demostrándose que la mutación codifica para la proteína homóloga del receptor BRI1 en el tomate, denominada tBRI1. Ellos corroboran que el gen *tbri1* también codifica para una proteína quinasa del tipo LRR-RLK y su defecto se origina por una mutación sin sentido en este gen.

Por otra parte, también en el tomate se identificó el mutante *abs1*, que mostró ser parcialmente insensible a los BR. La mutación *abs1* corresponde a un alelo recesivo débil del mutante insensible *cu3* y contiene una mutación sin sentido en el dominio quinasa del receptor, responsable del defecto en la actividad receptora de este mutante (109). El contenido de los BR y la expresión de los genes biosintéticos son elevados en este mutante insensible (109). La comparación de la secuencia del receptor con la de su homólogo BRI1 de la *Arabidopsis* demostró una gran homología en las regiones correspondientes al dominio quinasa y de transmembrana. Se encontró que la proteína tBRI1 es también un posible receptor de la sistemina, polipéptido regulador de la respuesta al ácido jasmónico en las solanáceas.

En el arroz, también se caracterizó un mutante insensible a los

BR, el *d61* (110). El gen responsable de la mutación (*osbri1*) codifica para una proteína quinasa receptora (RLK), similar al gen *bri1* de la *Arabidopsis*. Los resultados de la caracterización del gen *osbri1* demostraron que su expresión fue más abundante en las plantas crecidas en la oscuridad y en los entrenudos en crecimiento (110).

En resumen, puede afirmarse que la identificación de componentes de la percepción y la transducción de la señal a los BR se encuentran en sus inicios, lográndose hasta la fecha la caracterización del receptor y unas pocas proteínas reguladoras.

CONCLUSIONES

- ★ Los científicos que se dedican a la Biología Vegetal han sido testigos de los progresos recientes en el área de la biosíntesis y los mecanismos de acción de los brasinoesteroides, especialmente a partir de la década de los 90, cuando aparecen publicados los primeros estudios relacionados con la biología molecular de estas hormonas esteroidales. Sin embargo, aún los resultados son insuficientes para la comprensión del papel de las hormonas esteroidales en las plantas. En particular, las limitaciones que se han encontrado hasta la fecha para la obtención de mutantes deficientes e insensibles a los brasinoesteroides, sugieren la necesidad de utilizar nuevas herramientas para la mejor caracterización de la biosíntesis y la transducción de las señales.
- ★ La caracterización química y el marcaje isotópico de los distintos intermediarios para la dilucidación de las etapas de la ruta de biosíntesis de los brasinoesteroides dieron lugar al aislamiento y la caracterización de algunas de las enzimas de la biosíntesis. Sin embargo, este último aspecto ha estado limitado por las complejidades técnicas del análisis bioquímico de las monooxigenasas dependientes del citP4550 en las

plantas. A pesar de los progresos descritos, en estos momentos se desconocen las enzimas específicas de varias reacciones de la ruta de la biosíntesis, sus especificidades por los diferentes intermediarios y una actividad enzimática de estas monooxigenasas citP450.

- ★ Hasta el momento los estudios han indicado la participación de proteínas quinasas específicas en las cascadas de la percepción y transducción de las señales a las hormonas esteroidales. Sin embargo, se conoce poco sobre los eventos que median desde el reconocimiento de la hormona por el receptor BRI1 en la superficie de la membrana citoplasmática hasta la activación de los efectores. La obtención y el análisis de mutaciones dirigidas a sitios clave de las proteínas de la transducción, la caracterización de sus interacciones *in vivo* e *in vitro*, entre otros enfoques, puede ayudar a la dilucidación de las rutas de la transducción de las señales.
- ★ Por otra parte, la disponibilidad de los datos de genómica de los brasinoesteroides ha demostrado la gran diversidad de genes de respuesta a esta hormona. Sin embargo, no debe olvidarse que en esta expresión génica puede combinarse el efecto primario de los BR y el de otras hormonas como las auxinas, el etileno y el ácido jasmónico. No obstante, se prevé que la información obtenida por los microarreglos y los resultados recientes de proteómica de los BR constituirá una herramienta importante en el futuro cercano, para una mejor comprensión de los mecanismos moleculares de acción, no solamente de los compuestos naturales sino también de los análogos sintéticos de los BR.

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestro más profundo agradecimiento a la Dra.C. Esther

Diosdado, de la facultad de Biología de la Universidad de La Habana, por su ayuda técnica en la confección de esta revisión bibliográfica y al Ms.C. Omar Cartaya, del departamento de Fisiología Vegetal del INCA, por su ayuda en la elaboración de las estructuras químicas.

REFERENCIAS

- Grove, M. D.; Spencer, G. F.; Rohwedder, W. K.; Mandava, N.; Worley, J. F.; Warthen, J. D.; Steffens, G. L.; Flippen-Anderson, J. L. y Cook, J. C. Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from *Brassica napus* pollen. *Nature*, 1979, vol. 281, p. 216-217.
- Fujioka, S. y Sakurai, A. Biosynthesis and metabolism of brassinosteroids. *Physiol. Plant.*, 1997, vol. 100, p. 710-715.
- Mandava, N.B. Plant growth-promoting brassinosteroids. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1988, vol. 39, p. 23-52.
- Bajguz, A. y Tretny, A. The chemical characteristic and distribution of brassinosteroids in plants. *Phytochemistry*, 2003, vol. 62, p. 1027-1046.
- Wada, K.; Marumo, S.; Abe, H.; Morishita, T.; Nakamura, K.; Uchiyama, M. y Mori, K. A rice lamina inclination test: A microquantitative bioassay for brassinosteroids. *Agric. Biol. Chem.*, 1984, vol. 48, p. 719-726.
- Mitchell, J. W. y Livingston, G. A. Methods of studying plant hormones and growth regulating substances. Washington: Agricultural Research Service. United States Department of Agriculture, 1968 (Agricultural Handbook, 336).
- Clouse, S. D. Molecular genetic studies confirm the role of brassinosteroids in plant growth and development. *The Plant J.*, 1996, vol. 10, p. 1-8.
- Clouse, S. D. Molecular genetic analysis of brassinosteroid action. *Physiol. Plant.*, 1997, vol. 100, p. 702-709.
- Fujioka, S.; Noguchi, T.; Takatsuto, S. y Yoshida, S. Activity of brassinosteroid in the dwarf rice lamina inclination bioassay. *Phytochem.*, 1998, vol. 49, p. 1841-1848.
- Clouse, S. D. y Sasse, J. Brassinosteroids: Essential regulators of plant growth and development. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1998, vol. 49, p. 427-451.
- Li, J. y Chory, J. A putative leucine-rich repeat receptor kinase involved in brassinosteroid signal transduction. *Cell*, 1997, vol. 90, p. 929-938.
- Li, J.; Wen, J.; Lease, K. A.; Doke, J. T.; Tax, F. E. y Walker, J. C. BAK1, an *Arabidopsis* LRR receptor like protein kinase, interacts with BRI1 and modulates brassinosteroid signaling. *Cell*, 2002, vol. 110, p. 213-222.
- Nam K. H. y Li, J. BRI1/BAK1, a receptor kinase pair mediating brassinosteroid signaling. *Cell*, 2002, vol. 110, p. 203-212.
- Li, J. y Nam, K. H. Regulation of brassinosteroid signaling by a GSK3/SHAGGY-like kinase. *Science*, 2002, vol. 295, p. 1299-1301.
- Pérez-Pérez, J. M.; Ponce, M. R. y Micol, J. L. The UCU1 *Arabidopsis* gene encodes a SHAGGY/GSK3-like kinase required for cell expansion along the proximodistal axis. *Dev Biol.*, 2002, vol. 242, p. 161-173.
- Yin, Y.; Wu, D. y Chory, J. Plant receptor kinases: systemin receptor identified. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, vol. 99, p. 9090-9092.
- Wang, Z. Y.; Nakano, T.; Gendron, J.; He, J.; Chen, M.; Vafeados, D.; Yang, Y.; Fujioka, S.; Yoshida, S.; Asami, T. y Chory, J. Nuclear-localized BZR1 mediates brassinosteroid-induced growth and feedback suppression of brassinosteroid biosynthesis. *Dev Cell*, 2002, vol. 2, p. 505-513.
- Yin, Y.; Vafeados, D.; Tao, Y.; Yoshida, S.; Asami, T. y Chory, J. A new class of transcription factors mediates brassinosteroid-regulated gene expression in *Arabidopsis*. *Cell*, 2005, vol. 120, p. 249-259.
- He, J. X.; Gendron, J. M.; Sun, Y.; Gampala, S. S.; Gendron, N.; Sun, C. Q.; y Wang, Z. Y. BZR1 is a transcriptional repressor with dual roles in brassinosteroid homeostasis and growth responses. *Science*, 2005, vol. 307, p. 1634-1638.
- Li, J. y Jin, H. Regulation of brassinosteroid signaling. *Trends Plant Sci.*, 2007, vol. 12, p. 37-41.
- Ikekawa, N., Zhao, Y. J. Application of 24-epibrassinolide in agriculture. En: *Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity and Applications* Washington: American Chemical Society, 1991, p. 280-291.
- Khripach, V. A.; Zhabinskii, V. y Groot, A. E. de. *Brassinosteroids, a new class of plant hormones*. San Diego: Academic Press, 1999.
- Yokota, T.; Ogino, Y.; Takahashi, N.; Saimoto, H.; Fujioka, S. y Sakurai, A. brassinolide is biosynthesized from castasterone in *Catharanthus roseus* crown gall cells. *Agric. Biol. Chem.*, 1990, vol. 54, p. 1107-1108.
- Suzuki, H.; Fujioka, S.; Takatsuto, S.; Yokota, T.; Murofushi, N. y Sakurai, A. Biosynthesis of brassinosteroids in seedlings of *Catharanthus roseus*, *Nicotiana tabacum* and *Oryza sativa*. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1995, vol. 51, p. 168-172.
- Suzuki, H.; Fujioka, S.; Takatsuto, S.; Yokota, T.; Murofushi, N. y Sakurai, A. Biosynthesis of brassinolide from teasterone via typhasterol and castasterone in cultured cells of *Catharanthus roseus*. *J. Plant Growth Regul.*, 1994, vol. 13, p. 21-26.
- Griffiths, P. G.; Sasse, J. M.; Yokota, T. y Cameron, D. W. 6-Deoxytyphasterol and 3-dehydro-6-deoxyteasterone, possible precursors to brassinosteroids in the pollen of *Cupressus arizonica*. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1995, vol. 59, p. 956-959.
- Choi, Y.-H.; Fujioka, S.; Harada, A.; Yokota, T.; Takatsuto, S. y Sakurai, A. A brassinolide biosynthetic pathway via 6-deoxocastasterone. *Phytochem.*, 1996, vol. 43, p. 593-596.
- Fujioka, S.; Noguchi, T.; Yokota, T.; Takatsuto, S. y Yoshida, S. Brassinosteroids in *Arabidopsis thaliana*. *Phytochem.*, 1998, vol. 48, p. 595-599.
- Fujioka, S. y Yokota, T. Biosynthesis and metabolism of brassinosteroids. *Ann. Rev. Plant Biol.*, 2003, vol. 54, p. 137-164.
- Fujioka, S.; Takatsuto, S. y Yoshida, S. An early C-22 oxidation branch in the brassinosteroid biosynthetic pathway. *Plant Physiol.*, 2002, vol. 130, p. 930-939.

31. Li, J.; Nagpal, P.; Vitart, V.; McMorris, T. C. y Chory, J. A role for brassinosteroids in light-dependent development of *Arabidopsis*. *Science*, 1996, vol. 272, p. 398–401.
32. Li, J.; Biswas, M. G.; Chao, A.; Russell, D. W. y Chory, J. Conservation of function between mammalian and plant steroid 5 α -reductases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, vol. 94, p. 3554–3559.
33. Fujioka, S.; Li, J.; Choi, Y. H.; Seto, H.; Takatsuto, S.; Noguchi, T.; Watanabe, T.; Kuriyama, H.; Yokota, T.; Chory, J. y Sakurai, A. The *Arabidopsis* deetiolated2 mutant is blocked early in brassinosteroid biosynthesis. *Plant Cell*, 1997, vol. 9, p. 1951–1962.
34. Noguchi, T.; Fujioka, S.; Choe, S.; Takatsuto, S.; Yoshida, S.; Yuan, H.; Feldmann, K. A. y Tax, F. E. Brassinosteroid-insensitive dwarf mutants of *Arabidopsis* accumulate brassinosteroids. *Plant Physiol.*, 1999, vol. 121, p. 743–752.
35. Szekeres, M.; Nemeth, K.; Koncz-Kalman, Z.; Mathur, J.; Kauschmann, A.; Altmann, T.; Redei, 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.
36. Altmann, T.; Felix G.; Jessop A.; Kauschmann A.; Uwer U.; Pena-Cortes H. y Willmitzer L. 1995. Ac/Ds transposon mutagenesis in *Arabidopsis thaliana*: mutant spectrum and frequency of Ds insertion mutants. *Mol. Gen. Genet.*, 1995, vol. 247, p. 646–652.
37. Kauschmann, A.; Jessop, A.; Koncz, C.; Szekeres, M.; Willmitzer, L. y Altmann, T. Genetic evidence for an essential role of brassinosteroids in plant development. *Plant J.*, 1996, vol. 9, p. 701–713.
38. Takahashi, T.; Gasch, A.; Nishizawa, N. y Chua, N-H. The *DIMINUTO* gene of *Arabidopsis* is involved in regulating cell elongation. *Genes Dev.*, 1995, vol. 9, p. 97–107.
39. Klahre, U.; Noguchi, T.; Fujioka, S.; Takatsuto, S.; Yokota, T.; Nomura, T.; Yoshida, S. y Chua, N. H. The *Arabidopsis* *DIMINUTO/DWARF1* gene encodes a protein involved in steroid synthesis. *Plant Cell*, 1998, vol. 10, p. 1677–1690
40. Choe, S.; Dilkes, B. P.; Gregory, B. D.; Ross, A. S.; Yuan, H.; Noguchi, T.; Fujioka, S.; Takatsuto, S.; Tanaka, A.; Yoshida, S.; Tax, F. E. y Feldmann, K. A. The *Arabidopsis* dwarf1 mutant is defective in the conversion of 24-methylenecholesterol to campesterol in brassinosteroid biosynthesis. *Plant Physiol.*, 1999, vol. 119, p. 897–907.
41. Azpiroz, R.; Wu, Y.; LoCascio, J. C. y Feldmann, K. A. An *Arabidopsis* brassinosteroid-dependent mutant is blocked in cell elongation. *Plant Cell*, 1998, vol. 10, p. 219–230.
42. Choe, S.; Dilkes, B. P.; Fujioka, S.; Takatsuto, S.; Sakurai, A.; Feldmann, K. A. The *DWF4* gene of *Arabidopsis* encodes a cytochrome P450 that mediates multiple 22 α -hydroxylation steps in brassinosteroid biosynthesis. *Plant Cell*, 1998, vol. 10, p. 231–243.
43. Choe, S.; Fujioka, S.; Noguchi, T.; Takatsuto, S.; Yoshida, S. y Feldmann, K. A. Overexpression of *DWARF4* in the brassinosteroid biosynthetic pathway results in increased vegetative growth and seed yield in *Arabidopsis*. *Plant J.*, 2001, vol. 26, p. 573–582.
44. Fujita, S.; Ohnishi, T.; Watanabe, B.; Yokota, T.; Takatsuto, S.; Fujioka, S.; Yoshida, S.; Sakata, K. y Mizutani, M. *Arabidopsis* CYP90B1 catalyzes the early C-22 hydroxylation of C27, C28 and C29 sterols. *The Plant J.*, 2006, vol. 45, p. 765–774.
45. Choe, S.W.; Noguchi, T.; Fujioka, S.; Takatsuto, S.; Tissier, C.P.; Gregory, B.D.; Ross, A.S.; Tanaka, A.; Yoshida, S.; Tax, F.E. y Feldmann, F.A. The *Arabidopsis* *dwf7/ste1* mutant is defective in the delta7 sterol C-5 desaturation step leading to brassinosteroid biosynthesis. *Plant Cell*, 1999, vol. 11, p. 207–221.
46. Serrano-Cartagena, J.; Robles, P.; Ponce, M.R. y Micol, J. L. Genetic analysis of leaf form mutants from the *Arabidopsis* Information Service collection. *Mol. Gen. Genet.*, 1999, vol. 261, p. 725–739.
47. Kim, G. T.; Tsukaya, H. y Uchimiya, H. The *ROTUNDIFOLIA3* gene of *Arabidopsis thaliana* encodes a new member of the cytochrome P-450 family that is required for the regulated polar elongation of leaf cells. *Genes Dev.*, 1998, vol. 12, p. 2381–2391.
48. Bishop, G. J.; Nomura, T.; Yokota, T.; Harrison, K.; Noguchi, T.; Fujioka, S.; Takatsuto, S.; Jones, J. D. y Kamiya, Y. The tomato *DWARF* enzyme catalyzes C-6 oxidation in brassinosteroid biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, vol. 96, p. 1761–1766.
49. Nomura, T.; Nakayama, M.; Reid, J. B.; Takeuchi, Y. y Yokota, T. Blockage of brassinosteroid biosynthesis and sensitivity causes dwarfism in garden pea. *Plant Physiol.*, 1997, vol. 113, p. 31–37.
50. Nomura, T.; Kitasaka, Y.; Takatsuto, S.; Reid, J. B.; Fukami, M. y Yokota, T. Brassinosteroid/sterol synthesis and plant growth as affected by *lka* and *lkb* mutations of pea. *Plant Physiol.*, 1999, vol. 119, p. 1517–1526.
51. Shimada, Y.; Fujioka, S.; Miyauchi, N.; Kushiro, M.; Takatsuto, S.; Nomura, T.; Yokota, T.; Kamiya, Y.; Bishop, G. J. y Yoshida, S. Brassinosteroid-6-oxidases from *Arabidopsis* and tomato catalyze multiple C-6 oxidations in brassinosteroid biosynthesis. *Plant Physiol.*, 2001, vol. 126, p. 770–779.
52. Shimada, Y.; Goda, H.; Nakamura, A.; Takatsuto, S.; Fujioka, S. y Yoshida, S. organ-specific expression of brassinosteroid-biosynthetic genes and distribution of endogenous brassinosteroids in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, 2003, vol. 131, p. 287–297.
53. Kim, G. T.; Fujioka, S.; Kozuka, T.; Tax, F. E.; Takatsuto, S.; Yoshida, S. y Tsukaya, H. CYP90C1 and CYP90D1 are involved in different steps in the brassinosteroid biosynthesis pathway in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.*, 2005, vol. 41, p. 710–721.
54. Nomura, T.; Kushiro, T.; Yokota, T.; Kamiya, Y.; Bishop, G. J. y Yamaguchi, S. The last reaction producing brassinolide is catalyzed by cytochrome P-450s, CYP85A3 in tomato and CYP85A2 in *Arabidopsis*. *J Biol Chem.*, 2005, vol. 280, p. 17873–17879.

55. Koka, C. V.; Cerny, R.E.; Gardner, R. G.; Noguchi, T.; Fujioka, S.; Takatsuto, S.; Yoshida, S. y Clouse, S.D. A putative role for the tomato genes DUMPY and CURL-3 in brassinosteroid biosynthesis and response. *Plant Physiol.*, 2000, vol. 122, p. 85–98.
56. Hong, Z.; Ueguchi-Tanaka, M.; Shimizu-Sato, S.; Inukai, Y.; Fujioka, S.; Shimada, Y.; Takatsuto, S.; Agetsuma, M.; Yoshida, S.; Watanabe, Y.; Uozu, S.; Kitano, H.; Ashikari, M. y Matsuoka, M. Loss-of-function of a rice brassinosteroid biosynthetic enzyme, C-6 oxidase, prevents the organized arrangement and polar elongation of cells in the leaves and stem. *Plant J.*, 2002, vol. 32, p. 495–508.
57. Hong, Z.; Ueguchi-Tanaka, M.; Umemura, K.; Uozu, S.; Fujioka, S.; Takatsuto, S.; Yoshida, S.; Ashikari, M.; Kitano, H. y Matsuoka, M. A rice brassinosteroid-deficient mutant, ebisu dwarf (d2), is caused by a loss of function of a new member of cytochrome P450. *Plant Cell*, 2003, vol. 15, p. 2900–2910.
58. Tanabe, S.; Ashikari, M.; Fujioka, S.; Takatsuto, S.; Yoshida, S.; Yano, M.; Yoshimura, A.; Kitano, H.; Matsuoka, M.; Fujisawa, Y.; Kato, H. y Iwasaki, Y.A. novel cytochrome P450 is implicated in brassinosteroid biosynthesis via the characterization of a rice dwarf mutant, dwarf11, with reduced seed length. *Plant Cell*, 2005, vol. 17, p. 776–790.
59. Hong, Z.; Ueguchi-Tanaka, M.; Fujioka, S.; Takatsuto, S.; Yoshida, S.; Hasegawa, Y.; Ashikari, M.; Kitano, H. y Matsuoka, M. The rice brassinosteroid-deficient dwarf2 mutant, defective in the rice homolog of *Arabidopsis* DIMINUTO/DWARF1, is rescued by the endogenously accumulated alternative bioactive brassinosteroid, dolichosterone. *Plant Cell*, 2005, vol. 17, p. 2243–2254.
60. Kim, H.B.; Kwon, M.; Ryu, H.; Fujioka, S.; Takatsuto, S.; Yoshida, S.; An, C. S.; Lee, I.; Hwang, I. y Choe, S. The regulation of DWARF4 expression is likely a critical mechanism in maintaining the homeostasis of bioactive brassinosteroids in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, 2006, vol. 140, p. 548–557.
61. Nomura, T.; Sato, T.; Bishop, G. J.; Kamiya, Y.; Takatsuto, S. y Yokota, T. Accumulation of 6-deoxocathasterone and 6-deoxocastasterone in *Arabidopsis*, pea and tomato is suggestive of common rate-limiting steps in brassinosteroid biosynthesis. *Phytochem.*, 2001, vol. 57, p. 171–178.
62. Pien, S.; Wyrzykowska, J.; McQueen-Mason, S.; Smart, C. y Fleming, A. Local expression of expansion induces the entire process of leaf development and modifies leaf shape. *Plant Physiol.*, 2001, vol. 98, p. 11812–11817.
63. Castle, J.; Szekeres, M.; Jenkins, G. y Bishop, G. J. Unique and overlapping expression patterns of *Arabidopsis* CYP85 genes involved in brassinosteroid C-6 oxidation. *Plant Mol. Biol.*, 2005, vol. 57, p. 129–140.
64. Montoya, T.; Nomura, T.; Yokota, T.; Farrar, K.; Harrison, K.; Jones, J. G. D.; Kaneta, T.; Kamiya, Y.; Szekeres, M. y Bishop, G. J. Patterns of Dwarf expression and brassinosteroid accumulation in tomato reveal the importance of brassinosteroid synthesis during fruit development. *Plant J.*, 2005, vol. 42, p. 262–269.
65. Goda, H.; Shimada, Y.; Asami, T.; Fujioka, S. y Yoshida, S. Microarray analysis of brassinosteroid-regulated genes in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, 2002, vol. 130, p. 1319–1334.
66. Bancos, S.; Szatmári, A. M.; Castle, J.; Kozma-Bognár, L.; Shibata, K.; Yokota, T.; Bishop, G.; Nagy, F. y Szekeres, M. Diurnal Regulation of the Brassinosteroid-Biosynthetic CPD Gene in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, 2006, vol. 141, p. 299–309.
67. Yang, X.H.; Xu, Z.H. y Xue, H.W. *Arabidopsis* membrane steroid-binding protein 1 is involved in inhibition of cell elongation. *Plant Cell*, 2005, vol. 17, p. 116–131.
68. Symons, G. M.; Davies, C.; Shavrukov, Y.; Dry, I. B.; Reid, J. B. y Thomas, M. R. Grapes on steroids. Brassinosteroids are involved in grape berry ripening. *Plant Physiol.*, 2006, vol. 140, p. 150–158.
69. Zurek, D. M.; Rayle, D. L.; McMorris, T. C. y Clouse, S. D. Investigation of gene expression, growth kinetics, and wall extensibility during brassinosteroid-regulated stem elongation. *Plant Physiol.*, 1994, vol. 104, p. 505–513.
70. Zurek, D. M. y Clouse, S. D. Molecular cloning and characterization of a Brassinosteroid regulated gene from elongating soybean (*Glycine max* L.) epicotyls. *Plant Physiol.*, 1994, vol. 104, p. 161–170.
71. Oh, M. H.; Romanow, W. G.; Smith, R. C.; Zamski, E.; Sasse, J. y Clouse, S. D. Soybean *BRU1* encodes a functional xyloglucan endotransglycosylase that is highly expressed in inner epicotyl tissues during brassinosteroid-promoted elongation. *Plant Cell Physiol.*, 1998, vol. 39, p. 124–130.
72. Xu, W.; Purugganan, M. M.; Polisenky, D. H.; Antosiewicz, D. W.; Fry, S. C. y Braam, J. *Arabidopsis* TCH4, regulated by hormones and the environment, encodes a xyloglucan endotransglycosylase. *Plant Cell*, 1995, vol. 7, p. 1555–1567.
73. Catala, C.; Rose, J. y Benneth, A. Auxin-regulation and spatial localization of an endo-1,4-b-D-glucanase and a xyloglucan endotransglycosylase in expanding tomato hypocotyls. *Plant J.*, 1997, vol. 12, p. 417–426.
74. Yi, H. C.; Joo, S.; Nam, K. H.; Lee, J. S.; Kang, B. G. y Kim, W. T. Auxin and brassinosteroid differentially regulate the expression of three members of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene family in mung bean (*Vigna radiata* L.). *Plant Mol. Biol.*, 1999, vol. 41, p. 443–454.
75. Müssig, C.; Biesgen, C.; Lisso, J.; Uwer, U.; Weiler, E. y Altmann, T. A novel stress-inducible 12-oxophytodienoate reductase from *Arabidopsis thaliana* provides a potential link between brassinosteroid-action and jasmonic-acid synthesis. *J Plant Physiol.*, 2000, vol. 157, p. 143–152.
76. Bouquin, T.; Meier, C.; Foster, R.; Nielsen, M. E. y Mundy, J. Control of specific gene expression by gibberellin and brassinosteroid. *Plant Physiol.*, 2001, vol. 127, p. 450–458.

77. Hu, Y. X.; Bao, F. y Li, J. Y. Promotive effect of brassinosteroids on cell division involves a distinct CycD3-induction pathway in *Arabidopsis*. *Plant J.*, 2000, vol. 24, p. 693–701.
78. Wilen, R. W.; Sacco, M.; Gusta, L. V. y Krishna, P. Effects of 24-epibrassinolide on freezing and thermotolerance of bromegrass (*Bromus inermis*) cell cultures. *Physiol. Plant.*, 1995, vol. 95, p. 195–202.
79. Dhaubhadel, S.; Chaudhary, S.; Dobinson, K. F. y Krishna, P. Treatment with 24-epibrassinolide, a brassinosteroid, increases the basic thermotolerance of *Brassica napus* and tomato seedlings. *Plant Mol. Biol.*, 1999, vol. 40, p. 333–342.
80. 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.
81. Singh, I. y Shono, M. Physiological and molecular effects of 24-epibrassinolide, a brassinosteroid, on thermotolerance of tomato. *Plant Growth Regul.*, 2005, vol. 47, p. 111–119.
82. Kagale, S.; Divi, U. K.; Krochko, J. E.; Séller, 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.
83. Szekeres, M. y Koncz, C. Biochemical and genetic analysis of brassinosteroid metabolism and function in *Arabidopsis*. *Plant Physiol. Biochem.*, 1998, vol. 36, p. 145–155.
84. Mussig, C.; Fischer, S. y Altmann, T. Brassinosteroid-regulated gene expression. *Plant Physiol.*, 2002, vol. 129, p. 1241–1251.
85. Mathur, J.; Molnar, G.; Fujioka, S.; Takatsuto, S.; Sakurai, A.; Yokota, T.; Adam, G.; Voigt, B.; Nagy, F.; Maas C.; Schell, J., Koncz, C. y Szekeres, M. Transcription of the *Arabidopsis* CPD gene, encoding a steroidogenic cytochrome P450, is negatively controlled by brassinosteroids. *Plant J.*, 1998, vol. 14, p. 593–602.
86. Nemhauser, J. L. y Chory, J. Bring it on: new insights into the mechanism of brassinosteroid action. *J. Exp. Bot.*, 2004, vol. 55, p. 265–270.
87. Friedrichsen, D. M.; Nemhauser, J.; Muramitsu, T.; Maloof, J. N.; Alonso, J.; Ecker, J. R.; Furuya, M. y Chory, J. Three redundant brassinosteroid early response genes encode putative bHLH transcription factors required for normal growth. *Genetics*, 2002, vol. 162, p. 1445–1456.
88. Ecker J. R. The ethylene signal transduction pathway in plants. *Science*, 1995, vol. 268, p. 667–675.
89. Finkelstein, R. R., Zeevart, J. A. D. In: *Arabidopsis*, eds. Meyerowitz E. M., Somerville C. R. Plainview, NY, Cold Spring Harbor Lab. Press, 1994, 553 p.
90. Clouse, S. D.; Langford, M. y McMorris, T. C. A brassinosteroid-insensitive mutant in *Arabidopsis thaliana* exhibits multiple defects in growth and development. *Plant Physiol.*, 1996, vol. 111, p. 671–678.
91. Friedrichsen, D. M. y Chory, J. Steroid signaling in plants: from the cell surface to the nucleus. *BioEssays*, 2001, vol. 23, p. 1028–1036.
92. Li, J. y Chory, J. Brassinosteroid actions in plants. *J. Exp. Bot.*, 1999, vol. 50, p. 332–340.
93. Friedrichsen, D. M.; Joazeiro C. A.; Li, J.; Hunter, T. y Chory, J. Brassinosteroid insensitive-1 is a ubiquitously expressed leucine-rich repeat receptor serine/threonine kinase. *Plant Physiol.*, 2000, vol. 123, p. 1247–1256.
94. Oh, M. H.; Ray, W. K.; Huber, S. C.; Asara, J. M.; Gage, D. A. y Clouse, S. D. Recombinant brassinosteroid insensitive 1 receptor-like kinase autophosphorylates on serine and threonine residues and phosphorylates a conserved peptide motif *in vitro*. *Plant Physiol.*, 2000, vol. 124, p. 751–766.
95. He, Z.; Wang, Z. Y.; Li, J.; Zhu, Q.; Lamb, C.; Ronald, P. y Chory, J. Perception of brassinosteroids by the extracellular domain of the receptor kinase BRI1. *Science*, 2000, vol. 288, p. 2360–2363.
96. Kinoshita, T.; Cano-Delgado, A.; Seto, H.; Hiranuma, S.; Fujioka, S.; Yoshida, S. y Chory, J. Binding of brassinosteroids to the extracellular domain of plant receptor kinase BRI1. *Nature*, 2005, vol. 433 p. 167–171.
97. Wang, X.; Li, X.; Meisenhelder, J.; Hunter, T.; Yoshida, S.; Asami, T. y Chory, J. Autoregulation and homodimerization are involved in the activation of the plant steroid receptor BRI1. *Dev. Cell*, 2005b, p. 855–865.
98. Wang, Z. Y.; Seto, H.; Fujioka, S.; Yoshida, S. y Chory, J. BRI1 is a critical component of a plasma-membrane receptor for plant steroids. *Nature*, 2001, vol. 410, p. 380–383.
99. Wang, X.; Goshe, M. B.; Soderblom, E. J.; Phinney, B. S.; Kuchar, J. A.; Li, J.; Asami, T.; Yoshida, S.; Huber, S. C. y Clouse S. D. Identification and functional analysis of *in vivo* phosphorylation sites of the *Arabidopsis* Brassinosteroid-insensitive1 receptor kinase. *Plant Cell*, 2005, vol. 17, p. 1685–1703.
100. Russinova, E.; Borst, J. W.; Kwaaitaal, M.; Cano-Delgado, A.; Yin, Y.; Chory, J. y de Vries, S. C. Heterodimerization and endocytosis of *Arabidopsis* brassinosteroid receptors BRI1 and AtSERK3 (BAK1). *Plant Cell*, 2004, vol. 16, p. 3216–3229.
101. Karlova, R.; Boeren, S.; Russinova, E.; Aker, J.; Vervoort, J. y de Vries, S. The *Arabidopsis* SOMATIC EMBRYOGENESIS RECEPTOR-LIKE KINASE1 protein complex includes BRASSINOSTEROID-INSENSITIVE1. *Plant Cell*, 2006, vol. 18, p. 626–638.
102. Li, J.; Nam K. H.; Vafeados D. y Chory J. BIN2 a new brassinosteroid-insensitive locus in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, 2001, vol. 127, p. 14–22.
103. Peng, P.; Yan, Z.; Zhu, Y. y Li, J. Regulation of the *Arabidopsis* GSK3-like kinase B R A S S I N O S T E R O I D - I N S E N S I T I V E 2 through Proteasome-Mediated Protein Degradation. *Mol. Plant*, 2008, vol. 1(2), p. 338–346.
104. Vert, G. y Chory, J. Downstream nuclear events in brassinosteroid signaling. *Nature*, 2006, vol. 441, p. 96–100.

105. Wang, Z. Y.; Wang, Q.; Chong, K.; Wang, F.; Wang, L.; Bai, M. y Jia, C. The brassinosteroid signal transduction pathway. *Cell Res.*, 2006, vol. 16, p. 427-434.
106. He, J. X.; Gendron, J. M.; Yang, Y.; Li, J. y Wang, Z. Y. The GSK3-like kinase BIN2 phosphorylates and destabilizes BZR1, a positive regulator of the brassinosteroid signaling pathway in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, vol. 99, p. 10185-10190.
107. Ryu, H.; Kim, K.; Cho, H.; Park, J.; Choe, S. y Hwang, I. Nucleocytoplasmic Shuttling of BZR1 Mediated by Phosphorylation Is Essential in *Arabidopsis* Brassinosteroid Signaling. *Plant Cell*, 2007, vol. 19, p. 2749-2762.
108. Mora-Garcia, S.; Vert, G.; Yin, Y.; Cano-Delgado, A.; Cheong, H. y Chory, J. Nuclear protein phosphatases with Kelch-repeat domains modulate the response to brassinosteroids in *Arabidopsis*. *Genes Dev.*, 2004, vol. 18, p. 448-460.
109. Montoya, T.; Nomura, T.; Farrar, K.; Kaneta, T.; Yokota, T. y Bishop, G. J. Cloning the Tomato Curl3 Gene Highlights the Putative Dual Role of the Leucine-Rich Repeat Receptor Kinase tBRI1/SR160 in Plant Steroid Hormone and Peptide Hormone Signaling. *Plant Cell*, 2002, vol. 14, p. 3163-3176.
110. Yamamuro, C.; Ihara, Y.; Wu, X.; Noguchi, T.; Fujioka, S.; Takatsuto, S.; Ashikari, M.; Kitano, H. y Matsuoka, M. Loss of function of a rice brassinosteroid insensitive1 homology prevents internode elongation and bending of the lamina joint. *Plant Cell*, 2000, vol. 12, p. 1591-1606.

Recibido: 30 de julio de 2007
Aceptado: 20 de mayo de 2008

Cursos de Verano

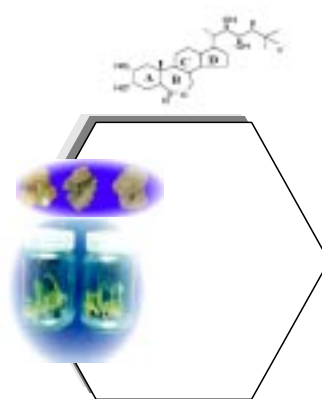
Precio: 320 CUC

Brasinoesteroides: nuevos biorreguladores de amplia perspectiva para la agricultura

Coordinador: Dra.C. Miriam de la C. Núñez Vázquez

Fecha: julio

Duración: 40 horas



SOLICITAR INFORMACIÓN

Dr.C. Walfredo Torres de la Noval
Dirección de Educación, Servicios Informativos
y Relaciones Públicas
Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA)
Gaveta Postal 1, San José de las Lajas,
La Habana, Cuba. CP 32700
Telef: (53) (47) 86-3773
Fax: (53) (47) 86-3867
E.mail: posgrado@inca.edu.cu