

INDUCCIÓN DE TERMOTOLERANCIA POR LA 24-EPIBRASINÓLIDA Y DOS ANÁLOGOS ESPIROSTÁNICOS DE BRASINOESTEROIDES EN PLANTAS DE TOMATE

L. M. Mazorra[✉] y Miriam Núñez

ABSTRACT. This paper was aimed at determining the induction of heat shock tolerance by treatments with brassinosteroids (BRs) and spirostanoic analogs of BRs in tomato plants. The effect of 24-epibrassinolide and two spirostanoic analogs of BRs, MH5 and BB6, at 0.01 μM concentration on survival and electrolyte leakage of plants subjected to 45°C for 45 minutes was evaluated. The ability of 24-epibrassinolide to induce thermotolerance was confirmed. This study also showed the first analysis proving the induction of thermotolerance by these BR analogs under the heat stress condition indicated above. BB6-treated plants had thermotolerance values similar to those of EBR-treated plants. MH5-treated plants had a higher thermotolerance than the control ones and showed no significant differences to plants treated with BB6 and EBR. However, as a tendency, plants with MH5 treatment had lower survival values. The increased thermotolerance by treatments with these compounds did not correlate with changes in electrolyte leakage. It is suggested that thermotolerance induced by these compounds may be related with modifications of their chemical structures.

Key words: heat tolerance, brassinosteroids, tomatoes

RESUMEN. Con el objetivo de determinar la inducción de la tolerancia al choque térmico por los brasinoesteroides (BR) y sus análogos espiroestánicos en plantas de tomate, se evaluó el efecto de la concentración de 0.01 μM de la 24-epibrasinólida y los análogos espiroestánicos de brasinoesteroides, BB6 y MH5, en la sobrevivencia y el eflujo de los electrolitos de las plantas completas ante el choque térmico de 45°C durante 45 minutos. Se confirmó la capacidad de la 24-epibrasinólida para inducir termotolerancia y se presentan los primeros estudios que prueban la inducción de la termotolerancia por los análogos de los brasinoesteroides, MH5 y BB6, para la condición de estrés utilizada, destacándose las plantas tratadas con BB6 por sus valores de termotolerancia similares a los de las tratadas con la 24-epibrasinólida. Las plantas tratadas con MH5 superaron a las controles y no difirieron significativamente de las tratadas con BB6 y EBR; aunque, como tendencia, los valores más bajos de sobrevivencia correspondieron a las plantas tratadas con MH5. Los incrementos de la termotolerancia por los compuestos no se reflejaron en cambios en el eflujo de los electrolitos. Se sugiere que la termotolerancia inducida por estos compuestos pudiera estar relacionada con modificaciones de sus estructuras químicas.

Palabras clave: tolerancia al calor, brasinoesteroides, tomates

INTRODUCCIÓN

El estrés por altas temperaturas es uno de los factores que afecta el desarrollo normal de las plantas y sus efectos en el crecimiento y la sobrevivencia han sido causados por el desbalance entre la fotosíntesis y la respiración (1). Sin embargo, la exposición de las plantas a las dosis moderadas del estrés por temperaturas altas induce la protección de sus células a los daños severos, lo que posibilita la sobrevivencia de ellas (2). A este fenómeno llamado termotolerancia adquirida (3) contribuyen varias sustancias en las células, entre las que están las proteínas del choque térmico, los antioxidantes, lípidos de la membrana, solutos compatibles y otros (4). A nivel fisiológico, el mantenimiento de la estabilidad de la membrana celular se considera un componente de la

termotolerancia celular, siendo indicador de tolerancia tanto a las temperaturas altas como a otros estrés.

Los brasinoesteroides (BR) son una clase nueva de hormonas de estructura esteroidea, que actúan a concentraciones muy bajas en las plantas. Estas hormonas esteroideas no solamente están implicadas en procesos de crecimiento y desarrollo, sino también en la inducción de la termotolerancia y respuestas de defensa en las plantas (5, 6, 7).

En los sistemas vegetales, los brasinoesteroides constituyen una gran diversidad de estructuras. Sin embargo, para aplicaciones prácticas y estudios biológicos se han sintetizado análogos de brasinoesteroides con actividad similar o superior a la de los naturales. Por ejemplo, los análogos espiroestánicos de brasinoesteroides presentan el anillo espirocetálico en lugar de la cadena lateral típica de los brasinoesteroides naturales y se ha demostrado que algunos de ellos (BB6 y BB16) promueven el crecimiento, la germinación y el rendimiento de cultivos de varias especies (8). Sin embargo, se conoce muy poco de las respuestas fisiológicas de las plantas a

Ms.C. L. M. Mazorra, Investigador y Dra.C. Miriam Núñez, Investigador 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.

✉ lmazorra@inca.edu.cu

estos análogos, así como las modificaciones en sus estructuras químicas influyen en sus efectos termoprotectores. El presente trabajo tuvo el objetivo de explorar la capacidad de la 24-epibrasinólida y dos análogos espiroestánicos de BR (MH5 y BB6) de inducir termotolerancia.

MATERIALES Y MÉTODOS

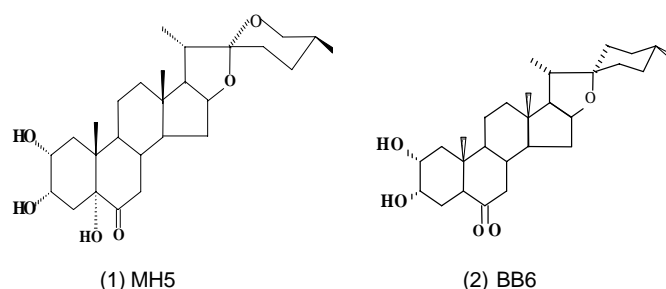
Tratamientos de altas temperaturas y ensayo de termotolerancia. Para ello se germinaron semillas durante tres días en agua destilada a temperatura ambiente y en la oscuridad. Las semillas que germinaron se transfirieron a placas Petri que contenían solución nutritiva Hoagland modificada (9) estéril y diluida con agua destilada (1:1V/V). Las plantas se desarrollaron durante 12 días en las placas dentro de una cámara de crecimiento en condiciones controladas de $25\pm 2^\circ\text{C}$ (16 horas luz) y $18\pm 2^\circ\text{C}$ (8 horas de oscuridad), iluminación promedio de $125\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ y 80 % de humedad relativa. Las placas se incubaron a la temperatura de $45\pm 1^\circ\text{C}$ durante 90 minutos. En esta condición, 60 plantas por tratamiento (seis placas con 10 plántulas cada una) se incubaron a $45\pm 1^\circ\text{C}$ en la oscuridad durante 45, 60 y 90 minutos. Un tratamiento sin estrés se mantuvo a $25\pm 1^\circ\text{C}$ también en la oscuridad durante 90 minutos. La estimación de la termotolerancia se basó en los ensayos de sobrevivencia (10). Una vez aplicado el choque térmico, las plantas se dejaron recuperar durante siete días en las condiciones de crecimiento de $25\pm 2^\circ\text{C}$ (16 horas luz) y $18\pm 2^\circ\text{C}$ (8 horas de oscuridad), iluminación promedio de $125\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ y 80 % de humedad relativa. Finalmente, se estimó el porcentaje de plantas que tenían características visibles de sobrevivencia, definiéndose las plantas sobrevivientes como aquellas que mantienen sus tallos sin colapsar e inician la emisión de sus primeras hojas verdaderas.

Determinación del flujo de los electrolitos. La integridad de las membranas de los tejidos se valoró a través del flujo de electrolitos, según la metodología de Tripathy *et al.* (11) con algunas modificaciones. Inmediatamente después del choque térmico, se seleccionaron 12 plantas por tratamiento, se introdujeron en tubos de ensayo (dos plántulas por tubo) y se lavaron tres veces con agua destilada y desionizada. Luego, a cada tubo se le añadió 10 mL de agua desionizada, estos se sellaron y se incubaron a 25°C durante 30 minutos. Después de esta etapa, se midió la conductividad eléctrica. Seguidamente, los tubos se incubaron a 100°C durante 10 minutos para matar el tejido. Luego, ellos se dejaron enfriar a temperatura ambiente y nuevamente se les midió la conductividad como indicativo del máximo potencial de flujo de electrolitos del tejido. La integridad de la membrana es inversamente proporcional al porcentaje de flujo de electrolitos y se calculó según la ecuación:

$$\text{Porcentaje de flujo de electrolitos} = T1/T2 \times 100$$

donde T1 y T2 son las lecturas de conductividad antes y después de matar el tejido, respectivamente.

Análisis del efecto de los brasinoesteroides en la termotolerancia y estabilidad de la membrana al choque térmico. Se emplearon en los experimentos los productos conocidos como MH5 y Biobras-6 (BB6), formulaciones que tienen como ingredientes activos los análogos espiroestánicos de brasinoesteroides 1 y 2, respectivamente, disueltos en una solución compuesta por Dimetilformamida, Polietilenglicol (PM 1000) y Etanol en una proporción (1:1:16 v/v/v), a una concentración de $1\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Estos productos fueron suministrados por el Centro de Estudios de Productos Naturales, Facultad de Química, Universidad de La Habana. La 24-epibrasinólida (EBR) provino de la compañía *Beak Consultants Ltd.*, Toronto, Canadá, preparándose una solución de $0.1\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ en una formulación de composición similar a la descrita anteriormente.



Estructuras químicas de los dos análogos espiroestánicos de brasinoesteroides

En este experimento se evaluó el efecto de los tres compuestos en la sobrevivencia e integridad de las membranas celulares de las plantas sometidas a choque térmico. Para esto, las plantas se obtuvieron en las mismas condiciones anteriores, creciéndose en soluciones nutritivas previamente ajustadas a la misma concentración de $0.01\ \mu\text{M}$ de los tres compuestos. Esta concentración se utilizó previamente en el estudio a nivel de discos (12). Un total de 60 plantas (seis placas, 10 plántulas por placa) por cada tratamiento de los compuestos se sometieron al choque térmico que se seleccionó a partir de los resultados del experimento anterior. Los controles sin estrés se mantuvieron a $25\pm 1^\circ\text{C}$ también en la oscuridad durante el período de imposición que se escogió. Una vez aplicado el choque, las plantas se dejaron recuperar durante siete días para las estimaciones de sobrevivencia, en las condiciones ya mencionadas.

Análisis estadísticos. Todos los datos se procesaron a través de análisis de comparación de medias según Tukey a $p < 0.05$ y se expresaron como medias \pm error estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tratamientos de altas temperaturas y ensayo de termotolerancia. Al probar varios regímenes de choque térmico para seleccionar uno apropiado, se obtuvo, como era de esperarse, que la sobrevivencia de las plantas dis-

minuyó a medida que aumentó la duración del choque térmico (Figura 1), lo que fue signo del mayor daño que sufrieron estas plantas ante un período de exposición más largo. En estas condiciones experimentales, los niveles de sobrevivencia variaron desde el 100 % en las plantas sin estrés hasta aproximadamente el 40 % en las estresadas durante 90 minutos. Estos niveles de recuperación indican que los choques de altas temperaturas aplicados no fueron totalmente letales. Por otra parte, la integridad de las membranas celulares se afectó más cuando el tiempo de exposición fue mayor, con valores de pérdidas de electrolitos que cambiaron entre 12 y 53 %.

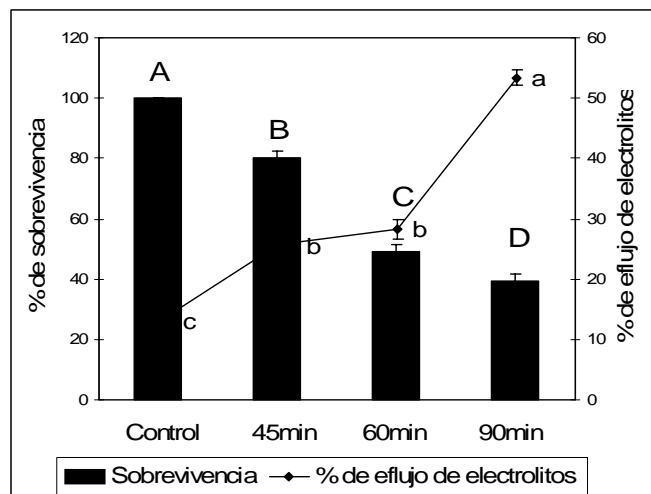


Figura 1. Sobrevivencia (barras) y eflujo de electrolitos (líneas) de plantas de tomate sometidas a 45°C durante 0, 45, 60 y 90 minutos. Las letras mayúsculas y minúsculas indican diferencias significativas de la sobrevivencia y el eflujo de electrolitos, respectivamente según Tukey ($p < 0.05$)

En general, se observó un fenómeno interesante asociado a una relativa falta de vínculos entre los niveles de sobrevivencia versus pérdida de electrolitos, al aumentar la longitud del período de estrés. Entre 60 y 90 minutos, el tejido sufrió el más elevado incremento en la pérdida de electrolitos (25 %); sin embargo, la sobrevivencia disminuyó solamente en un 10 %. Por el contrario, en un intervalo de solo 15 minutos (entre 45 y 60 minutos), las plántulas tuvieron el mayor decremento en los niveles de sobrevivencia (30.84 %), pero esto no se reflejó en las diferencias en el eflujo de electrolitos. Se ha encontrado que, en ocasiones, no se detecta correspondencia entre la termotolerancia y la integridad de la membrana, debido a que varios mecanismos participan en este proceso (13).

Este fenómeno sugiere que los efectos dañinos del estrés térmico en las plántulas se produjeron por vías diferentes. Al parecer, entre 45-60 minutos, la pérdida de la integridad de la membrana contribuyó poco a la sustancial caída de los niveles de sobrevivencia en tan corto tiempo. Se especula entonces que quizás otros meca-

nismos de daño, como por ejemplo el oxidativo, pudieron determinar considerablemente la afectación inducida por el estrés. Camejo demostró que el daño oxidativo es producido por choque térmico en plantas de tomate de esta misma variedad (14).

Una explicación alternativa pudiera ser el hecho de que los daños del estrés pudieran ser heterogéneos dentro de un mismo tejido e incluso de un tipo celular a otro, de forma que bajos niveles de daño celular generarían grandes afectaciones, si tales daños estuvieran muy asociados a células críticas y de crecimiento activo, como son los meristemos apicales, fundamentales para la emergencia de las primeras hojas verdaderas y recuperación del crecimiento de las plantas.

Por otra parte, al pasar de 60 a 90 minutos, la desintegración de la membrana pareció ser la lesión decisiva que afecta la recuperación de las plantas.

Debido al daño sustancial de las membranas durante este período, se evitó la imposición de choques más intensos y por tanto se pensó en la selección del tratamiento de 45°C-45 minutos, reduciendo así la posibilidad de alteraciones irreversibles en las propiedades de las membranas, que pudieran generarse por tratamientos más prolongados.

La condición de estrés de 45°C-45 minutos no fue severa para las plantas, dado que resultó en una mortalidad de solamente un 20 % y un relativamente alto grado de integridad de la membrana (25 % de eflujo de electrolitos), por lo cual fue seleccionada para el próximo experimento. Al alargar la exposición hasta 60 minutos, solamente la mitad de las plantas sobreviven.

Para estimar la termotolerancia es frecuente la inclusión de tratamientos prácticamente letales (6, 10, 15). Sin embargo, en el presente trabajo se decidió comenzar con este choque de 45°C durante 45 minutos, debido a que se observó en pruebas preliminares que tratamientos más intensos mataron a prácticamente todas las plantas y fue muy difícil encontrar diferencias entre tratadas y no tratadas. El estrés muy severo genera daños irreversibles en el tejido difíciles de revertir. Esto pudiera ser crítico cuando la capacidad de la sustancia para inducir protección es mínima.

Análisis del efecto de los brasinoesteroides en la termotolerancia y estabilidad de la membrana al choque térmico. Al examinar los efectos de los compuestos en la sobrevivencia de las plantas al choque impuesto, se observó que la aplicación de estos mejoró significativamente la sobrevivencia de las plantas estresadas, destacándose la 24-epibrasinólida y el BB6 como los compuestos capaces de revertir el efecto del choque en la sobrevivencia, con valores que no difirieron significativamente del control mantenido a temperatura ambiente; mientras que el MH5, a pesar de haber mejorado al control estresado, solo alcanzó valores de sobrevivencia de un 90 % (Figura 2). Se confirmó una vez más la capacidad de la EBR para inducir termotolerancia de los tejidos (6, 16).

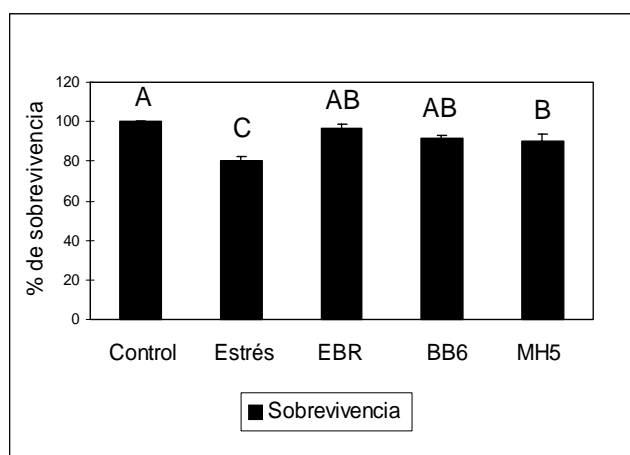


Figura 2. Influencia de la EBR, el BB6 y MH5 en la sobrevivencia (barras) de plantas de tomate sometidas a choque térmico de 45°C-45 minutos. Las letras mayúsculas indican diferencias significativas de la sobrevivencia según Tukey ($p < 0.05$)

Sin embargo, cabría la posibilidad de que otra concentración del MH5 pudiera inducir una termotolerancia similar a la de la EBR, cuestión que pudiera responderse realizando una curva dosis respuesta. Hasta ahora no se han encontrado resultados reproducibles empleando una concentración más baja de cualquiera de estos compuestos ($0.001 \mu\text{M}$).

Por otra parte, este comportamiento favorable no se reflejó en el eflujo de electrolitos, ya que no hubo diferencias significativas entre los compuestos y el control estresado sin los productos (Tabla I).

Tabla I. Influencia de EBR, BB6 y MH5 en el eflujo de iones de plantas de tomate sometidas a choque térmico de 45°C-45 minutos. Las letras indican diferencias significativas del eflujo de iones según Tukey ($p < 0.05$)

Tratamientos	Control	Estrés	EBR	BB6	MH5
Eflujo de iones	12.98 ± 0.96 b	25.75 ± 2.08 a	24.77 ± 1.2 a	26.53 ± 1.43 a	24.35 ± 1.24 a

Teniendo en cuenta que no existió asociación entre la sobrevivencia y el eflujo de electrolitos y que las especies activas de oxígeno (EAO) juegan un importante papel en la pérdida de integridad y daño de las membranas en respuesta al estrés ambiental (17), se especuló que una posible activación de mecanismos defensivos antioxidantes por estos compuestos no es suficiente para evitar o reducir las afectaciones de la membrana, pero sí para permitir que las plantas sobrevivan. Las plantas tratadas con sus membranas afectadas continuaron su crecimiento y pudieron mejorar la sobrevivencia.

Los resultados de este trabajo revelaron, por primera vez, la capacidad de inducción de termotolerancia de los análogos espirostánicos de BR. Sin embargo, se debe aclarar que este ensayo estuvo basado en un solo régimen de choque térmico, ofrece una idea limitada del fenómeno, por lo se necesita ampliar el rango de condiciones de estrés.

Las diferencias que se detectaron en cuanto a niveles de sobrevivencia inducida entre la EBR y los análogos espirostánicos, se verificaron solamente en la condición de estrés utilizada y no cuando se aplica un estrés más violento, que provocó la muerte de las plántulas.

Contrario a lo observado por Zhu *et al.* (16), quienes en estudios en pepino encontraron que las dosis protectoras de 0.01 a $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de EBR redujeron el eflujo de electrolitos, en nuestro modelo, la concentración protectora de este brasinoesteroide ($0.01 \mu\text{M}$) no estuvo asociada a mejorías de la integridad de la membrana. Estos comportamientos diferentes podrían deberse a que muchos de los efectos inducidos por los BR y análogos son dependientes de la concentración (18).

Adicionalmente, tampoco los análogos de BR influyeron en la estabilidad de la membrana celular, a pesar de que las plantas tratadas con una dosis protectora de estos compuestos análogos sobreviven mejor el choque térmico y visiblemente estaban menos dañadas. Este hecho pudiera ser debido a que este tipo de análogos posiblemente protege más a otros componentes de los tejidos que a las membranas celulares.

Una explicación alternativa para entender la menor efectividad del MH5 en comparación con la EBR podría estar relacionada con sus posibles transformaciones a formas metabólicas menos activas. Por ejemplo, análogos artificiales de ácido salicílico inducen termotolerancia en microplantas de papa (19) y la aclimatización a las altas temperaturas incrementa los niveles endógenos de los glucósidos de este compuesto (10).

Para el caso de los brasinoesteroides naturales, se sabe que su metabolismo transcurre por reacciones de hidroxilación, epimerización, ruptura de la cadena lateral, reducción y conjugación (8). La termotolerancia inducida por los análogos podría depender del metabolismo de estos compuestos en las plantas.

El compuesto MH5 puede ser útil para probar cómo la presencia de una función OH con estereoquímica α en posición 5, la cual es única ya que no aparece en los BR naturales, puede influir en la termotolerancia. Esta función tampoco está presente en el BB6, razón que pudiera explicar las diferencias de efectividad entre estos dos análogos. Se sugiere que la introducción de este grupo funcional pudiera limitar la capacidad para mejorar la sobrevivencia de este compuesto; aunque no es un cambio suficientemente drástico para provocar la pérdida de su actividad antiestrés.

Alternativamente, pudiera pensarse que el ensayo es capaz de detectar la actividad de BR y análogos, pero

podiera ser poco sensible para distinguir los efectos provocados por estructuras de análogos con pequeños cambios químicos introducidos en sus moléculas.

Los resultados no prueban directamente que los comportamientos diferenciales se originen de los cambios estructurales. Sin embargo, pudiera dar una idea de cómo la presencia del anillo espirocetálico en vez de la cadena lateral característica de la EBR y los BR naturales, que sin dudas sí constituye un cambio estructural drástico, no produce cambios sustanciales en la capacidad de los análogos para inducir termoprotección.

En estudios previos se ha sugerido que el daño del cultivar "Amalia" podría generarse por alteraciones severas en el aparato fotosintético y en la fotooxidación de la clorofila mediada por especies activas de oxígeno. También se confirmó que el genotipo Nagcarlang fue más tolerante que Amalia (14, 20), por lo que los mecanismos de termotolerancia deben diferir entre genotipos. Por lo tanto, quedaría por probar si la adquisición de termotolerancia produce en Amalia los niveles de termotolerancia innata de Nagcarlang en las mismas condiciones.

La importancia práctica de estos resultados puede ser considerable, teniendo en cuenta que los BR, a diferencia de la hormona ácido abscísico ABA, tienen la doble propiedad de acelerar simultáneamente el crecimiento celular y proteger los tejidos. Además, sus efectos se manifiestan a muy bajas concentraciones y particularmente la síntesis de los análogos de BR es más económica. Aun cuando sus efectos protectores sean mínimos, esta propiedad dual los convierte en sustancias muy promisorias para la agricultura.

Por otro lado, el estrés por altas temperaturas, en determinadas condiciones, puede conducir al sobrecalentamiento del suelo, lo que repercute en una pobre germinación de las semillas, la emergencia de las radículas y el vigor de las posturas, ya que se dañan los tejidos. Esto influye en que la productividad de las posturas por área sea no solamente baja sino también variable. Los BR y sus análogos pudieran ser una alternativa para mejorar la producción de posturas en tales condiciones desfavorables.

REFERENCIAS

- Mohanty, N. Photosynthetic characteristics and enzymatic antioxidant capacity of flag leaf and the grain yield in two cultivars of *Triticum aestivum* (L.) exposed to warmer growth conditions. *J. Plant. Physiol.*, 2003, vol. 160, no. 1, p. 71-74.
- Konigshofer, H. y Lechner, S. Are polyamines involved in the synthesis of heat-shock proteins in cell suspension cultures of tobacco and alfalfa in response to high-temperature stress?. *Plant. Physiol. Biochem.*, 2002, vol. 40, p. 51-59.
- Burke, J. J. Identification of genetic diversity and mutations in higher plant acquired thermotolerance. *Physiol. Plant.*, 2001, vol. 112, no. 2, p. 167-170.
- Iba. Acclimative response to temperature stress in higher plants: approaches of gene engineering for temperature tolerance. *Annu. Rev. Plant. Biol.*, 2002, vol. 53, p. 225-245.
- Schnabl, H.; Roth, V. y Friebe, A. Brassinosteroid-induced stress tolerances of plants. Review. *Res. Devel. Phytochem.*, 2001, vol. 5, p. 169-183.
- Dbaubhadel, S.; Chaudhary, S.; Dobinson, K. 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.
- Dbaubhadel, 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, no. 6, p. 681-691.
- Núñez, M.; Robaina, C. y Coll, F. Synthesis and practical applications of brassinosteroid analogs. En: Hayat S., Ahmad A. Brassinosteroid bioactivity and crop productivity. Kluwer Academic Publishers. *The Netherlands*, 2003, p. 87-117.
- Hoagland D.R., Arnon D.I. The water-culture medium for growing plants without soil. *Calif. Agric. Exp. Str.*, 1950, no. 347.
- Dat, J.; López-Delgado, H.; Foyer, C. H. y Scott, I. M. Parallel changes in H₂O₂ and catalase during thermotolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedlings. *Plant. Physiol.*, 1998, vol. 116, p. 1351-1357.
- Tripathy, J. N.; Zhang, J.; Robin, S.; Nguyen, Th. T. y Nguyen, H. T. QTLs for cell-membrane stability mapped in rice (*Oryza sativa* L.) under drought stress. *T.A.G.*, 2000, vol. 100, p. 1197-1202.
- Mazorra, L. M.; Núñez, M.; Hechavarría, M.; Coll, F. y Sánchez-Blanco, M. J. Influence of brassinosteroids on antioxidant enzyme activity in tomato under different temperatures. *Biología Plantarum*, 2002, vol. 45, no. 4, p. 593-596.
- Larkindale, J. y Knight, M. R. Protection against heat stress-induced oxidative damage in Arabidopsis involves calcium, abscisic acid, ethylene, and salicylic acid. *Plant Physiol.*, 2002, vol. 128, p. 682-695.
- Camejo, D.; Jiménez, A.; Alarcón, J. J.; Torres, W.; Gómez, J. M. y Sevilla, F. Changes in photosynthetic parameters and antioxidant activities following heat-shock treatment in tomato plants. *Functional Plant Biology*, 2006, vol. 33, no. 2, p. 177-187.
- Anderson, J. A. Catalase activity, hydrogen peroxide content and thermotolerance of pepper leaves. *Scientia Horticulturae*, 2002, vol. 95, no. 4, p. 277-284.
- Zhu, C.; Zeng, G. W. y Liu, F. Effect of epibrassinolide on the heat shock tolerance and antioxidant metabolism in cucumber seedling. *J. Zhejiang Agric. Univ.*, 1996, vol. 22, no. 3, p. 284-288.
- McKersie, B. The role of oxygen free radicals in mediating freezing and desiccation stress in plants. En: Pell E., Steffen K. (Eds). Active oxygen/oxidative stress and plant metabolism. Current topics in plant physiology. Rockville, MA. 1991, p. 107-118.
- Núñez, M.; Mazzafera, P.; Mazorra, L. M.; Siqueira, 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, vol. 47, no. 1, p. 67-70.
- López-Delgado, H.; Dat, J. F.; Foyer, C. H. y Scott, I. A. Induction of thermotolerance in potato microplants by acetyl salicylic acid and H₂O₂. *J. Exp. Bot.*, 1998, vol. 49, p. 713-720.
- Camejo D. Altas temperaturas y su efecto en la actividad fotosintética, y procesos relacionados con esta, en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Tesis de Maestría en Biología Vegetal. Universidad de La Habana. Cuba. 2001.

Recibido: 23 de noviembre de 2005

Aceptado: 18 de julio de 2006