

# Revisión bibliográfica LOS BRASINOESTEROIDES Y LA RESPUESTA DE LAS PLANTAS AL ESTRÉS

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

**ABSTRACT.** International relevant results on brassinosteroids and plant response to different stresses, such as water deficit, high temperature, chilling, salinity and biotic attack are presented in this review. Anti-stress potentialities of some brassinosteroid analogs synthesized in Cuba are also reported.

**RESUMEN.** En el presente trabajo se recogen los principales resultados que, a nivel internacional, se han obtenido relacionados con los brasinoesteroides y la respuesta de las plantas a diferentes tipos de estrés, como son: déficit hídrico, estrés por bajas y altas temperaturas, estrés por salinidad y estrés provocado por el ataque de diversos patógenos. Además, se informa acerca de las potencialidades antiestrés de algunos análogos de estos compuestos sintetizados en Cuba.

*Key words:* brassinosteroids, stress, disease resistance

*Palabras clave:* brasioesteroides, estrés, resistencia a la enfermedad

## INTRODUCCIÓN

Los brasinoesteroides (BRs) son productos naturales que se encuentran en las plantas a muy bajas concentraciones. Las respuestas a los brasinoesteroides incluyen efectos sobre la elongación, la división celular, el desarrollo vascular y reproductivo, la polarización de la membrana y el bombeo de protones, las relaciones fuente/sitio de consumo y la modulación del estrés. Los brasinoesteroides, además, interactúan con las señales ambientales y pueden afectar el desarrollo de insectos y hongos (1, 2).

A partir del aislamiento e identificación de la brasinólida del polen de la *Brassica napus* se intensificaron las investigaciones encaminadas a estudiar los efectos que este nuevo compuesto y otros relacionados provocan en las plantas. Así, ya en 1983, se informó que el tratamiento de plantas de lechuga con 22, 23, 24-triepi-brasinólida incrementó

el rendimiento del cultivo cuando era cultivado en un suelo no fertilizado óptimamente (3).

Posteriormente, al evaluar los usos prácticos de la brasinólida, se consideró que una acción importante de este compuesto era acelerar la resistencia a varios estrés (4), tales como estrés de bajas temperaturas, de infección por hongos, a los daños por herbicidas y a la salinidad en el suelo.

Esta característica de estos compuestos fue confirmada también por otros autores (5) y cada vez es creciente el interés por investigar en este sentido, no sólo por las implicaciones prácticas que esto puede tener sino además porque permite incrementar la comprensión del papel de los brasinoesteroides en las respuestas de las plantas al estrés (6).

En este trabajo se presentan los resultados fundamentales que se han obtenido, a nivel internacional, relacionados con la aplicación de los brasinoesteroides y sus análogos y la tolerancia de células, tejidos o plantas a diversos tipos de estrés, incluida la resistencia que estos compuestos confieren ante el ataque de determinados patógenos.

## TOLERANCIA A ESTRÉS ABIÓTICO

*Estrés hídrico por defecto.* En un experimento realizado en macetas, se observó que la homobrasinólida fue capaz de compensar los efectos de un estrés hídrico ligero (45-50 % de la capacidad hídrica máxima) en plantas de remolacha (7).

Por otra parte, una disminución del efecto del estrés hídrico en frijol mungo tratado con epibrasinólida estuvo asociado con una capacidad superior de las plantas para asimilar agua, lo cual fue confirmado en experimentos con agua tritiada. Además, se encontró un incremento significativo del contenido de prolina en las plantas tratadas, lo que fue interpretado por algunos autores (8) como un indicador del incremento de la tolerancia de las plantas a esta condición de estrés.

En trigo (9, 10), se demostró que el tratamiento con homobrasinólida no solamente incrementó la actividad metabólica y el rendimiento del grano en condiciones de estrés hídrico sino también ayudó a la recuperación de las plantas. El autor además señala que esta respuesta puede estar asociada a una mayor

Dr.C. Miriam Núñez, Investigador Titular y L. M. Mazorra, Investigador del Departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, La Habana, Cuba, CP 32 700.

✉ mnunez@inca.edu.cu

estabilidad de la membrana o a la síntesis de proteínas específicas del estrés. Posteriormente, se evidenció que este mismo compuesto aplicado a las semillas de trigo cv. HD2329 incrementó la germinación, actividad  $\alpha$ -amilasa y las proteínas solubles totales en posturas de trigo de dos días de edad y la longitud del tallo en posturas de cuatro días con y sin estrés de humedad inducido por polietilenglicol (11).

El tratamiento con epibrasinólida y ácido abscísico en plantas de sorgo incrementó su capacidad de supervivencia en condiciones de déficit hídrico severo. Se demostró que hubo una interacción sinérgica entre ambos reguladores (12). Esta respuesta de las plantas se debe a que el tratamiento con epibrasinólida, ácido abscísico y su combinación no sólo incrementó la retención de agua sino que también aceleró la tolerancia fisiológica a un estado hídrico bajo (13).

La aspersión foliar con 0.001 ppm de epibrasinólida a posturas de *Cicer arietinum* cv. Pusa 256, después de ser sometidas a déficit hídrico en la etapa juvenil, incrementó el crecimiento de la planta, la actividad radical y la actividad de la nitrato reductasa en raíces y hojas (14).

En un experimento de déficit hídrico en mostaza en condiciones de campo, se demostró que la aspersión foliar de 0.4 ppm de brasinoesteroide aplicada en las fases de pre-floración y desarrollo de la vaina, incrementó el rendimiento del cultivo en esa condición (15).

El estudio del efecto de diferentes biorreguladores en la tolerancia al estrés hídrico de posturas de maíz de una variedad resistente y otra susceptible a la sequía mostró que el uniconazol, la brasinólida y el jasmonato de metilo fueron capaces de mantener un contenido relativo de agua y una resistencia a la difusión superior y disminuyeron la conductividad relativa y la velocidad de transpiración en las posturas del cultivar resistente durante el período de estrés hídrico. Estos tratamientos, sin embargo, disminuyeron el contenido relativo de agua en las

posturas del cultivar susceptible, a pesar de la influencia positiva de éstos en la conductividad relativa, la velocidad de transpiración y la resistencia a la difusión. Se concluyó, entonces, que el pretratamiento a las semillas con estos biorreguladores puede ser utilizado para disminuir las pérdidas en el cultivo provocadas por la sequía; no obstante, es necesario hacer la evaluación de cada cultivar de maíz (16).

Estos autores (17) estudiaron también el efecto de estos reguladores del crecimiento en el sistema antioxidante de callos de los mismos cultivares de maíz sometidos a estrés hídrico y encontraron que el tratamiento con 12.5 mg.L<sup>-1</sup> de brasinólida por tres horas fue capaz de incrementar el porcentaje de supervivencia de los callos de ambos cultivares, aunque el efecto fue superior en el cultivar resistente. En general, los resultados obtenidos en callos concordaron con los obtenidos usando posturas (18).

Así, la brasinólida al igual que el uniconazol y el jasmonato de metilo incrementaron la actividad enzimática antioxidante en posturas y en callos del cultivar resistente, PAN 6043, sometidos a estrés hídrico; mientras que las actividades de estas enzimas permanecieron, de forma general, al mismo nivel o por debajo del control en el cultivar susceptible, SC 701. Estos resultados sugieren que las respuestas antioxidantes a nivel celular inducida por la brasinólida y los otros reguladores pueden, al menos en parte, contribuir a la resistencia a la sequía de ese cultivar a nivel de planta completa.

No obstante, se desconocen los mecanismos por los cuales la brasinólida provoca estos efectos, por lo que es posible que los incrementos observados en las actividades de las enzimas antioxidantes en el cultivar resistente se deba a una sobrerregulación de los genes que controlan la síntesis de estas enzimas o a una mayor activación del pool de enzimas constitutivas (17).

El tratamiento de posturas de *Pinus elliotii* de un año de edad con

0.5 y 1.0 mg.L<sup>-1</sup> de brasinólida, en condiciones de campo, mejoró la tolerancia al estrés por sequía e incrementó la altura, el diámetro y el crecimiento de las raíces (19).

El efecto de inhibidores del crecimiento sobre la tolerancia a la sequía protoplasmática en células foliares de *Sporobolus stapfianus* fue también estudiada (20). Se demostró que el ácido metiljasmónico y la brasinólida fueron capaces de mejorar la tolerancia a la sequía protoplasmática de suspensiones celulares de hojas hidratadas de esta especie en aproximadamente 6 MPa, mientras que el ABA sólo lo hizo en 1 MPa. Además, estos compuestos indujeron cambios en la composición proteica de las hojas, con la inducción aparente de nuevas proteínas y el incremento o disminución de otras.

Por otra parte, la aspersión foliar de plantas jóvenes de tomate cv. INCA-17 con 0.05 mg.L<sup>-1</sup> de una formulación que tiene como ingrediente activo un análogo espirostánico de brasinoesteroides protegió, en cierta medida, a las mismas ante los efectos adversos que en el crecimiento, las relaciones hídricas y la actividad metabólica provoca el déficit hídrico (21).

Como se puede observar, los resultados presentados no exhiben totalmente en qué medida estos compuestos están involucrados en las respuestas de las plantas al déficit hídrico, debido a las lagunas en la comprensión de sus mecanismos de acción y sólo demuestran el posible papel de algunos elementos que determinan la tolerancia de las plantas al déficit hídrico, como mediadores de los efectos promovidos por los brasinoesteroides, haciéndose necesaria la identificación de otros factores esenciales como pueden ser proteínas específicas reguladas por sequía, osmolitos, etc.

**Estrés de temperatura.** El cultivo de berenjena crecido a bajas temperaturas (temperatura diurna inferior a 17°C) se caracteriza por un pobre desarrollo del fruto. El tratamiento con solución de 0.001 ppm de brasinólida en la floración provocó

un crecimiento normal del fruto. En pepino, el amarillamiento marginal que aparece en las hojas provocado por las bajas temperaturas es eliminado cuando las raíces de las posturas se sumergen en soluciones de  $10^{-6}$  a  $10^{-4}$  ppm de brasinólida antes del trasplante (3).

El tratamiento de semillas de maíz con BL durante 24 horas provocó no sólo una disminución del flujo de electrolitos, sino además una disminución más lenta de la velocidad respiratoria de los coleótilos de las posturas, cuando fueron sometidos a estrés de bajas temperaturas (0-3°C) por 10 días. Se sugirió que la BL puede tener algunos efectos protectores en el sistema de membrana a bajas temperaturas (22).

Con anterioridad, otros autores (23) habían informado el efecto de la BL en la recuperación del crecimiento de posturas de maíz, después de ser sometidas al mismo rango de baja temperatura por dos, cuatro, seis, ocho y 10 días. Ellos plantearon que el efecto de la BL en la recuperación de las posturas era probablemente debido al papel que este compuesto juega en el ajuste o la compensación del equilibrio hormonal en la planta.

Más recientemente, se publicó el efecto de la brasinólida y el ión calcio en los órganos respiratorios del maíz sometido a bajas temperaturas (24). De esta forma, se observó una mayor razón del control respiratorio (RCR) y una mayor actividad superóxido dismutasa (SOD) en las mitocondrias de posturas tratadas así como un contenido inferior de malondialdehído (MDA). Se consideró, entonces, que el  $\text{Ca}^{2+}$  y la brasinólida pueden mantener la estructura y función normales del sistema de membrana y así promueven la tolerancia a las bajas temperaturas de las posturas de maíz.

Otros autores (25) han informado que la inmersión de semillas de arroz y la posterior aspersión foliar con homobrasinólida influyó positivamente en la respuesta de las posturas a un estrés de bajas tempera-

turas ( $2\pm 1^\circ\text{C}$ ) en la oscuridad por dos días, lo que significó un sistema radical más vigoroso y una masa seca de tallos más hojas superior. Además, se observó un incremento de la actividad de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa y peroxidasa y una disminución del contenido de malondialdehído, un producto de la peroxidación lipídica de las membranas.

Por otra parte, la inmersión de raíces de posturas de arroz en la fase de tres hojas durante 24 horas en una solución de 0.001 ppm de brasinólida incrementó la resistencia a las bajas temperaturas de las posturas, provocando un efecto protector similar al del ácido 5-aminolevulínico (26).

Se estudió el efecto de la 24-epibrasinólida en la respuesta de suspensiones celulares de *Bromus inermis* Leyss a las bajas temperaturas y se comparó con el del ácido abscísico, encontrándose que el brasinoesteroide incrementó ligeramente la tolerancia a las bajas temperaturas, aunque este aumento fue mucho menor que el provocado por el ABA (27).

En relación con los mecanismos de tolerancia al estrés de altas temperaturas, se ha informado que en hojas de trigo sometidas a choque térmico (40°C por dos horas), la preincubación con 24-epibrasinólida y 22S,23S-homobrasinólida activó la síntesis de proteínas totales e indujo la síntesis *de novo* de polipéptidos tanto a altas temperaturas como a temperatura normal. Se constató además que algunas de las proteínas inducidas por estos compuestos a temperatura normal correspondieron a proteínas de choque térmico. La 22S,23S-homobrasinólida también estimuló la formación de gránulos de choque térmico en el citoplasma e incrementó la termotolerancia de la síntesis de proteínas totales en condiciones de altas temperaturas (28).

Por su parte, otros autores (27) demostraron que el efecto protector de la 24-epibrasinólida en el tratamiento de altas temperaturas del

cultivo de células de *Bromus inermis* fue comparable al provocado por ácido abscísico, aunque los dos reguladores modularon diferencialmente los niveles de transcritos de la proteína de choque térmico de 90 kDa. Esto confirma que los brasinoesteroides le confieren a las células vegetales alguna tolerancia al estrés y además sugiere que los mecanismos por los cuales estos compuestos ejercen su efecto antiestrés pueden ser similares, sólo en parte, al del ácido abscísico.

Contrario a los resultados anteriores se había informado a principios de la década del noventa (29) que la 24-epibrasinólida no incrementaba la tolerancia a las altas temperaturas ni la actividad antioxidante en posturas de *Vigna aconitifolia* cuando las semillas fueron germinadas en soluciones de 0.1, 1.0 y 2.0  $\mu\text{M}$  y 72 horas después las posturas se sometieron a 48°C por 90 minutos. A esta temperatura, la EBL incrementó significativamente el flujo de electrolitos y las concentraciones de  $\text{K}^+$  y de azúcares en comparación con el control. De igual forma, incrementó significativamente la concentración de MDA y la actividad de la enzima ácido ascórbico oxidasa; sin embargo, disminuyó la actividad de la SOD en comparación con el control. Estos resultados indujeron a los autores a concluir que la 24-epibrasinólida no incrementa la tolerancia de las plantas al choque térmico.

Sin embargo, posteriormente otros autores en China (30) usando un tratamiento de estrés similar, pero realizando un pretratamiento a semillas de pepino con dosis entre  $10^{-3}$ - $10$   $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de este mismo compuesto, germinándolas en agua e imponiéndole el estrés después de 96 horas, encontraron que las dosis de  $10^{-2}$ - $10$   $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  redujeron el flujo de electrolitos así como el contenido de MDA, además de que a 48°C las actividades de las enzimas superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) disminuyeron más lentamente en las semillas tratadas que en las controles, por lo que se

sugirió que la 24-epibrasinólida a concentraciones entre  $10^{-2}$  y  $10$  mg.L<sup>-1</sup> incrementó la tolerancia al choque térmico de posturas de pepino y esa tolerancia está asociada con la actividad incrementada de algunos sistemas antioxidantes.

Estos resultados revelan una vez más la importancia del cultivo, de las dosis y el momento de aplicación del brasinoesteroide y de la forma de implantación del tratamiento de estrés en la respuesta metabólica de las plantas, por lo que es muy arriesgado arribar a conclusiones generales cuando no se han esclarecido aún los mecanismos por los cuales los brasinoesteroides pueden o no inducir termotolerancia.

En Canadá, se informó más recientemente (31) que posturas de *Brassica napus* y de tomate crecidas en un medio de cultivo que contenía  $1 \mu\text{M}$  de 24-epibrasinólida fueron significativamente más tolerantes a un tratamiento de calor letal que las posturas control crecidas en ausencia de este compuesto y debido a que no fue necesario un tratamiento de precondicionamiento se concluyó que la epiBL incrementó la tolerancia básica de las posturas. Además, se constató que después del estrés de calor hubo una mayor acumulación de proteínas de choque térmico (*HSPs*) en las posturas tratadas, lo que incrementa la posibilidad de que las *HSPs* contribuyen, al menos en parte, a la termotolerancia de las posturas tratadas.

Se ha demostrado, además, las modificaciones ultraestructurales que mostraron las hojas de tomate tratadas con un análogo espiroestánico de brasinoesteroide (BIOBRAS-6) y sometidas a estrés de altas temperaturas (32). Así, se pudo constatar que la incubación a temperatura ambiente ( $23^{\circ}\text{C}$  día/ $18^{\circ}\text{C}$  noche) durante 24 horas de discos foliares con  $0.01$  mg.L<sup>-1</sup> de BB-6 propició que antes de ser sometidas al estrés de calor ( $40^{\circ}\text{C}$  por 1.5 horas), las células presentaran mayor granulación en el núcleo, nucleolo y citoplasma, así como mayor desarrollo del retículo endoplasmático, caracterís-

ticas que se mantuvieron en células igualmente tratadas y sometidas a altas temperaturas, así como una menor vesiculación en comparación con las que no recibieron el BB-6.

Recientemente, ha sido evaluada la respuesta de las actividades de tres enzimas antioxidantes en discos foliares de tomate preincubados con 24-epibrasinólida y un análogo espiroestánico polihidroxilado de brasinoesteroide (MH5) y sometidos a estrés de altas temperaturas (33). Los resultados demostraron, de forma general, que los discos tratados con ambos compuestos y sometidos a estrés de altas temperaturas ( $40^{\circ}\text{C}$  por dos horas) incrementaron las actividades de las enzimas superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasa en magnitudes superiores que los discos controles, lo que puede sugerir que la termotolerancia inducida por los brasinoesteroides y sus análogos esté asociada a un incremento de la actividad antioxidante en las plantas.

Tal como se constata, la tolerancia al calor inducida por los brasinoesteroides es un hecho demostrado en varios sistemas de plantas, aunque las evidencias no resultan del todo concluyentes, sobre todo por el aún reducido entendimiento de las vías por las cuales ellos ejercen su acción. Resulta imprescindible obtener datos que permitan vincular en profundidad las funciones de las proteínas de choque térmico, los antioxidantes y otros elementos protectores con los modelos actuales de señalización celular de los brasinoesteroides.

**Estrés salino.** En cuanto a la protección al estrés salino conferida por los brasinoesteroides, desde 1986, se informó (3) que la brasinólida, en dosis que oscilaron entre  $10^3$  y  $10^5$  ppm, mejoró la tolerancia a la salinidad de plantas de arroz cultivadas en soluciones nutritivas en condiciones de invernadero. De igual forma, posteriormente otros autores informaron (28) que el pretratamiento con este compuesto protegió la ultraestructura del núcleo y el cloroplasto en segmentos de hojas de cebada expuestas a NaCl 500 mM.

También se demostró que la germinación de semillas de *Eucalyptus camaldulensis* fue estimulada en una solución de 150 mM de NaCl en presencia de 24-epibrasinólida (34). En este mismo sentido, se constató que la aplicación de BL, 24-epiBL y 28-HBL contrarrestaron los efectos inhibitorios en el crecimiento provocados por la salinidad en posturas de maní cv. ICGS 44 (35).

Sin embargo, en posturas crecidas en condiciones de salinidad e hidroponía se observaron más daños cuando se suministró la 24-epiBL a las raíces; mientras que hubo efectos positivos si se efectuaban aspersiones repetidas a los tallos, observándose también un incremento significativo de la formación de yemas axilares (6).

Por otra parte, se ha evidenciado que los brasinoesteroides pueden contrarrestar los efectos tóxicos de la salinidad, pues la aspersión de plantas de trigo salinizadas con 0.05 ppm de brasinólida incrementaron los niveles de ácido indolacético (AIA) y disminuyeron los de ácido abscísico (ABA). Estos niveles más altos de AIA son los responsables de un mayor ahijamiento conjuntamente con incrementos en la acumulación de metabolitos que contrarrestan los efectos de la salinidad por sí sola y se traducen en un mayor crecimiento y rendimiento (36).

De manera similar, la aspersión foliar con dos análogos de brasinoesteroides (BIOBRAS-6 y BIOBRAS-16) de plantas de arroz var. IACuba-25 cultivadas en un suelo débilmente salinizado ( $4.4$  dS.m<sup>-1</sup>) incrementó significativamente el rendimiento del cultivo tanto en época seca como en época lluviosa (Mariña *et al.*, datos no publicados).

Por otra parte, se ha estudiado también la influencia del análogo BIOBRAS-6 en la germinación de semillas de tomate variedad Campbell-28 en condiciones salinas (37). Para esto, se ejecutaron dos experimentos; en el primero, se estudió la presencia de tres concentraciones ( $0.01$ ,  $0.05$  y  $0.1$  mg.L<sup>-1</sup>) del producto en una solución 50 mM de NaCl.

En el segundo, se incluyeron además soluciones de 100 y 150 mM de NaCl y se evaluaron también tres dosis de BB-6 (0.001, 0.01 y 0.05 mg.L<sup>-1</sup>). Los resultados del primer experimento demostraron que la presencia del BB-6 no modificó la dinámica de la germinación en una solución de 50 mM de NaCl, aunque las dosis más bajas que se utilizaron (0.01 y 0.05 mg.L<sup>-1</sup>) incrementaron ligeramente el porcentaje final en 3.4 y 4.2 %, respectivamente. En el segundo, se confirmaron los resultados del primer experimento y además se reveló que la dosis de 0.001 mg.L<sup>-1</sup> de BB-6 fue capaz de incrementar ligeramente el porcentaje de germinación cuando las semillas se colocaron en cualquiera de las tres concentraciones de NaCl estudiadas. Se observó también que la presencia del análogo en las concentraciones de 50 y 100 mM de NaCl estimuló tanto la masa fresca como la masa seca de las radículas, corroborándose la utilidad de adicionar dosis bajas de este biorregulador.

El comportamiento de la germinación y el crecimiento inicial de las radículas se evaluó cuando semillas de arroz var. «Perla de Cuba» se colocaron en soluciones de 100 y 150 mM de NaCl en presencia de diferentes análogos de brasinoesteroides (BB-6, MH-5, DI-43, CR-44, BB-16, IRA-67) (37). Los resultados mostraron que la presencia de los análogos de brasinoesteroides en ambas soluciones de NaCl no incrementó de forma sensible el porcentaje de germinación de las semillas de esta variedad; sin embargo, el efecto fundamental que se observó fue el incremento en la masa seca de las plántulas provocado principalmente por los análogos DI-43, MH-5 y CR-44 en el caso de 100 mM de NaCl y de éstos y el BB-6 en el caso de 150 mM.

Estos resultados, aunque son preliminares, reflejan que la presencia de estos análogos en el medio, modificaron la actividad metabólica de las semillas y las plántulas de forma tal que permitieron un mayor crecimiento inicial en esas condiciones, el cual se reflejó a través de la masa

seca, lo que indica las posibles potencialidades antiestrés de estos productos, aspecto que deberá confirmarse posteriormente tanto a nivel de laboratorio como en condiciones de campo, fundamentalmente realizando un pretratamiento a las semillas con los mismos antes de colocarlas en medio salino para la germinación.

La identificación de los factores responsables de la tolerancia a la salinidad conferida por los brasinoesteroides se hace relevante a la luz de la complejidad de los mecanismos que utilizan las plantas para la protección salina, más aún, teniendo en cuenta que a diferencia de los estrés analizados con anterioridad para esta condición de estrés no existen prácticamente evidencias mecanísticas que relacionen estos compuestos con determinados factores protectores. *Otros estrés abióticos.* Algunos autores han destacado el efecto de la epibrasinólida en la acumulación de metales pesados en diferentes plantas tales como cebada, tomate, rábano y remolacha (8), encontrándose que la aplicación de este compuesto en dosis apropiadas en una cierta etapa del desarrollo reduce significativamente la absorción de metales. Así, por ejemplo, en plantas de cebada cv. Zazersky asperjadas con dosis de 10 mg.ha<sup>-1</sup> de epiBL se redujo el contenido de metales entre 40 y 98 % en comparación con el control.

También se ha estudiado, a nivel bioquímico, la influencia de la 24-epiBL sobre la degradación lipídica oxidativa en guisante (38) y se demostró que cuando las plantas eran tratadas con una solución de 10 mg.L<sup>-1</sup> de este compuesto disminuyeron los niveles de los productos de la peroxidación lipídica particularmente en condiciones de hipoxia o de medio enriquecido con CO<sub>2</sub>.

La protección de los brasinoesteroides contra el daño provocado por los herbicidas se informó en el cultivo del arroz desde 1986 (3), donde se demostró que la brasinólida protegió contra el daño provocado por

las aplicaciones de simetrina, butaclor y pretilaclor. En el caso de la simetrina, la BL redujo la transpiración y la absorción de simetrina y además indujo a la recuperación de la inhibición fotosintética debido a este herbicida. Sin embargo, la BL no disminuyó el daño a las plantas de arroz provocados por herbicidas de tipo auxínico como el 2,4-D y el MCP sino por el contrario intensificó el daño (5).

El estrés provocado por el trasplante en posturas de *Pinus radiata* fue contrarrestado por la inmersión de las raíces en solución 1mM de 24-epiBL antes de la plantación, lo que aceleró el crecimiento radical cuatro meses después (39).

## RESISTENCIA A ENFERMEDADES

El incremento en la resistencia a la infección patogénica inducida por los brasinoesteroides ha sido informada desde principios de la década del noventa (40). Estos autores infestaron artificialmente tubérculos de papa con *Phytophthora infestans* o *Fusarium sulfuricum* y encontraron que los tratados con brasinoesteroides mostraron una resistencia superior a los fitopatógenos en comparación con el control y, además, formaron más sustancias protectoras en respuesta a la infección.

Un estudio sobre el mecanismo protector de los brasinoesteroides contra enfermedades se ejecutó en plantas de cebada, como un sistema modelo en condiciones de campo y de laboratorio (8). Ellos encontraron que la aspersión de las plantas con epibrasinólida en la fase de ahijamiento disminuyó sensiblemente las enfermedades foliares provocadas por *Helminthosporium teres* Sacc. en condiciones de laboratorio. En condiciones de campo, se demostró que la dosis de 15 mg.ha<sup>-1</sup> de 24-epiBL fue comparable con el efecto inducido por el fungicida *Bayleton* cuando se aplicó en la dosis usual, provocando además un incremento en la productividad de la planta.

En otro experimento se demostró que la actividad fungistática de

la 24-epiBL, medida en cultivos del hongo *H. teres*, fue más bien baja, por lo que se concluyó que solamente un efecto hormonal que guía a la activación de los mecanismos internos de la resistencia de las plantas puede ser responsable de los efectos observados.

De esta forma, se evaluó el efecto de la epibrasinólida 694 en el contenido de compuestos fenólicos y la actividad peroxidasa en plantas de cebada sanas e infectadas con *Heminthosporium teres* [*Pyrenophora teres*] (41). Los resultados mostraron que la epibrasinólida incrementó el contenido de ácidos fenilcarbónicos libres y la actividad de la peroxidasa y con ello la resistencia de las plantas, por lo que se sugirió que los brasinoesteroides resultan prometedores como inductores de la inmunidad de la cebada al *P. teres*.

En este sentido, otros autores (42) han estudiado la inducción de resistencia en plantas provocada por un extracto de *Lychnis viscaria* que contiene brasinoesteroides. Así, ellos demostraron que la aplicación de soluciones acuosas de ese extracto en concentraciones que oscilaron entre 0.5 y 10 mg.L<sup>-1</sup> resultó en un incremento de la resistencia del tabaco, el pepino y el tomate a patógenos virales y fúngicos hasta de un 36 % comparado con las plantas tratadas con agua. Se constató, además, en los ensayos de crecimiento del micelio con *Phytophthora infestans* que no existió efecto antifúngico directo.

Por otra parte, estos autores encontraron que después del tratamiento e inoculación con *mildew* en pepino ocurrió una estimulación de diferentes proteínas PR como fue un 20 % para peroxidasa y un 30 y hasta un 68 % para quitinasa y  $\beta$ -1,3-glucanasa, respectivamente, por lo que los brasinoesteroides deben estar involucrados en la inducción de resistencia de las plantas.

Esta idea había sido expresada anteriormente por otros autores (43), quienes informaron que mutantes deficientes en expresar un gen involucrado en la biosíntesis de los

brasinoesteroides, mostraron una expresión marcadamente baja de proteínas PR. Sin embargo, mutantes que sobreexpresaron este gen, mostraron una inducción significativa de proteínas PR.

Otro aspecto descubierto recientemente de la acción protectora de los brasinoesteroides en las plantas está relacionada con su capacidad de estimular resistencia a la infección por virus (8). Esto fue observado en la micropropagación de papa, donde se incluyeron en el medio de cultivo varios brasinoesteroides (brasinólida, homobrasinólida y epibrasinólida) y se encontró una reducción en la infección por virus en el material utilizado para la plantación. Este efecto se encontró en todas las etapas del desarrollo de la planta y se observó también en la primera y segunda generaciones de tubérculos producidos del material vegetal de partida crecidos en un medio que contenía brasinoesteroides.

## CONCLUSIONES

Los resultados presentados en esta revisión revelan que los brasinoesteroides y sus análogos pudieran jugar un papel importante en las respuestas de las plantas a diferentes condiciones de estrés. Al realizar un análisis crítico de estos se puede deducir que, en general, no parecen existir resultados concluyentes. Los enfoques experimentales presentados no muestran totalmente hasta qué punto los cambios fisiológicos y bioquímicos relacionados con la tolerancia son consecuencia directa de la aplicación del biorregulador de manera que se hace riesgoso, en este momento, el planteamiento de una relación causal brasinoesteroide-tolerancia. Es necesario ampliar el rango de condiciones definidas para explorar las respuestas al estrés de las plantas tratadas con brasinoesteroides.

Se evidenció que aspectos tales como el brasinoesteroide o análogo a utilizar, así como las dosis, el modo y momentos de aplicación influyen en la respuesta de las células,

órganos o plantas al tratamiento de estrés; aunque se confirmó lo planteado en cuanto a que el tratamiento con estos compuestos tiene un efecto marcado en el crecimiento de plantas estresadas, aspecto que cobra una importancia especial para la potencial aplicación de estos en la agricultura.

En cuanto al incremento de la tolerancia de las plantas al ataque de determinados patógenos provocado por los brasinoesteroides, se ha evidenciado que estos compuestos incrementan la actividad de determinados metabolitos y enzimas asociadas con los mecanismos de resistencia a enfermedades.

No obstante, tal como se ve, los resultados deberán matizarse con mayor profundidad en cuanto a la consideración de las interacciones de los brasinoesteroides con otras hormonas en la modulación del estrés, aspecto que se apoya todavía en relativamente pocos estudios. Incluso, se hace necesario profundizar aún más en las interacciones de las rutas de señalización del estrés con la de los brasinoesteroides, pues, aunque se presentan resultados utilizando mutantes biosintéticos, estas evidencias no son exhaustivas.

Del mismo modo, hasta la fecha no se tienen resultados que correlacionen los niveles de brasinoesteroides endógenos con la tolerancia, aspecto de gran importancia teniendo en cuenta que, posiblemente, la tolerancia inducida por las aplicaciones exógenas no reflejen fielmente lo que ocurre funcionalmente con los brasinoesteroides endógenos.

Tal como señalan otros autores (44), en general, se podría concluir finalmente que el reto más serio para las aplicaciones de estos reguladores está en esclarecer y comprender sus mecanismos de acción; aunque si bien es un hecho que estas aplicaciones se realizan sin este conocimiento, no cabe duda que serían más racionales y efectivas y de una gran utilidad para la agricultura cuando éste se tenga.

## REFERENCIAS

1. Chory, J.; Chatterjee, M.; Cook, R. K.; Elich, T. /et al./ From seed germination to flowering, light controls plant development via the pigment phytochrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, no. 93, p. 12066-12071.
2. Sasse, J. M. Recent progress in brassinosteroid research. *Physiol. Plant.* 1997, vol. 100, p. 696-701.
3. Meudt, W. J.; Thompson, M. J. y Benneth, H. W. Investigations on the mechanism of the brassinosteroid response. III. Techniques for potential enhancement of crop production. *Proc. Plant Growth Regul. Soc. Amer.*, 1983, vol. 10, p. 312-318.
4. Hamada, K. Brassinolide in crop cultivation. Plant growth regulators in agriculture, *FFTC Book Ser.*, 1986, vol. 34, p. 188-196.
5. Abe, H. Advances in brassinosteroid research and prospects for its agricultural application. *Japan Pesticide Information*, 1989, no. 55, p. 10-14.
6. Sasse, J. M. Physiological actions of brassinosteroids. En: Brassinosteroids: Steroidal Plant Hormones. Tokyo. Springer-Verlag, 1999.
7. Schilling, G. Influence of brassinosteroids on organ relations and enzyme activities of sugar-beet plants. En: Brassinosteroids, Chemistry, Bioactivity and Applications.- Washington: American Chem. Society, 1991.
8. Khripach, V. A. Physiological mode of action of BS. En: Brassinosteroids. A new class of plant hormones. New York. Academic Press, 1999.
9. Sairam, R. K. Effects of homobrassinolide application on plant metabolism and grain yield under irrigated and moisture-stress conditions of two wheat varieties. *Plant Growth Regul.*, 1994, vol. 14, p. 173-181.
10. Sairam, R. K. Effect of homobrassinolide application on metabolic activity and grain yield of wheat under normal and water-stress condition. *J. Agron. Crop Sci.*, 1994, vol. 173, p. 11-16.
11. 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 J. Plant Physiol.*, 1996, vol. 1, no.3, p. 141-144.
12. Xu, H. I.; Shida, A.; Futatsuya, F. y Kumura, A. Effects of epibrassinolide and abscisic acid on sorghum plants growing under soil water deficit. I. Effects on growth and survival. *Jpn. J. Crop Sci.*, 1994, vol. 63, p. 671-675.
13. Xu, H. I.; Shida, A.; Futatsuya, F. y Kumura, A. Effects of epibrassinolide and abscisic acid on sorghum plants growing under soil water deficit. II. Physiological basis for drought resistance induced by exogenous epibrassinolide and abscisic acid. *Jpn. J. Crop Sci.*, 1994, vol. 63, p. 676-681.
14. Jai, S.; Nakamura, S.; Ota, Y. y Singh, J. Effect of epi-brassinolide on gram (*Cicer arietinum*) plants grown under water stress in juvenile stage. *Indian J. Agric. Sci.* 1993, vol. 63, no. 7, p. 395-397.
15. Kumawat, B. L.; Sharmat, D. D. y Jat, S. C. Effect of brassinosteroid on yield attributing characters under water deficit stress condition in mustard (*Brassica juncea* (L.) Czern and Coss.). *Annals Biol. Ludhiana*, 1997, vol. 13, no. 1, p. 91-93.
16. Li, L. y Van Staden, J. Effects of plant growth regulators on the antioxidant systems in callus of two maize cultivars subjected to water stress. *Plant Growth Regul.*, 1998, vol. 24, p. 55-66.
17. Li, L. y Van Staden, J. Effects of plant growth regulators on drought resistance of two maize cultivars. *South African J. Botany*, 1998, vol. 64, no. 2, p. 116-120.
18. Li, L., Van Staden, J. y Jager, A. K. Effects of plant growth regulators on the antioxidant system in seedlings of two maize cultivars subjected to water stress. *Plant Growth Regul.*, 1998, vol. 25, no. 2, p. 81-87.
19. Wang, A. L., Gao, Q. A. y Chen, Y. J. The physiological effects of brassinolide (BR) in *Pinus elliottii* seedlings. *J. Nanjing Forestry Univ.*, 1995, vol. 19, no. 4, p. 1-6.
20. Ghasempour, H. R.; Anderson, E. M.; Gianello, R. D.; Gaff, D. F. y Farrant, J. M. Growth inhibitor effects on protoplasmic drought tolerance and protein synthesis in leaf cells of the resurrection grass, *Sporobolus stapfianus*. *Plant Growth Regul.*, 1998, vol. 24, no. 3, p. 179-183.
21. Núñez, M., Dell'Amico, J., Pérez, I., Pérez-Pastor, A. y Ruiz-Sánchez, M.C. Efecto de tratamientos con brasinoesteroides sobre las relaciones hídricas y el crecimiento de plantas de tomate bajo estrés hídrico. En: Actas del Simposium Hispano-Portugués. Relaciones hídricas en las plantas (4:1998:Murcia) p. 206-209.
22. Wang, G. J.; He, R. Y.; Chen, Y. R.; Meng, Q. P. y Dai, J. Y. Physiological effects of brassinolide on chilling tolerance of maize seedlings. *J. Shenyang Agric. Univ.*, 1992, vol. 23, no. 3, p. 215-217.
23. He, R. Y. Effects of brassinolide on growth and chilling resistance of maize seedlings. En: Brassinosteroids. Chemistry, Bioactivity and Applications.- Washington: American Chem. Society, 1991.
24. Jiang, Y. W. y Wang, G. J. The effects of Ca<sup>2+</sup> and BR on chilling tolerance in maize respiratory organs. *Acta Agric. Boreali Sinica*, 1996, vol. 11, no. 3, p. 73-76.
25. Chen, S. N.; Liu, J. M.; You, H. L.; Zhu, H. J.; Qin, Z. B.; Hong, G. M. y Shen, 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.
26. Hotta, Y.; Tanaka, T.; Bingshan, L.; Takeuchi, Y. y Konai, M. Improvement of cold resistance in rice seedlings by 5-aminolevulinic acid. *J. Pesticide Sci.*, 1998, vol. 23 no.1, p. 29-33.
27. 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.

28. Kulaeva, O. N. Effect of brassinosteroids on protein synthesis and plant-cell ultrastructure under stress conditions. En: *Brassinosteroids. Chemistry, Bioactivity and Applications*. Washington: American Chem. Society, 1991.
29. Upadhyaya, A.; Davis, T. D. y Sankhla, N. Epibrassinolide does not enhance heat shock tolerance and antioxidant activity in moth bean. *HortSci.*, 1991, vol. 26, p. 1065-1067.
30. Zhu, C.; Zeng, G. W. y Liu, F. Y. Effect of epibrassinolide on the heat shock tolerance and antioxidant metabolism in cucumber seedling. *J. Zhejiang Agric. Univ.*, 1996, vol. 22, no. 3, p. 281-288.
31. Dbaubhadel, 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 Molec. Biol.*, 1999, vol. 40, p. 333-342.
32. Sam, O., Núñez, M., Falcón, V., de la Rosa, C., Ruiz, M.C. y Dell'Amico, J. Effect of a brassinosteroid analogue and high temperature stress on leaf structure of *Lycopersicon esculentum*. *Biol. Plantarum*, 2001, vol. 44, no. 2, p. 213-218.
33. Mazorra, L.; Núñez, M.; Hechavarría, M. y Coll, F. Influence of brassinosteroid treatments on catalase, peroxidase and superoxide dismutase activity in tomato leaf discs at two different temperatures. *Biologia Plantarum*, 2001.
34. Sasse, J. M.; Smith, R. y Hudson, I. Effect of 24-epibrassinolide on germination of seeds of *Eucalyptus camaldulensis* in saline conditions. *Proc. Plant Growth Regul. Soc. Amer.*, 1995, vol. 22, p. 136-141.
35. Vardhini, S. V. y Rao, S. S. R. Effect of brassinosteroids on salinity induced growth inhibition of groundnut seedlings. *Indian J. Plant Physiol.*, 1997, vol. 2, no. 2, p. 156-157.
36. Hathout, T. A. Salinity stress and its counteraction by the growth regulator "Brassinolide" in wheat plants (*Triticum aestivum* L. cultivar Giza 157). *Egyptian J. Physiol. Sci.*, 1996, vol. 20, no. 1-2, p. 127-152.
37. Núñez, M. Análogos de brasinosteroides cubanos como biorreguladores en la agricultura. Informe final de Proyecto de Investigaciones. Código 00300047. PNCT Biotecnología Agrícola. CITMA, La Habana, junio 2000.
38. Ershova, A. N. y Khripach, V. A. Effect of epibrassinolide on lipid peroxidative in *Pisum sativum* at normal aeration and under oxygen deficiency. *Russian J. Plant Physiol.*, 1996, vol. 43, no. 6, p. 750-752.
39. Sasse, J. M. y Sands, R. Brassinosteroids and transplantation stress. *Proc. Plant Growth Regul. Soc. Amer.*, 1992, vol. 19, p. 135-138.
40. Clouse, S. D. y Sasse, J. M. Brassinosteroids: Essential Regulators of Plant Growth and Development. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1998, vol. 49, p.427-51.
41. Manzhelesova, N.E. The content of phenolic compounds and peroxidase activity at brassinosteroid-induced resistance of barley to spot disease. *Vestsi-Akademii-Navuk-Belarusi.-Seriya-Biyalogichnykh-Navuk*, 1997, vol. 3, p. 20-24.
42. Roth, U.; Friebe, A. y Schnabl, H. Resistance inductive in plants by a brassinosteroid-containing extract of *Lychnis viscaria* L. *Z. Naturforsch.*, 2000, vol. 55c, p. 552-559.
43. Szekeres, M.; Németh, K.; Koncz-Kálmán, Z.; Mathur, J.; Kauschmann, A.; Altmann, T.; Rédei, 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.
- 44- Li, J. y Chory, J. Brassinosteroid actions in plants. *J. Exp. Bot.*, 1999, vol. 50, no. 332, p. 275-282.

Recibido: 11 de mayo del 2001

Aceptado: 16 de octubre del 2001