



U. M. S. N. H.

Uso de brasinoesteroides y sus análogos en la agricultura

Rafael Salgado Garciglia¹, Marco A. Cortés Rodríguez² y Rosa E. del Río³

¹ *Lab. de Biotecnología Vegetal, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Edif. B-3, 2º.Piso, CP 58060, Ciudad Universitaria, Morelia, Michoacán, México. e-mail: rsalgado@zeus.umich.mx.*

² *Centro de Investigación y Desarrollo del Estado de Michoacán (CIDEM), Calz. Juárez 1446, C.P. 58060, Villa Universidad, Morelia, Michoacán, México.*

³ *Lab. de Química de Productos Naturales, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Edif. B-1, 3er. Piso, CP 58060, Ciudad Universitaria, Morelia, Michoacán, México.*

RESUMEN

Los brasinoesteroides son metabolitos vegetales que tienen la capacidad de estimular el crecimiento de las plantas. Se ha demostrado que influyen en la germinación, en la rizogénesis, en la floración, en la senescencia, en la abscisión y en los procesos de maduración. Los brasinoesteroides también confieren resistencia a las plantas contra estrés abiótico y biótico, por lo que se les considera como una nueva clase de hormonas vegetales con efectos pleiotrópicos. Los recientes descubrimientos de las propiedades fisiológicas de los brasinoesteroides, permiten considerarlos como sustancias naturales, altamente promisorias, amigables con el ambiente, apropiados para su uso hacia la protección de las plantas y aumento en la producción agrícola. En la presente revisión se presentan de forma resumida los principales aspectos relacionados con la estructura, síntesis y actividad biológica de los brasinoesteroides naturales, con énfasis en la aplicación de los análogos sintéticos de brasinoesteroides.

Palabras clave: Brasinoesteroides, agricultura, crecimiento vegetal.

ABSTRAC

Brassinosteroids are plant metabolites with significant plant growth-promoting capacity. It has been demonstrated that they influence seed germination, rhizogenesis, flowering, senescence, abscission and maturation. Brassinosteroids also confer resistance to plants against abiotic and biotic stresses. Brassinosteroids are, therefore, considered as a new class of plant hormones with pleiotropic effects. New discoveries of the physiological properties of brassinosteroids allow to consider them as highly promising, environmentally-friendly, natural substances suitable for wide application in plant protection and yield promotion in agriculture. In the present review the main aspects on the structure, synthesis and biological activity of naturally occurring brassinosteroids are briefly presented, with emphasis in the application of the synthetic analogs of brassinosteroids.

Key words: Brassinosteroids, agriculture, plant growth.

INTRODUCCIÓN

Las plantas poseen la capacidad de sintetizar una gran variedad de esteroides confiriéndoles una función hormonal similar a la que ocurre en animales. Varios son los esteroides de origen

vegetal que han sido identificados, pero solamente una clase de ellos, los llamados brasinoesteroides tienen una amplia distribución en el reino vegetal ya que han sido encontrados en todos los órganos de un gran número de representantes de diferentes familias del reino vegetal

marino y terrestre. Estos compuestos, ejercen sus efectos al ser aplicados en concentraciones que oscilan entre 10^{-2} y 10^{-4} mg·l⁻¹. Muestran una inusual actividad promotora del crecimiento cuando son aplicados exógenamente (Mitchell *et al.* 1970). En diferentes cultivos de importancia económica los brasinoesteroides se caracterizan por estimular el crecimiento vegetal, aumentar el rendimiento de la producción de biomasa y acelerar la maduración de frutos. Además fortalecen la resistencia de las plantas a las plagas y a factores de estrés abiótico como la salinidad, la sequía y los cambios bruscos de temperatura, así como a agentes químicos agresivos como plaguicidas y herbicidas (Mandava 1988, Sasse 1992, Fujioka y Sakurai 1997).

Debido a la baja concentración de brasinoesteroides encontrados en las plantas, la única fuente de estos compuestos para estudios biológicos y propósitos prácticos es la síntesis química, con la cual se han producido brasinoesteroides no presentes en la naturaleza, denominados análogos de brasinoesteroides, que ejercen efectos cualitativamente similares a los naturales (Yokota 1997). Estudios fisiológicos han demostrado que los brasinoesteroides y sus análogos, pueden inducir un amplio espectro de respuestas celulares tales como: elongación de tallos, crecimiento de los tubos de polen, doblamiento de hojas y epinastia, inhibición de raíces, inducción de biosíntesis de etileno, activación de la bomba de protones, diferenciación del xilema y regulación de expresión de genes (Mandava 1988, Clouse y Sasse 1998). También estimulan varios tipos de actividad regulatoria del crecimiento y del desarrollo de las plantas, tales como la expansión y división celular (Sasse 1992). La diversidad de efectos causados por los brasinoesteroides y sus análogos atrajo la atención de especialistas en el campo de la química, biología y agricultura, que han demostrado sus efectos y establecido la importancia de la relación estructura-actividad (Brosa *et al.* 1996, Khripach *et al.* 2000). Es por ello, que desde hace 25 años, se ha mostrado la aplicación práctica con óptimos resultados en diversas plantas cultivadas en campo, como arroz, trigo, cebada, soya, algodón, tabaco, jitomate, papa, mostaza,

betabel, melón, cacahuete y arándano, entre otros (Khripach *et al.* 2000).

En México, se ha estudiado el efecto de algunos brasinoesteroides, observándose también el aumento del rendimiento en diversas plantas, como frijol ayacote (*Phaseolus coccineus* L.) (Vargas-Vázquez e Irizar-Garza 2005) y en híbridos de maíz (Torres-Ruiz *et al.* 2007). Los brasinoesteroides probados son el Biobras-16, CIDEF-4 y el Bioveg. En nuestros laboratorios se han realizado estudios tanto en invernadero como en campo, orientados a determinar el efecto de análogos de brasinoesteroides en alfalfa (*Medicago sativa* L.) y fresa (*Fragaria x ananassa* Duch. Cv. Aromas), comparando su efecto entre ellos en la germinación, el desarrollo y el crecimiento.

Biosíntesis y metabolismo de brasinoesteroides

En 1968, Marumo y colaboradores observaron en tres fracciones obtenidas de un extracto metanólico de una planta conocida en Japón como "isunoki" (*Distylium racemosum*), que presentaban una inusual actividad promotora del crecimiento vegetal. Posteriormente en 1970, Mitchell y colaboradores reportaron que un extracto lipoidal obtenido del polen del nabo (*Brassica napus*) mostraba también una sorprendente actividad estimuladora del crecimiento vegetal en hipocotilos de frijol. Estudios espectroscópicos y de difracción de rayos-X revelaron la estructura del compuesto responsable de este efecto como la (22R, 23R, 24S)-2,3,22,23-tetrahidroxi-24-metil-B-homo-7-oxa-5-colestan-6-ona. Esta sustancia, a la que se denominó brasinólida (Figura 1A) se distingue de otros compuestos esteroidales por poseer una estructura caracterizada por la presencia de una agrupación diol en las posiciones dos y tres del anillo A, un anillo B de tipo 7-oxa-lactona y una cadena lateral portadora de cuatro centros quirales contiguos (20S, 22R, 23R, 24S) con grupos metilos en las posiciones C-20 y C-24 y grupos hidroxilos en las posiciones C-22 y C-23 (Marumo *et al.* 1968, Mitchell *et al.* 1970, Grove *et al.* 1979).

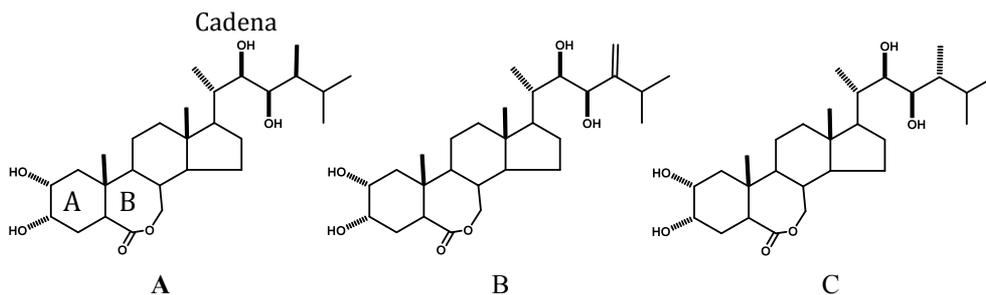


FIGURA 1. Primeros brasinoesteroides naturales caracterizados: A, brasinólida; B, dolicólida; C, epibrasinólida.

Tras la identificación de la brasinólida, han sido aislados y caracterizados decenas de compuestos con características estructurales semejantes, como la dolicólida y la epibrasinólida (FIGURA 1B, 1C) que han mostrado diferentes grados de actividad estimuladora de la elongación y división celular. Estos compuestos, además de la brasinólida, que es el representante más activo, conforman la familia de los brasinoesteroides que en general son considerados por muchos especialistas como la sexta clase de hormonas vegetales (Sasse 1992). Todos los brasinoesteroides naturales hasta ahora conocidos son derivados polihidroxilados del 5-colestano y pueden presentar desde veintisiete hasta veintinueve átomos de carbono. Las agrupaciones funcionales que se suponen sean las responsables de la actividad biológica de estos compuestos, están concentradas en tres fragmentos fundamentales del esqueleto colestánico; estos son los anillos A y B (parte cíclica) y la cadena lateral (FIGURA 1).

En cuanto a la localización intracelular de los brasinoesteroides, se ha indicado que los plastidios son orgánulos importantes para estos compuestos. El estroma puede ser el sitio de síntesis mientras que los gránulos de almidón se asumen como sitios de almacenaje de estos potentes reguladores del crecimiento (Sasse 1992, Taylor et al. 1993). Estudios realizados en diferentes plantas han demostrado que las semillas inmaduras son una fuente rica de estos compuestos, como las de frijol común (*Phaseolus vulgaris*); también ha sido reportada la presencia de brasinólida y castasterona en el polen de naranjo

(*Citrus sinensis*), girasol (*Helianthus annuus*), pino (*Pinus silvestris*) y en semillas de rábano (*Raphanus sativus*). El intenso trabajo realizado ha aportado hasta la fecha más de sesenta brasinoesteroides, de los cuales más de treinta han sido aislados en estado puro (Yokota 1984). Los tejidos de plantas difieren considerablemente con respecto al contenido de brasinoesteroides; los mayores niveles son observados en tejidos reproductivos de plantas, especialmente en polen, el cual contiene de 10-100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ de brasinoesteroides, las semillas inmaduras se encontraron como otra fuente rica de estos compuestos, con cantidades de 1-100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Los niveles endógenos en raíces y hojas es mucho menor, contienen solamente de 10-100 $\text{ng}\cdot\text{kg}^{-1}$ de brasinoesteroides, es notorio que los tejidos de crecimiento nuevos contienen más de estos compuestos que los viejos (Takatsuto 1994).

Algunas propuestas para la biosíntesis de brasinoesteroides han sido reportadas desde 1981, cuando Wada y Marumo mencionaron posibles vías en $2\alpha,3\alpha$ -dioles. La primera biosíntesis de brasinólida fue reportada por Yokota en 1984, desde entonces, considerables progresos han sido llevados a cabo en este campo. El campesterol es el precursor inicial para la biosíntesis de brasinólida debido a la similitud de su esqueleto carbonado, junto con otros esteroides tales como α -sitosterol, brasicastrol y 22-dehydrocolesterol (Suzuki et al. 1995).

Efectos fisiológicos

El principal efecto biológico ampliamente estudiado, ejercido por los brasinoesteroides en

la planta, es su capacidad para estimular el crecimiento en una gran variedad de sistemas de estudio; planta completa, segmentos de diferentes órganos y tejidos vegetativos (explantos). La investigación sobre el efecto fisiológico de la acción de brasinoesteroides en plantas inició con el esclarecimiento estructural de la brasinólida (Worley y Mitchell 1970). La respuesta de la planta a los brasinoesteroides incluye efectos sobre los sistemas de señalización para la defensa contra insectos y hongos, en la elongación celular y del tallo, la división celular, el desarrollo vascular y reproductivo, la polarización de las membranas y el bombeo de protones, las relaciones fuente/sitio de consumo y la modulación de estrés. También se ha reportado su influencia en el gravitropismo y en el retraso de la abscisión de hojas y frutos (Clouse, 1996).

Al comparar los efectos de los brasinoesteroides con los de otras sustancias reguladoras del crecimiento vegetal se destacan características tales como: una actividad a concentraciones extremadamente bajas ($0.1-0.001 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$), que es un rango 100 veces menor que el de los otros reguladores de crecimiento vegetal; estimular el enraizamiento; no causan deformaciones en las plantas; principalmente ejercen su efecto cuando las plantas están bajo condiciones de crecimiento adversas; estudio toxicológicos demuestran que estos compuestos no son genotóxicos, ni ecotóxicos y ni antígenotóxicos (Díaz y Fonseca 1999).

A nivel molecular los brasinoesteroides modifican la expresión de genes y el metabolismo de ácidos nucleicos y proteínas (Chory *et al.* 1989). En trabajos de morfogénesis *in vitro*, además de los reguladores de crecimiento tradicionalmente usados (auxinas, citocininas y giberelinas) se incluyen a algunos brasinoesteroides con resultados positivos fundamentalmente en la fase de adaptación de las plántulas, en el porcentaje de germinación y vigor de las plántulas (Díaz y Fonseca 1999).

Análogos de brasinoesteroides

Debido a la baja concentración de brasinoesteroides en plantas, se realizan estudios encaminados al esclarecimiento del mecanismo de ac-

ción de estos compuestos, lo que ha llevado a la síntesis de análogos de brasinoesteroides no presentes en la naturaleza, que han producido efectos cualitativamente similares al de los compuestos naturales. Estos análogos en general se caracterizan por reproducir sólo determinadas agrupaciones estructurales presentes en los brasinoesteroides naturales, ya que se conoce que tienen una marcada incidencia en la actividad biológica (Yokota 1997). Las variaciones estructurales más importantes para mantener su actividad como promotores de crecimiento vegetal son: (1) En la cadena lateral es esencial una configuración *cis* de dos sustituyentes que contienen oxígeno, usualmente grupos hidroxilos, los compuestos con la configuración 22R,23R usualmente muestran una actividad mayor; (2) La presencia de un grupo alquilo en el C-24 es importante, el orden generalmente observado de la actividad es $\text{CH}_3 > \text{C}_2\text{H}_5 > \text{H}$; (3) En la parte cíclica de la molécula, una función 7-oxalactona o una función 6-ceto en el anillo B es necesaria, las lactonas son usualmente más activas; (4) La mayor actividad es observada cuando existe una orientación α de dos grupos hidroxilos que están presentes en el C-3 y C-4 del anillo A; y (5) La unión *trans* de anillos A-B es más común en compuestos activos (Mandava 1988).

La brasinólida debido a su actividad biológica extremadamente alta es el integrante más importante entre los brasinoesteroides. Su síntesis se ha logrado iniciando la secuencia de reacción con pregnenolona, ácido hiodeoxicólico y de una mezcla de esteroides que contienen crinoesterol y especialmente de estigmasterol. La homobrasinólida, otro brasinoesteroide que se ha sintetizado a partir del estigmasterol, es obtenido de aceite de soya el cual es un producto comercial relativamente barato y disponible en cantidades suficientes (Mori *et al.* 1981). La epibrasinólida, que es sintetizada a partir de ergosterol, es considerada el brasinoesteroide con mayor potencial en las aplicaciones prácticas debido a que presenta una combinación de características importantes, tales como una actividad biológicamente potente ya que su actividad es comparable con la brasinólida (Mc Morris *et al.* 1996).

TABLA 1. Ejemplo de algunos brasinoesteroides y análogos de éstos aplicados en plantas de valor agrícola.

Brasinoesteroide	Concentración [mg·l ⁻¹]	Efecto	Referencias
Biobras-16 (Cetona esteroideal polihidroxilada)	0.1	Un incremento del 10-25% en el rendimiento de arroz, ajo, cebolla, papa, maíz, jitomate, soya y vid	Pozo <i>et al.</i> 1996
Epín (24-epibrasinólida)	25	Un incremento del 35% en el rendimiento de cebada	Khripach 1997
EBR (24-epibrasinólida)	0.1	Organogénesis <i>in vitro</i> (brotes) en <i>Capsicum annuum</i> L. cvs Júpiter y Pimiento Perfection.	Franck-Duchenne <i>et al.</i> 1998
Epibrasinólida	0.25	Resistencia a enfermedades (>33 %).	Prusakova y Chizhova 1999
Brasinólida	0.5-1	Mayor rendimiento en arroz (10 %)	Khripach <i>et al.</i> 2000
Biobras-16	0.4	Incremento en el rendimiento de semillas (68%)	Vargas-Vázquez e Irizar-Garza 2005
CIDEF-4 (80 % de compuesto esteroideal)	0.3	Mayor rendimiento en híbridos fértiles de maíz (2.5 veces más)	Torres-Ruiz <i>et al.</i> 2007

Aplicación de brasinoesteroides en la agricultura

Experimentos para investigar el uso potencial de brasinoesteroides en la agricultura comenzó en los años 70's en los Estados Unidos y al inicio de los años 80's, del siglo pasado, en otros países, principalmente en Japón y en los países de la ex Unión Soviética (URSS), confirmando su utilidad como químicos agrícolas. Desde entonces, numerosos reportes de todo el mundo han aparecido y muchos descubrimientos para el uso de prácticas potenciales se han patentado. En Belorusia y en Rusia la producción de epibrasinólida se ha registrado oficialmente desde 1992 y recomendado para el tratamiento de diferentes cultivos agrícolas importantes tales como jitomate, papa, pepino, pimiento y cebada (Khripach *et al.* 2000). Otros brasinoesteroides han sido producidos y utilizados con óptimos resultados en cereales, leguminosas y papa (TABLA 1). El cultivo del arroz ha sido beneficiado por el uso de estos compuestos, principalmente en Japón y China, ya que con la aplicación de brasinoesteroides por aspersión foliar o por riego, se ha obtenido un aumento en la producción del cultivo del 10 al 15% (Khripach *et al.* 2000). También se consiguió una aceleración en la maduración de las plantas de arroz tratadas con brasinoesteroides, se observó un efecto pronunciado para plantas cultivadas en condiciones de frío, algunos brasinoesteroides aplicados de manera foliar en la etapa de floración disminu-

yen el estrés al frío y a condiciones salinas en el crecimiento de las plantas (Takematsu y Takeuchi 1989).

Resultados sobre la influencia de los brasinoesteroides en la producción de trigo se obtuvieron de pruebas de campo en varias regiones de China en diferentes climas y con diferentes variedades de este cereal, se obtuvo un incremento de un 5 al 15% en la producción del cultivo. También se ha reportado un aumento del 10% en la producción de semilla, con la aplicación de brasinoesteroides en trigo harinero (Takematsu y Takeuchi 1989, Sairam 1994). La aspersión de estos compuestos en la fase de brotación proporciona un mejor efecto que el tratamiento de las semillas y aumentan más del 10% el contenido de proteínas en semilla. La producción del centeno de invierno se incrementó un 20% después del tratamiento de las plantas con brasinoesteroides en la fase de germinación hasta el inicio de la floración (Khripach *et al.* 2000).

Los brasinoesteroides se han aplicado en plantas cultivadas en suelos contaminados con metales, salinos y en condiciones de altas temperaturas, encontrando que éstos dan resistencia, disminuyendo los efectos del estrés. Por otra parte los brasinoesteroides en trigo y cebada aumentan su resistencia a condiciones de estrés de salinidad, choque térmico y estrés hídrico (Khokhlova *et al.* 1990; Sairam 1994). En algunas leguminosas como la soya, la aplicación de brasinoesteroides por aspersión foliar, sobre los

tallos o por riego, ha resultado con incrementos en la biomasa de las hojas, vainas y el total de peso seco de 18, 40 y 10% respectivamente. El empleo de una mayor dosis de brasinoesteroides retarda el crecimiento de las plantas pero incrementa la producción de semillas (Nakaseko y Yoshida 1989).

Una importante característica de los brasinoesteroides es su capacidad para incrementar no solo la producción, sino también la calidad de las cosechas. En plantas de papa (*Solanum h*), la aplicación de 0.1-0.2 mg·l⁻¹ de brasinoesteroides se obtuvo un incremento del 20% en la productividad, una mejor calidad de cosecha con respecto al contenido en la disminución de nitrato y un aumento del contenido de almidón y vitamina C. Asimismo, el tratamiento de plantas de papa con brasinoesteroides disminuyó los niveles en la infección de *Phytophthora infestans*, observando que las plantas tratadas con estos compuestos mediante aspersión foliar, en el periodo de la brotación fueron más resistentes a la enfermedad (Khrupach 1997). En algunos casos, el efecto protector de estos compuestos fue inclusive mayor que las plantas tratadas con fungicidas estándares. Una simple dosis de 0.2 mg·l⁻¹ de homobrasinólida sobre papa fue comparable al efecto producido por un doble tratamiento con un fungicida tradicional (Prusakova y Chizhova 1999). Estudios realizados en el campo de la entomología indican que varios integrantes de esta familia presentan actividad antiecdisteroide y neurodepresora en diferentes insectos, indicio de su potencial como insecticidas. La resistencia a patógenos en plantas tratadas con brasinoesteroides se explica porque éstas presentan un incremento en la actividad de enzimas involucradas en algunos mecanismos de defensa como la peroxidasa y polifenoloxidasa (Wang 1994). Otras plantas en las cuales la aplicación de estos reguladores de crecimiento ha llevado a un aumento en la producción, son: algodón, tabaco, mostaza, betabel, melón, cacahuete y arándano (Khrupach *et al.* 2000).

En estudios de morfogénesis, la aplicación de los brasinoesteroides también ha mostrado resultados positivos, se ha observado que la adición de brasinoesteroides a los medios de cultivo,

inducen respuestas de elongación y división celular (Hernández *et al.* 2001), desdiferenciación celular con la formación de callo (Franck-Duchenne *et al.* 1998), o estimulan el desarrollo de brotes, bulbos y raíces (Ohkawa *et al.* 1996). Los brasinoesteroides poseen un gran potencial para aumentar el desarrollo y crecimiento floral, por ejemplo, los bulbos de gladiolos y tulipanes embebidos en una solución de epibrasinólida origina una emergencia temprana de yemas florales y un incremento del número de flores y un elevado aumento del número (68%) y masa (85%) de bulbos y yemas bulbíferas (Runkova *et al.* 1999).

Modo de acción de los brasinoesteroides

En general, los brasinoesteroides han sido probados para evaluar su actividad promotora del crecimiento vegetal en más de 20 bioensayos típicos para la actividad de auxinas, giberelinas y citocininas. En ellos se ha demostrado que provocan tanto la elongación como la división celular, lo que resulta en el crecimiento, engrosamiento y curvatura en coleóptilos de avena. En varios sistemas, los brasinoesteroides interactúan en forma sinérgica con las auxinas y se reporta que los brasinoesteroides pueden funcionar como auxinas en un momento y como giberelinas o citocininas en otro (Mandava 1988). La elongación celular estimulada por la aplicación de brasinoesteroides se ha determinado que se debe a un efecto sinérgico o aditivo a la originada por auxinas y giberelinas (Tominaga *et al.* 1994).

Para explicar el efecto de los brasinoesteroides sobre la expansión celular, diferentes hipótesis se han desarrollado y examinado experimentalmente. Se encontró que el efecto de los brasinoesteroides es genéticamente determinado y que probablemente están involucrados en todos los pasos de la regulación del crecimiento celular. Asimismo, el modo de acción está dado principalmente por un efecto sobre la biosíntesis de enzimas como una consecuencia sobre la expresión del genoma y un efecto sobre la pared y la membrana celular. Se ha demostrado que estos compuestos son capaces de influir sobre las propiedades eléctricas de la membrana, su permeabilidad, la estructura, estabilidad y actividad de

las enzimas membranales (Tomimaga *et al.* 1994). Con el estudio de plantas mutantes se ha identificado solamente un gen de señalización para brasinoesteroides que se supone codifica una proteína similar a los receptores esteroidales en animales, la clonación de este gen codificante para la proteína BRI1 y su posterior elucidación de la estructura mostró que tiene similitud a moléculas conocidas como receptores, pero no aquellas que fueron conocidas previamente en participar en eventos de señalización de esteroides. BRI1 es un miembro de una familia de receptores transmembranales tipo cinasa que tiene similitud estructural con una variedad de proteínas y están involucradas en la interacción proteína-proteína. BRI1 parece ser el principal receptor de brasinoesteroides en *Arabidopsis* (Li y Chory 1997).

Uso de análogos de brasinoesteroides en México

En México se ha utilizado el Biobras-16 (BB-16), un análogo derivado de la diosgenina que es un esteroide comercialmente disponible con grupos funcionales en el núcleo esteroide para la preparación de estos compuestos. En el cultivo de la soya, Corbera y Núñez (1998) observaron la efectividad del BB-16 cuando fue aplicado en dosis de $0.2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ antes de la floración (40-45 días después de la siembra) incrementando la producción de estas plantas. Esta misma formulación ha sido utilizada satisfactoriamente para aumentar la producción de jitomate, cuando se aplica dos veces por aspersión foliar durante el ciclo de vida de la planta (una semana después del trasplante y en la etapa de la floración). Con una dosis de $0.4 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, se produjo un 10% más en la producción de frutos que las plantas control no tratadas (Núñez 1999).

La influencia del BB-16 ha sido estudiada en diversas plantas, sobre todo de valor hortícola, los resultados demuestran que con la inmersión de semillas de papaya en $0.1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ de BB-16 por 24 horas no solamente se incrementa el porcentaje de germinación de las semillas (entre 20-40%), también se obtuvieron plantas más desarrolladas y un mayor rendimiento en frutos (más del 35%) (Pozo *et al.* 1996).

En años recientes se estudió el efecto del Biobras-16 sobre el rendimiento del frijol ayocote (*Phaseolus coccineus* L.), encontrando un incremento de tres veces en la biomasa total y un 68% más en el rendimiento, con la aplicación de $0.4 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (Vargas-Vázquez e Irizar-Garza 2005). Otro de los productos esteroidales (brasinoesteroides) aplicados en el campo mexicano, es el CIDEF-4, que contiene un 80% de compuesto esteroide, principalmente probado en el pasto de Guinea (*Panicum maximum* Jacq.) y en maíz, con el cual también se han conseguido altos rendimientos (Joaquín-Torres *et al.* 2006, Torres-Ruiz *et al.* 2007).

Más recientemente, se ha utilizado el producto Bioveg, considerado un bioestimulador del crecimiento vegetal y antiestrés, comercializado por la compañía AgroBiotec y producido por investigadores del laboratorio de productos naturales de la Universidad de la Habana, Cuba. Su compuesto activo es reportado como cetona esteroide polihidroxilada, siendo por ello un análogo de brasinoesteroide, considerado un producto natural modificado, soluble en agua. Este producto ha sido probado en varios tipos de plantas bajo cultivo en campo, como ajo, arroz, café, caña de azúcar, cebolla, chile, gladiola, papa, sorgo, tomate, trigo y otras más, en México y en países de Centro y Sudamérica. En dosis de 0.001 a $1.0 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ se ha optimizado el rendimiento y el antiestrés del tipo hídrico (sequía) (Rodríguez *et al.* 2006).

En el laboratorio de biotecnología vegetal del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, se han realizado estudios encaminados a probar el efecto de análogos de brasinoesteroides en dos plantas de interés agrícola como lo son alfalfa y fresa, intentando buscar nuevas alternativas para aumentar rendimientos en el campo. En plantas de alfalfa (*Medicago sativa* L. cv. Júpiter) se analizó el efecto sobre el crecimiento y desarrollo, de tres nuevos brasinoesteroides obtenidos por síntesis química a partir de diosgenina (B1, B2 y B3) y la 22-23-homobrasinólida (HBL), con dosis de 0.1 a $10 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Los experimentos fueron realizados separadamente bajo condiciones de cultivo *in vitro*,

en invernadero y en campo. A 30 días del cultivo *in vitro* se observó un efecto positivo sobre el crecimiento tanto de la planta como de las raíces, solo con la aplicación del análogo B3 y con HBL en las dosis de 1 y 10 mg·l⁻¹, obteniendo plántulas de hasta 4.5 cm con raíces de 5 cm, valores mayores a los presentados por las plántulas no tratadas. En la aplicación de los brasinoesteroides tanto en plantas cultivadas en invernadero como en campo, se observaron similares efectos a los observados en cultivos *in vitro*, aunque en dosis menores, ya que con 0.1 mg·l⁻¹ de los brasinoesteroides B3 y HBL se logró el mayor tamaño de tallos, raíces y plantas. A 120 días del cultivo en campo, tiempo máximo de crecimiento, las plantas de alfalfa tratadas con 0.1 mg·l⁻¹ de B3 presentaron un tamaño de 42 cm y una biomasa de 11 g (peso seco), 5 cm y 7.2 g más que las plántulas no tratadas. Con estos resultados se asevera el efecto que ejercieron estos compuestos sobre el crecimiento y desarrollo de plantas de alfalfa, siendo determinante el tipo de brasinoesteroide y las concentraciones aplicadas (Cortés-Rodríguez *et al.* 2003, Cortés-Rodríguez 2005).

También se ha probado el efecto de la aplicación análogos de brasinoesteroides (Bioveg) sobre el crecimiento y desarrollo en plantas de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch. Cv. Aromas) *in vitro* e invernadero. Se aplicaron cuatro dosis de Bioveg (Patente RACO/2004) (0.001, 0.01, 0.1 y 1.0 mg·l⁻¹). A los 45 y 60 días del cultivo *in vitro*, las plántulas de fresa mostraron un incremento en la altura, número de hojas, raíces y brotes, obteniendo los mayores valores en los tratamientos con 0.01 y 0.1 mg·l⁻¹ de Bioveg, con plántulas hasta de 5 cm de altura, presentando éstas 6 hojas, 6 raíces y 24 brotes/plántula. Con ello, se ve un efecto positivo en el crecimiento de las plántulas y en el número de brotes, similar al efecto de algunas hormonas de crecimiento vegetal utilizadas en cultivos *in vitro*. El crecimiento y desarrollo de las plantas de fresa en invernadero también fue afectado positivamente con las aplicaciones del Bioveg. A los 75 días (fin del experimento), en los tratamientos con 0.01, 0.1 y 1.0 mg·l⁻¹ se consiguieron los más altos valores de los parámetros evaluados,

sin embargo las plantas tratadas con 0.1 mg·l⁻¹ dieron el mayor rendimiento con frutos de mejor calidad (>9Brix). La cantidad más alta probada de Bioveg dio como resultado mayor biomasa de la planta pero menor rendimiento con frutos de menor calidad. Actualmente se realiza la experimentación con plantas de fresa cultivadas en campo (Sántiz-Gómez 2007).

CONCLUSIONES

La utilización de compuestos brasinoesteroides, naturales o análogos químicos, ha ganado aceptación en la agricultura, por sus propiedades antiestrés y su efecto intensificador del crecimiento, desarrollo y fructificación a partir de dosis muy reducidas, que los hacen compatibles con las tendencias actuales orientadas hacia formas sostenibles y ecológicas de intensificación de la producción.

REFERENCIAS

- Brosa, C., Capdevila J.M. e I. Zamora (1996). Brassinosteroids: a new way to define the structural requirements. *Tetrahedron* 52(7): 2435-2448.
- Chory, J., Peto C., Feinbaum R., Pratt L. y F. Ausubel (1989). *Arabidopsis thaliana* mutant that develops as a light-grown plant in the absence of light. *Cell* 58:991-999
- Clouse, S. D. (1996). Molecular genetic studies confirm the role of brassinosteroids in plant growth and development. *Plant Journal* 10: 1-8.
- Clouse, S. D. y J. M. Sasse (1998). Brassinosteroids: Essential regulators of plant growth and development. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol.* 49:427-451.
- Corbera, J. y M. Núñez (1998). Efectividad del empleo de brasinoesteroides o compuestos análogos en el cultivo de la soya (*Glycine max.* L. Merrill). Programa y Resúmenes XI Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, La Habana, pp 131.
- Cortés-Rodríguez, M. A., Silva-Acosta G., del Río R. E., Sandoval-Ramírez J. y R. Salgado-Garciglia (2003). Efecto de los

- análogos de brasinoesteroides en pruebas de germinación y de crecimiento en alfalfa (*Medicago sativa* L.). Memorias del V Congreso Nacional de Biotecnología Agropecuaria y Forestal, Chapingo, México.
- Cortés-Rodríguez, M. A. (2005). Efecto de análogos de brasinoesteroides en alfalfa (*Medicago sativa* L.). Tesis de Maestría en Ciencias en Biología Experimental, IIQB-U.M.S.N.H., Morelia, Michoacán, México. 93 pp.
- Díaz Llera, S. de C., & Fonseca López, G. (1999). Evaluación genotóxica del brasinoesteroides DI-31 (BIOBRAS-16) mediante el ensayo de micronúcleos en médula ósea de ratón. *Rev Cubana Invest Biomed*, 18(1), 27-28.
- Fujioka, S. y A. Sakurai (1997). Biosynthesis and metabolism of brassinosteroids. *Physiol Plant*. 100:710-715.
- Franck-Duchenne, M., Wang Y., Ben Tahar S. y R.N. Beachy (1998). In vitro stem elongation of sweet pepper in media containing 24-epi-brassinolide. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 53(2):79-84.
- Grove, M. D., Spencer, G. F., Rohwedder, W. K., Mandava, N., Worley, J. F., Warthen, J. D., et al. (1979). Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from *Brassica napus* pollen. *Nature*, 281(5728), 216-217.
- Hernández, Y. A., Nélide M. y M. Fernández (2001). Efectos del BIOBRAS-16 en las variedades de caña de azúcar C 1051- 73 y My 5514 bajo las condiciones del Banco de Semillas Registradas del CAI Majibacoa. Trabajo de Diploma. Univ. de La Habana, Cuba. 45 pp.
- Joaquín-Torres, B. M., Moreno-Carrillo M. A., Martínez-Hernández P. A., Hernández-Garay A., Gómez-Vázquez A. y J. A. Pérez-Amaro (2006). Efecto de la fitohormona esteroide cidef-4 en el rendimiento y calidad de semilla de pasto de Guinea. *Tec. Pecu. Mex*. 44(2):193-201.
- Khokhlova, V. A., Bokebayeva G. A., Adam G. Y. y O. N. Kulaeva (1990). Comparative study of antistress effect of brassinosteroid and its inactive analogue on barley leave in salinity. *Int. Workshop, Brassinosteroids: Chemistry, bioactivity, application, Halle*. 44 pp.
- Khripach, V. A. (1997). Recent advances in brassinosteroids study and application. *Proc. Plant growth Regul. Soc. Am*. 24:101-106.
- Khripach, V. A., Zhabskii V. N. y A. de Groot (2000). Twenty years of brassinosteroids: Steroidal plant hormones warrant better crops for the XXI Century. *Annals of Botany* 86:441-447.
- Li, J. y J. Chory (1997). A putative leucine-rich repeat receptor kinase involved in brassinosteroid signal transduction. *Cell* 90:929-938.
- Mandava, N. B. (1988). Plant growth-promoting brassinosteroids. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 39:23-52.
- Marumo, S., Hattori H., Abe H., Nonoyama Y. y K. Munakata (1968). The presence of novel plant growth regulators in leaves of *Distilium racemosum*, Sieb et Zucc. *Agric. Biol. Chem.* 32:528-529.
- Mc Morris, T. C., Chávez R. G. y P. A. Patil. 1996. Improved synthesis of brassinolide. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*:295-302.
- Mitchell, J. W., Mandava N. y J. F. Worley (1970). Brassinins-a new family of plant hormones from rape pollen. *Nature (London)* 225:1065-1066.
- Mori, K., Takematsu T., Sakakibara M. y H. Oshio (1981). Homobrassinolide, and its production and use. *Eur. Pat. Appl.* 80:381-398.
- Nakaseko, K. y K. Yoshida (1989). The effect of epi-brassinolide applied at the flowering stage on growth and yield of soybean and azuki bean. *Mem. Fac. Agric., Hokkaido Univ.* 16:347-352.
- Núñez, M. (1999). Aplicaciones prácticas de los brasinoesteroides y sus análogos en la agricultura. *Reseña bibliográfica. Cult. Trop.* 20: 63-72.
- Ohkawa, M., Ohshiro T. y T. Ikekawa (1996). Effects of 24-epibrassinolide and NAA on the formation on regenerated bulblet of *Lilium japonicum* Thumb. by scale culture *in vitro*. *Environm. Contr. Biol.* 34:15-19.

- Pozo, L., Rivera T., Noriega C., Reyes C., Rodríguez M.E. y E. Alonso (1996). Efecto del brasinoesteroide Biobras-16 sobre la germinación, el crecimiento y fructificación de una variedad colombiana de papaya. Programa y resúmenes X Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, La Habana, pp 154.
- Prusakova, L. D. y S. I. Chizhova (1999). The roll of brassinosteroids in growth, tolerance and productivity of plants. *Agrokhimiya* 4:137-150.
- Rodríguez, R. C. M., Zullo M. A. T., Queiroz H. M., Azevedo A.B.M., Becerra E. A. y F. C. Machado (2006). The preparation of the spirostane analogues of brassinolide and castasterone. *Polish Journal Of Chemistry*, 80(4):637-646.
- Runkova, L. V., Alexandrova V. S., y G. E. Belyaeva (1999). The action of epin on taking roots of perspective varieties of roses. En: *Regulators of plant growth and development 5* (Shevelucha V.S., Karlov G.I., Karsunkina N.P., Salnikova E.I., Skorobogatova I.V., y A.G. Siusheva, eds.), Moscow: Agricultural Academy, pp. 245-246.
- Sairam, R. K. (1994). Effects of homobrassinolide application on plant metabolism and grain yield under irrigated and moisture-stress conditions of two wheat varieties. *Plant Growth Regulators* 14:173-181.
- Sántiz-Gómez, F. (2007). Efecto de análogos de brasinoesteroides (Bioveg) en el crecimiento y desarrollo de fresa (*Fragaria x ananassa* Cv. Aromas). Tesis de Licenciatura, Fac. de Biología, UMSNH, Morelia, Michoacán, México. 62 p.
- Sasse, J. M. (1992). Brassinosteroids- Are they endogenous plant hormones? *Proc. Growth Reg. Soc. Am.* 19: 1-11.
- Suzuki, H., Fujioka S., Takatsuto S., Yokota T. y A. Sakurai. (1995). Biosynthesis of brassinosteroids in seedlings of *Catharanthus roseus*, *Nicotiana tabacum*, and *Oryza sativa*. *Biosci. Biotech. Biochem.* 59:168-172.
- Takatsuto, S. (1994). Brassinosteroids: distribution in plants, bioassays and microanalysis by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr.* 658:3-15.
- Takematsu, T. y Y. Takeuchi (1989). Effects of brassinosteroids on growth and yields of crops. *Proc. Jpn. Acad., ser. B* 65:149-152.
- Taylor, P. E., Spuck K., Smith P. M., Sasse J. M. y D. W. Cameron (1993). Detection of brassinosteroids in pollen of *Lolium perenne* L. by immunocytochemistry. *Planta* 189:91-100.
- Tominaga, R., Sakurai N. y S. Kuraishi (1994). Brassinolide-induced elongation of inner tissues of segments of squash (*Cucurbita maxima* Duch.) hypocotyls. *Plant cell Physiol.* 35: 1103-1106.
- Torres-Ruiz, B. L., Espinoza-Calderón A., Mendoza-Rodríguez M., Rodríguez de la O J. L., Irizar-Garza M. B. y J. S. Castellano-Ruiz (2007). Efecto de brasinoesteroides en híbridos de maíz androestérriles y fértiles. *Agronomía mesoamericana* 18(2): 155-162.
- Vargas-Vázquez, M. L. P. y M. B. G. Irizar-Garza (2005). Efecto del brasinoesteroide y densidad de población en la acumulación de biomasa y rendimiento de ayacote (*Phaseolus coccineus* L.). *Rev. Chapingo, Serie Horticultura* 11: 269-272.
- Wada, K. y S. Marumo (1981). Synthesis and plant growth-promoting activity of brassinolide analogs. *Agric. Biol. Chem.* 45:2579-2586.
- Wang, Y-Q. (1994). Effect of epibrassinolide on growth and fruit quality of water melon. *Plant Physiol. Comm.* 30:423-425.
- Worley, J. F. y J. W. Mitchell (1970). Growth responses induced by brassins (fatty plant hormones) in bean plants. *J. Am. Hortic. Soc.* 96:270- 273.
- Yokota, T. (1984). Brassinosteroids from higher plants. *Chem. Regul. Plants* 19:102-109.
- Yokota, T. (1997). The structure, biosynthesis and function of brassinosteroids. *Trends Plant Sci.* 2:137-143.