

EFECTO DEL ANÁLOGO DE BRASINOESTEROIDE MH-5 EN EL CRECIMIENTO *In Vitro* DEL ARROZ (*Oryza sativa* L.) EN CONDICIONES DE DÉFICIT HÍDRICO

Aymara García[✉], Tania Rodríguez, E. Héctor y Miriam Núñez

ABSTRACT. The present study was carried out with the aim to know the MH-5 brassinosteroid analogue antistress potentialities on *in vitro* rice plant growth subjected to short water stress periods. Seeds from two varieties having different tolerance to drought stress were cultivated on MS solid medium at different MH-5 analogue levels (0, 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} and 10^{-1} mg. L⁻¹). Fifteen days after inoculation, seed germination was determined and plants were submitted to PEG (MW 6000) solution simulating at -1.0 MPa water deficit for 0, 24 and 48 hours. Morphological characters as plant height, number and length of root system, fresh and dry weights as well as relative water content were evaluated. Results have shown a positive stimulation on seed germination and the response of some indicators by the effect of MH-5 analogue, specially when plants were subjected to water deficit by 24 hours, where the greatest differences between varieties were observed. The tolerant cultivar presented better results when MH-5 at 10^{-4} concentration was added while the sensitive one got them at 10^{-2} mg.L⁻¹ concentration.

RESUMEN. El presente estudio se realizó con el objetivo de conocer las potencialidades antiestrés del análogo de brasinoesteroide MH-5 en plántulas de arroz expuestas a períodos cortos de estrés hídrico y el efecto en su crecimiento. Semillas de dos variedades con diferentes respuestas a la sequía fueron sembradas en medios que contenían las sales Murashige y Skoog (MS) y diferentes concentraciones del análogo de brasinoesteroide MH-5 (0, 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} y 10^{-1} mg.L⁻¹). A los 15 días después de la siembra, se determinó la germinación de las semillas y se tomaron plántulas que se trataron durante 0, 24 y 48 h con una concentración de PEG (PM 6000) simuladora de un déficit hídrico de -1.0 MPa de potencial osmótico. Seguidamente, se evaluó el comportamiento de las siguientes variables: altura de la planta, longitud del sistema radical, número de raíces, masas fresca y seca de la planta, y contenido relativo de agua. A partir de los resultados, se evidenció una estimulación positiva en la germinación de las semillas y también, en la respuesta de algunos de los indicadores en estudio por el efecto del análogo de brasinoesteroide específicamente, después de someter a las plántulas al estrés durante 24 h, donde se observaron las mayores diferencias entre las variedades. La variedad tolerante mostró un mejor comportamiento al añadir MH-5 10^{-4} mg.L⁻¹, mientras que la susceptible lo alcanzó al emplear la concentración de 10^{-2} mg.L⁻¹ del análogo.

Key words: rice, brassinosteroids, growth, *in vitro* culture, growth, drought stress

Palabras clave: arroz, brasinoesteroides, crecimiento, cultivo *in vitro*, estrés de sequía

INTRODUCCIÓN

El déficit hídrico se cataloga como uno de los factores más importantes que pueden sufrir los cultivos, afectando diferentes procesos de su crecimiento y desarrollo e incidiendo negativamente sobre los rendimientos; así mismo, se considera el factor que mayores daños provoca en la productividad del arroz. Por ello, actualmente se realizan estudios que posibiliten aminorar los efectos del déficit hídrico a fin de incrementar la producción (1, 2).

Una de las alternativas que se proponen es el uso de biorreguladores que permitan aumentar la respuesta de las plantas ante estas condiciones. Dentro de estos se encuentran los brasinoesteroides, un nuevo grupo de esteroides esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas (3, 4). Se les atribuye la capacidad para incrementar la tolerancia a estrés abiótico, que cobra cada vez más interés, teniendo en cuenta las afectaciones medioambientales que se han presentado durante los últimos años.

Al respecto, existen informes sobre el empleo de la homobrasinólida, epibrasinólida y brasinólida en diferentes cultivos ante condiciones de estrés de frío (5), salino (6) e hídrico (7), donde se aprecia un efecto promotor de estos compuestos que mejora la tolerancia de estos cultivares sobre la actividad metabólica y antioxidante, distribución de asimilados, longitud del sistema radical, masa seca de la parte aérea y del sistema radical, contenido relativo

Ms.C. Aymara García, Investigadora del Instituto de Investigaciones de Riego y Drenaje, Ms.C. Tania Rodríguez, Profesora Instructora y Dr.C. E. Héctor, Profesor Auxiliar del Departamento de Biotecnología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de La Habana; Dr. C. Miriam Núñez, Investigadora Titular del Departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, La Habana, CP32700, Cuba.

✉ aymara_garcia@yahoo.com

de agua o balance hídrico, así como de la estabilidad de la membrana celular.

Estudios realizados demuestran el efecto de los análogos espiroestánicos de brasinoesteroides sobre la ultraestructura foliar (8) y la actividad de enzimas antioxidantes (9) bajo estrés de altas temperaturas en el cultivo del tomate. Sin embargo, existe muy poca información sobre la acción de estos compuestos en plantas tratadas en condiciones de déficit hídrico. Teniendo en cuenta lo anteriormente expresado, el presente estudio tuvo como objetivo central determinar el efecto antiestrés del análogo de brasinoesteroide conocido como MH-5 sobre el crecimiento del arroz en condiciones de déficit hídrico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. Se utilizaron 160 semillas maduras de dos variedades cubanas de arroz con diferentes respuestas a las condiciones de déficit hídrico: Perla de Cuba (Perla, tolerante) y Jucarito 104 (J-104, susceptible) (10). **Condiciones de cultivo.** Los medios empleados para la obtención de las plántulas contenían las sales minerales MS (11), vitaminas, sacarosa 30 g.L⁻¹, agar 7 g.L⁻¹ y diferentes concentraciones del análogo de brasinoesteroide MH-5 (10⁻⁴, 10⁻³, 10⁻² y 10⁻¹ mg.L⁻¹). Se utilizó un tratamiento control, que no se le añadió el análogo, para conformarse al final cinco variantes de medios de cultivo. El pH fue ajustado a 5.8 y la esterilización se realizó en autoclave a 120°C y 1.5 atmósferas de presión durante 20 minutos.

La desinfección de las semillas, una vez descascaradas, se efectuó con cloro comercial al 2.5 % durante 15 minutos. Se sembraron seis semillas por frasco, empleándose 10 por cada variante de medio de cultivo. Tanto la siembra como la desinfección se realizaron en condiciones de asepsia bajo una cámara de flujo laminar. Los cultivos se mantuvieron a 27±2°C de temperatura y un fotoperíodo de 16 h.

A los 15 días después de la siembra se determinó el número de semillas germinadas y a cinco plántulas obtenidas por cada variante de medio de cultivo se les evaluaron los siguientes caracteres: altura de la planta (cm) (AP), número de raíces (NR), longitud del sistema radical (cm) (LSR), masa fresca de la planta (g) (MFP), masa seca de la planta (g) (MSP) y contenido relativo de agua de la parte aérea (%) (CRA).

Posteriormente, se tomaron 15 plántulas de cada tratamiento y se trataron con 5 mL de una solución de PEG (PM 6000), que simula un déficit hídrico de -1.0 MPa (12) durante 24 y 48 horas. Pasado este tiempo, se evaluaron los caracteres anteriormente señalados.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado. Los datos correspondientes a la germinación de las semillas se procesaron mediante un análisis de varianza, mientras que en el resto de los caracteres, se realizó un análisis bifactorial docimándose, en ambos casos, las diferencias significativas entre tratamientos, por la prueba de Rangos Múltiples de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al valorar la germinación de las semillas ante diferentes concentraciones del análogo de brasinoesteroide (Tabla I), se pudo detectar una estimulación significativa en ambas variedades, ocurriendo para la J-104 en todos los niveles utilizados del análogo. Sin embargo, en Perla se obtuvo este efecto con el empleo de las concentraciones que estuvieron entre 10⁻⁴ y 10⁻² mg.L⁻¹, mientras que al adicionar 10⁻¹ mg.L⁻¹ al medio de cultivo, se observó que el porcentaje de germinación fue igual al tratamiento que no incluyó el análogo.

La germinación de las semillas ha sido estudiada con muchos fines; en el caso del uso de los brasinoesteroides, se ha encontrado un efecto favorecedor de estos compuestos, esencialmente en condiciones de salinidad (13) y estrés hídrico (14), obteniéndose mejores respuestas cuando las semillas son imbibidas en soluciones a determinadas concentraciones de estos productos.

Tabla I. Comportamiento de la germinación de las semillas de dos variedades de arroz ante diferentes concentraciones del análogo de brasinoesteroide MH-5

Concentraciones de MH-5 (mg.L ⁻¹)	Variedades	
	J-104	Perla
0	93.3 b	95.8 b
10 ⁻⁴	100.0 a	100.0 a
10 ⁻³	100.0 a	100.0 a
10 ⁻²	100.0 a	100.0 a
10 ⁻¹	100.0 a	95.8 b
CV (%)	11.4	9.17
ES (±)	1.04**	0.98**

La Tabla II muestra el comportamiento de la variedad J-104 por efecto de las concentraciones del análogo MH-5 y diferentes tiempos de exposición al PEG, donde se observa que hubo una interacción significativa entre los factores para los caracteres evaluados.

En cuanto a las plántulas que no fueron tratadas con PEG-6000, se encontró que el análogo, en todos los niveles empleados, no tuvo efecto significativo sobre el comportamiento del número de raíces, la masa fresca de la planta y el CRA, mientras que favoreció la masa seca con la adición de las concentraciones de 10⁻² y 10⁻³ mg.L⁻¹ al medio de cultivo. Por el contrario, el MH-5 disminuyó significativamente el crecimiento en longitud de la raíz al emplear concentraciones que están entre 10⁻⁴ y 10⁻² mg.L⁻¹.

A las 24 h de aplicado el PEG, se detectó un efecto positivo del análogo para la altura, teniendo este carácter su mayor estimulación a 10⁻⁴ mg.L⁻¹, aunque no difiere significativamente del resto de las concentraciones estudiadas. Así mismo, se incrementó el estímulo que proporciona este análogo en el número de raíces y la longitud del sistema radical a las concentraciones de 10⁻² y 10⁻¹ mg.L⁻¹. Del mismo modo ocurrió para la masa fresca a 10⁻² mg.L⁻¹ y también se observa, para el resto de los caracteres como masa seca y CRA, en los tratamientos que oscilan entre 10⁻⁴ y 10⁻² mg.L⁻¹ del producto.

Sin embargo, a las 48 h de colocadas las plántulas en la solución estresante, el efecto del análogo se redujo. Con respecto al control, se encontró un mayor estímulo del MH-5 para la masa fresca a la concentración de 10^{-3} mg.L⁻¹, sin diferencias con los tratamientos que incluyeron a los niveles de 10^{-4} y 10^{-2} mg.L⁻¹; mientras que en la masa seca, se observa a los niveles que están por encima de 10^{-3} mg.L⁻¹ del análogo de brasinoesteroide. En este momento, se obtienen los valores más bajos del CRA solo favorecidos por el análogo a las concentraciones de 10^{-2} y 10^{-1} mg.L⁻¹.

Cabe resaltar que para esta variedad, considerada susceptible, a las 24 horas de mantener las plántulas en

la solución de PEG 6000, si bien el CRA disminuyó significativamente, aún no hubo afectaciones sensibles en las variables de crecimiento de las plántulas del tratamiento control y, en estas condiciones, se evidenció que la adición de MH-5 a una concentración de 10^{-2} mg.L⁻¹ de MH-5, mantuvo altos los niveles de CRA y, por ende, favoreció significativamente el crecimiento de las plantulas. Sin embargo, cuando se prolonga el contacto con la solución de PEG a 48 horas, esa concentración de MH-5 soló logró mejorar el CRA y la masa seca de la planta.

Al valorar el comportamiento de la variedad Perla (Tabla III) se aprecia, al igual que para la J-104, una interacción significativa entre los factores para los caracteres estudiados.

Tabla II. Comportamiento de la variedad J-104 ante diferentes concentraciones del análogo MH-5 y duración de los tratamientos con PEG

Concentraciones de MH-5 (mg.L ⁻¹)	Duración del período de estrés	AP (cm)	NR	LSR (cm)	MFP (g)	MSP (g)	CRA (%)
0	0h	23.4 b	9.2 ab	5.24 a	0.168 d	0.0216 d	86.9 a
10^{-4}		22.0 bc	9.0 ab	3.08 c	0.184 cd	0.0222 d	85.9 a
10^{-3}		25.7 ab	8.8 ab	4.28 b	0.172 cd	0.0268 c	85.1 a
10^{-2}		25.4 ab	8.8 ab	4.82 b	0.186 cd	0.0295 b	85.4 a
10^{-1}		23.7 b	7.8 b	5.90 a	0.176 cd	0.0220 d	85.8 a
0	24h	23.5 b	8.8 ab	4.54 b	0.214 bc	0.0290 b	66.4 c
10^{-4}		26.6 a	8.7 ab	4.26 b	0.228 bc	0.0380 a	74.8 b
10^{-3}		25.1 ab	8.8 ab	4.54 b	0.232 bc	0.0350 a	84.2 a
10^{-2}		24.5 ab	9.7 a	5.88 a	0.286 a	0.0370 a	83.0 a
10^{-1}		24.4 ab	9.8 a	5.86 a	0.208 c	0.0287 b	82.9 a
0	48h	22.1 bc	9.0 ab	5.02 ab	0.184 cd	0.0118 e	52.8 d
10^{-4}		20.9 c	9.2 ab	4.30 b	0.236 bc	0.0118 e	54.7 d
10^{-3}		20.7 c	9.2 ab	4.32 b	0.246 b	0.0221 d	55.2 d
10^{-2}		22.6 b	9.2 ab	4.42 b	0.234 bc	0.0223 d	63.2 c
10^{-1}		22.2 b	9.2 ab	4.54 b	0.206 c	0.0218 d	65.6 c
ES(±)		0.67**	0.39**	0.41**	0.01**	0.01**	1.65**
CV %		2.84	4.41	8.62	4.78	5.19	2.23

Tabla III. Comportamiento de la variedad Perla ante diferentes concentraciones del análogo MH-5 y duración de los tratamientos con PEG

Concentraciones de MH-5 (mg.L ⁻¹)	Duración del período de estrés	AP (cm)	NR	LSR (cm)	MFP (g)	MSP (g)	CRA (%)
0	0h	23.3 ab	10.0 a	3.5 c	0.224 b	0.0210 d	87.4 a
10^{-4}		24.1 a	4.6 d	6.32 a	0.264 a	0.0281 b	87.7 a
10^{-3}		24.3 a	7.2 c	6.36 a	0.264 a	0.0293 b	86.9 a
10^{-2}		25.1 a	7.2 c	6.46 a	0.262 a	0.0295 b	87.7 a
10^{-1}		23.1 ab	7.8 c	5.74 ab	0.226 b	0.0275 b	87.9 a
0	24h	24.1 a	10.4 a	5.16 b	0.206 b	0.0237 c	77.3 c
10^{-4}		24.4 a	9.6 a	6.36 a	0.274 a	0.0329 ab	83.7 ab
10^{-3}		24.8 a	9.6 a	6.48 a	0.266 a	0.0336 ab	84.7 ab
10^{-2}		24.5 a	9.8 a	6.44 a	0.256 a	0.0322 ab	83.9 ab
10^{-1}		24.3 a	9.7 a	5.10 b	0.214 b	0.0235 c	81.5 bc
0	48h	22.6 b	8.8 b	5.28 b	0.192 b	0.0241 c	72.7c
10^{-4}		24.7 a	8.3 b	6.40 a	0.244 a	0.0351 a	87.1 a
10^{-3}		24.4 a	8.6 b	6.38 a	0.256 a	0.0357 a	87.2 a
10^{-2}		25.4 a	8.8 b	6.42 a	0.256 a	0.0348 a	86.3 a
10^{-1}		23.2 ab	8.2 b	5.94 ab	0.198 b	0.0239 c	86.3 a
ES (±)		0.77**	0.37**	0.29**	0.01**	0.001**	1.53**
CV %		3.18	4.31	5.05	4.81	1.00	1.82

En relación con las plántulas que no se trataron con la solución de PEG, se constató que el MH-5 disminuyó de forma significativa el número de raíces. En cambio, este análogo, en todas las concentraciones estudiadas, aumentó significativamente tanto la masa seca como la longitud del sistema radical, mientras que para la masa fresca se obtuvo una estimulación en el intervalo de 10^{-4} y 10^{-2} mg.L⁻¹, concentraciones donde en el caso de la altura, los valores no difieren significativamente de los restantes tratamientos aplicados. Se destaca a su vez que, en estas condiciones, todos los tratamientos mostraron niveles similares de CRA.

Transcurridas 24 horas de incubar las plántulas a -1.0 MPa, el MH-5 fue capaz de incrementar significativamente la longitud del sistema radical, las masas fresca y seca, y el CRA con el uso de las concentraciones de 10^{-4} a 10^{-2} mg.L⁻¹. Por otra parte, mantuvo sin variaciones el comportamiento de las variables altura y número de raíces, en este último caso contrario a lo obtenido cuando las plántulas no fueron tratadas con PEG-6000.

Después de incubar las plantas durante 48 horas con el PEG, se pudo evidenciar que la variedad Perla manifestó diferente respuesta a la J-104 (susceptible) pero similar a lo observado a las 24 horas de tratar las plántulas, pudiendo notarse que, teniendo como referencia al control, el análogo, específicamente en las concentraciones que oscilan entre 10^{-4} y 10^{-2} mg.L⁻¹, incrementó significativamente la altura de las plántulas, la longitud del sistema radical, las masas fresca y seca y el CRA.

De lo anteriormente expuesto, se observó que tanto a las 24 como a las 48 horas de tratar las plántulas con PEG y la adición al medio de cultivo de la menor concentración del análogo de brasinoesteroide MH-5, es decir 10^{-4} mg.L⁻¹, se estimularon significativamente la mayoría de los caracteres evaluados, indicando la factibilidad del empleo de este compuesto a bajas concentraciones.

Las aplicaciones de los brasinoesteroides han sido extensas y muy exitosas y, aunque los mecanismos de acción de estos compuestos no están del todo esclarecidos, se ha detectado en diferentes cultivos un efecto estimulador, a concentraciones mucho más bajas que cuando se utilizan otras hormonas vegetales, en el crecimiento de las plantas específicamente a favor de los caracteres como la altura y la producción de materia seca (15, 16). Sin embargo, en relación con el crecimiento de las raíces se han informado resultados contradictorios, encontrándose en algunos ensayos incrementos y en otros inhibición (17, 18), coincidiendo en este último criterio con lo planteado anteriormente para la variedad Perla cuando se evaluó el número de raíces y en la J-104 en relación con la longitud del sistema radical. Este comportamiento puede estar dado por la forma de aplicación del producto, es decir, por imbibición de las semillas o por aspersión foliar, que aunque este aspecto no fue objeto de estudio en este trabajo, es importante tener en consideración.

En condiciones de estrés, han sido indicados los efectos favorables que inducen estos compuestos incrementando la tolerancia a estrés, siendo mucho más marcada en los cultivares tolerantes, criterios que se corresponden con los que enfatizan la utilidad de estos nuevos biorreguladores en la tolerancia a estrés abiótico. Por ejemplo en arroz, para la tolerancia al frío, se sugiere el tratamiento con la homobrasinólida BR-120 (19), porque permite un desarrollo más vigoroso de las plantas y específicamente del sistema radical, en cuanto a longitud y masa seca en relación con las plantas no tratadas con el compuesto. Este señalamiento está en correspondencia con lo encontrado en este estudio, que aunque se detectaron diferencias entre las variedades en cuanto al crecimiento de la raíz tanto en longitud como en número, por efecto del análogo, estas pudieran estar asociadas con los mecanismos que las plantas desarrollan para sobrevivir en condiciones de estrés hídrico, siendo más favorecidas cuando se añaden concentraciones del análogo de brasinoesteroide, comportamiento que reviste singular importancia teniendo en cuenta una de las características fundamentales de las especies resistentes y/o con adaptabilidad a la sequía, que es poseer un sistema radical profundo y desarrollado que le permita a la planta ante bajos potenciales hídricos continuar su crecimiento a través de la absorción de la humedad presente a una mayor profundidad del suelo (2, 20).

Por otra parte, el empleo de otro análogo espirostánico de brasinoesteroide, BB-16, estimuló las actividades de algunas enzimas antioxidantes de plántulas de arroz J-104 crecidas en medio de cultivo suplementado con NaCl (21). Del mismo modo, otros evaluaron el efecto del pretratamiento de semillas de maíz con la brasinólida (22) sobre el comportamiento de plántulas de dos variedades sometidas a déficit hídrico simulado con PEG-6000 (-1.0 MPa) durante 48 horas y detectaron que para la variedad tolerante la concentración de 12,5 mg.L⁻¹ mantuvo un mayor contenido relativo de agua y menor conductividad relativa y tasa de transpiración durante el período de estrés.

A partir de los resultados expuestos, se pudo comprobar la efectividad del uso del análogo de brasinoesteroide MH-5, siendo capaz de favorecer la respuesta de las plantas ante condiciones de déficit hídrico. Por otra parte, se constató que desde que las plántulas fueron incubadas en la solución de -1.0 MPa por 24 h, fue posible detectar una respuesta diferenciada de las variedades a las concentraciones utilizadas, correspondiéndose con su grado de tolerancia al déficit hídrico, obteniéndose los mejores resultados con la adición de 10^{-2} mg.L⁻¹ y 10^{-4} mg.L⁻¹ en el medio de cultivo para las variedades susceptible y tolerante, respectivamente, lo que evidenció las potencialidades antiestrés de este análogo espirostánico de brasinoesteroide.

REFERENCIAS

1. Nguyen, H. T.; Babu, P. C. y Blum, A. Breeding for drought resistance in rice: physiology and molecular genetics considerations. *Crop Science*, 1998, vol. 37, no. 5, p. 426-434.
2. Thanh, N. D.; Zheng, H. G.; Dong, N. V.; Trinh, L. N.; Ali, M. L. y Nguyen, H. T. Genetic variation in root morphology and microsatellite DNA loci in upland rice (*Oryza sativa* L.) from Vietnam. *Euphytica*, 1999, vol. 105, p. 43-51.
3. Khripach, V.; Zhabinskii, V. y De Groot, A. Twenty years of brassinosteroids: steroidal plant hormones warrant better crops for the XXI century. *Annals of Botany*, 2000, vol. 86, p. 441-447.
4. Zullo, M. A. T. y Adam, G. Brassinosteroid phytohormones-structure, bioactivity and applications. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 2002, vol. 14, p. 143-181.
5. Fujii, S. y Saka, H. Distribution of assimilates of each organ in rice plants exposed to a low temperature at the ripening stage and the effect of brassinolide on the distribution. *Plant Production Science*, 2001, vol. 4, p. 136-144.
6. Anuradha, S.; Ram, Rao, S. S. Application of brassinosteroids to rice seeds (*Oryza sativa* L.) reduced the impact of salt stress of growth, prevented photosynthetic pigment loss and increased reductase nitrate activity. *Plant Growth Regulation*, 2003, vol. 40, p. 29-32.
7. Sairam, R. K. Effect of homobrassinolide application on metabolic activity and grain yield of wheat under normal and water- stress condition. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 1994, vol. 173, no. 1, p. 11-16.
8. Sam, O.; Nuñez, M.; Ruíz-Sánchez, M. C.; Dell'Amico, J.; Falcon, V.; Rosa, M. C. y Seoane, J. Effect of a brassinosteroid analogue and high temperature stress on leaf ultrastructure of *Lycopersicon esculentum*. *Biologia Plantarum*, 2001, vol. 44, no. 2, p. 213-218.
9. Mazorra, L. M.; Nuñez, M.; Echevarría, M.; Coll, F. y Sánchez, M. J. Influence of brassinosteroids on antioxidant enzymes activity in tomato under different temperatures. *Biologia Plantarum*, 2002, vol. 45, no. 4, p. 593-596.
10. Alfonso, R. Determinación de parámetros genético-fisiológicos indicadores del estrés hídrico para su empleo en el mejoramiento genético del arroz (*Oryza sativa* L.) y la estabilidad varietal. [Tesis de grado]; IIA, 1998.
11. Murashige, T. y Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.*, 1962, vol. 15, p. 473-497.
12. García, A.; Florido, M.; Pérez, I.; Lara, R. M.; González, M. C. y Marrero, M. T. Estabilidad de la membrana y contenido de proteínas totales en callos de arroz sometidas a estrés hídrico. *Cultivos Tropicales*, 1999, vol. 20, no. 3, p. 17-20.
13. Anuradha, S. y Rao, S. S. R. Effect of brassinosteroids on salinity stress induced inhibition of seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Growth Regul.*, 2001, vol. 33, p. 151-153.
14. Sairam, R. K.; Shukla, D. S. y Deshmukh, P. S. Effect of homobrassinolide seed treatment on germination, alpha amylase activity and yield of wheat under moisture stress conditions. *Indian Journal of Plant Physiology*, 1996, vol. 1, no. 3, p. 141-144.
15. Hebbalkar, D. S.; Deshpande, S. G.; Bonde, S. B. y Sharna, R. N. Effect of homobrassinolide (plant hormone) on rice plantation. *Annals of Plant Physiology*, 1997, vol. 11, no. 1, p. 94-95.
16. Thirthalingappa, B.; Reddy, B.; Kuljarni, R. S.; Prasad, T. G. y Murthy, R. Effect of gibberellic acid and homobrassinosteroid on rice hybrid seed production. *Myosore Journal of Agricultural Sciences*, 1999, vol. 33, no. 2, p. 210-213.
17. Khripach, V.; Zhabinskii, V. y Groot, A. de. Brassinosteroids. A new Class of Plant Hormones. New York. Academic Press, 1999.
18. Sasse, J. Physiological actions of brassinosteroids. En: Brassinosteroids: Steroidal Plant Hormones. Tokyo : Springer-Verlag, 1999.
19. Chen, S. N.; Liu, J. M.; You, H. L.; Zhu, H. J.; Qin, Z. B.; Hong, G. M. y Sheng, Y. G. The effect of a compound inducing cold resistance and homobrassinolide on the chilling resistance of plateau rice. *Acta Botanica Yunnanica*, 1997, vol. 19, no. 2, p. 184-190.
20. Salih, A. A.; Ali, I. A.; Lux, A.; Luxova, M.; Cohen, Y.; Sugimoto, Y. y Inanoga, S. Rooting, water uptake and xylem structure adaptation to drought of two sorghum cultivars. *Crop Science*, 1999, vol. 39, no. 1, p. 168-173.
21. Nuñez, M.; Mazzafera, P.; Mazorra, L. M.; Siqueira, W. J. y Zullo, M. Influence of a brassinosteroid analogue on antioxidant enzymes in rice growth in culture medium with NaCl. *Biologia Plantarum*, 2003, vol. 47, no. 1, p. 67-70.
22. Nuñez, M. y Mazorra, L. M. Los brasinoesteroides y las respuestas de las plantas al estrés. *Cultivos Tropicales*, 2001, vol. 22, no. 3, p. 19-26.

Recibido: 25 de febrero de 2004

Aceptado: 23 de noviembre de 2004