

Secretaría de Posgrado y Cooperación Internacional
Universidad Nacional de Río Cuarto

Anexo I (B)- DISPOSICIÓN SPyCI Nº 169/23 (24 abril de 2023)

Metadatos del/de la TF/TFI/TESIS

(se recomienda incorporar los metadatos en una página del/de la TF/TFI/Tesis)

- Título completo: "ESTUDIO DE LA PLASTICIDAD DEL SISTEMA RADICAL DE GIRASOL EN RESPUESTA A ESTRÉS HÍDRICO: ROL DE BRASINOESTEROIDES, ESTRIGOLACTONAS Y KARRIKINAS".
- Autor: Boero, Aldana Inés. Instituto de Investigaciones Agrobiotecnológicas – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (INIAB – CONICET).
- Palabras clave: Girasol/Estrés Hídrico/Sistema radical/ Fitohormonas/ Reguladores del crecimiento vegetal/ROS.
- Resumen en español: El estrés hídrico constituye uno de los factores ambientales más acuciantes en la reducción del rendimiento de girasol, afectando profundamente la estructura y funcionalidad de su sistema radical. En este contexto, en el presente trabajo se propuso estudiar el rol de distintos reguladores del crecimiento vegetal -brasinoesteroides (BL), estrigolactonas (GR24) y karrikinas (KAR2)- en la modulación del desarrollo del sistema radical de plántulas de líneas endocriadas de girasol en respuesta a estrés hídrico, y analizar su interacción con las hormonas "clásicas" y compuestos bioquímicos. Para ello, se emplearon semillas de dos líneas endocriadas de girasol, B59 y B71 sensible y tolerante al estrés hídrico, respectivamente. Los ensayos de pre-germinación y crecimiento de plántulas se realizaron en bandejas y macetas plásticas, respectivamente, bajo condiciones controladas en Cuartos Ambientales Conviron GR48. El tratamiento de estrés hídrico moderado se aplicó mediante riego empleando una solución de manitol y exógenamente por aspersión foliar se aplicaron los reguladores del crecimiento vegetal arriba mencionados. Los resultados obtenidos demostraron que el tratamiento de estrés hídrico produjo cambios notables en los diversos parámetros morfo-anatomo-histológicos, fisiológicos y bioquímicos en las raíces de ambas líneas endocriadas en estudio, con respuestas claramente contrastantes entre ellas. En este sentido, en las raíces de B59 las modificaciones observadas se asociaron con la mayor sensibilidad al estrés hídrico típica de dicha línea, mientras que las raíces de la línea B71 reflejaron una respuesta más eficiente ante la limitada disponibilidad de agua del sustrato. Los distintos reguladores del crecimiento vegetal ocasionaron modificaciones particulares de tipo morfo- anatomo-histológicas, fisiológicas y bioquímicas en las raíces de plántulas estresadas y, su acción difirió entre las líneas endocriadas en estudio. Entre otras modificaciones, los tratamientos ensayados desencadenaron variaciones en el perfil hormonal endógeno en raíces de ambas líneas, destacándose la participación de rutas específicas de biosíntesis de brasinoesteroides en la respuesta de las raíces al tratamiento de estrés hídrico. En conjunto, los resultados evidenciaron las estrategias contrastantes de respuesta al estrés hídrico activadas por cada línea. La acción de cada regulador del crecimiento vegetal se evidenció a través de

modificaciones en un conjunto particular de parámetros, lo que a su vez fue dependiente del genotipo y de la condición hídrica. En este sentido, este estudio aporta evidencias sobre la complejidad del entramado hormonal y bioquímico que gobierna la plasticidad morfo-anatomo-histológica del sistema radical y, además, el papel clave de BL, GR24 y KAR2 en la respuesta de plántulas de girasol a condiciones de estrés hídrico moderado en un estadio de crecimiento vegetativo temprano como V4. Es por ello, que constituye un avance hacia la comprensión de los mecanismos integrados que determinan la resiliencia al estrés en este cultivo oleaginoso de interés agrícola.

- Resumen en inglés: Water stress is one of the most pressing environmental factors in reducing sunflower yield, profoundly affecting the structure and function of root system. In this context, the present study aimed to investigate the role of different plant growth regulators - brassinosteroids (BL), strigolactones (GR24), and karrikins (KAR2) - in modulating root system development in sunflower inbred seedlings in response to water stress, and to analyze their interaction with "classical" phytohormones and biochemical compounds. Seeds from two inbred sunflower lines, B59 and B71, sensitive and tolerant to water stress, respectively, were used. Pre-germination and seedling growth trials were conducted in trays and plastic pots, respectively, under controlled conditions in Conviron PR48 Environmental Chambers. Moderate water stress treatment was applied through irrigation using a mannitol solution, and the aforementioned plant growth regulators were applied exogenously by foliar spraying. The results showed that water stress treatment produced notable changes in various morpho-anatomical-histological, physiological, and biochemical parameters in the roots of both inbred lines under study, with clearly contrasting responses between them. In this regard, the modifications observed in the roots of B59 were associated with the greater sensitivity to water stress typical of this line, while the roots of B71 line reflected a more efficient response to the limited water availability in the substrate. The different plant growth regulators caused specific morpho-anatomical-histological, physiological, and biochemical modifications in the roots of stressed seedlings, and their effects differed among the inbred lines under study. Among other modifications, the tested treatments triggered variations in the endogenous phytohormonal profile in roots of both lines, highlighting the participation of specific brassinosteroid biosynthesis pathways in the root response to water stress. Taken together, the results demonstrated the contrasting water stress response strategies triggered by each inbred line. The action of each plant growth regulator was evidenced through modifications in a particular set of parameters, which in turn depended on the genotype and water conditions. In this sense, this study provides evidence of the complexity of the phytohormonal and biochemical network that regulate the morpho-anatomical-histological plasticity of the root system and, furthermore, the key role of BL, GR24, and KAR2 in the response of sunflower seedlings to moderate water stress conditions at an early vegetative growth stage such as V4. Therefore, it represents an advance towards understanding the integrated mechanisms that determine resilience to water stress in this oilseed crop of agricultural interest.
- Evaluado por pares: SI
- Fecha: (25/06/2026)
- Formato: PDF

- Idioma: español.
- Financiamiento: CONICET.
- Condiciones de uso: **CC BY-NC-SA**
- Plazo solicitado de embargo (si corresponde):meses (*máximo 24 meses*)

A modo de recordatorio y según consta en Régimen de Carreras de Posgrado se transcribe la leyenda que debe aparecer **OBLIGATORIAMENTE** en el/la TF/TFI/Tesis:

"Informo que, de acuerdo a lo que prescribe la **Ley N° 26.899**^(*) (2013), su Reglamento Operativo (Resolución 753-E/2016) y la Política Institucional de Acceso Abierto de la Universidad Nacional de Río Cuarto (Resolución del Consejo Superior N° 202/2021), ***este documento es resultado del financiamiento total o parcial otorgado por el Estado Nacional, por lo tanto queda sujeto al cumplimiento de la Ley N° 26.899 y la Política Institucional de Acceso Abierto de la Universidad Nacional de Río Cuarto***".

() La Ley N° 26.899 define por financiamiento total o parcial con fondos públicos, a la inversión que el Estado realiza ya sea de forma directa, (como el pago de salarios, incentivos, subsidios, etc.), o indirecta (el acceso a bibliografía científica adquirida con fondos públicos, la utilización de la infraestructura de las instituciones y organismos, el uso de insumos y equipamientos, el financiamiento total o parcial de viajes, etc.) para el desarrollo de la actividad científica, tecnológica y de innovación.*

 Aldana Inés
Boero

Firma y aclaración del autor del TF/TFI/Tesis



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FISICO-QUIMICAS Y
NATURALES

Tesis para acceder al título de Doctora en Ciencias Biológicas

ESTUDIO DE LA PLASTICIDAD DEL SISTEMA RADICAL DE
GIRASOL EN RESPUESTA A ESTRÉS HÍDRICO: ROL DE
BRASINOESTEROIDES, ESTRIGOLACTONAS Y KARRIKINAS

Lic. Boero, Aldana

DIRECTORA: Andrade, Andrea

CO-DIRECTOR: Alemano, Sergio

Río Cuarto, 25 de Junio de 2026

COMISION ASESORA Y JURADO

Nombre y Apellido:

Lugar de trabajo:

Firma: Aclaración:

Nombre y Apellido:

Lugar de trabajo:

Firma: Aclaración:

Nombre y Apellido:

Lugar de trabajo:

Firma: Aclaración:

DEFENSA ORAL Y PÚBLICA

Lugar y fecha:

Calificación:

Resumen

El estrés hídrico constituye uno de los factores ambientales más acuciantes en la reducción del rendimiento de girasol, afectando profundamente la estructura y funcionalidad de su sistema radical. En este contexto, en el presente trabajo se propuso estudiar el rol de distintos reguladores del crecimiento vegetal -brasinoesteroides (BL), estrigolactonas (GR24) y karrikinas (KAR2)- en la modulación del desarrollo del sistema radical de plántulas de líneas endocriadas de girasol en respuesta a estrés hídrico, y analizar su interacción con las hormonas “clásicas” y compuestos bioquímicos. Para ello, se emplearon semillas de dos líneas endocriadas de girasol, B59 y B71 sensible y tolerante al estrés hídrico, respectivamente. Los ensayos de pre-germinación y crecimiento de plántulas se realizaron en bandejas y macetas plásticas, respectivamente, bajo condiciones controladas en Cuartos Ambientales Convirion GR48. El tratamiento de estrés hídrico moderado se aplicó mediante riego empleando una solución de manitol y exógenamente por aspersión foliar se aplicaron los reguladores del crecimiento vegetal arriba mencionados. Los resultados obtenidos demostraron que el tratamiento de estrés hídrico produjo cambios notables en los diversos parámetros morfo-anatomo-histológicos, fisiológicos y bioquímicos en las raíces de ambas líneas endocriadas en estudio, con respuestas claramente contrastantes entre ellas. En este sentido, en las raíces de B59 las modificaciones observadas se asociaron con la mayor sensibilidad al estrés hídrico típica de dicha línea, mientras que las raíces de la línea B71 reflejaron una respuesta más eficiente ante la limitada disponibilidad de agua del sustrato. Los distintos reguladores del crecimiento vegetal ocasionaron modificaciones particulares de tipo morfo- anatomo- histológicas, fisiológicas y bioquímicas en las raíces de plántulas estresadas y, su acción difirió entre las líneas endocriadas en estudio. Entre otras modificaciones, los tratamientos ensayados desencadenaron variaciones en el perfil hormonal endógeno en raíces de ambas líneas, destacándose la participación de rutas específicas de biosíntesis de brasinoesteroides en la respuesta de las raíces al tratamiento de estrés hídrico. En conjunto, los resultados evidenciaron las estrategias contrastantes de respuesta al estrés hídrico activadas por cada línea. La acción de cada regulador del crecimiento vegetal se evidenció a través de modificaciones en un conjunto particular de parámetros, lo que a su vez fue dependiente del genotipo y de la condición hídrica. En este sentido, este estudio aporta evidencias sobre la complejidad del entramado hormonal y bioquímico que gobierna la plasticidad morfo-anatomo-histológica del sistema radical y, además, el papel clave de BL, GR24 y KAR2 en la respuesta de plántulas de girasol a

condiciones de estrés hídrico moderado en un estadio de crecimiento vegetativo temprano como V4. Es por ello, que constituye un avance hacia la comprensión de los mecanismos integrados que determinan la resiliencia al estrés en este cultivo oleaginoso de interés agrícola.

Abstract

Water stress is one of the most pressing environmental factors in reducing sunflower yield, profoundly affecting the structure and function of root system. In this context, the present study aimed to investigate the role of different plant growth regulators - brassinosteroids (BL), strigolactones (GR24), and karrikins (KAR2) - in modulating root system development in sunflower inbred seedlings in response to water stress, and to analyze their interaction with "classical" phytohormones and biochemical compounds. Seeds from two inbred sunflower lines, B59 and B71, sensitive and tolerant to water stress, respectively, were used. Pre-germination and seedling growth trials were conducted in trays and plastic pots, respectively, under controlled conditions in Conviron PR48 Environmental Chambers. Moderate water stress treatment was applied through irrigation using a mannitol solution, and the aforementioned plant growth regulators were applied exogenously by foliar spraying. The results showed that water stress treatment produced notable changes in various morpho-anatomical-histological, physiological, and biochemical parameters in the roots of both inbred lines under study, with clearly contrasting responses between them. In this regard, the modifications observed in the roots of B59 were associated with the greater sensitivity to water stress typical of this line, while the roots of B71 line reflected a more efficient response to the limited water availability in the substrate. The different plant growth regulators caused specific morpho-anatomical-histological, physiological, and biochemical modifications in the roots of stressed seedlings, and their effects differed among the inbred lines under study. Among other modifications, the tested treatments triggered variations in the endogenous phytohormonal profile in roots of both lines, highlighting the participation of specific brassinosteroid biosynthesis pathways in the root response to water stress. Taken together, the results demonstrated the contrasting water stress response strategies triggered by each inbred line. The action of each plant growth regulator was evidenced through modifications in a particular set of parameters, which in turn depended on the genotype and water conditions. In this sense, this study provides evidence of the complexity of the phytohormonal and biochemical network that regulate the morpho-anatomical-histological plasticity of the root system and, furthermore, the key role of BL, GR24, and KAR2 in the response of sunflower seedlings to moderate water stress conditions at an early vegetative growth stage such as V4. Therefore, it represents an advance towards understanding the integrated mechanisms that determine resilience to water stress in this oilseed crop of agricultural interest.

ÍNDICE

	Página
Comisión asesora y Jurado	i
Resumen	ii
Abstract	iv
Índice	v
Índice de tablas	viii
Índice de figuras	iv
Abreviaturas	xiv
INTRODUCCIÓN	1
El cultivo de girasol: origen, importancia y perspectiva actual en Argentina	1
Descripción del material vegetal	2
El estrés hídrico en los cultivos: situación actual e implicancias en girasol	3
Efectos del estrés hídrico sobre parámetros morfo-anatomo-histológicos	7
Efectos del estrés hídrico sobre parámetros fisiológicos	10
Efectos del estrés hídrico sobre parámetros bioquímicos	20
HIPÓTESIS Y OBJETIVO GENERAL	28
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
MATERIALES Y MÉTODOS	31
Material vegetal	31
Ensayo de pre-germinación	31
Ensayos de crecimiento vegetativo (V4) y aplicación de tratamientos	31
Evaluación de parámetros morfo-anatomo-histológicos	32
Determinaciones morfológicas	32
Determinaciones histológicas	33
Evaluación de parámetros fisiológicos	35
Extracción, purificación y cuantificación de fitohormonas clásicas	35
Extracción, purificación y cuantificación de BRs	36
Evaluación de parámetros bioquímicos	37
Análisis estadístico	39
Resultados	40
Parámetros morfológicos	40
Parámetros histológicos	52

Parámetros fisiológicos	61
Parámetros bioquímicos	70
DISCUSIÓN	76
Parámetros morfo-anatomo-histológicos	76
Parámetros fisiológicos	82
Parámetros bioquímicos	87
ANÁLISIS INTEGRADO DE LOS PARÁMETROS EVALUADOS Y	91
CONCLUSIONES	
CONSIDERACIONES FINALES Y PERSPECTIVAS	98
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100
ANEXO 1 – ENSAYOS PRELIMINARES	117
Metodología N° 1 – Sistema hidropónico de crecimiento de plántulas	117
Material vegetal	117
Ensayo de pre-germinación	117
Diseño del sistema hidropónico de crecimiento	117
Parámetros evaluados	118
Ensayo de crecimiento vegetativo (V4)	119
Parámetros morfológicos	119
Diseño experimental y análisis estadístico	120
Resultados	120
pH	120
Contenido de oxígeno, conductividad eléctrica y conductancia	120
estomática	
Parámetros morfológicos	121
Metodología N° 2 – Sustrato sólido de crecimiento	123
Material vegetal	123
Ensayo de pre-germinación	123
Ensayo para selección de sustrato	124
Ensayo para selección de concentraciones de reguladores del	125
crecimiento vegetal (PGRs)	
Material vegetal	125
Ensayo exploratorio de aplicación de PGRs	125
Ensayo de pre-germinación	126

Ensayos de crecimiento vegetativo (V4) y aplicación exógena de PGRs	126
Determinaciones morfológicas	126
Análisis estadístico	127
Resultados	128
Concentraciones de PGRs seleccionadas	136
Fitotoxicidad	137

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Página
1	Tabla resumen de los principales compuestos osmoprotectores y osmolitos, con ejemplos de cada categoría y principales funciones de los mismos en plantas sometidas a estrés hídrico.	21
2	Área total, área del cilindro central, y área de la corteza de la raíz principal de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	56
3	Área total, área del cilindro central, y área de la corteza de las raíces laterales de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	61
4	Contenido de glutatión reducido (GSH) en raíces de plántulas según línea (B59 y B71) y condición hídrica (control y estrés hídrico).	73
5	Contenido de glutatión reducido (GSH) en raíces de plántulas de ambas líneas según condición hídrica (control y estrés hídrico) y tratamiento con PGRs (GR24 (3 uM), BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM)).	74
6	Parámetros morfológicos evaluados en raíces de plántulas de la línea endocriada de girasol B59 cultivadas en sistema hidropónico.	122

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Área sembrada y producción (t) de girasol en Argentina para la campaña 2024/2025.	2
2	Estructura morfológica del girasol (<i>Helianthus annuus</i> L.) mostrando sus principales órganos: raíz (principal y secundarias), tallo, hojas y capítulo (corte transversal y capítulo maduro con sus cipselas).	3
3	Efectos del estrés hídrico en los cultivos y sus respuestas adaptativas, desde perspectivas fisiológicas y morfológicas.	5
4	Efectos del estrés hídrico en el cultivo de girasol: impacto en el crecimiento, la fotosíntesis, la germinación y el rendimiento.	6
5	Representación esquemática de las principales características morfológicas de la raíz que se modifican en respuesta al estrés hídrico para propiciar una adecuada distribución del sistema radical en el sustrato.	8
6	Resumen de los cambios morfo-anatómicos y fisiológicos que ocurren en la raíz en respuesta a estrés hídrico.	9
7	Representación esquemática de una arquitectura ideal del sistema radical para favorecer la resistencia al estrés hídrico.	10
8	Principales funciones fisiológicas de las fitohormonas sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas.	11
9	Resumen de las principales interacciones entre diversas fitohormonas, entre ellas el ácido abscísico (ABA), el ácido jasmónico (JA), el etileno (ET), el ácido giberélico (GA), el ácido indol-3-acético (AIA), los brasinoesteroides (BRs), las citoquininas (CKs) y el ácido salicílico (SA) bajo condiciones de estrés hídrico.	12
10	Mecanismos desencadenados por la aplicación de sustancias exógenas (SEs) implicadas en la mejora de la tolerancia de las plantas al estrés hídrico.	20
11	Efectos nocivos a nivel celular y molecular ocasionados por el estrés oxidativo en plantas.	26
12	Corte histológico mostrando una raíz principal donde se delimitan las secciones consideradas como área total y área del cilindro central.	34
13	Corte histológico mostrando una raíz principal donde se señala la división en cuadrantes empleada para el conteo y la medición del diámetro de los vasos xilemáticos.	35
14	Área foliar de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	40
15	Peso fresco de parte aérea de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	41
16	Peso seco de parte aérea de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	42
17	Peso fresco de raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	43

18	Peso seco de raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	44
19	Longitud de raíz principal en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	45
20	Superficie de la raíz principal de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	46
21	Superficie proyectada de la raíz principal de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	47
22	Diámetro medio de la raíz principal de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	48
23	Ángulo de inserción de raíces laterales de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	49
24	Número de raíces laterales de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	50
25	Respuesta relativa de la biomasa radical al estrés de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 sin aplicación de reguladores del crecimiento y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	50
26	Fotografía representativa de plántulas de girasol de la línea B59 de 24 días de edad crecidas en condición control y bajo estrés hídrico.	51
27	Fotografías representativas de plántulas de girasol de la línea B59 de 24 días de edad crecidas bajo estrés hídrico y tratadas con los distintos reguladores del crecimiento vegetal.	51
28	Fotografía representativa de plántulas de girasol de la línea B71 de 24 días de edad crecidas en condición control y bajo estrés hídrico.	52
29	Fotografías representativas de plántulas de girasol de la línea B71 de 24 días de edad crecidas bajo estrés hídrico y tratadas con los distintos reguladores del crecimiento vegetal.	52
30	Cortes histológicos de la raíz principal de plántulas de la línea endocriada B59: controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	54
31	Cortes histológicos en detalle del cilindro central de la raíz principal de plántulas de la línea endocriada B59: controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	55
32	Cortes histológicos de la raíz principal de plántulas de la línea endocriada B71: controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	55
33	Cortes histológicos en detalle del cilindro central de la raíz principal de plántulas de la línea endocriada B71: controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	56
34	Número de vasos xilemáticos de raíz principal de plántulas de las líneas endocriadas de girasol B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	57

35	Diámetro de vasos xilemáticos de raíz principal de plántulas de las líneas endocriadas de girasol B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	57
36	Cortes histológicos de las raíces laterales de plántulas de la línea endocriada B59: controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	59
37	Cortes histológicos en detalle del cilindro central de las raíces laterales de plántulas de la línea endocriada B59: controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	59
38	Cortes histológicos de las raíces laterales de plántulas de la línea endocriada B71: controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	60
39	Cortes histológicos en detalle del cilindro central de las raíces laterales de plántulas de la línea endocriada B71: controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	60
40	Niveles endógenos de ácido jasmónico (JA) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	62
41	Niveles endógenos de ácido indol acético (AIA) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	62
42	Niveles endógenos de ácido abscísico (ABA) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	63
43	Niveles endógenos de zeatina (ZEA) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	64
44	Niveles endógenos de giberelina 1 (GA1) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	64
45	Niveles endógenos de brasinolide (BL) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	65
46	Niveles endógenos de 24-epibrasinolide (24-epiBL) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	66
47	Niveles endógenos de 28- norcastasterona (28-norCS) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	67
48	Niveles endógenos de castasterona (CS) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	68
49	Niveles endógenos de 28- homocastasterona (28- homoCS) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	69
50	Niveles endógenos de homodolicholide (homoDL) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	69

51	Niveles endógenos de teasterona (TE) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	70
52	Concentración de carbohidratos solubles totales en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	71
53	Concentración de prolina en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	72
54	Concentración de glicina betaína en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	72
55	Contenido de peróxido de hidrógeno (H ₂ O ₂) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	73
56	Contenido de malondialdehído (MDA) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0.01 uM) o KAR2 (10 nM).	75
57	Biplot del Análisis de Componentes Principales (ACP) obtenido a partir de las variables morfo-anatomo-histológicas, fisiológicas y bioquímicas evaluadas en ambas líneas endocriadas bajo condiciones control y estrés hídrico moderado.	93
58	Representación esquemática de los principales parámetros que caracterizaron la respuesta de cada línea endocriada en condiciones de irrigación óptima (hacia la izquierda de la línea punteada) y, modificaciones positivas observadas en las plántulas por efecto del tratamiento de estrés hídrico moderado, evidenciadas a través de aumentos (flechas rojas) en distintos parámetros morfo-anatomo-histológicos, fisiológicos y bioquímicos (hacia la derecha de la línea punteada).	94
59	Biplot del Análisis de Componentes Principales (ACP) construido a partir de las variables morfo-anatomo-histológicas, fisiológicas y bioquímicas evaluadas en ambas líneas endocriadas bajo estrés hídrico moderado y tratadas con los distintos reguladores del crecimiento vegetal (GR24, BL y KAR2), junto a sus respectivos controles sin aplicación.	96
60	Representación esquemática de la respuesta de las plántulas de ambas líneas endocriadas crecidas en condiciones de estrés hídrico moderado luego de la aplicación de los distintos reguladores del crecimiento vegetal (GR24, BL y KAR2). Las flechas rojas representan los incrementos observados en los principales parámetros morfo-anatomo-histológicos, fisiológicos y bioquímicos asociados a cada respuesta.	97
61	Diagrama esquemático ilustrativo del sistema de cultivo hidropónico (A) y configuración hidropónica final: vista superior (B y D) y vista lateral (C).	118
62	Fotografías representativas de hojas de plántulas de girasol de 24 días crecidas bajo diferentes rangos de pH.	120
63	Parámetros evaluados en el sistema de cultivo hidropónico: oxígeno disuelto (A) y conductividad eléctrica (B). Conductancia estomática	121

	medida en hojas de plántulas de la línea B59 (17 días de edad) cultivadas en el sistema hidropónico (C).	
64	Ensayo de crecimiento vegetativo de girasol realizado en el sistema de cultivo hidropónico. Fotografía de una plántula de girasol de la línea B59 de 24 días de edad cultivada en el sistema hidropónico diseñado (A). Imagen en primer plano del sistema de raíces (B).	122
65	Conductancia estomática en hojas de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (1 y 3 uM) (A); BL (0.01 uM) (B) o KAR2 (1 uM y 10 nM) (C).	128
66	Longitud de parte aérea de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (1 y 3 uM) (A); BL (0.01 uM) (B) o KAR2 (1 uM y 10 nM) (C).	129
67	Longitud de raíz principal de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (1 y 3 uM) (A); BL (0.01 uM) (B) o KAR2 (1 uM y 10 nM) (C).	130
68	Peso fresco de parte aérea de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (1 y 3 uM) (A); BL (0.01 uM) (B) o KAR2 (1 uM y 10 nM) (C).	131
69	Peso fresco de parte radical de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (1 y 3 uM) (A); BL (0.01 uM) (B) o KAR2 (1 uM y 10 nM) (C).	132
70	Peso seco de parte aérea de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (1 y 3 uM) (A); BL (0.01 uM) (B) o KAR2 (1 uM y 10 nM) (C).	133
71	Peso seco de parte radical de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (1 y 3 uM) (A); BL (0.01 uM) (B) o KAR2 (1 uM y 10 nM) (C).	134
72	Área foliar de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (1 y 3 uM) (A); BL (0.01 uM) (B) o KAR2 (1 uM y 10 nM) (C).	135
73	Respuesta relativa de la biomasa radicular al estrés de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 sin aplicación de reguladores de crecimiento y tratadas con GR24 (1 y 3 uM) (A); BL (0.01 uM) (B) o KAR2 (1 uM y 10 nM) (C).	136
74	Fotografías de plántulas de ambas líneas endocriadas en las cuales se observan síntomas de fitotoxicidad luego de la aplicación de la solución de GR24 a la concentración 5 µM.	137
75	Fotografías de plántulas de ambas líneas endocriadas en las cuales se observan síntomas de fitotoxicidad luego de la aplicación de la solución de GR24 a la concentración 10 µM.	137
76	Fotografías de plántulas de ambas líneas endocriadas en las cuales se observan síntomas de fitotoxicidad luego de la aplicación de la solución de BL a la concentración 1 uM.	138

ABREVIATURAS

°: Grados

°C: Grados centígrados

ABA: Ácido abscísico

ABA-GE: ésteres de ABA-glucosa

ACP: Análisis de componentes principales

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AIA: Ácido indol-3-acético

a.m.: Antes del mediodía

ANOVA: Análisis de la varianza

AO: Ajuste osmótico

APX: Ascorbato peroxidasa

AsA: Ascorbato

AsA-GSH: Ciclo ascorbato-glutación

ASAGIR: Asociación Argentina de girasol

Aux: Auxinas

BL: Brasinolide

BRs: Brasinoesteroides

BRX: Gen BRAVIS RADIX

CAT: Catalasa

CS: Castasterona

C27: Brasinoesteroides con 27 átomos de carbono en su estructura. Carece de grupo alquilo en su cadena lateral.

C28: Brasinoesteroides con 28 átomos de carbono en su estructura. Poseen un grupo alquilo en su cadena lateral (posición 24).

C29: Brasinoesteroides con 29 átomos de carbono en su estructura. Poseen un grupo alquilo de dos carbonos en su cadena lateral (posición 24).

c.c.: Capacidad de campo

CL: Carlactona

cm: Centímetros

cm²: Centímetros cuadrados

cm³: Centímetros cúbicos

CKs: Citocininas

CO₂: Dióxido de carbono

CR: colesterol

cZ: *cis*-zeatina

DELLA: proteínas, secuencia específica de cinco aminoácidos (ácido aspártico, ácido glutámico, leucina, leucina y alanina)

DHAR: Deshidroascorbato reductasa

dSm⁻¹: deciSiemens por metro

DPA: Ácido difaseico

DPX: Dibutilftalato de Poliestireno Xileno

DTNB: Ácido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoico)

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

EEA: Estación Experimental Agropecuaria

EROs: Especies reactivas de oxígeno

ET: Etileno

FAA: Etanol, ácido acético, formol, y agua 50:5:10:35 porcentaje volumen-volumen

Fig.: Figura

g: Gramos

GA: Ácido giberélico

GAs: Giberelinas

GA_{1-7, 12}: Giberelina 1-7, 12.

GGDP: geranilgeranil difosfato

GR: Glutación reductasa

GR24: Estrigolactona sintética

GSH/GSSG: Glutación reducido y oxidado

H₂O₂: Peróxido de hidrógeno

H₂SO₄ 2N: Ácido sulfúrico, concentración 2 Normal

²H₃: Isótopo de hidrógeno

ha: Hectáreas

h: Horas

HOAc: Ácido acético

homoDL: Homodolicholide

HPLC: Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia

H₂PO₄/K₂HPO₄: Buffer fosfato

HR: Humedad relativa

IAM: indol-3-acetamida

IAOx: indol-3-acetaldoxima

IGP: indol-3-glicerol fosfato

INTA: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

IPyA: ácido indol-3-pirúvico

JA: Ácido jasmónico

JA-Ile: Jasmónico - isoleucina

KI-I₂: Yoduro de potasio - diyodo

KARs: Karrikinas

KAR1-3: Karrikina 1, 2 o 3

KAR2: Karrikina 2

L: Litros

LSD: Least Significant Difference (diferencia mínima significativa)

M: Molar

MAPKs: Proteínas quinasas activadas por mitógenos.

MDA: Malondialdehído

MDHAR: monodeshidroascorbato reductasa

MeJA: metil jasmonato

MeOH: Metanol

MEP: Metileritritol fosfato

mg: Miligramos

mg/ml: Miligramos por mililitro

min: Minutos

ml: Mililitros

mM: Milimolar

mM⁻¹. cm⁻¹: Milimoles por centímetro

mmol. g⁻¹: Milimol por gramo

MRM: Monitoreo de Reacciones Múltiples

Mt: Millones de toneladas

MVA: Mevalonato

Nº: Número

NADPH/NADP⁺: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducida y oxidada

neo-PA: Ácido neofaseico

nm: Nanómetros

nM: Nanomolar

¹O₂: Oxígeno singlete

O₂⁻: Radical anión superóxido

·OH: Radical hidroxilo

PA: Ácido faseico

PF: Peso fresco

PGRs: Reguladores del crecimiento vegetal

pH: Potencial de hidrógeno

pmol: Picomol

POD: Peroxidasa

ppm: Partes por millón

PS: Peso seco

PSII: Fotosistema II

p/v: Porcentaje peso/volumen

qq ha⁻¹: Quintales por hectárea

RRBE: Respuesta relativa de la biomasa radicular al estrés

rpm: Revoluciones por minuto

SA: Ácido salicílico

SE: Desvío estándar

SEs: Sustancias exógenas

s: Segundos

SLs: Estrigolactonas

SOD: Superóxido dismutasa

t: Toneladas

TBA: Ácido tiobarbitúrico

TCA: Ácido tricloroacético

TE: Teasterona

Tris-ClH: Clorhidrato de tris(hidroximetil)aminometano

Trp: Triptófano

tZ: *trans*-zeatina

UHPLC-MS/MS: Cromatografía Líquida de Ultra Performance acoplada a Espectrometría de Masas en Tándem

UV-Vis: Espectroscopia ultravioleta-visible

V2: Estadio vegetativo V2

V3: Estadio vegetativo V3

V4: Estadio vegetativo V4

V5: Estadio vegetativo V5

v/v: porcentaje volumen-volumen

ZEA: Zeatina

μM: Micromolar

μm: Micrómetros

μm²: Micrómetros cuadrados

μmol: Micromoles

μmol. g⁻¹: Micromoles por gramo

μmol.m⁻². s⁻¹: Micromoles por metro cuadrado por segundo

μL: Microlitros

μL. min⁻¹: Microlitros por minuto

1:1: Proporción en la cual se emplean cantidades iguales de dos componentes

1:1:1: Proporción en la cual se emplean cantidades iguales de tres componentes

1:1:2: Mezcla de tres componentes en esa relación de cantidades

1,2 DCE: 1,2 dicloroetano

24-epiBL: 24-epibrasinolide

28-homoBL: 28-homobrasinolide

28-homoCS: 28-homocasterona

28-norBL: 28-norbrasinolide

28-norCS: 28- norcastasterona

Introducción

El cultivo de girasol: origen, importancia y perspectiva actual en Argentina

El girasol (*Helianthus annuus* L.) es un cultivo originario de Estados Unidos cuya introducción en Argentina guarda estrecha relación con la inmigración judía, quienes alrededor del año 1881, importaron semillas de este cultivo, propiciando de esta manera su multiplicación y distribución en diferentes regiones del país (Castaño, 2018). Su posterior expansión en nuestro país ocurrió entre los años 1930 y 1949 (ASAGIR, 2019a).

En la actualidad, el cultivo se distribuye abarcando un área de siembra de 2.000.000 ha comprendida entre los 24° y 38° de Latitud Sur, desde la Región Chaqueña hasta el sudoeste de la Región Pampeana (Fig. 1). Dicha región comprende una amplia variedad de ambientes agroecológicos y condiciones climáticas que se relacionan con el ciclo del cultivo (De la Vega y Chapman, 2010; Castaño, 2018; Bolsa de comercio de Rosario, 2025).

El girasol constituye uno de los principales cultivos oleaginosos a nivel mundial, con una producción global que supera los 50 millones de toneladas anuales en las últimas campañas. Entre los países productores se destacan Rusia, Ucrania, Argentina, China, Turquía, Bulgaria y Rumania, los cuales concentran la mayor proporción de la producción global (USDA, 2024; Bolsa de Cereales de Córdoba, 2025). Su relevancia económica radica principalmente en la producción de aceite y en el aporte de proteína vegetal, siendo además una fuente importante de ácidos grasos insaturados y vitamina E (α -tocoferol), lo que le confiere un destacado valor nutricional (Adeleke y Babalola, 2020; ASAGIR, 2019b). En Argentina, la producción alcanzó aproximadamente 4,7 Mt, con un rendimiento promedio de 23,4 qq ha⁻¹, según lo reportado en la última campaña agrícola 2024/25 (Bolsa de Cereales de Buenos Aires, 2025).

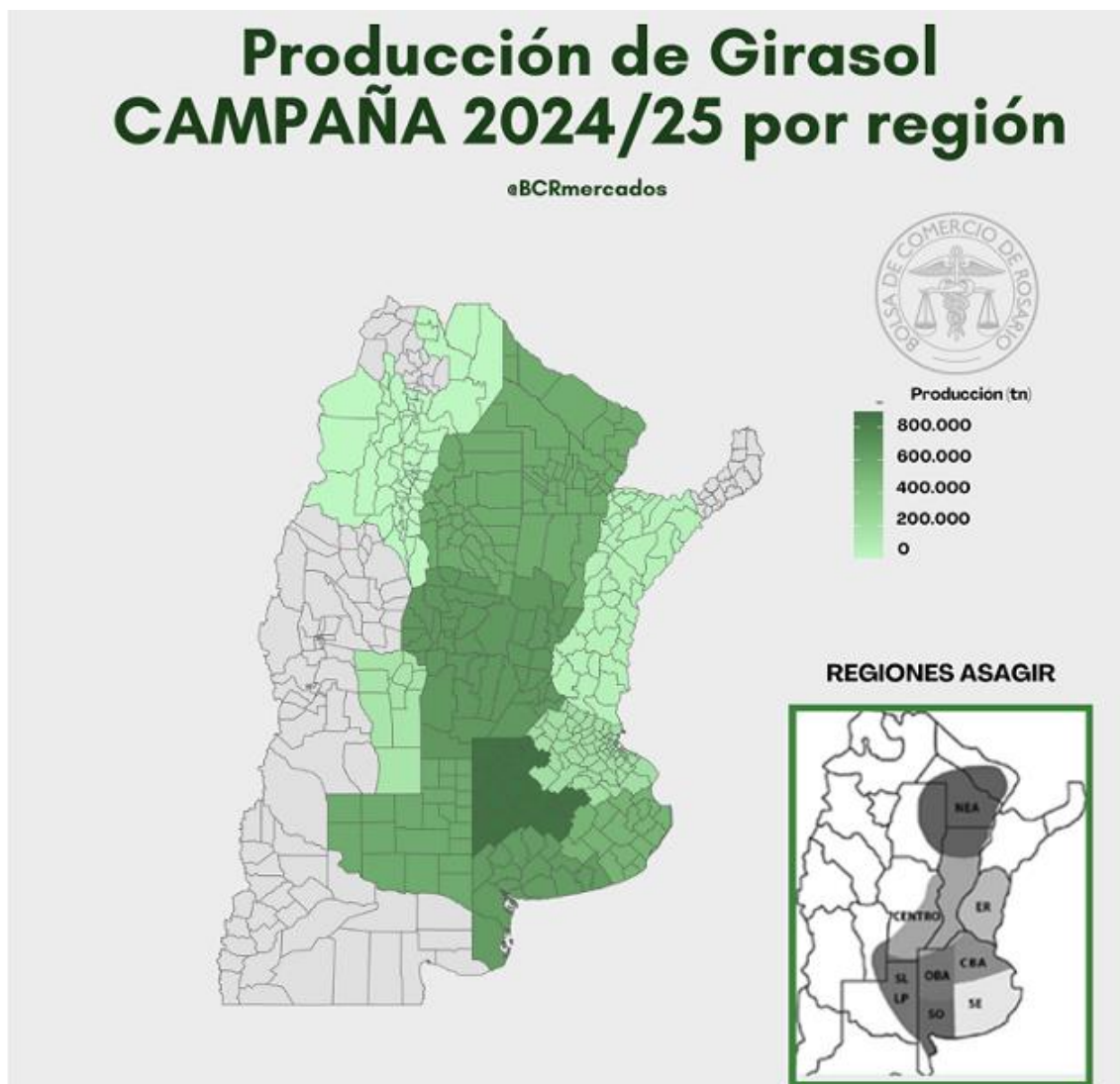


Fig. 1. Área sembrada y producción (t) de girasol en Argentina para la campaña 2024/2025 (Bolsa de comercio de Rosario, 2025).

Descripción del material vegetal

El girasol es una especie herbácea anual perteneciente a la familia *Asteraceae*. En la parte aérea de la planta se localiza la inflorescencia que recibe el nombre de capítulo, el cual se encuentra formado por distintas estructuras: pequeñas flores tubuladas distribuidas en espiral, y lígulas o flores liguladas de color amarillo hacia los márgenes del capítulo (Fig. 2). En su dorso se encuentra una serie de brácteas verdes o filarias. El fruto se denomina cipsela, está recubierto por un clamidocarpo y en su interior se encuentra la semilla (ASAGIR, 2003). Las plantas pueden alcanzar una altura variable entre 60 a 220 cm dependiendo del genotipo. Se caracterizan por presentar un tallo erecto y cilíndrico a partir del cual se desarrollan las hojas de gran tamaño, largos peciolo y con disposición alterna. La forma y el número de

hojas son parámetros que presentan variaciones de acuerdo al genotipo y a las condiciones ambientales en que se desarrolla la planta (De la Mata Saez, 2016) (Fig. 2).

El sistema radical de tipo alorrizo se compone de una raíz primaria que constituye el eje principal y un sistema de ramificaciones. Las raíces secundarias son numerosas en cercanías del cuello de la planta, disminuyendo su densidad a unos 15 cm del mismo. Las ramificaciones de orden superior (raíces terciarias) son abundantes y participan en la exploración del terreno tanto vertical como horizontalmente (Aguirrezábal et al., 1998). Durante el transcurso de su desarrollo, el cultivo presenta distintas etapas o estadios fenológicos determinados por una sucesión de cambios morfológicos y fisiológicos, los cuales están determinados genéticamente e influenciados por el ambiente (Martínez et al., 2015) (Fig. 2).

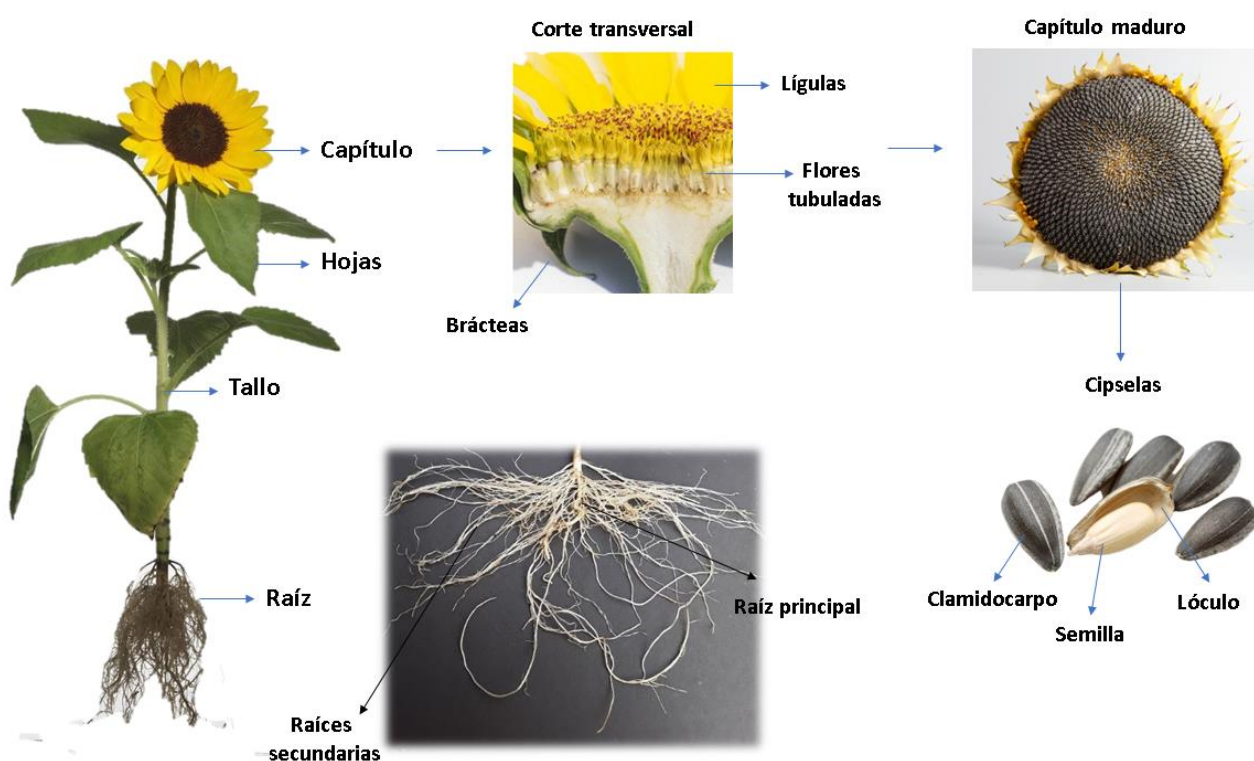


Fig. 2. Estructura morfológica del girasol (*Helianthus annuus* L.) mostrando sus principales órganos: raíz (principal y secundarias), tallo, hojas y capítulo (corte transversal y capítulo maduro con sus cipselas).

El estrés hídrico en los cultivos: situación actual e implicancias en girasol

En el marco del actual cambio climático global, el déficit hídrico es una problemática que ocasiona con frecuencia períodos de sequía que impactan negativamente sobre los cultivos. Esta situación plantea un nuevo escenario agrícola, en el cual el estrés hídrico

constituye un factor limitante del crecimiento y productividad, especialmente en zonas áridas y semiáridas (Dietz et al., 2021; Kopecká et al., 2023). En condiciones de sequía, la escasez de agua disponible en el suelo limita la absorción tanto de agua como de nutrientes por parte de las raíces y, en consecuencia, ocasiona un crecimiento atrofiado de la planta y una reducción del rendimiento del cultivo (Orimoloye, 2022) (Fig. 3). Sus efectos adversos dependen predominantemente de la especie y su genotipo, edad y tamaño de la planta como así también de la duración e intensidad del estrés (Ullah et al., 2018; Zia et al., 2021). Sin embargo, sus consecuencias se ven reflejadas en todas las etapas ontogénicas de la planta, siendo germinación, estadio de plántula y floración las más sensibles (Ahmad et al., 2009; Fernández-Moroni et al., 2012; Kopecká et al., 2023).

Algunos cereales fundamentales para la seguridad alimentaria y la nutrición mundial se incluyen entre los cultivos más sensibles a la sequía como por ejemplo el maíz y el trigo (Liaquat et al., 2024). Cuando las plantas se enfrentan a un escenario de estrés hídrico, experimentan una serie de cambios morfoanatómicos, fisiológicos y bioquímicos, entre otros (Al Abboud et al., 2024). En este sentido, se ha reportado que el estrés hídrico ocasiona una disminución de la fotosíntesis como consecuencia del cierre estomático, la reducción en el ingreso de CO₂ y el daño oxidativo en los cloroplastos (Franco-Navarro et al., 2025) (Fig. 3). Frente a esta condición, las plantas desarrollan diversos mecanismos de respuesta tendientes a evitar la pérdida de agua (a través de la regulación del cierre estomático), mantener la turgencia celular (mediante el ajuste osmótico) y contrarrestar el estrés oxidativo (mediante la activación de defensas antioxidantes) (Franco-Navarro et al., 2025) (Fig. 3). Por otro lado, modificaciones en la arquitectura de las raíces y la señalización hormonal favorecerían la mejora de la absorción de agua, nutrientes y, por lo tanto, la tolerancia al estrés (Shoaib et al., 2022; Kalra et al., 2024; Zhou et al., 2024) (Fig. 3).

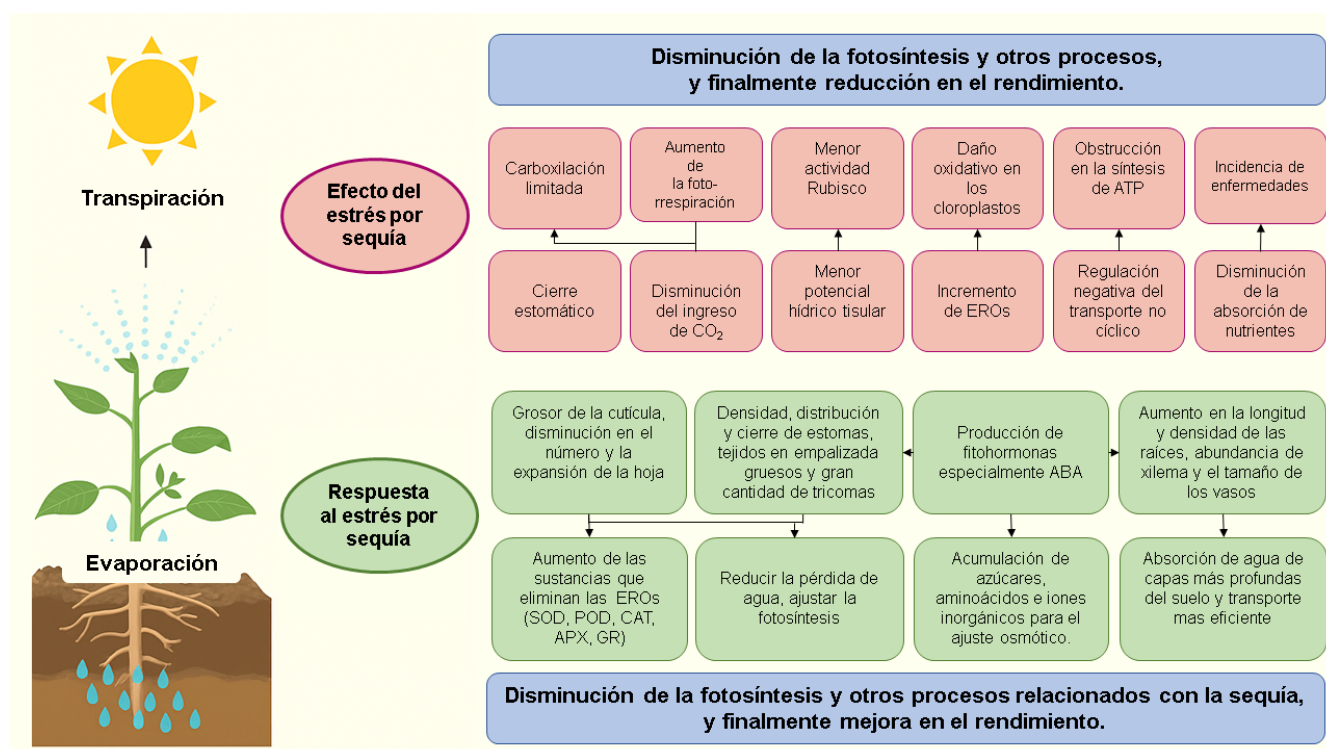


Fig. 3. Efectos del estrés hídrico en los cultivos y sus respuestas adaptativas desde perspectivas fisiológicas y morfológicas. Adaptado de Iqbal et al. (2022).

El girasol es un cultivo oleaginoso de alto valor económico a nivel mundial (Rajper et al., 2021). Presenta una baja a media sensibilidad al estrés hídrico, debido a que posee un sistema radical ramificado que permite la absorción de agua del suelo de manera eficiente (Keipp et al., 2020). Sin embargo, los eventos de escasez hídrica que ocurren actualmente, y cada vez con mayor frecuencia en las regiones agrícolas áridas y semiáridas, pueden afectar su crecimiento, desarrollo y finalmente su rendimiento (Hussain et al., 2018a; Dietz et al., 2021; Shehzad et al., 2023) (Fig. 4).

En las últimas décadas, el cultivo de girasol ha sido desplazado hacia zonas agrícolas caracterizadas por un régimen hídrico irregular en primavera y suelos con menor capacidad de almacenamiento de agua, lo que condiciona la siembra y la adecuada emergencia aún para este cultivo con buen comportamiento frente a estrés hídrico (De la Vega et al., 2024). Estos fracasos en la implantación, asociados con una germinación irregular y una escasa sincronización en el establecimiento de plántulas, modifican el número de plantas por ha, y por ende el número de capítulos por unidad de superficie (Pedraza et al., 2000; Mwale et al., 2003; Dietz et al., 2021). Otras etapas ontogénicas críticas en la definición del rendimiento son la prefloración y floración, donde se define el número de granos por capítulo, y luego la etapa de llenado del grano donde se define el peso del mismo (Trápani et al., 2003; Darbani

et al; 2020). Por ello, un déficit hídrico ocurriendo en las etapas citadas produce una drástica caída del rendimiento de granos en el cultivo de girasol (Debaeke et al., 2021).

Ha sido reportado que la falta de disponibilidad hídrica en el suelo durante la fase de imbibición de las semillas de girasol limita la absorción del agua necesaria, lo que puede conducir a una germinación deficiente e irregular (Haj Sghaier et al., 2023). En etapas iniciales, el déficit hídrico disminuye significativamente la tasa de elongación del tallo y reduce el área foliar lo que compromete la capacidad fotosintética y el crecimiento vegetativo (Janzen et al., 2023). Durante la antesis y floración, dicho estrés puede causar abortos reproductivos y aumentar la proporción de cipselas vacías por fallas en la viabilidad del polen o en el proceso de fertilización (Jocković et al., 2025). En la fase de llenado del grano, la escasez de agua reduce notablemente el rendimiento del cultivo, debido a las altas demandas transpiratorias y a limitaciones en la fotosíntesis. Se han observado reducciones marcadas en la productividad total, el peso de la semilla y el contenido de aceite, características críticas determinantes del rendimiento final (Barnhart et al., 2022; Jocković et al., 2024).

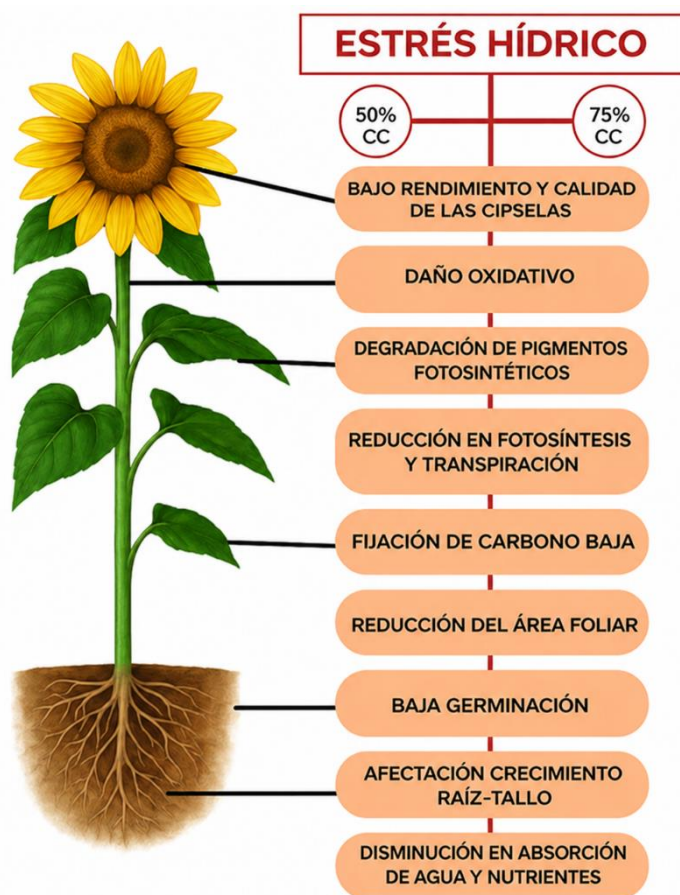


Fig. 4. Efectos del estrés hídrico en el cultivo de girasol: impacto en el crecimiento, la fotosíntesis, la germinación y el rendimiento. Las expresiones 50% CC y 75% CC hacen referencia al porcentaje de la capacidad de campo (CC) del suelo. Adaptado de Ameen et al., 2024.

Efectos del estrés hídrico sobre parámetros morfo-anatomo-histológicos

Durante el crecimiento y desarrollo vegetal, el estrés hídrico impacta negativamente sobre diversos parámetros morfológicos de la planta, incluyendo la altura, el diámetro del tallo, el número y área de las hojas, la longitud y el volumen de las raíces, así como la biomasa (fresca y seca) de parte aérea y radical (Hussain et al., 2018b; Ali et al., 2025). Particularmente en girasol se ha documentado que el déficit hídrico reduce la altura de la planta, el diámetro del tallo, el número y tamaño de hojas, y el diámetro del capítulo (Rajper et al., 2021; Ashraf y Siddiqi, 2024; Hussain et al., 2025). La raíz es el órgano más importante en la adaptación de los cultivos al estrés hídrico debido a que es capaz de ajustar diferentes procesos metabólicos a fin de inducir respuestas tendientes a modular su desarrollo, determinando su arquitectura y protegiendo su integridad y funciones (Djanaguiraman et al., 2019; Kalra et al., 2023; Gusain et al., 2024). Se denomina arquitectura radical a la configuración espacial de las raíces y sus propiedades anatómicas, y abarca diversos parámetros como la disposición, longitud, ángulo de inserción, ramificación, superficie y diámetro, entre otros (Calleja-Cabrera et al., 2020; Ranjan et al., 2022; da Silva et al., 2025).

Tanto el crecimiento como la arquitectura de las raíces muestran una alta plasticidad que varía entre especies debido a que son características condicionadas por el control inherente de los factores genéticos. Estas señales internas están moduladas por factores bióticos y abióticos del ambiente, y su resultado se expresa a través de la modificación del sistema radical, especialmente en el número y disposición de las ramificaciones (Calleja-Cabrera et al., 2020; Dhanapal et al., 2021). La eficiencia en la absorción y el transporte de agua y nutrientes en las plantas está estrechamente vinculada con la arquitectura de su sistema radical, y se ha demostrado que una mayor superficie del mismo favorece significativamente la captación de recursos disponibles en el sustrato, lo que permite a las plantas responder de manera más eficiente frente a condiciones de déficit hídrico (Hu et al., 2018) (Fig. 5).

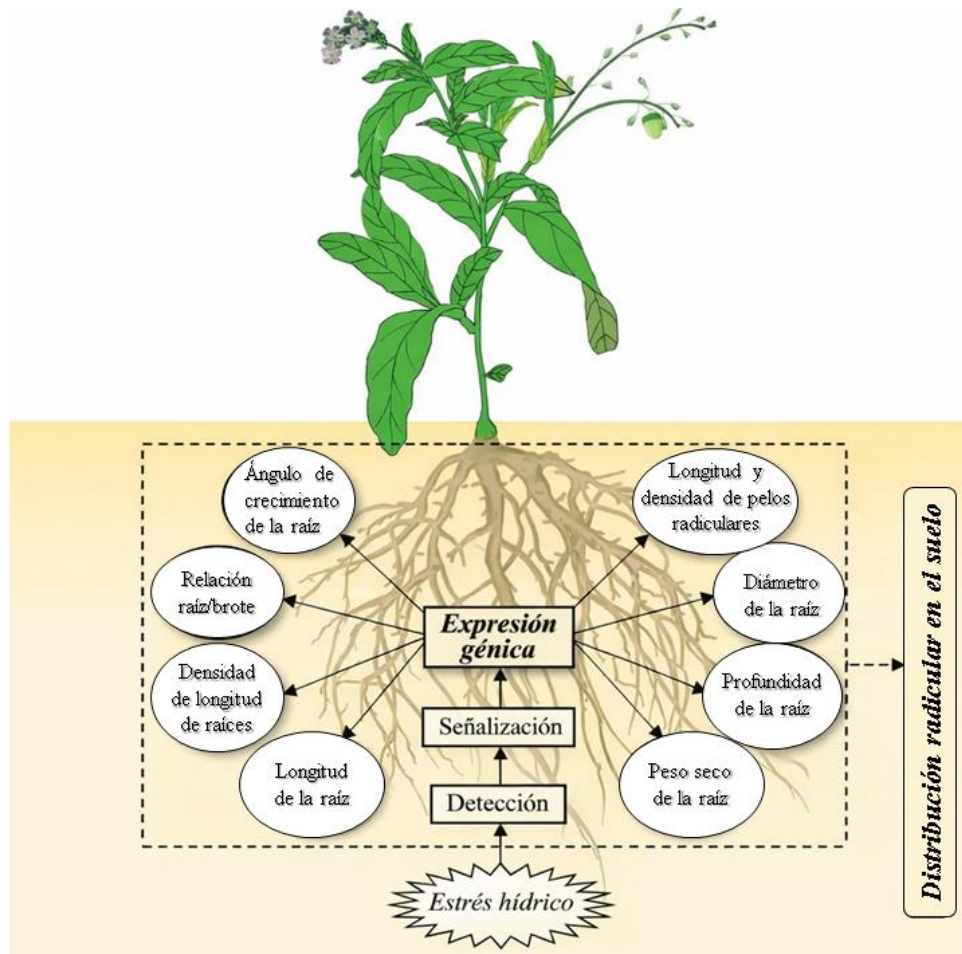


Fig. 5. Representación esquemática de las principales características morfológicas de la raíz que se modifican en respuesta al estrés hídrico para propiciar una adecuada distribución del sistema radical en el sustrato. Adaptado de Kou et al., 2022.

En este sentido, distintas modificaciones en la arquitectura del sistema radical son observadas en respuesta al estrés hídrico, las cuales favorecen la extracción de agua desde capas profundas del suelo (Gusain et al., 2024; da Silva et al., 2025) (Fig. 6 y 7). Por ejemplo, la presencia de sistemas radicales más ramificados (con mayor densidad de longitud de raíces) y profundos, menor número y mayor longitud de raíces laterales (Agee et al., 2021; Li et al., 2024), formación de raíces fibrosas y disminución en el diámetro de raíces laterales (Ye et al., 2018). Otra característica importante es la presencia de raíces jóvenes, los principales sitios de captación de agua, así como suficiente densidad y longitud de pelos radicales que aumentan la superficie de contacto suelo-raíz (Kim et al., 2020; Duddek et al., 2022).

A nivel histológico, ciertos tejidos que componen la raíz desempeñan funciones especializadas que contribuyen al mantenimiento del flujo eficiente de agua y nutrientes hacia la parte aérea de la planta: la *epidermis* (representa la primera barrera en responder al

estrés hídrico por ser la capa más externa en estrecho contacto con el sustrato), la *endodermis* (interviene en la absorción y el transporte radial, regulando el paso selectivo de sustancias hacia el cilindro vascular) y la *corteza* (desempeña un rol fundamental en el almacenamiento temporal de agua y nutrientes) (Calvo-Polanco et al., 2021; Duddek et al., 2022; Sidhu et al., 2024). Frente a condiciones de déficit hídrico, las principales modificaciones ocurren en las células que integran el parénquima cortical, en las barreras apoplásticas (epidermis, exodermis y endodermis) y en los tejidos que componen el cilindro vascular (da Silva et al., 2025). En tal sentido, algunas modificaciones consisten en la suberización de la exodermis (Munns y Passioura, 1984; Yang et al., 2020), mayor desarrollo de aerénquima cortical (Chimungu et al., 2015; Schneider y Lynch, 2018; Klein et al., 2020), reducción del número de células radicales o del número de capas de células (Burton et al., 2012; Gusain et al., 2024), así como la presencia de vasos xilemáticos de menor diámetro (con variación en el número y en el grosor de su pared celular) (Prince et al., 2017; Ye et al., 2018; Klein et al., 2020) (Figs. 6 y 7).



Fig. 6. Resumen de los cambios morfo-anatómicos y fisiológicos que ocurren en la raíz en respuesta a estrés hídrico. Adaptado de Gusain et al., 2024.

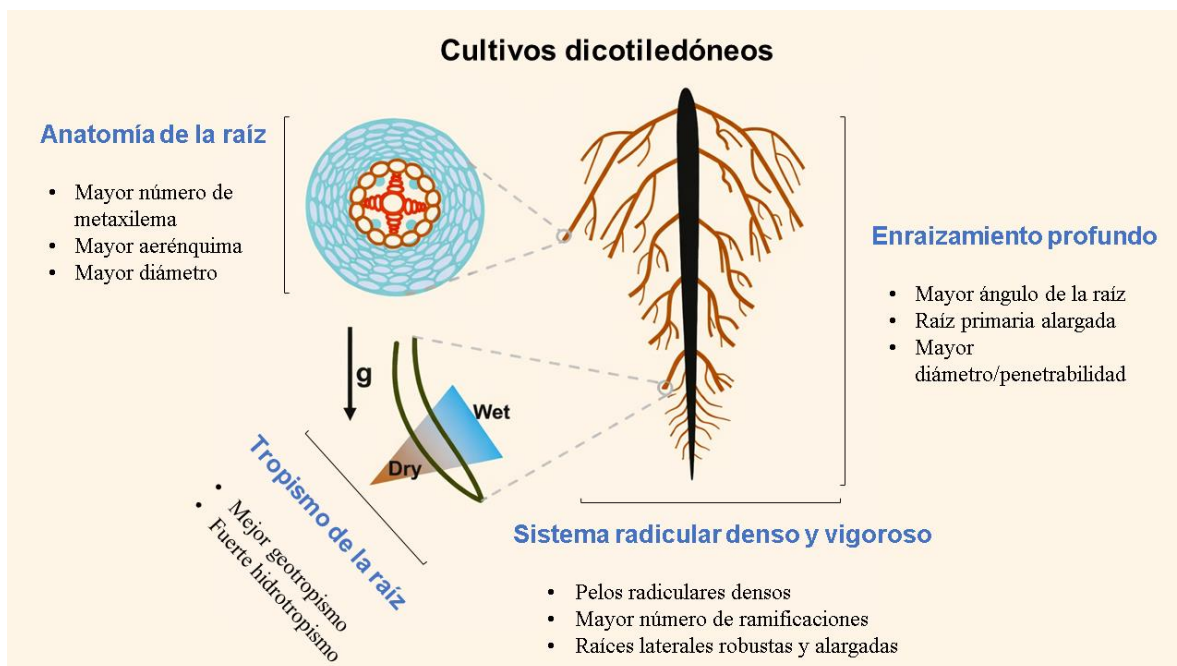


Fig. 7. Representación esquemática de una arquitectura ideal del sistema radical para favorecer la resistencia al estrés hídrico. Adaptado de Zhang et al., 2025.

En conjunto, estas modificaciones morfo-anatómicas del sistema radical optimizan la absorción y el transporte de agua y nutrientes, lo que se traduce en un incremento en la productividad de los cultivos (da Silva et al., 2025). En este contexto, la arquitectura del sistema radical cumple un rol determinante en la tolerancia de las plantas al estrés hídrico al tiempo que representa un criterio clave para la selección y el mejoramiento genético de los cultivos (Bhaskarla et al., 2020).

Efectos del estrés hídrico sobre parámetros fisiológicos

Desde un punto de vista fisiológico, el estrés hídrico limita la fotosíntesis debido principalmente al cierre estomático, la reducción del contenido de clorofilas y la menor fijación de CO₂ (Wahab et al., 2022; Qiao et al., 2024). Estas alteraciones se traducen en una caída del potencial hídrico foliar, pérdida de turgencia y restricción en los procesos de división y expansión celular (Hussain et al., 2018b; Wahab et al., 2022). A su vez, la menor disponibilidad de agua reduce el transporte en el xilema y la provisión de nutrientes hacia el floema, resultando en un menor potencial hídrico y ocasionando desequilibrios nutricionales (Jocković et al., 2024; da Silva et al., 2025).

Por otro lado, se encuentra ampliamente documentado que, frente a situaciones de estrés hídrico, las plantas poseen la capacidad de modificar la arquitectura del sistema radical

para favorecer la toma de agua y nutrientes disponibles en el suelo y, además, la anatomía y fisiología de dichas raíces para controlar la capacidad de transporte de tales recursos (Ranjan et al., 2022; Affortit et al., 2024). Por otra parte, pueden ajustar rápidamente el crecimiento y desarrollo radical en condiciones de estrés al influir en los niveles hormonales, el transporte y la respuesta fisiológica (Julkowska y Testerink, 2015; Ali et al., 2025), así como también en la concentración de otros reguladores del crecimiento vegetal (Tripathi et al., 2022).

Las hormonas vegetales, también conocidas como fitohormonas, son moléculas señal producidas en bajas concentraciones que regulan el crecimiento y desarrollo de las plantas tanto en condiciones óptimas (Fig. 8) como de estrés (Fig. 9) (Gupta et al., 2024; Liao et al., 2025).

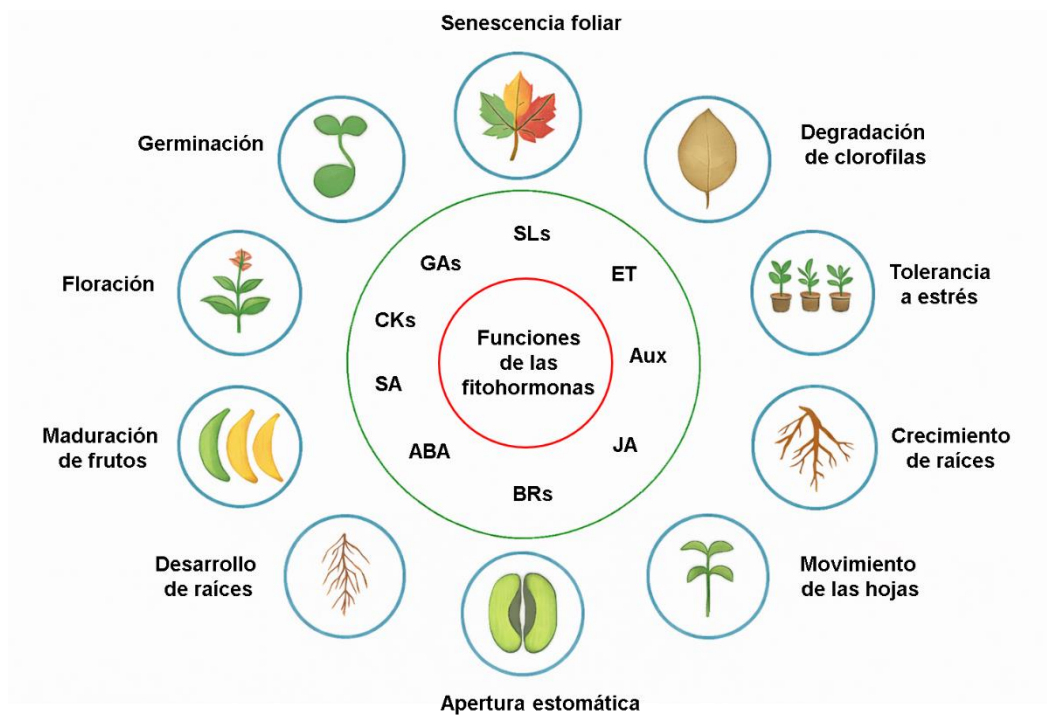


Fig. 8. Principales funciones fisiológicas de las fitohormonas sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas. Abreviaturas: SLs (estrigolactonas), ET (etileno), Aux (auxinas), JA (ácido jasmónico), BRs (brasinoesteroides), ABA (ácido abscísico), SA (ácido salicílico), CKs (citocininas) y GAs (giberelinas). Adaptado de Das et al., 2025.

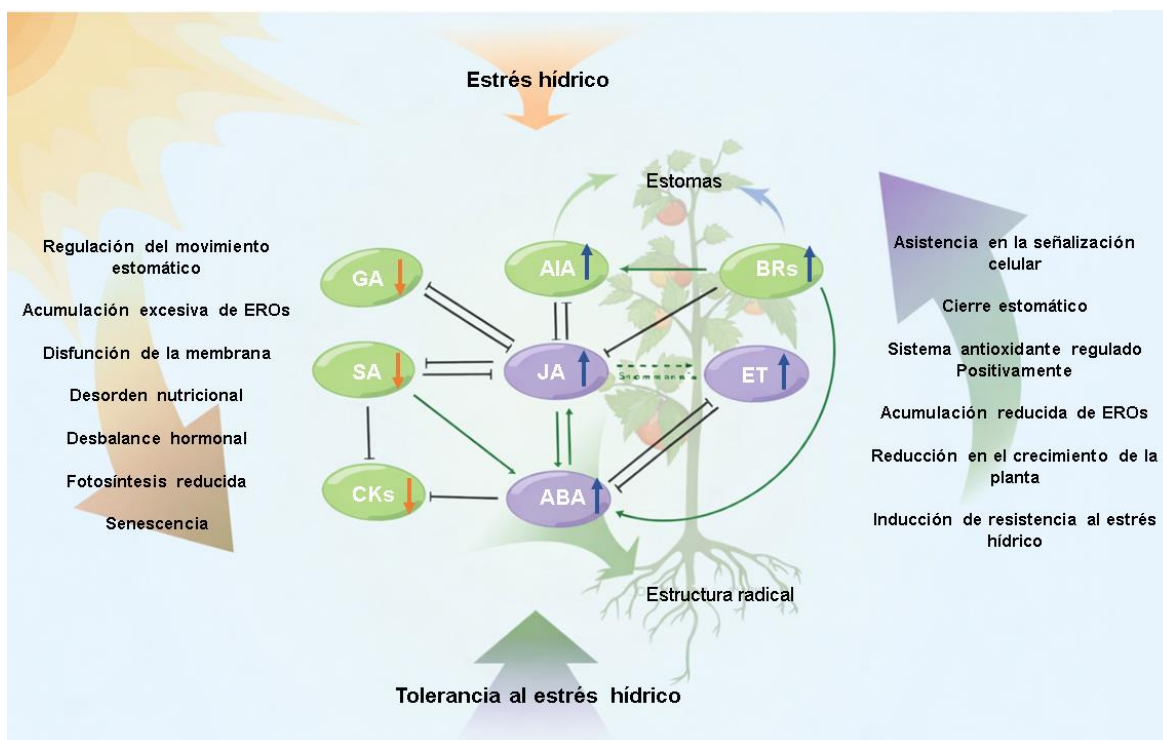


Fig. 9. Resumen de las principales interacciones entre diversas fitohormonas, entre ellas el ácido abscísico (ABA), el ácido jasmónico (JA), el etileno (ET), el ácido giberélico (GA), el ácido indol-3-acético (AIA), los brasinoesteroides (BRs), las citocininas (CKs) y el ácido salicílico (SA) bajo condiciones de estrés hídrico. Adaptado de Liao et al., 2025.

Entre las nueve hormonas vegetales primeramente caracterizadas, etileno y ácido jasmónico (JA) generalmente se consideran hormonas del estrés, conjuntamente con ácido abscísico (ABA) y ácido salicílico (SA). Otras hormonas, incluidas las auxinas (Aux), las citocininas (CK), las giberelinas (GAs), los brasinoesteroides (BRs) y las estrigolactonas (SLs) se clasifican como hormonas promotoras del crecimiento vegetal (Müller y Munné-Bosch, 2021; Das et al., 2025).

Las fitohormonas no sólo ejercen un control intrínseco en la determinación del sistema radical, sino que también participan en la adaptación de su desarrollo frente a condiciones ambientales adversas (Gusain et al., 2024; Sharma et al., 2025). En tal sentido, diversos estudios han demostrado que en raíces la percepción y señalización del estrés hídrico está mediada por un balance coordinado del “crosstalk” entre diferentes fitohormonas (Ranjan et al., 2022), tales como Aux, CKs, ABA, GAs y JA (Du y Scheres, 2018; Bandurska et al., 2022; Gusain et al., 2024).

Las Aux son fitohormonas que poseen un anillo aromático insaturado y una cadena lateral de ácido acético (Gao et al., 2024) y se han registrado varias formas bioactivas en las plantas, siendo el ácido indol-3-acético (AIA) la auxina más estudiada (Iqbal et al., 2022).

Estos compuestos se sintetizan principalmente en hojas jóvenes y en la región meristemática de ápices de brotes, yemas y raíces, y se transportan hacia su sitio de acción a través de un mecanismo de transporte polar (Mukherjee et al., 2022). La biosíntesis de Aux puede ocurrir principalmente a través de dos vías: una dependiente del triptófano (Trp) y otra independiente del Trp. En las plantas, la biosíntesis del Trp, precursor de AIA, se lleva a cabo en los cloroplastos. A partir de este aminoácido, la síntesis de AIA puede seguir tres rutas principales, cada una caracterizada por diferentes intermediarios: la vía del ácido indol-3-pirúvico (IpyA), la vía del indol-3-acetaldoxima (IAOx) y la vía del indol-3-acetamida (IAM). Además, existe una vía independiente del Trp en la que el AIA se sintetiza directamente a partir de indol o de indol-3-glicerol fosfato (IGP) a través de la acción de una enzima localizada en el citosol (Solanki y Shukla, 2023; Gao et al., 2024).

Las Aux son una de las principales fitohormonas que regulan numerosos aspectos del crecimiento y desarrollo de las plantas (Yadav et al., 2021). Intervienen en el desarrollo de raíces y el mantenimiento del meristema radical tanto en condiciones óptimas como de estrés abiótico (Brumos et al., 2018; Altaf et al., 2023). Se ha documentado que dicha fitohormona desempeña un rol clave en el xerotropismo, mecanismo que implica la reorientación de la dirección de crecimiento de las raíces laterales (de ángulos superficiales a otros más pronunciados) para propiciar la exploración del sustrato bajo condiciones de estrés hídrico (Sharma et al., 2025). Además, modulan positivamente el metabolismo de EROs, la arquitectura de la raíz, la homeostasis metabólica y los genes de respuesta a ABA para mejorar la resistencia al estrés por sequía (Jogawat et al., 2021).

Las CKs son otro grupo de fitohormonas integrado por compuestos derivados de adenina con cadenas laterales isoprenoides o aromáticas, abundantes en los meristemas apicales y semillas inmaduras siendo los ápices radicales el principal sitio de síntesis (Salvi et al., 2021; EL Sabagh et al., 2022). Según la naturaleza de su cadena lateral, pueden dividirse en CKs isoprenoides (donde se incluye la *trans*-zeatina) o CKs aromáticas, siendo las primeras las más abundantes (Bajguz y Piotrowska-Niczyporuk, 2023). La biosíntesis de estas fitohormonas puede llevarse a cabo a través de dos rutas principales: vía del metileritritol fosfato (MEP) y del mevalonato (MVA), localizadas en los plastidios y el citoplasma, respectivamente. Las CKs tipo *cis*-zeatina (*cZ*) derivan principalmente de la vía MVA en el citoplasma (Li et al., 2021b; Zhao et al., 2024a).

Entre sus múltiples funciones fisiológicas, las CKs promueven la división celular y regulan el desarrollo vascular en las plantas (Mubarik et al., 2021). Además, la señalización de CKs desencadena el crecimiento de la raíz primaria y participa en la regulación de la

arquitectura radical en *Arabidopsis* (Naulin et al., 2020). Ha sido reportado que tanto el nivel endógeno de CKs, así como la aplicación exógena, modulan la respuesta de las plantas al estrés hídrico (Salvi et al., 2021). Su influencia puede ser beneficiosa o perjudicial para el crecimiento de las plantas (Oneto et al., 2016) ya que se considera a las CKs como reguladores positivos de la actividad meristemática en brotes y contrariamente, un regulador negativo de la actividad del meristema radical. La sequía afecta negativamente la biosíntesis de CKs y su acumulación en las raíces de plantas estresadas, induciendo su movilización hacia los brotes, donde inhiben la senescencia de hojas y tallos (Jogawat et al., 2021). En concordancia, se ha informado que en raíces de girasol la producción y el transporte de CKs se reducen durante el estrés por sequía (Salvi et al., 2021).

ABA es un compuesto derivado de carotenoides y se sintetiza principalmente en los tejidos vasculares, células oclusivas y células del mesófilo (Liao et al., 2025). Además, es considerado como una de las fitohormonas del estrés más importantes y, en condiciones de déficit hídrico, es sintetizado en las raíces y transportado a las hojas a través del xilema (EL Sabagh et al., 2022). La biosíntesis de ABA ocurre en distintos compartimentos celulares, comenzando en los plastidios y culminando en el citosol. En la etapa inicial, los carotenoides presentes en los plastidios actúan como precursores, donde a través de múltiples reacciones, se genera xantoxina, la cual es transportada al citoplasma. En este compartimento celular, dicho compuesto es convertido a ABA a través de dos reacciones secuenciales. Una vez sintetizado, el ABA puede ser catabolizado por diversas rutas de hidroxilación, lo que conduce a la formación de ácido faseico (PA), ácido difaseico (DPA) y ácido neofaseico (neo-PA), catabolitos que pueden acumularse en las vacuolas. El ABA también puede ser almacenado en forma conjugada como ésteres de ABA-glucosa (ABA-GE), considerados formas de reserva y transporte. Cuando se requiere, el ABA puede liberarse de sus formas glicosiladas para ser nuevamente transportado al citoplasma y cumplir sus funciones fisiológicas como ABA libre (Felemban et al., 2019; Parwez et al., 2022).

Ha sido bien documentado que ABA participa en varios procesos cruciales durante el ciclo de vida de la planta, incluidas las respuestas al estrés (Salvi et al., 2021; Iqbal et al., 2022). Además, interviene en la modulación de la arquitectura de la raíz promoviendo el alargamiento de las raíces durante condiciones de sequía y posibilitando la captación de agua a niveles más profundos del suelo (Ullah et al., 2018; Hussain et al., 2021; Mukherjee et al., 2022). Estos efectos sobre la arquitectura de las raíces pueden ser positivos o negativos dependiendo del genotipo en estudio, la intensidad y la duración del estrés (Kuromori et al., 2018), así como también de los niveles de ABA cuantificados (Aslam et al., 2022). Se ha

observado que altos niveles endógenos de ABA inhiben la formación de raíces, mientras que una baja concentración es capaz de estimular el desarrollo radical al mantener la actividad meristemática como se ha observado para la raíz principal (Ali et al., 2020b). Por otro lado, ABA desencadena diversos mecanismos de defensa bioquímicos, entre los cuales se incluyen la biosíntesis de prolina, compuestos antioxidantes y enzimas detoxificantes de EROs, estrategias tendientes a lograr un ajuste osmótico adecuado para la planta y mitigar el daño oxidativo (Zhou et al., 2019; Das et al., 2025).

Las GAs representan un amplio grupo de ácidos carboxílicos diterpénicos tetracíclicos sintetizados principalmente en ápices (brotes y raíces), embriones y semillas, las cuales presentan múltiples isoformas, siendo solo un número limitado (GA₁, GA₃, GA₄, GA₅, GA₆ y GA₇) las que presentan actividad biológica en plantas (Kosakivska et al., 2022; Liao et al., 2025). La biosíntesis de GAs se inicia en los plastidios, teniendo como precursor al geranilgeranil difosfato (GGDP). Este compuesto es convertido a través de múltiples reacciones en *ent*-kaureno, el cual es oxidado en el retículo endoplasmático, dando lugar al ácido *ent*-kaurenoico. Este intermediario sufre dos pasos adicionales de oxidación, generando GA₁₂, la primera giberelina reconocida dentro de la ruta biosintética. Si bien GA₁₂ no presenta actividad biológica directa, actúa como precursor para la formación de giberelinas activas a través de reacciones catalizadas por oxidasas localizadas en el citosol. Estas enzimas convierten la GA₁₂ en intermediarios o GAs biológicamente activas (Katyayini et al., 2020; Castro-Camba et al., 2022).

Las GAs son compuestos que actúan a lo largo del ciclo de vida de la planta, estimulando el crecimiento (división y elongación celular) y participando en las respuestas a estrés abiótico (Ullah et al., 2018; Iqbal et al., 2022). Estas fitohormonas están involucradas tanto en el crecimiento de la parte aérea como de las raíces; no obstante, el crecimiento del sistema radical requiere de concentraciones de GAs más bajas, pudiendo inhibirse a concentraciones por encima de las óptimas (Ptošková et al., 2022). En general, se considera que la señalización de estas fitohormonas desempeña un rol negativo en la tolerancia al estrés por sequía (Jogawat et al., 2021). Altos niveles de GAs disminuyen la tolerancia, mientras que niveles reducidos la mejoran a través de la supresión del crecimiento vegetal (Yadav et al., 2021). En este sentido, ha sido reportado que, frente a condiciones de estrés hídrico, una reducción en el contenido de GAs permite la redistribución del crecimiento entre la parte aérea y las raíces para evitar un crecimiento que resulte perjudicial para la supervivencia de la planta (Ptošková et al., 2022; Srivastava y Pandey, 2023). Por otro lado, se ha informado que el estrés hídrico reduce el contenido de GAs y, por lo tanto, favorece la acumulación de proteínas

DELLA, originando en consecuencia el fenotipo de tolerancia al estrés con retraso en el crecimiento (Salvi et al., 2021; Das et al., 2025).

JA es una fitohormona derivada de la oxidación de lípidos (oxilipinas) y, en conjunto con sus derivados, integra el grupo denominado jasmonatos (Bajguz y Piotrowska-Niczyporuk, 2023; Liao et al., 2025). Estos compuestos se sintetizan principalmente en hojas y raíces, concentrándose en las partes jóvenes en activo crecimiento (Das et al., 2025). La biosíntesis de estos compuestos se lleva a cabo mediante la vía octadecanoide, la cual comprende una serie de reacciones enzimáticas consecutivas localizadas en plastidios, peroxisomas y citoplasma. El ácido linolénico, un ácido graso de 18 carbonos con tres dobles enlaces, actúa como precursor principal de esta ruta. Una vez en el citosol, JA puede ser metabolizado a través de diversas rutas metabólicas generando así múltiples derivados. Entre ellos, JA, cis-jasmónico, metil jasmonato (MeJA) y el conjugado JA-isoleucina (JA-Ile) se consideran las principales formas bioactivas en plantas (Ruan et al., 2019; Ali y Baek, 2020; Sood, 2023).

Particularmente JA es una fitohormona que además de estimular el crecimiento y desarrollo de las plantas, también posee un papel central en el desarrollo de las raíces (Mubarik et al., 2021). En conjunto con sus derivados, desempeñan un rol clave en la regulación de las respuestas a estrés abiótico (Raza et al., 2021; Das et al., 2025). Frente a condiciones de estrés por sequía, se ha reportado que JA interviene en respuestas fisiológicas mejorando la tolerancia de las plantas a través de la inducción del cierre estomático, la activación del sistema antioxidante y consecuente eliminación de EROs, acumulación de azúcares solubles y el crecimiento de las raíces en profundidad (Wang et al., 2019; Iqbal et al., 2022; Liao et al., 2025). Además, entre sus múltiples funciones, tiene la capacidad de promover la absorción de agua modulando la conductividad hidráulica de la raíz en condiciones de humedad limitada (Yadav et al., 2021).

Recientemente, se demostró que otras fitohormonas también contribuyen a la regulación de la arquitectura del sistema radical, entre ellas, brasinoesteroides (BRs) y estrigolactonas (SLs) (Kramna et al., 2019; Hussain et al., 2020; Vukašinović et al., 2021; Jiu et al., 2022). Los BRs son un conjunto de fitohormonas esteroides polihidroxiladas presentes en casi todos los órganos de las plantas, incluidas las raíces (Liao et al., 2025). Estos compuestos pueden clasificarse en BRs de tipo C27, C28 y C29 debido a las diferencias que presentan en su estructura, las cuales se basan en el tipo y orientación de las funciones oxigenadas en el anillo A y B, así como al número y posición de los grupos funcionales en la cadena lateral de la molécula. Actualmente, se conocen tres rutas de biosíntesis que dan origen

a los distintos tipos de BRs (Bajguz et al., 2020; Parada et al., 2022). Los pasos iniciales de la biosíntesis son comunes para los distintos tipos de BRs y pueden proceder a través de la vía del mevalonato (MVA) o de una vía alternativa no dependiente de MVA. Las etapas posteriores, en cambio, divergen según la ruta metabólica, distinguiéndose las vías dependientes de cicloartenol y de cicloartanol. La mayoría de las reacciones, enzimas y genes involucrados han sido identificados y caracterizados principalmente en la vía de biosíntesis C28-BRs. Esta ruta comprende dos etapas principales y culmina con la formación de brasinolide (BL), considerado como el compuesto con mayor actividad biológica entre los BRs conocidos. En el caso de los C27, el colesterol (CR) actúa como sustrato directo y es finalmente transformado en 28-norBL, mientras que la biosíntesis de los C29 se inicia a partir del β -sitosterol dando origen a 28-homoBL. No obstante, numerosos pasos enzimáticos aún no han sido completamente dilucidados y varios intermediarios de estas rutas permanecen sin identificar (Bajguz et al., 2020; Parada et al., 2022; Bajguz y Piotrowska-Niczyporuk, 2023).

Estas fitohormonas contribuyen a la regulación de la arquitectura del sistema radical y desempeñan un importante rol en el desarrollo general de las raíces, debido a que participan en el alargamiento radical, en la iniciación de las raíces laterales y formación de pelos radicales mediante la regulación de la división y elongación celular (Planas-Riverola et al., 2019; Vukašinović et al., 2021). Ha sido reportado que la aplicación de diferentes concentraciones de 24-Epibrassinolide promovió la elongación y el crecimiento de la raíz primaria y el desarrollo de las raíces laterales en maíz (Zhang et al., 2022). Hou et al. (2019) informaron que BRs regulan la longitud y el diámetro radical y participan en el desarrollo de raíces laterales en plántulas de trigo.

Las SLs son un grupo de fitohormonas terpenoides derivadas de carotenoides y sintetizadas principalmente en las raíces (Bajguz y Piotrowska-Niczyporuk, 2023). De acuerdo con sus estructuras químicas, se clasifican en dos categorías principales: canónicas y no canónicas. Las canónicas se caracterizan por la presencia de una estructura de lactona tricíclica formada por tres anillos (anillos A, B y C), unidos a un anillo butenólido (anillo D) mediante un puente enol-éter, elemento estructural esencial para la expresión de su actividad biológica en las plantas. En contraste, las no canónicas carecen de la estructura típica de los anillos ABC (Bajguz y Piotrowska-Niczyporuk, 2023; Kapoor et al., 2024). Según la estereoquímica del anillo C, las SLs canónicas se subdividen en dos tipos: de tipo estrigol, con orientación β del anillo C, y de tipo orobanchol, con orientación α (Tariq et al., 2023). La biosíntesis de las SLs se inicia en los cloroplastos a partir de precursores isoprenoides que conducen a la formación de carotenoides. Carlactona (CL) es el compuesto intermediario

central en la biosíntesis de SLs. Este compuesto es exportado al citosol y oxidado, dando origen a diversas SLs canónicas y no canónicas (Yoneyama y Brewer, 2021; Wu et al., 2022a; Tariq et al., 2023).

Las SLs intervienen en múltiples procesos durante el crecimiento y desarrollo de las plantas y, además, en la respuesta frente a condiciones ambientales adversas (Bajguz y Piotrowska-Niczyporuk, 2023). Por otro lado, desempeñan un rol clave en el desarrollo de las raíces, promoviendo el crecimiento de raíces laterales y pelos radicales (Liao et al., 2025). Estudios empleando mutantes deficientes en SLs y tratamientos exógenos con análogos sintéticos (GR24) demostraron que SLs participan en la regulación de la arquitectura del sistema radical al ejercer distintos efectos sobre el desarrollo en longitud de la raíz primaria y raíces laterales, elongación de pelos radicales y formación de raíces adventicias (Rehman et al., 2021; Jiu et al., 2022).

Una característica muy importante de la red de interacción hormonal que se establece entre las fitohormonas antes mencionadas frente a condiciones de estrés hídrico es que el cambio en un componente de señalización conlleva a cambios en otros componentes. Por lo tanto, se torna interesante tanto desde el punto de vista básico como tecnológico el estudio de la regulación del desarrollo radicular por múltiples fitohormonas bajo estrés hídrico como un sistema integrado.

En adición a las fitohormonas, otros reguladores del crecimiento vegetal (PGRs) no hormonales tienen la capacidad de modular el desarrollo del sistema radical, entre ellos las karrikinas (KARs), pequeñas sustancias químicas producidas a partir de la combustión de material vegetal (De Cuyper et al., 2017; Ahmad et al., 2022). Su estructura básica (similar a la de SLs) consiste en un anillo butenólido (anillo de cinco miembros con un doble enlace y un grupo carbonilo, necesario para su actividad biológica) unido a un grupo metilado y una cadena lateral que varía entre las diferentes formas (como KAR₁, KAR₂, KAR₃, etc.) (Ahmad et al., 2022). Las KARs desempeñan funciones clave en el desarrollo de las raíces, influyendo en características tales como la longitud y la densidad de los pelos radicales, el diámetro, la rectitud y la inclinación de la raíz (Antala, 2022; Deng et al., 2025). Los primeros estudios demostraron que KARs ejercieron efectos positivos sobre la longitud radical en plantas de arroz (Jamil et al., 2014) y maíz (Aslam et al., 2017). Asimismo, se informó que el tratamiento con 200 ppm de KARs promovió la elongación radical en garbanzo (Rehman et al., 2018) y maíz (Aslam et al., 2019). Previamente, Baldrianová et al. (2015) reportaron que el tratamiento con KAR1 incrementó la longitud de la raíz en plántulas de *Arabidopsis*. Por otro lado, se ha reportado que la aplicación exógena de estos compuestos en plantas podría

incrementar la tolerancia a estreses abióticos como la sequía, principalmente mediante la atenuación del estrés oxidativo a nivel celular (Singh et al., 2023; Wang et al., 2025), contribuyendo así a mitigar los daños inducidos por dicho estrés (Antala, 2022; Fang et al., 2023; Deng et al., 2025). En este sentido, a nivel morfológico se ha reportado que aceleran la germinación, aumentan el crecimiento de las plántulas y regulan el movimiento estomático y, a nivel molecular, las KARs propician la expresión de genes sensibles al estrés, mantienen la homeostasis redox celular y aumentan la acumulación de compuestos protectores contra el estrés, aumentando de esta forma la capacidad de la planta para tolerar el estrés abiótico (Antala, 2022; Fang et al., 2023; Kamran et al., 2024).

En la actualidad, el uso de PGRs -tanto hormonales como no hormonales- se ha incorporado en las prácticas agrícolas con el objetivo de obtener cultivos alimenticios de mayor calidad para satisfacer las demandas de una población mundial en constante crecimiento (Fang et al., 2023). En este sentido, su aplicación en la agricultura permite la obtención de múltiples beneficios que conducen a un mayor rendimiento, un incremento en la tolerancia frente a distintos tipos de estrés abiótico (entre ellos, el estrés hídrico) y una mejora en las características fisiológicas de los cultivos (Fig.10) (Desta y Amare, 2021; Naeem y Aftab, 2022). Es por ello que dilucidar el efecto fisiológico particular de cada PGR en el alivio del estrés hídrico, así como los mecanismos morfológicos, fisiológicos y bioquímicos implicados en dicho proceso, se ha convertido en los últimos años en un foco central de investigación, lo cual aportará bases tendientes a optimizar estrategias que mejoren la tolerancia de las plantas al estrés, particularmente en un cultivo de interés agrícola como el girasol (Feng et al., 2024).

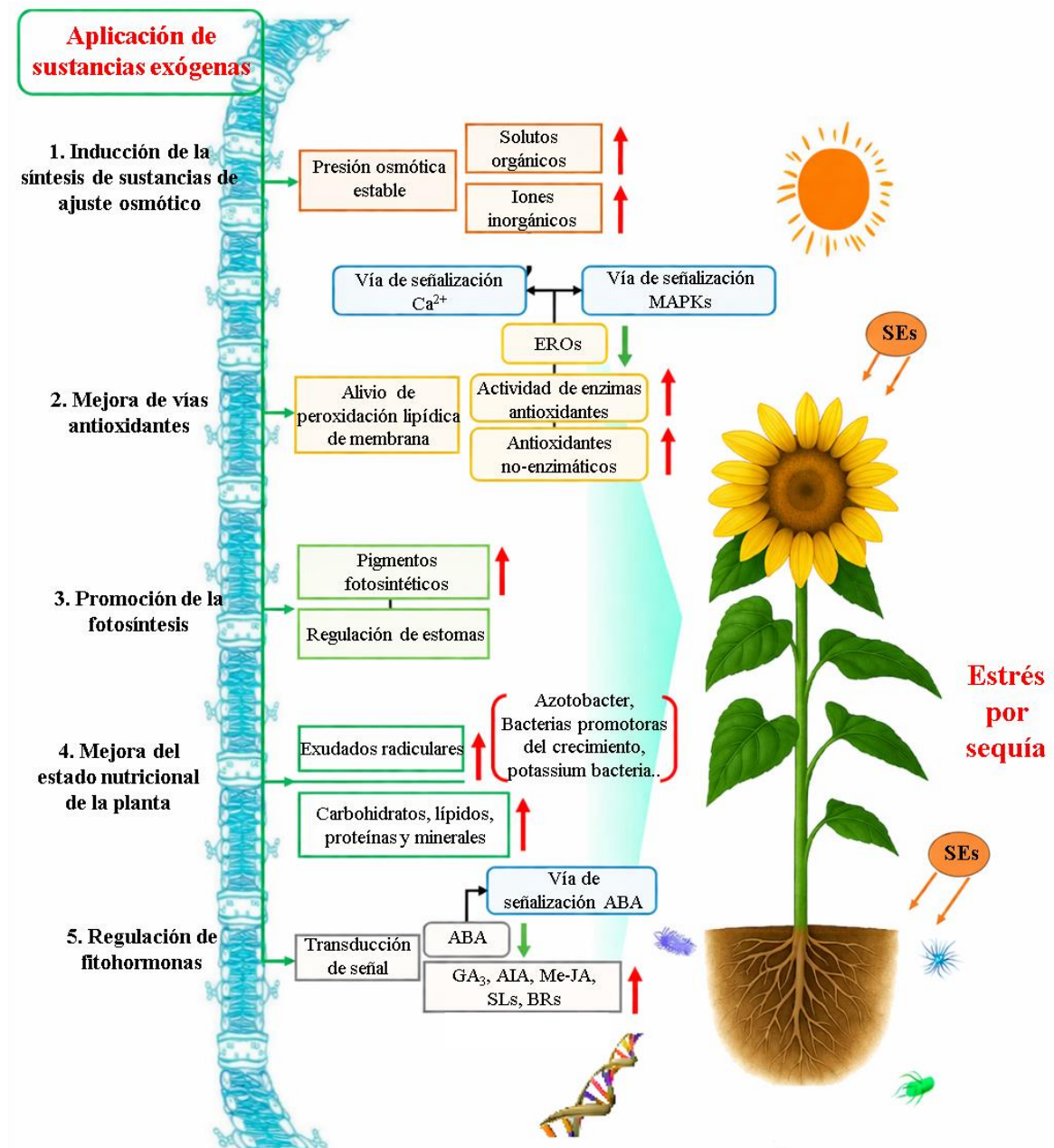


Fig. 10. Mecanismos desencadenados por la aplicación de sustancias exógenas (SEs) implicadas en la mejora de la tolerancia de las plantas al estrés hídrico. Las flechas rojas y verdes indican promoción/aumento o inhibición/disminución, respectivamente. Abreviaturas: MAPKs (Proteínas quinasas activadas por mitógenos), Ca^{+2} (calcio), EROs (especies reactivas de oxígeno), ABA (ácido abscísico), GA_3 (giberelina 3), Me-JA (metil-jasmónico), SLs (estrigolactonas) y BRs (brasinoesteroides). Adaptado de Feng et al., 2024.

Efectos del estrés hídrico sobre parámetros bioquímicos

El ajuste osmótico es una de las respuestas bioquímicas típicamente observadas en las plantas frente a condiciones de estrés hídrico, y el mismo se produce a través de la

acumulación de compuestos osmoprotectores y osmolitos que no interfieren con las funciones ni las estructuras celulares (Mahmood et al., 2019; Verbeke et al., 2022). Entre estos compuestos se encuentran: carbohidratos solubles, proteínas, aminoácidos libres, glicina betaína y prolina (Ozturk et al., 2021; Haghpanah et al., 2024) (Tabla 1).

Tabla 1. Tabla resumen de los principales compuestos osmoprotectores y osmolitos, con ejemplos de cada categoría y principales funciones de los mismos en plantas sometidas a estrés hídrico. Adaptado de Ozturk et al., 2021.

Tipo	Ejemplos	Funciones principales
Proteínas solubles	LEA (abundantes en la embriogénesis tardía), dehidrinas, osmotinas, HSPs (proteínas de choque térmico).	Protección de estructuras celulares, estabilización de membranas y proteínas, defensa contra desnaturalización.
Azúcares	Glucosa, fructosa, sacarosa, fructanos, rafinosa, trehalosa, galactinol.	Fuente de energía, señalización, estabilización de membranas y proteínas.
Azúcares-alcohol (polioles)	Manitol, sorbitol, D-ononitol, pinitol, mio-inositol, xilitol.	Secuestro de Na ⁺ , eliminación de radicales libres, protección de complejos enzimáticos.
Compuestos de amonio cuaternario	Glicina betaína, β-alanina-betaína, dimetil-sulfonio-propionato (DMSP).	Estabilización de complejos fotosintéticos, protección de membranas y enzimas.
Poliaminas	Putrescina, espermidina, espermina.	Regulación del crecimiento, estabilización del ADN y de membranas y neutralización de especies reactivas de oxígeno (EROs).
Aminoácidos libres	Prolina, arginina, glutamato, alanina.	Almacenamiento de carbono y nitrógeno, estabilización de proteínas, antioxidantes indirectos.

Desde un punto de vista funcional, el ajuste osmótico desempeña dos funciones distintas en la planta: osmorregulación y osmoprotección (Zivcak et al., 2016). La osmorregulación implica la reducción del potencial osmótico celular debido a la acumulación de compuestos osmóticamente activos, lo cual promueve la retención de agua

y mantiene la turgencia celular, crucial para diversos procesos metabólicos y fisiológicos (Ozturk et al., 2021). Por otro lado, la osmoprotección se basa en la asociación de solutos compatibles con diferentes componentes celulares (Zivcak et al., 2016; Sharma et al., 2024). Los compuestos osmoprotectores se acumulan principalmente en el citosol y cloroplastos, y entre sus funciones, está la de proteger la integridad de las membranas celulares y contribuir a la estabilización de enzimas y proteínas de la desnaturalización ocasionada por el estrés hídrico (Ozturk et al., 2021).

En las raíces, el ajuste osmótico puede ser esencial para promover su crecimiento en condiciones de déficit hídrico (Miranda et al., 2021). Un adecuado ajuste osmótico en los tejidos radicales mantendrá su potencial hídrico menor con respecto al del suelo, manteniendo de esta manera el ingreso de agua hacia la planta (Bhutto et al., 2023). Además, el mantenimiento de la turgencia celular es necesario para que se produzca la elongación radical e influye positivamente en el crecimiento de las raíces (Zivcak et al., 2016).

Diversos estudios señalan que los genotipos con tolerancia a la sequía exhiben una mayor capacidad para resistir la deshidratación gracias al ajuste osmótico, lo que contribuye a una mejora del rendimiento en cultivos establecidos en ambientes propensos a la escasez hídrica (Khan et al., 2018; Haghpanah et al., 2024). En girasol, Kosar et al. (2022) reportaron una disminución en la concentración de proteínas solubles, mientras que los niveles de prolina y glicina betaína incrementaron cuando las plantas fueron sometidas a tratamiento de estrés hídrico.

Los carbohidratos solubles totales pueden ser definidos como azúcares no estructurales solubles en agua, y comprenden monosacáridos (como glucosa y fructosa), disacáridos (principalmente sacarosa), oligosacáridos (incluidos los fructanos) y, en ciertos casos, azúcares del tipo polioles o azúcares alcoholes, tales como el manitol (Dong et al., 2023; Edmond et al., 2025). Estos compuestos desempeñan funciones clave en las plantas como reserva energética, antioxidantes, regulación del crecimiento y desarrollo, osmoprotección, regulación osmótica y señalización metabólica (Ozturk et al., 2021; Jeandet et al., 2022). Asimismo, se encuentra reportado que poseen un rol crucial en la mejora de la tolerancia a la sequía de las plantas (Tomasella et al., 2019; Li et al., 2020a, b). Dong et al. (2023) observaron en su estudio un incremento de sacarosa, fructosa y glucosa durante etapas críticas del cultivo de soja (plántula y floración) ocasionado por el tratamiento de estrés hídrico impuesto.

Algunos compuestos de amonio cuaternario, como la prolina y la glicina betaína, son osmolitos cruciales sintetizados por las plantas bajo condiciones de estrés (Escalante-

Magaña et al., 2019; Ozturk et al., 2021). La prolina es un aminoácido involucrado en diversas funciones tales como la síntesis de proteínas, la estabilización de membranas y macromoléculas, y la eliminación de EROs a través de diversos mecanismos, como por ejemplo el mantenimiento del equilibrio NADPH/NADP⁺ y GSH/GSSG en condiciones de estrés (Furlan et al., 2020; Alvarez et al., 2022). Por otro lado, la glicina betaína es una molécula orgánica de bajo peso molecular y altamente soluble, capaz de acumularse en el aparato fotosintético (incluyendo cloroplastos y plástidos) (Ali et al., 2020a). Este compuesto interviene en la protección de enzimas y membranas, y es responsable de la estabilización del complejo pigmentario proteico PSII, a fin de mantener la eficiencia fotosintética (Dikilitas et al., 2020; Ozturk et al., 2021; Jarin et al., 2024). A diferencia de la prolina, la glicina betaína no está involucrada directamente en la eliminación de EROs, si bien interviene en la protección de las células frente al daño oxidativo (Kayak et al., 2023).

Ha sido reportado que tanto la prolina como la glicina betaína poseen la capacidad de mitigar los efectos nocivos de múltiples estreses abióticos y, además, promover la adaptación de las plantas particularmente a la sequía (Ghosh et al., 2022; Kayak et al., 2023; Baroi et al., 2024). En este sentido, una mayor acumulación de estos compuestos en los tejidos vegetales se asocia de manera directa con la tolerancia de la planta al estrés por sequía (Dikilitas et al., 2020; Basit et al., 2025). Recientemente ha sido informado que en plantas de maíz un incremento en la concentración endógena de prolina y azúcares contrarrestó los daños morfo-fisiológicos y bioquímicos provocados por el estrés hídrico (Khan et al., 2025). Por otro lado, Ashraf y Siddiqi (2024) reportaron en su estudio un aumento en el contenido endógeno de prolina y glicina betaína en hojas de cuatro variedades de girasol luego de ser sometidas a estrés hídrico por supresión de riego.

Las especies reactivas de oxígeno (EROs) son consideradas subproductos del metabolismo aeróbico de las plantas y se originan principalmente en los cloroplastos, mitocondrias, peroxisomas, membranas plasmáticas, apoplastos y retículo endoplásmico (Huang et al., 2019; Dumanović et al., 2021). Entre ellas se encuentran distintos compuestos tales como radicales aniónicos superóxidos (O₂⁻), oxígeno singlete (¹O₂), radicales hidroxilos (·OH) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂), los cuales desempeñan un rol crucial como moléculas de señalización que intervienen en el crecimiento normal de las plantas y en las respuestas al estrés (Huang et al., 2019; Wu et al., 2022b).

El H₂O₂ constituye una de las EROs más investigadas, debido a que su rol dual en las plantas depende directamente de la concentración en la que se acumule (Anjum et al., 2022; Iqbal et al., 2025). En este sentido, a niveles bajos, la presencia de H₂O₂ en el apoplasto

resulta fundamental para el crecimiento y desarrollo vegetal, ya que participa en procesos clave como la diferenciación del tejido xilemático, la polimerización y deposición de lignina en las paredes celulares, entre otros (Pandey et al., 2017; Rane et al., 2022). Asimismo, debido a su elevada capacidad de difusión a través de las membranas biológicas, cumple un rol destacado en la transducción de señales intracelulares y en la activación de diversas rutas de respuesta (Černý et al., 2018; Smirnoff y Arnadud, 2019). Particularmente en raíces, ha sido reportado que el H_2O_2 interviene en mecanismos antioxidantes y favorece el equilibrio redox, promoviendo el crecimiento radical (regula la actividad del meristema apical), la absorción de nutrientes y el desarrollo de estructuras como los pelos radicales (Liu et al., 2024). En contraste, cuando las concentraciones de H_2O_2 se incrementan de manera excesiva, este compuesto adquiere un carácter nocivo que puede comprometer la viabilidad de las células y ocasionar finalmente su muerte (Zheng et al., 2020; Rane et al., 2022). Su toxicidad se basa en la inactivación directa de enzimas mediante la oxidación de residuos de cisteína o metionina indispensables para la catálisis, sumado a su relativamente larga vida útil en comparación con otras EROs, lo que prolonga su acción perjudicial (Dumanovic et al., 2021; Zheng et al., 2025).

En las células vegetales, la homeostasis redox hace referencia al equilibrio entre la producción de EROs y la acción coordinada de diversos sistemas antioxidantes (Hasanuzzaman et al., 2020; Cannea y Padiglia, 2025). Las plantas poseen distintos mecanismos que involucran a antioxidantes, es decir, moléculas capaces de eliminar o inhibir a los radicales libres con el fin de prevenir o evitar el daño celular (Sood, 2025). Dichos mecanismos pueden ser enzimáticos o no enzimáticos, y actúan de forma sinérgica e interconectada para regular el metabolismo de la planta y mantener un nivel óptimo de EROs en las células (Hasanuzzaman et al., 2020; Wang et al., 2024). Los sistemas de defensa antioxidante no enzimáticos están mediados principalmente por metabolitos de bajo peso molecular tales como ácido ascórbico, glutatión, α -tocoferol, 3 carotenoides y flavonoides; mientras que los antioxidantes enzimáticos incluyen distintas enzimas tales como superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), peroxidasa (POD), ascorbato peroxidasa (APX), deshidroascorbato reductasas (DHAR), monodeshidroascorbato reductasas (MDHAR) y glutatión reductasas (GR) (Dvorák et al., 2021; Wu et al., 2022b). El ciclo ascorbato-glutatión (AsA-GSH) representa uno de los sistemas antioxidantes encargados de la eliminación del H_2O_2 en las plantas (Sood, 2025). Este mecanismo se basa en una serie de reacciones enzimáticas acopladas que permiten la oxidación y posterior regeneración de ascorbato (AsA) y glutatión reducido (GSH), manteniendo así el equilibrio redox celular

(Mishra et al., 2023). En este ciclo participan enzimas clave como APX, MDHAR, DHAR y GR, cuya acción coordinada asegura la conversión del H_2O_2 en agua y la preservación de los antioxidantes en su forma activa (Rajput et al., 2021). En este sentido, el ciclo AsA-GSH no solo contribuye a la detoxificación de EROs, sino que también desempeña un papel fundamental en la señalización redox y en la tolerancia de las plantas frente a condiciones de estrés abiótico (Sood, 2025).

El GSH constituye uno de los antioxidantes no enzimáticos más relevantes en el metabolismo vegetal, localizándose en diversos compartimentos celulares, tales como el citosol, cloroplastos, retículo endoplasmático, vacuolas y mitocondrias (Hasanuzzaman et al., 2017). Esta molécula, además de representar una importante reserva de azufre, cumple funciones esenciales en múltiples procesos biológicos, incluyendo el crecimiento y desarrollo celular, la transducción de señales, la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos, así como la regulación de la expresión génica asociada a respuestas frente al estrés (Noctor et al., 2024; Sood, 2025). En conjunto con su forma oxidada (GSSG), el GSH mantiene el equilibrio redox intracelular, constituyendo un componente central en la defensa antioxidante y siendo su papel más destacado la regeneración del ácido ascórbico a través del ciclo Asc-GSH (Dumanovic et al., 2021; Mishra et al., 2023). Particularmente en raíces, se ha reportado que el GSH participa tanto en la modulación de la arquitectura radical, así como en la señalización entre la raíz y la parte aérea de las plantas; si bien se reconoce su rol sobre el desarrollo radical, persisten vacíos de conocimiento respecto a sus funciones específicas en dicho proceso (Rai et al., 2023).

Un sistema de defensa eficiente asegura un balance apropiado entre la síntesis y la eliminación de EROs (Rao et al., 2025). No obstante, cuando este equilibrio se ve alterado se produce una acumulación excesiva de dichas moléculas, lo que desencadena un estrés de tipo oxidativo (Panda et al., 2024; Rao et al., 2025). Se encuentra ampliamente documentado que el estrés hídrico es capaz de inducir una sobreproducción y acumulación de EROs en las células vegetales, lo cual puede conducir a estrés oxidativo y, en consecuencia, ocasionar daños en diversas estructuras celulares como por ejemplo alteraciones en la composición lipídica de las membranas biológicas, daños irreversibles en el ADN y finalmente, muerte celular, entre otros efectos adversos (Sachdev et al., 2021; Kosar et al., 2022) (Fig. 11).

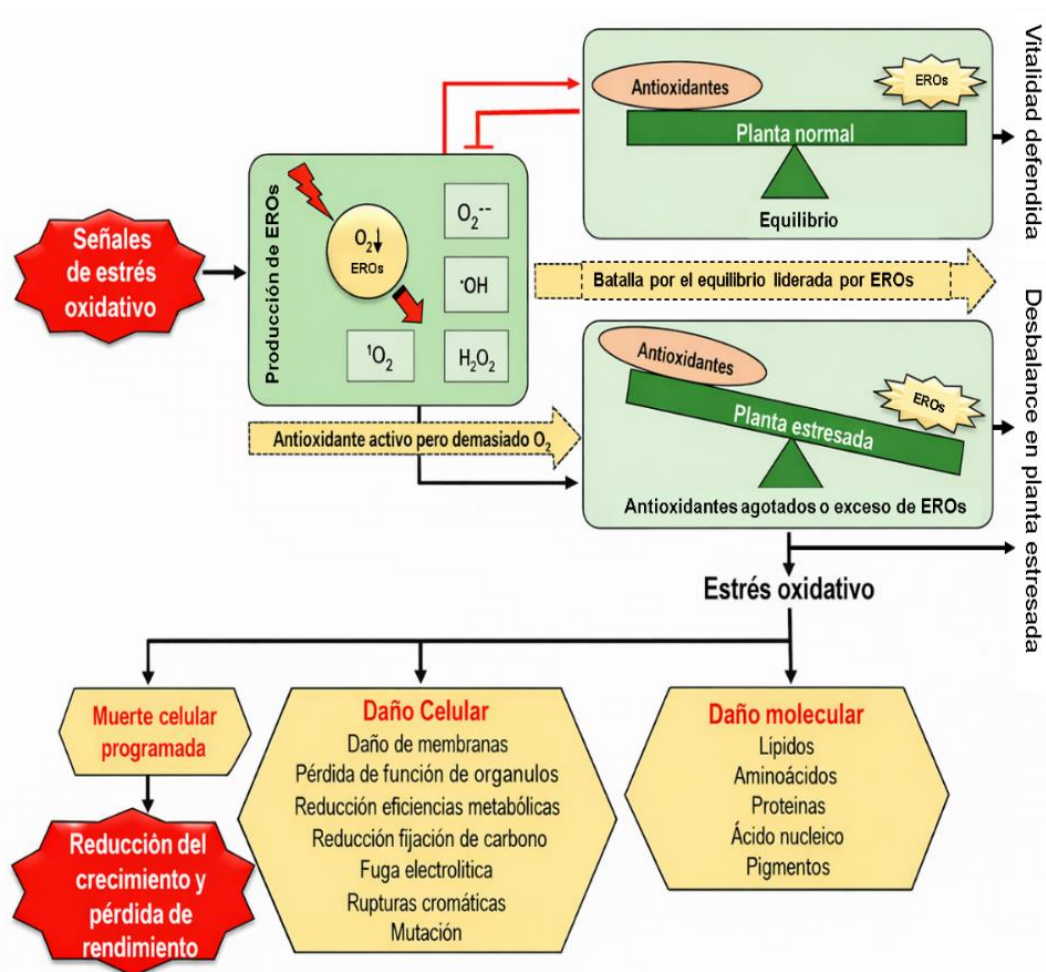


Fig. 11. Efectos nocivos a nivel celular y molecular ocasionados por el estrés oxidativo en plantas. Abreviaturas: EROs (especies reactivas de oxígeno). Adaptado de Hasanuzzaman et al., 2020.

En raíces se ha demostrado que un desbalance en la homeostasis de EROs es capaz de restringir el crecimiento de la raíz primaria, desencadenando la aparición de raíces laterales y mejorando el crecimiento de pelos radicales (Mhamdi y Van Breusegem, 2018). Por otro lado, el efecto nocivo de las EROs en los tejidos radicales puede afectar las relaciones hídricas de la planta (An et al., 2018). Frente a una situación de estrés abiótico, el tejido radical es capaz de producir EROs, las cuales pueden actuar como moléculas señales, aumentando o disminuyendo la conductividad hidráulica de la raíz, dependiendo de su concentración celular (Kaneko et al., 2015). En este sentido, el complejo EROs-sistema antioxidante en condiciones de baja disponibilidad de agua interviene en la regulación del crecimiento y desarrollo de los órganos de la planta, incluidas las raíces (Rane et al., 2022).

Uno de los efectos nocivos que el estrés oxidativo puede ocasionar a nivel bioquímico es la peroxidación lipídica, es decir, una alteración en los ácidos grasos que componen las membranas biológicas de las células vegetales, comprometiendo la integridad y

funcionamiento de las mismas (Hasanuzzaman et al., 2020; Valgimigli, 2023). El malondialdehído (MDA) constituye un subproducto de la peroxidación de los lípidos de membrana y se reconoce como un indicador fiable que permite estimar el nivel de daño oxidativo en tejidos de plantas sometidas a condiciones de estrés abiótico, tales como el estrés hídrico (Huang et al., 2019; Morales y Munné-Bosch, 2024). Un aumento en la concentración de MDA se asocia directamente con la alteración de la estructura y la pérdida de funcionalidad de las membranas celulares, reflejando así el grado de deterioro ocasionado por la acumulación excesiva de EROs (Jiang et al., 2022). Cechin et al. (2015) y Kosar et al. (2022) reportaron un incremento en el contenido de MDA en hojas de plantas de girasol por efecto del tratamiento de estrés hídrico aplicado.

En síntesis, la escasez de agua durante el crecimiento y desarrollo del cultivo ocasiona alteraciones fisiológicas, morfo-anatomo-histológicas y bioquímicas que se traducen en una disminución significativa del rendimiento (Hussain et al., 2018a; Deabeke et al., 2021). Asimismo, el estrés hídrico compromete la calidad del aceite al reducir el contenido lipídico por cipsela, limitar el rendimiento de frutos y modificar la composición de ácidos grasos, lo que evidencia la relación estrecha entre la disponibilidad hídrica y la productividad del cultivo (Seleiman et al., 2019; Ghaffari et al., 2023).

HIPOTESIS GENERAL

Brasinoesteroides, estrigolactonas y karrikinas desempeñan un rol clave en la modulación del desarrollo del sistema radical de girasol en respuesta a estrés hídrico, a través de la acción concertada con hormonas clásicas -auxinas, citocininas, giberelinas, ácidos abscísico y jasmónico-, especies reactivas de oxígeno y carbohidratos solubles.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar el rol de brasinoesteroides, estrigolactonas y karrikinas en la modulación del desarrollo del sistema radical de plántulas de líneas endocriadas de girasol en respuesta a estrés hídrico, y analizar su interacción con las hormonas “clásicas” y compuestos bioquímicos.

HIPÓTESIS ESPECÍFICA N° 1

El estrés hídrico produce diferentes modificaciones morfo-anatomo-histológicas en el sistema radical de plántulas de girasol de las líneas B59 y B71, sensible y tolerante a estrés hídrico respectivamente.

OBJETIVO ESPECÍFICO N° 1

Determinar y comparar características morfológicas, anatómicas e histológicas de raíces de plántulas de las líneas endocriadas de girasol B59 y B71, crecidas en condiciones óptimas de humedad y sometidas a estrés hídrico.

HIPÓTESIS ESPECÍFICA N° 2

En respuesta al estrés hídrico, el desarrollo del sistema radical de líneas endocriadas de girasol está regulado por un “crosstalk” entre diferentes PGRs hormonales y no hormonales, tales como BRs, SLs y KARs.

OBJETIVO ESPECÍFICO N° 2

Cuantificar los niveles endógenos de BRs, Aux, CKs, ABA, GAs y JA en raíces de plántulas de las líneas endocriadas de girasol, B59 y B71 cultivadas bajo condiciones óptimas de humedad y sometidas a estrés hídrico. Además, evaluar el efecto de la aplicación exógena de BRs, SLs y KARs sobre el contenido hormonal endógeno y su efecto fisiológico sobre la arquitectura del sistema radical, tanto en condiciones control como de estrés hídrico.

HIPÓTESIS ESPECÍFICA N° 3

El ajuste osmótico (AO) que ocurre en líneas endocriadas de girasol se asocia con la plasticidad de su sistema radical en respuesta al tratamiento de estrés hídrico.

OBJETIVO ESPECÍFICO N° 3

Cuantificar la concentración de solutos osmocompatibles y carbohidratos solubles totales en raíces de plántulas de las líneas endocriadas de girasol B59 y B71, crecidas en condiciones óptimas de humedad, sometidas a estrés hídrico y luego de la aplicación exógena de BRs, SLs y KARs. Evaluar su probable interacción fisiológica con las fitohormonas “clásicas” (Aux, CKs, GAs, ABA y JA) en la regulación del desarrollo del sistema radical en respuesta a estrés hídrico.

HIPÓTESIS ESPECÍFICA N° 4

Las especies reactivas de oxígeno (EROs) interaccionan con BRs, SLs y KARs en la modulación del desarrollo del sistema radical de plántulas de líneas endocriadas de girasol crecidas bajo condiciones de estrés hídrico.

OBJETIVO ESPECÍFICO N° 4

Evaluar el efecto de la aplicación exógena de BRs, SLs y KARs sobre el contenido de MDA, H₂O₂ y GSH en raíces de plántulas de las líneas endocriadas de girasol B59 y B71, crecidas en condiciones óptimas de humedad y sometidas a estrés hídrico.

Materiales y Métodos

Ensayos preliminares: Ver ANEXO 1.

Material vegetal

Se emplearon semillas de dos líneas endocriadas de girasol B59 y B71, caracterizadas como sensible y tolerante a estrés hídrico, provistas por la Estación Experimental Agropecuaria (EEA)-INTA Manfredi.

Ensayo de pre-germinación

Veinticinco semillas de cada línea, previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio 3%, fueron sembradas en bandejas conteniendo como soporte toallas de papel humedecidas a saturación con agua destilada. Las bandejas se cubrieron con bolsas de nylon y se colocaron en Cuartos Ambientales Conviron PR48 programados con 8 h de oscuridad a 20 °C y 80% de HR y 16 h de luz ($160 \mu\text{mol.m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) a 28 °C y 70% de HR para permitir su germinación por el término de 48 h. Como criterio de germinación se consideró la profusión de la radícula a través del clamidocarpo. Se cosecharon las semillas germinadas que poseían una longitud radical dentro del rango ($X \pm \delta$). La experiencia se realizó por cuádruplicado.

Ensayos de crecimiento vegetativo (V4) y aplicación de tratamientos

Las semillas germinadas a las 48 h se trasplantaron a macetas de plástico de 20 x 40 cm conteniendo como sustrato una mezcla de arena gruesa, perlita y tierra (1:1:1) humedecida al 60% de capacidad de campo (c.c.). En cada maceta se sembró una semilla de cada línea y las mismas se colocaron en los mismos Cuartos Ambientales Conviron PR48 programados con las condiciones ambientales antes mencionadas. Se realizaron riegos con Hoagland 50% carga iónica cada 2 días y al 10° día postsiembra se inició la aplicación de los siguientes tratamientos: **1.** Hoagland 50% carga iónica (control) durante 14 días; **2.** Hoagland suplementado con manitol 265 mM (estrés hídrico moderado) durante 14 días. La aplicación de Hoagland y Hoagland suplementado con manitol 265 mM se efectuó mediante riego a saturación. A los 17 días postsiembra, y subsecuentemente cada dos días, se realizó la aplicación exógena de los PGRs mediante aspersion foliar, empleando para ello soluciones de GR24 (3 μM), BL (0,01 μM) y KAR2 (10 nM). Al momento de cosecha (estadio V4, a los 24 días de edad de las plántulas), las plántulas se retiraron cuidadosamente de las macetas y se seccionaron en parte aérea y parte radical. A las partes aéreas se les evaluó el área foliar y el

peso fresco. Posteriormente este material vegetal se llevó a estufa a 75°C hasta peso constante a fin de obtener el peso seco. Por otro lado, el sistema de raíces completo de cada plántula se aisló y acondicionó diferencialmente para las posteriores determinaciones. Parte de dichos sistemas radicales fueron lavados inmediatamente con agua corriente a fin de quitar los restos de sustrato y congelados en nitrógeno líquido, liofilizados y conservados a -20° C para las determinaciones de fitohormonas y carbohidratos. Otros sistemas, fueron empleados como material fresco para las determinaciones de prolina, glicina betaína, H₂O₂, GSH, MDA y conservados en FAA para las determinaciones histológicas. Por último, algunos sistemas radicales se colocaron en una bandeja y cuidadosamente se desenredaron a fin de minimizar su superposición. Luego se tomaron fotografías y se realizaron distintas mediciones manuales y mediante el empleo del software ImageJ y su complemento SmartRoot. Los parámetros determinados fueron: longitud de la raíz principal, superficie proyectada, superficie y diámetro medio de la raíz principal. Además, se cuantificó el número de raíces laterales y el ángulo de inserción de las mismas, peso fresco y seco. Cada medición se realizó por cuadruplicado.

Nota: el área foliar, y los pesos fresco y seco de las partes aéreas se determinaron para corroborar el efecto del tratamiento de estrés hídrico impuesto, así como de los reguladores sobre el crecimiento de las plántulas.

Evaluación de parámetros morfo-anatomo-histológicos

Determinaciones morfológicas

Para la determinación de *área foliar* se realizaron mediciones no destructivas de la porción más ancha de la hoja. Se calculó según Aguirrezábal et al. (1998) como sigue:

$$Y = 0,8X + 0,697X^2$$

Donde, se consideró el ancho medio del segundo par de hojas como el valor de X, resultando Y como la superficie de la hoja en cm². La experiencia se realizó por cuadruplicado.

Para las determinaciones de biomasa, se evaluó el *peso fresco* de parte aérea y parte radical. Posteriormente, el material vegetal se colocó en estufa a 75°C hasta obtener *peso seco* constante (bajo estas condiciones de secado).

La *longitud de la raíz principal* se registró de manera manual, empleando para ello una regla, y la misma se consideró desde el cuello de la raíz hasta el ápice radical.

El *número de raíces laterales* y el *ángulo de inserción* de las mismas también se cuantificó en forma manual. En el caso del último parámetro, se midió con transportador el ángulo formado por la raíz lateral con respecto a la raíz principal. La experiencia se realizó por cuadruplicado.

La *respuesta relativa de la biomasa radicular al estrés* (RBRE) se determinó según la fórmula de Quandahor et al. (2021) como sigue:

$$\text{RBRE: } (\text{peso seco de raíces de plántulas bajo estrés hídrico} / \text{peso seco de raíces de plántulas en condición control}) \times 100$$

Determinaciones histológicas

Se seccionaron transversalmente las raíces y se seleccionaron segmentos tanto de raíz principal como de raíces laterales. En el caso de la raíz principal, se seleccionó un fragmento de 10 mm de ancho tomado aproximadamente a 4 cm del cuello de la raíz; en cuanto a las raíces laterales, se tomaron dos fragmentos de 10 mm: uno incluyendo el ápice y el otro, el extremo opuesto. Todos los segmentos colectados se sumergieron en un líquido fijador (FAA: etanol, ácido acético, formol, y agua 50:5:10:35 v/v), y luego se los procesó con metodologías habituales utilizadas para microscopía óptica (Johansen, 1940; D'Ambrogio de Argüeso, 1986). Posteriormente se procedió a la deshidratación de las muestras en soluciones de una serie creciente de alcoholes, luego en una solución de alcohol y xilol, para finalmente incorporarlas en xilol 100%. Una vez deshidratadas, se fue reemplazando gradualmente el xilol por parafina, hasta llegar a una solución de parafina pura en estufa a 50-60°C. Se vertió la parafina con las muestras en cajas de papel y fuera de estufa para lograr la solidificación e inclusión de las mismas, las cuales fueron luego seccionadas con bisturí. Se realizaron cortes transversales de las raíces incluidas en parafina con micrótopo de rotación, logrando cortes histológicos de 12 µm. Luego los mismos fueron colocados en portaobjetos con agua destilada y sobre una plancha a 30-40 °C para lograr la adhesión al portaobjetos. A fin de eliminar completamente el agua, los portaobjetos conteniendo las muestras se secaron en estufa por un período de al menos dos semanas. Transcurrido ese tiempo, se realizó la triple coloración de los preparados histológicos. Para ello, los preparados colocados en caja de Coplin se sumergieron con diferentes soluciones de xilol y alcohol que permitieron retirar la parafina e incorporar los colorantes específicos. Los colorantes de la triple coloración empleados fueron

hematoxilina, la cual tiñe paredes primarias celulósicas de violeta oscuro y núcleos de azul oscuro, safranina que tiñe paredes secundarias lignificadas de rojo intenso y también la cutícula, y verde rápido, que tiñe paredes celulares primarias celulósicas no lignificadas de celeste verdoso (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). El medio de montaje utilizado fue DPX (Dibutilftalato de Poliestireno Xileno), luego se colocó el cubreobjetos cuidadosamente y se aplicó presión con una aguja histológica para eliminar las burbujas formadas. Se secó en posición horizontal y posteriormente se procedió a su rotulado. Todos los pasos mencionados se realizaron en el Laboratorio de Morfología Vegetal, Departamento de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Río Cuarto con el equipamiento específico y siguiendo protocolos de higiene y seguridad pertinentes.

Una vez obtenidos los preparados histológicos se observaron con microscopio binocular Motic Panthera-L, equipado con cámara y software Motic Images Plus 2.0. Luego, se realizaron las siguientes mediciones: área total, área de la corteza, área del cilindro central, número y diámetro de vasos xilemáticos.

Para la cuantificación de las distintas áreas se consideró a cada una de ellas como se describe en la Fig. 12, donde A1 corresponde al área total y A2 al área del cilindro central. El área de la corteza se obtuvo de la diferencia entre A1 y A2.

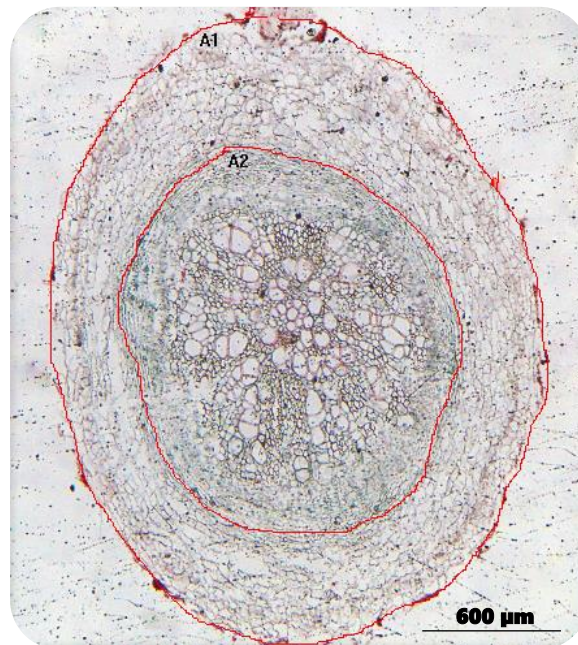


Fig. 12. Corte histológico de una raíz principal donde se delimitan las secciones consideradas como área total (A1) y área del cilindro central (A2).

Para la determinación del número y diámetro de los vasos xilemáticos, se seccionó la imagen en 4 cuadrantes iguales y se realizó el conteo de todos los vasos de mayor tamaño presentes en uno de ellos (se seleccionó el cuadrante con mayor integridad en sus tejidos) (Fig. 13). Luego, se midió el diámetro de los cinco vasos de mayor tamaño presentes en el mismo cuadrante seleccionado anteriormente (Fig. 13).

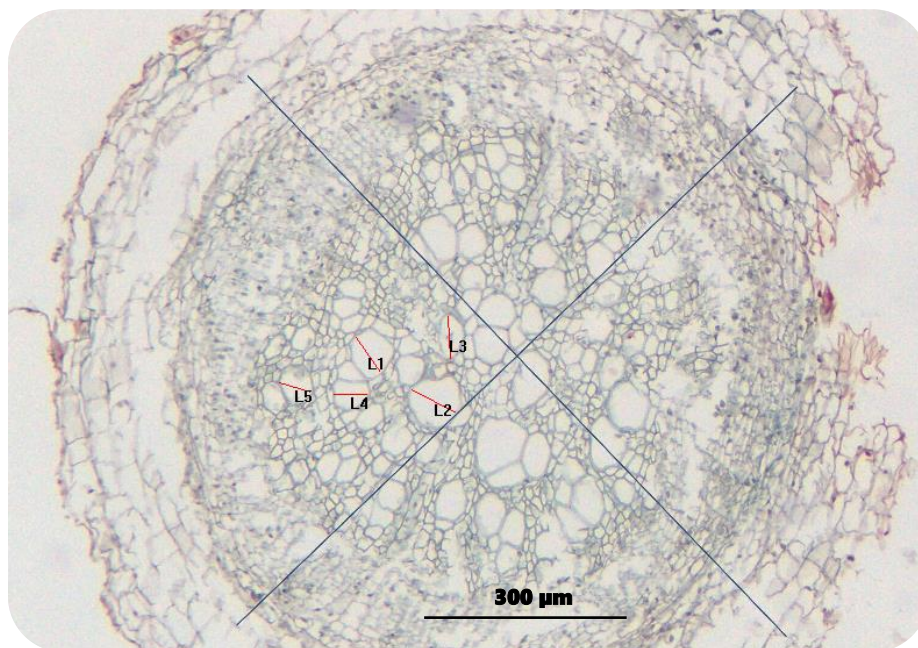


Fig. 13. Corte histológico de una raíz principal donde se señala la división en cuadrantes empleada para el conteo y la medición del diámetro de los vasos xilemáticos.

Evaluación de parámetros fisiológicos

Extracción, purificación y cuantificación de fitohormonas clásicas

El contenido endógeno de fitohormonas (AIA, ZEA, JA, ABA y GA1) se determinó a partir de 200 mg de peso seco de raíces de plántulas controles, estresadas y tratadas con PGRs según protocolo de Durgbanshi et al. (2005) con modificaciones. Para ello, se homogeneizó el material vegetal con 5 ml de agua deionizada (solvente de extracción) y se lo trasvasó a un tubo Falcon de 50 ml. Se adicionaron los estándares internos correspondientes a las fitohormonas arriba mencionadas. Se homogeneizó cada muestra utilizando un ultraturrax durante 20 s y luego se centrifugó a 8000 rpm durante 15 min a 4°C. Se recogió el sobrenadante y se ajustó el pH a 2,8-3,2 con ácido acético 30%. Se empleó una doble partición líquido-líquido con éter etílico y se recogieron las fases orgánicas, llevándose a sequedad en

evaporador rotativo, descartándose las fases acuosas. Los extractos secos se resuspendieron con 1,5 ml de metanol, filtraron empleando una cámara de vacío a través de un filtro de jeringa y se secaron en SpeedVac a temperatura ambiente.

Posteriormente, la identificación y cuantificación se realizó mediante Cromatografía Líquida Espectrometría de Masas en Tándem (LC ESI/MS-MS). Para ellos, los extractos secos se resuspendieron en 50 μ L de metanol calidad HPLC para la purificación mediante un cromatógrafo Alliance (Waters, Inc., California, USA) equipado con una bomba cuaternaria con auto inyector de muestra. Se utilizó una columna Resteck C18 (Resteck USA, 2,1 x 100 mm, 5 μ m) a 25°C, con un volumen de inyección de 10 μ L. La elución se llevó a cabo en gradiente con un sistema de solvente binario: 0,2% HOAc en H₂O (solvente B) / MeOH (solvente A) a una velocidad de flujo de 200 μ L min⁻¹, procediendo con las siguientes proporciones (v/v) de solvente A: (t (min), %A) : (0, 40), (25, 80). La identificación y cuantificación se efectuó mediante un espectrómetro de masa de doble cuadrupolo (Micromass Quattro Ultimat PT, Manchester City, UK). Todos los análisis se desarrollaron utilizando una fuente de electrospray en modo de ionización negativo. La cuantificación se llevó a cabo por inyección de las muestras en modo MRM (Monitoreo de Reacciones Múltiples). La concentración de cada hormona se obtuvo mediante curvas de calibración para el compuesto endógeno y su estándar deuterado. Los valores se expresaron en pmol de hormona por gr.PS⁻¹. Se utilizó el software MassLynx TM v.4.1 para los análisis. Las determinaciones se efectuaron a partir de cuatro extracciones independientes.

Extracción, purificación y cuantificación de BRs

La extracción y purificación de los diferentes BRs se realizó según Oklestkova et al. (2017), con modificaciones. Para ello, se extrajeron muestras de raíces de plántulas de girasol controles, estresadas y tratadas con PGRs (aproximadamente 5 mg PS) en acetonitrilo helado (60%) y luego se centrifugaron. El sobrenadante se complementó con una mezcla de estándares internos de BRs que contenía 25 pmol de BRs marcados con ²H₃ (OlChemIm Ltd. Olomouc, República Checa). Las muestras se purificaron a través de columnas Discovery (Supelco, Bellefonte, PA EE. UU.) y columnas de inmunoafinidad (Laboratorio de Reguladores del Crecimiento, Olomouc, República Checa, Oklestkova et al. 2017), se evaporaron a sequedad y luego se resuspendieron en 40 μ L de metanol. El análisis de los BRs se realizó mediante Cromatografía Líquida de Ultra Performance acoplada a Espectrometría de Masas en Tándem (UHPLC-MS/MS; ACQUITY UPLC® I-Class System, Waters, Milford, MA, EE. UU.) mediante el uso del espectrómetro de masas de triple cuadrupolo Xevo™. TQ-

S MS (Waters MS Technologies, Manchester, Reino Unido) según Oklestkova et al. (2017) y Tarkowská et al. (2016). Las determinaciones se realizaron por cuadruplicado.

Evaluación de parámetros bioquímicos

El contenido de *carbohidratos solubles totales* se determinó a partir de 10 mg de peso seco de raíces de plántulas controles, estresadas y tratadas con PGRs, mediante la técnica descrita por Albalasmeh et al. (2013) con modificaciones. La extracción se realizó empleando 1000 µL de ácido tricloroacético. Luego el extracto se homogeneizó en vórtex durante 15 s y filtró en jeringa con filtros Millipore 0.45 µm. Se centrifugó a 10.000 rpm durante 5 min. Se recogieron 1.200 µL de sobrenadante y se le adicionaron 3.600 µL de ácido sulfúrico. Se agitó en vórtex durante 30 s y se mantuvo en hielo por 2 min. Por último, se cuantificó espectrofotométricamente a través de medir la absorbancia a 315 nm, y comparando la lectura obtenida con una curva patrón realizada a partir de una solución madre de glucosa de 1 mg/ml.

La determinación del contenido de *prolina* se realizó según el protocolo de Bates (1973). Para ello, 0,5 g de peso fresco de raíces de plántulas controles, estresadas y tratadas con PGRs se trituro en mortero con 2 ml de agua deionizada (solvente de extracción). Los extractos se transfirieron a tubos eppendorf de 2 ml y se incubaron a 95° C durante 30 min. Luego se centrifugaron a 5000 rpm durante 10 min. Se recogieron 500 µL del sobrenadante y se le agregaron 500 µL de citrato de sodio (0,2 M, pH 4,6) y 2 ml de reactivo de ninhidrina (% p/v acético: agua, 60:40). Los tubos se incubaron a 95° C durante 60 min. Transcurrido ese tiempo, las muestras se transfirieron a un baño de hielo. Posteriormente, se añadieron 2 ml de tolueno a cada tubo, se agitó vigorosamente en vórtex y se separaron las fases mediante centrifugación a 3000 rpm durante 10 min. Finalmente, se extrajo la fase orgánica de cada una de las muestras y se midió la absorbancia en espectrofotómetro a 520 nm. La concentración de prolina se obtuvo mediante una curva de calibración. La experiencia se realizó por cuadruplicado.

El contenido de *glicina betaína* se determinó según el protocolo de Grieve y Grattan (1983). Para ello, 0,5 g de peso fresco de raíces de plántulas controles, estresadas y tratadas con PGRs se homogeneizó con 1,5 ml de agua deionizada (solvente de extracción). Los extractos se transfirieron a tubos eppendorf de 2 ml y se centrifugaron a 5000 rpm durante 15 min y a

8000 rpm durante 5 min. Se tomaron 500 μL del sobrenadante, se colocaron en eppendorf de 2 ml y se diluyeron 1/1 con H_2SO_4 2N. Luego, se adicionaron 400 μL del reactivo frío KI-I_2 . Las muestras se almacenaron a 4° C durante 16 h y luego se centrifugaron a 10000 rpm durante 15 min. Se descartó el sobrenadante y se disolvieron los cristales de yoduro en 9 ml de 1,2 dicloroetano (1,2 DCE) agitando en vórtex. Se dejaron reposar los tubos durante 2 h a temperatura ambiente. Transcurrido ese tiempo, se midió la absorbancia en espectrofotómetro a 365 nm. La concentración de glicina betaína se obtuvo mediante una curva de calibración. La experiencia se realizó por cuadruplicado.

El contenido de *peróxido de hidrógeno* (H_2O_2) se determinó según Singh et al. (2006). Para ello, se homogeneizaron muestras de peso fresco (100 mg) de raíces de plántulas control, estresadas y tratadas con reguladores del crecimiento vegetal en nitrógeno líquido con TCA al 0,1 % y se centrifugaron a 12.000 g durante 15 min. Posteriormente, se añadieron 0,5 ml de buffer fosfato 10 mM (pH 7,0) y 1 ml de yoduro de potasio 1 M a 0,5 ml del sobrenadante. Tras un breve reposo de la reacción, se registró la absorbancia a 390 nm con un espectrofotómetro UV-Vis. El contenido de H_2O_2 se cuantificó mediante un coeficiente de extinción de 0,28 $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ y se expresó como $\mu\text{mol. g}^{-1}$ de peso fresco. Las determinaciones se efectuaron por cuadruplicado.

El contenido de *glutación reducido* (GSH) se estimó según el protocolo de Akerboom et al. (1981) incubando 100 μL de muestra (proveniente de peso fresco de raíces de plántulas control, estresadas y tratadas con PGRs) con tampón fosfato ($\text{H}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ 0,5 M), el cual contenía 0,1 g de ácido ascórbico y 0,05 g de ácido glioxílico (pH 6,8), por el término de 5 min a 60°, después de lo cual se aclaró rápidamente. Se añadió reactivo de Ellman previamente enfriado en hielo (solución de DTNB, 0,100 ml) a todos los tubos, se mezcló y luego se centrifugó a 11.000 rpm durante 5 min. Luego se midió la absorbancia a 412 nm. Se utilizó un tubo control conteniendo solo el buffer y una solución madre de GSH 4 mM que se diluyó 1:10. Los resultados se expresaron en $\text{nmol de GSH.g}^{-1}$ de peso fresco. Las determinaciones se efectuaron por cuadruplicado.

De acuerdo con Heath y Packer (1968), la *peroxidación lipídica* se determinó como la cantidad de *malondialdehído* (MDA) obtenida por la reacción del ácido tiobarbitúrico (TBA). Se homogeneizó tejido fresco (200 mg) de raíces de plántulas control, estresadas y tratadas con PGRs con 400 μL de buffer de extracción (Tris-ClH 50 mM, pH: 7,5 + EDTA

0,1 mM + Tritón 0,2 %). Los tubos se centrifugaron a 10.000 rpm durante 30 min. Los sobrenadantes se mezclaron con volúmenes iguales de TCA al 20 % que contenía TBA al 0,5 % (p/v), se incubaron a 95 °C durante 15 min. y se enfriaron rápidamente en hielo. Los homogenatos se centrifugaron a 2.000 rpm durante 1 min. y posteriormente se midió la absorbancia a 532 nm. La concentración de MDA se expresó como mmol. g⁻¹ de peso fresco. Las determinaciones se efectuaron por cuadruplicado.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con arreglo factorial y 4 repeticiones temporales. Los factores considerados fueron: línea endocriada, condición hídrica y tratamiento con los reguladores del crecimiento vegetal. Los datos de las distintas determinaciones fueron analizados con el software Infostat (Di Rienzo et al., 2014), empleando ANOVA considerando los efectos principales de cada factor y las interacciones entre ellos (dobles y triple). Se empleó a posteriori un test de Rangos Múltiples de diferencias mínimas significativas (LSD de Fisher; $P < 0,05$).

Resultados

Parámetros morfológicos

En la condición control, la línea B59 evidenció una mayor área foliar que B71 (Fig. 14). Para ambas líneas se detectaron disminuciones significativas en este parámetro cuando las plántulas fueron sometidas a estrés hídrico moderado, resultando más pronunciado en B71 (1,82 veces en B71 y 1,15 en B59). En relación al área foliar de las plántulas crecidas en condición control, la aplicación de BL y KAR2 ocasionó un aumento en plántulas B59. En el caso de la línea B71, las plántulas tratadas con GR24 y KAR2 presentaron una mayor área foliar comparado con aquellas sin tratar. Las plántulas estresadas de la línea B59 evidenciaron una mayor área luego de ser tratadas con GR24 y BL mientras que las de la línea B71, solo luego de la aplicación de GR24 (Fig. 14).

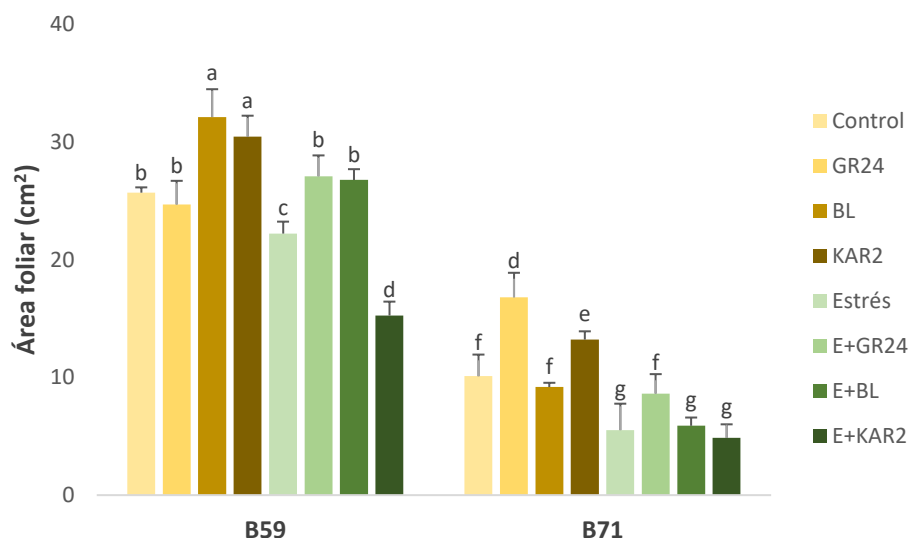


Fig. 14. Área foliar de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 μ M); BL (0,01 μ M) o KAR2 (10 nM) ($n=4\pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p<0,05$.

En cuanto al peso fresco de la parte aérea, bajo la condición control, la línea B59 mostró un mayor peso respecto a B71 (Fig. 15). En las dos líneas endocriadas se detectaron disminuciones significativas en dicho parámetro luego de que las plántulas fueron sometidas a estrés hídrico moderado, siendo levemente más notable en la línea B71 (2,37 veces en B71 y 1,67 en B59). Bajo condición de crecimiento control, el peso fresco de la parte aérea mostró un aumento significativo cuando las plántulas de la línea B59 fueron tratadas con BL, y una

reducción significativa cuando se aplicó GR24. En la parte aérea de las plántulas de la línea B71 no se observó efecto de ninguno de los tratamientos aplicados. Luego de la aplicación del tratamiento de estrés hídrico, en el caso de la línea B59, se observó un aumento en este parámetro ocasionado por la aplicación de GR24 y KAR2. En las plántulas estresadas de la línea B71, se registraron leves aumentos no significativos con la aplicación de los tres PGRs (Fig. 15).

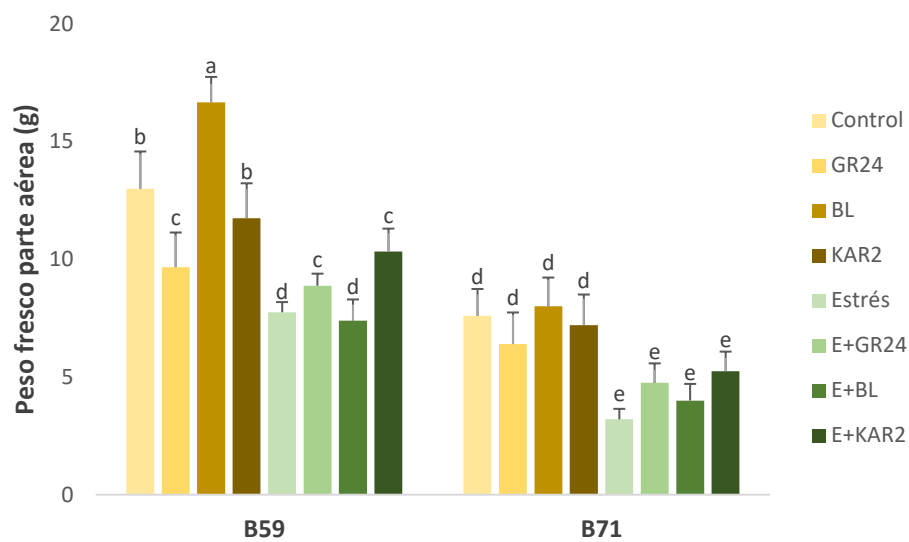


Fig. 15. Peso fresco de parte aérea de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 μ M); BL (0,01 μ M) o KAR2 (10 nM) ($n=4\pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p<0,05$.

Se observó el mayor peso seco en la parte aérea de plántulas de la línea B59 en condición control (Fig. 16). En la línea B71, este parámetro disminuyó significativamente (2,06 veces) cuando las plántulas fueron sometidas al tratamiento de estrés hídrico, mientras que para B59 no se registraron cambios significativos. El peso seco de la parte aérea de las plántulas B59 crecidas bajo condición control evidenció un aumento significativo en aquellas tratadas con BL, y una reducción en las de B71 tratadas con KAR2. Sólo la aplicación de GR24 a las plántulas estresadas de B59 ocasionó un incremento en el peso seco de sus partes aéreas. En el caso de las plántulas B71 no se observaron cambios estadísticamente significativos luego de la aplicación de los PGRs evaluados en este estudio (Fig. 16).

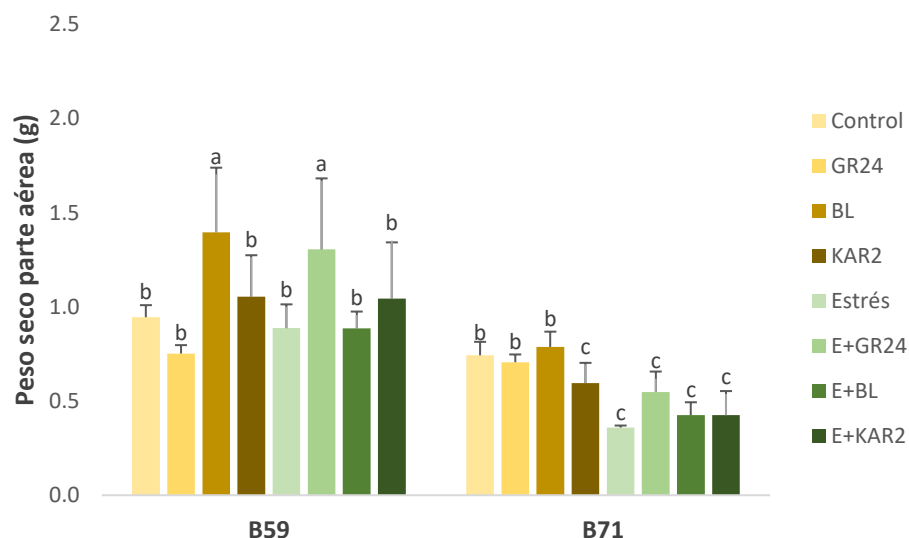


Fig. 16. Peso seco de parte aérea de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 μ M); BL (0,01 μ M) o KAR2 (10 nM) ($n=4\pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p<0,05$.

Respecto al peso fresco de las raíces, las pertenecientes a la línea B59 presentó un mayor valor comparado con la parte radical de la línea B71 en condiciones control (Fig. 17). A consecuencia del estrés hídrico impuesto, se registró una disminución de este parámetro en la línea B59, en tanto que las raíces de B71 no mostraron variación en su peso fresco (Fig. 17). Bajo condición control, se registró que la aplicación de KAR2 incrementó dicho parámetro en ambas líneas, mientras que la aplicación de GR24 ocasionó una disminución en B59. Por otro lado, los tratamientos con GR24 y BL produjeron un incremento significativo en dicho parámetro en las raíces de plántulas estresadas de la línea B59, mientras que en raíces de la línea B71 dicho efecto fue observado tras la aplicación de GR24 y KAR2 (Fig. 17).

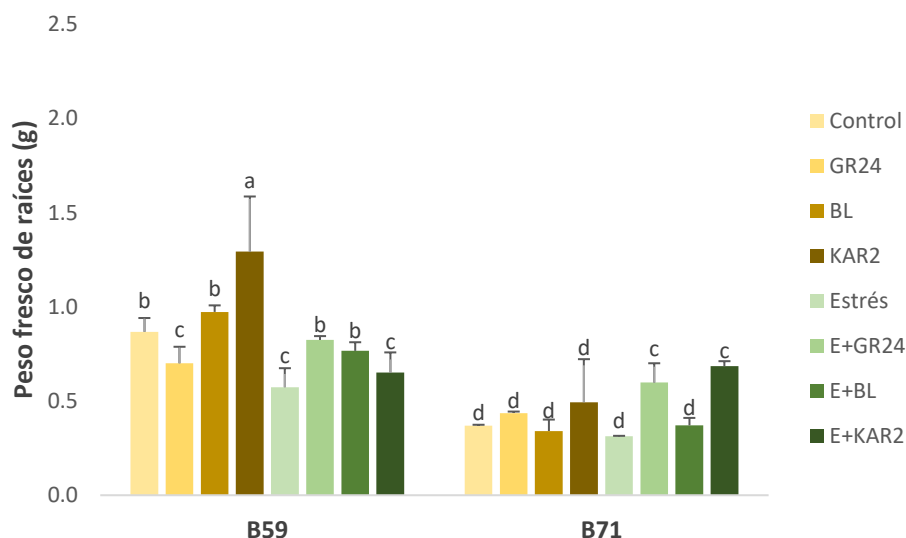


Fig. 17. Peso fresco de raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM) ($n=4 \pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

Bajo condición control de crecimiento, la línea B59 presentó un mayor valor de peso seco en la parte radical (Fig. 18). Por efecto del estrés hídrico, un aumento significativo en este parámetro fue registrado para ambas líneas, siendo mayor en B59 (1,40 veces en B59 y 1,29 veces en B71). La aplicación de los tres PGRs aumentó el peso seco de las raíces de las plántulas B59 crecidas en condición control, en tanto que dichos compuestos no produjeron efectos significativos en las raíces de plántulas B71. Por otro lado, se observó un aumento en el peso seco de las raíces en plántulas estresadas de ambas líneas posterior a la aplicación de los tres PGRs, siendo KAR2 el regulador que ocasionó el mayor incremento (Fig. 18).

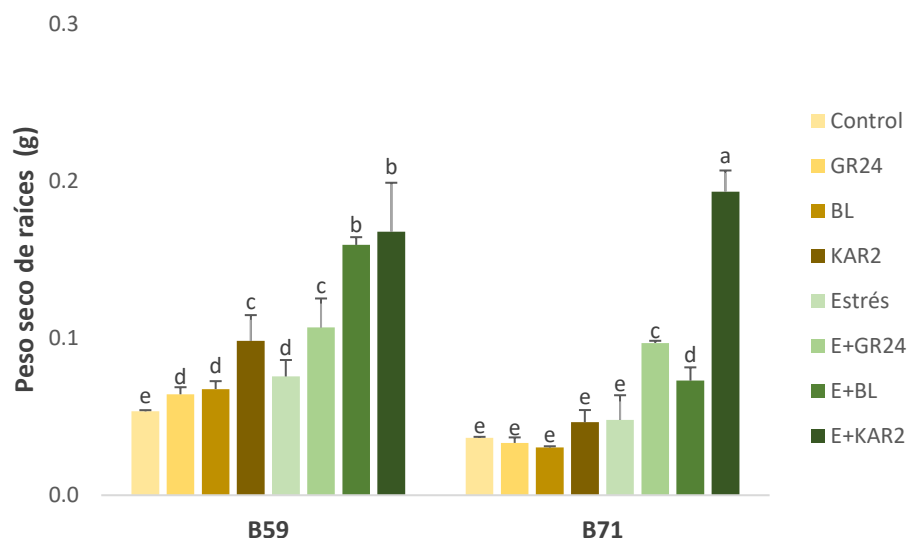


Fig. 18. Peso seco de raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 μ M); BL (0,01 μ M) o KAR2 (10 nM) ($n=4 \pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

En cuanto a la longitud de la raíz principal, en la condición control, la línea B71 presentó una longitud mayor que la línea B59 (Fig. 19). En ambas líneas, este parámetro disminuyó de forma significativa cuando las plántulas fueron sometidas a estrés hídrico. Dicha disminución fue más pronunciada en la línea B59 comparada con B71 (1,46 y 1,34 veces, respectivamente). Por otro lado, se observó que en plántulas control de ambas líneas endocriadas la aplicación de GR24 y KAR2 ocasionó una disminución en este parámetro, mientras que en B59 este efecto se detectó también, luego de la aplicación de BL. Posterior al tratamiento de estrés hídrico, los tres PGRs indujeron una disminución significativa en la longitud de la raíz principal de B59. En las raíces de B71, sólo la aplicación de KAR2 causó una reducción significativa en dicho parámetro (Fig. 19).

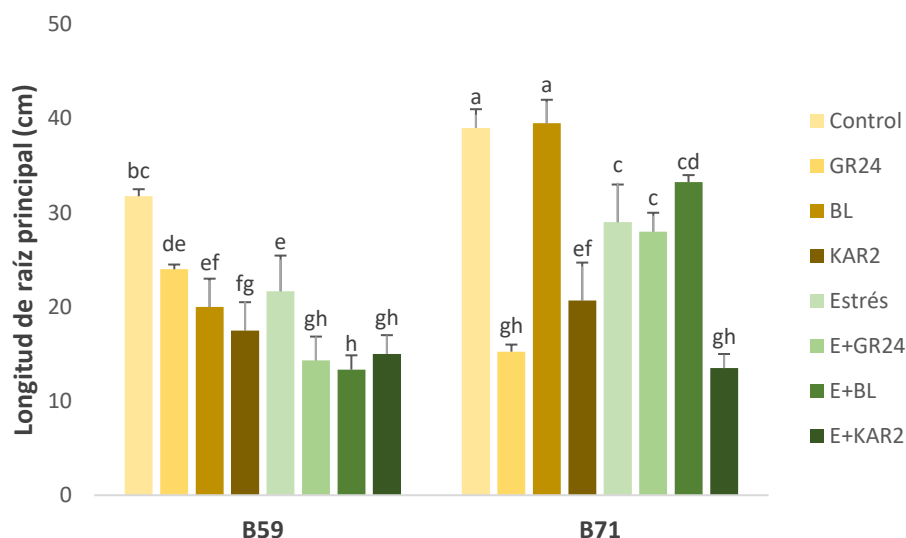


Fig. 19. Longitud de raíz principal en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM) ($n=4 \pm SE$). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

La línea B71 presentó el mayor valor en cuanto a la superficie de la raíz principal en condiciones control (Fig. 20). Luego de la aplicación del estrés hídrico, un incremento estadísticamente significativo fue detectado en este parámetro en ambas líneas endocriadas, siendo más notorio en la línea B59 (1,50 veces en B59 y 1,24 en B71). La superficie de la raíz principal evidenció un aumento en plántulas B71 crecidas en condición control posterior a la aplicación de BL; por el contrario, GR24 y KAR2 ocasionaron una disminución en dicho parámetro. En las raíces B59 la aplicación tanto de BL como de KAR2 provocó una reducción en la superficie de la raíz principal. En plántulas estresadas, una disminución en dicho parámetro fue detectada en la línea B59 tras la aplicación de los tres PGRs. En plántulas de la línea B71, tal efecto fue registrado luego de la aplicación de GR24 y KAR2 (Fig. 20).

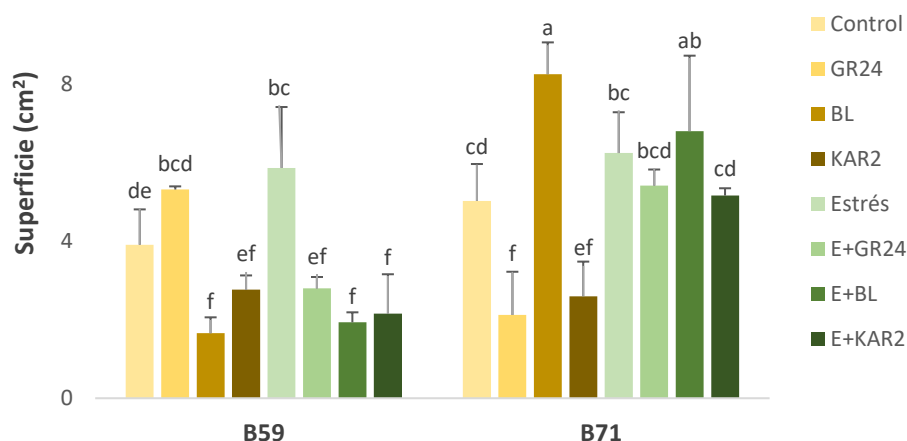


Fig. 20. Superficie de la raíz principal de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 μ M); BL (0,01 μ M) o KAR2 (10 nM) ($n=4 \pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

En condición control, la línea B71 mostró la mayor superficie proyectada de la raíz principal (Fig. 21). En respuesta a estrés hídrico, ambas líneas endocriadas evidenciaron un aumento significativo en dicho parámetro de 1,58 y 1,40 veces para B71 y B59 respectivamente. Por otro lado, se registró un incremento significativo en la superficie proyectada de la raíz principal en plántulas de la línea B59 luego de la aplicación de GR24 bajo condición de crecimiento control. En las raíces de B71, este parámetro disminuyó por efecto de GR24 y KAR2. Por otro lado, la superficie proyectada de las raíces principales de plántulas estresadas de ambas líneas sufrió una reducción significativa posteriormente a la aplicación de los tres PGRs (Fig. 21).

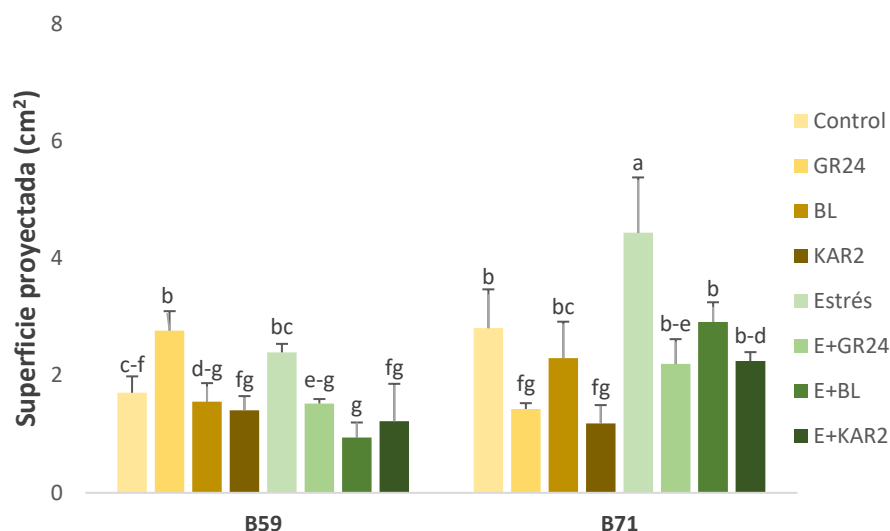


Fig. 21. Superficie proyectada de la raíz principal de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM) ($n=4 \pm SE$). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

En lo que respecta al diámetro medio de la raíz principal, este parámetro fue superior en B71 en condiciones control (Fig. 22). Cuando las plántulas fueron sometidas a estrés hídrico, se registró un aumento significativo del diámetro en B59 (1,75 veces), mientras que, por el contrario, una disminución significativa fue observada en B71 (1,16). Se registraron modificaciones significativas en el diámetro medio de la raíz principal solo en plántulas control de la línea B71, donde la aplicación de GR24 y KAR2 disminuyó este parámetro. En las plántulas estresadas de la línea B59, la aplicación exógena de los tres PGRs ocasionó una disminución en el diámetro medio de la raíz principal, siendo KAR2 la que redujo este parámetro en mayor medida. Por otro lado, en la raíz principal de las plántulas estresadas B71 se registró un incremento significativo en el diámetro medio ocasionado por la aplicación de BL y, por el contrario, una disminución cuando se aplicó KAR2 (Fig. 22).

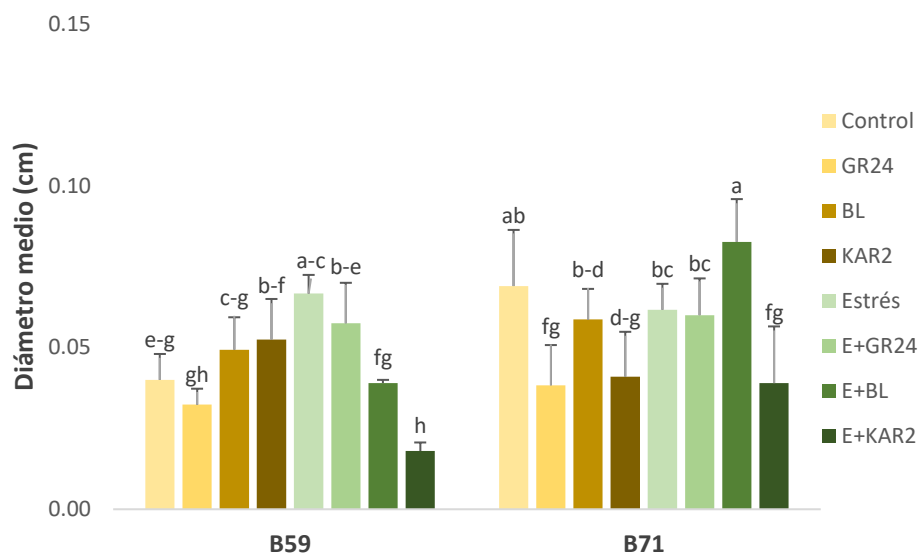


Fig. 22. Diámetro medio de la raíz principal de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM) ($n=4 \pm SE$). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

Se observó un aumento significativo de 1,23 veces en el ángulo de inserción de raíces laterales en la línea B59 cuando las plántulas fueron sometidas a estrés hídrico moderado (Fig. 23). Contrariamente, en plántulas de la línea B71 fue registrada una disminución significativa de 1,19 veces en dicho parámetro por efecto del estrés hídrico impuesto. La aplicación exógena de los distintos PGRs no produjo modificaciones significativas en el ángulo de inserción de raíces laterales en las plántulas de ambas líneas crecidas bajo condición control. Por otro lado, en plántulas estresadas, aquellas pertenecientes a B59 evidenciaron un menor ángulo de inserción de las raíces laterales posterior a la aplicación de GR24 y BL. Contrariamente, las plántulas de la línea B71 no mostraron cambios tras la aplicación de los PGRs (Fig. 23).

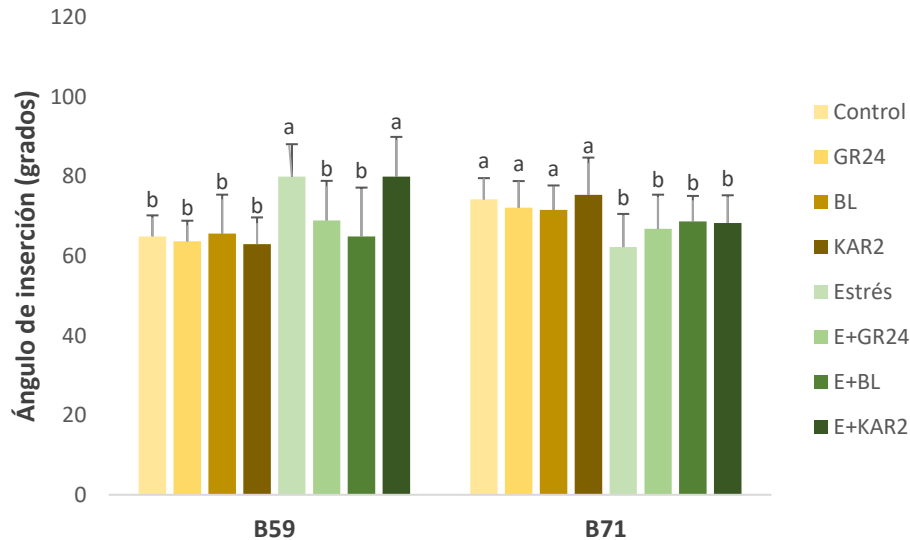


Fig. 23. Ángulo de inserción de raíces laterales de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM) ($n=4 \pm SE$). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

En B59, una disminución significativa de 1,3 veces fue registrada por efecto del tratamiento de estrés hídrico en el número de raíces laterales (Fig. 24). Por el contrario, se observó un leve incremento en este parámetro en las plántulas pertenecientes a la línea B71. Bajo condición control, una disminución significativa en el número de raíces laterales de plántulas de la línea B59 se registró tras la aplicación de BL, en tanto que GR24 produjo dicho efecto en B71. Este parámetro disminuyó significativamente en plántulas de las dos líneas sometidas a tratamiento de estrés hídrico y posterior aplicación de GR24 y BL, mientras que KAR2 lo indujo sólo en plántulas de B71 (Fig. 24).

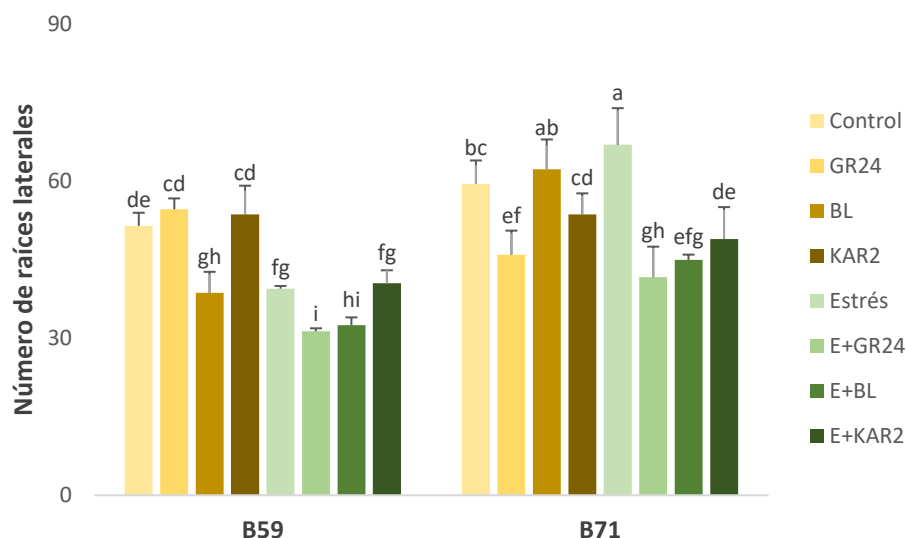


Fig. 24. Número de raíces laterales de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 μ M); BL (0,01 μ M) o KAR2 (10 nM) ($n=4 \pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

En cuanto a la respuesta relativa de la biomasa radical al estrés, un mayor crecimiento en las raíces de ambas líneas se observó producto de la aplicación de los PGRs en relación a las plántulas sin tratar (Fig. 25). Cabe destacar que la aplicación de BL resultó en una mejor respuesta en las raíces de B59, mientras que KAR2 fue más efectivo en la respuesta de raíces B71 (Fig. 25).

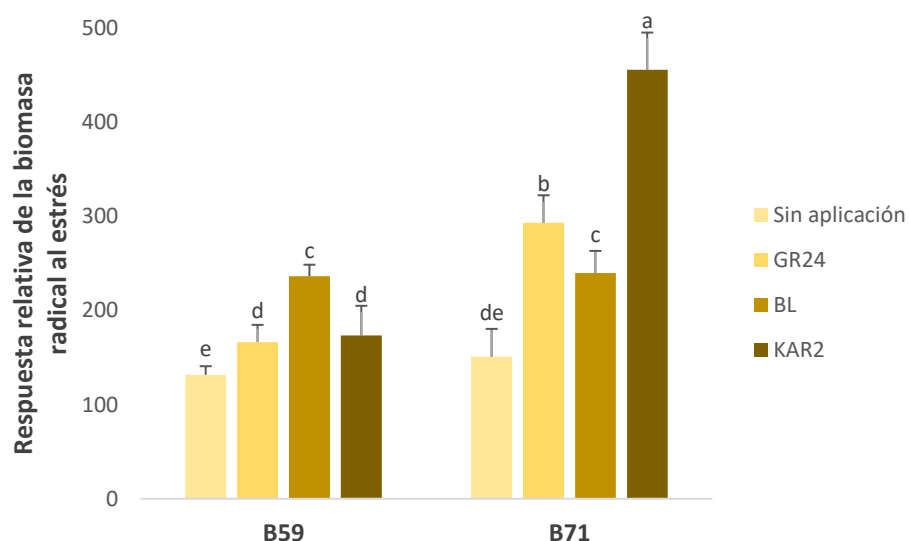


Fig. 25. Respuesta relativa de la biomasa radical al estrés de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 sin aplicación de PGRs y tratadas con GR24 (3 μ M); BL (0,01 μ M) o KAR2 (10 nM) ($n=4 \pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.



Fig. 26. Fotografía representativa de plántulas de girasol de la línea B59 de 24 días de edad crecidas en condición control y bajo estrés hídrico.



Fig. 27. Fotografías representativas de plántulas de girasol de la línea B59 de 24 días de edad crecidas bajo estrés hídrico y tratadas con los distintos PGRs.

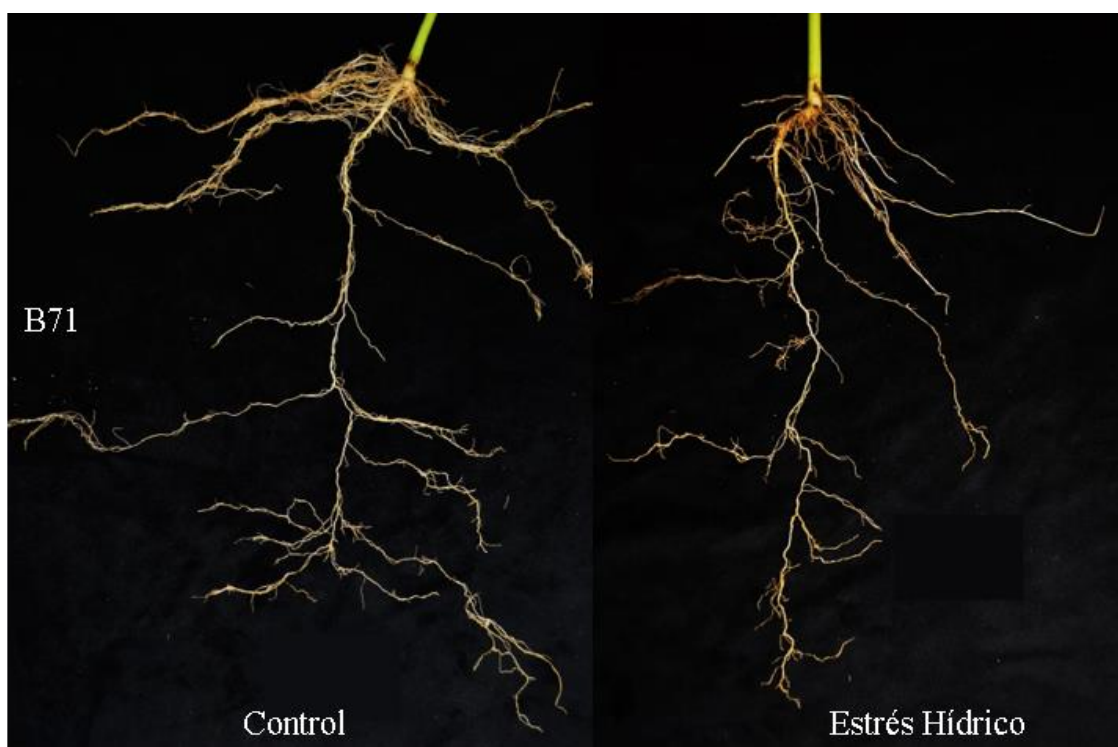


Fig. 28. Fotografía representativa de plántulas de girasol de la línea B71 de 24 días de edad crecidas en condición control y bajo estrés hídrico.

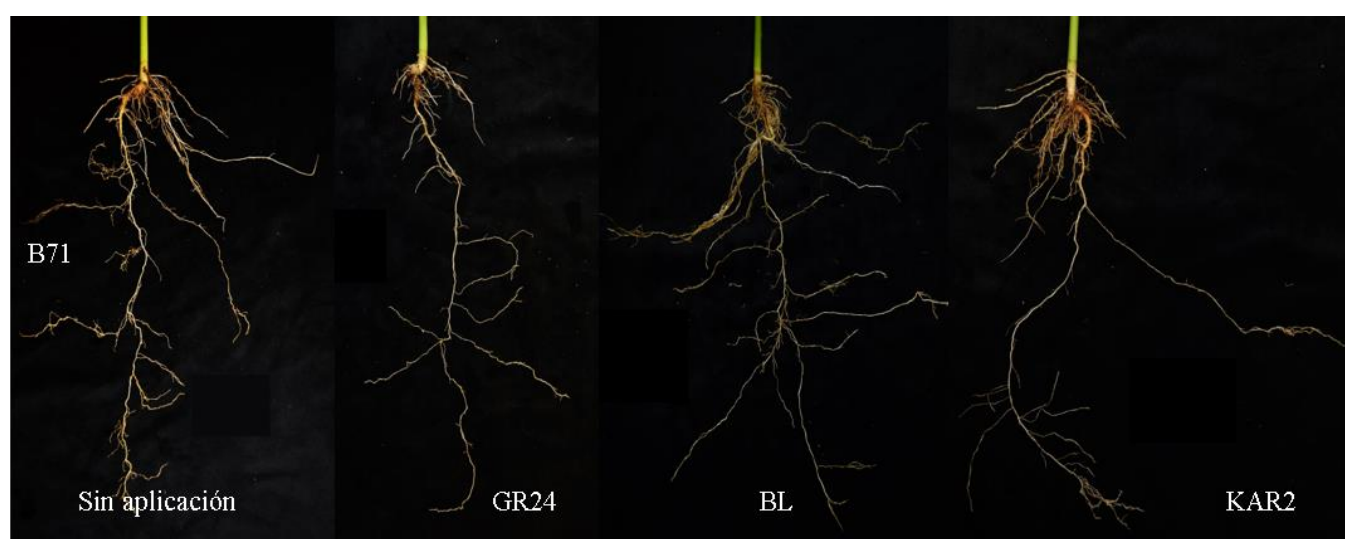


Fig. 29. Fotografías representativas de plántulas de girasol de la línea B71 de 24 días de edad crecidas bajo estrés hídrico y tratadas con los distintos PGRs.

Parámetros histológicos

Nota: Las fotografías empleadas en las comparativas de raíces fueron seleccionadas por ser representativas de cada tratamiento y por presentar la mejor calidad de imagen. No obstante, las mediciones se realizaron a partir del análisis de múltiples imágenes correspondientes a cada muestra.

En los distintos preparados histológicos analizados se observó que ambas líneas presentaron una estructura radical triarca. En cuanto a la raíz principal, la presencia de crecimiento secundario en ambas líneas fue detectada tanto en condiciones control como frente a estrés hídrico. En plántulas control, la raíz principal de B71 presentó mayores valores de área total, área del cilindro central y área de la corteza comparado con aquellas pertenecientes a la línea B59 (Tabla 2 y Fig. 32). Además, la raíz principal de la línea B71 se caracterizó por presentar un mayor número de vasos xilemáticos que B59 y, además, de diámetro superior y lignificados (Fig. 34 y 35). El tratamiento de estrés hídrico aplicado ocasionó una reducción en el área de la corteza de la raíz principal de plántulas de ambas líneas endocriadas, mientras que el área total y el área del cilindro central solo se redujo significativamente en B71 (Tabla 2 y Fig. 32). Por otro lado, se observó un incremento significativo en el número, pero no en el diámetro de los vasos xilemáticos de la raíz principal de B59 (Fig. 34 y 35). Contrariamente y por efecto del estrés hídrico aplicado, la raíz principal de B71 mostró un menor número de vasos xilemáticos de diámetro reducido en comparación con su respectivo control (Fig.34 y 35). En este sentido, bajo nuestras condiciones experimentales de estrés hídrico, la raíz principal de la línea B71 evidenció el mayor número de vasos xilemáticos, pero con un menor diámetro en comparación con la línea B59; en tanto que la raíz principal de B59 se caracterizó por presentar un mayor diámetro de vasos xilemáticos (Fig. 34 y 35). Cuando se aplicaron los PGRs a las plántulas controles, se observó en B59 un incremento en el área total y del cilindro central, además de un incremento en el número de vasos xilemáticos luego de la aplicación de KAR2 mientras que, la aplicación de BL ocasionó una reducción en el área total y de la corteza (Tabla 2 y Fig. 30 y 31). En el caso de las raíces de B71, se observó una disminución de las áreas cuantificadas, y en el número y diámetro de los vasos xilemáticos luego de la aplicación de los tres PGRs (Tabla 2 y Fig. 30 y 31). En cuanto a las plántulas estresadas, se detectó que la raíz principal de aquellas pertenecientes a B59 presentaron un tejido xilemático con elementos maduros (al parecer más engrosados) (Fig. 30 y 31). Además, la aplicación de GR24 y KAR2 en raíces estresadas de esta línea ocasionó un incremento en el área total, área del cilindro central y área de la corteza de la raíz principal mientras que, contrariamente, la aplicación de BL no ocasionó modificaciones en las áreas cuantificadas (Tabla 2). En cuanto al número de vasos del tejido xilemático, se observó un incremento en dicho parámetro por efecto de KAR2 en plántulas estresadas de esta línea mientras que, la aplicación de GR24 y BL ocasionó una reducción en el diámetro de los elementos de conducción (Fig. 34 y 35).

Las raíces de plántulas estresadas de B71 luego de ser tratadas con los PGRs también presentaron elementos maduros y con mayor engrosamiento de las paredes de los vasos xilemáticos (Fig. 32 y 33). La aplicación de GR24 y BL en estas raíces ocasionó una leve disminución en el área total y de la corteza, y una reducción significativa en el área del cilindro central. Tras la aplicación de KAR2 las tres áreas cuantificadas en la raíz principal de plántulas estresadas B71 sufrieron un descenso importante (Tabla 2). Además, el tratamiento con los tres PGRs ocasionó una disminución en el número de vasos xilemáticos mientras que, una reducción significativa en el diámetro de dichos elementos se evidenció luego de la aplicación de BL (Fig. 34 y 35).

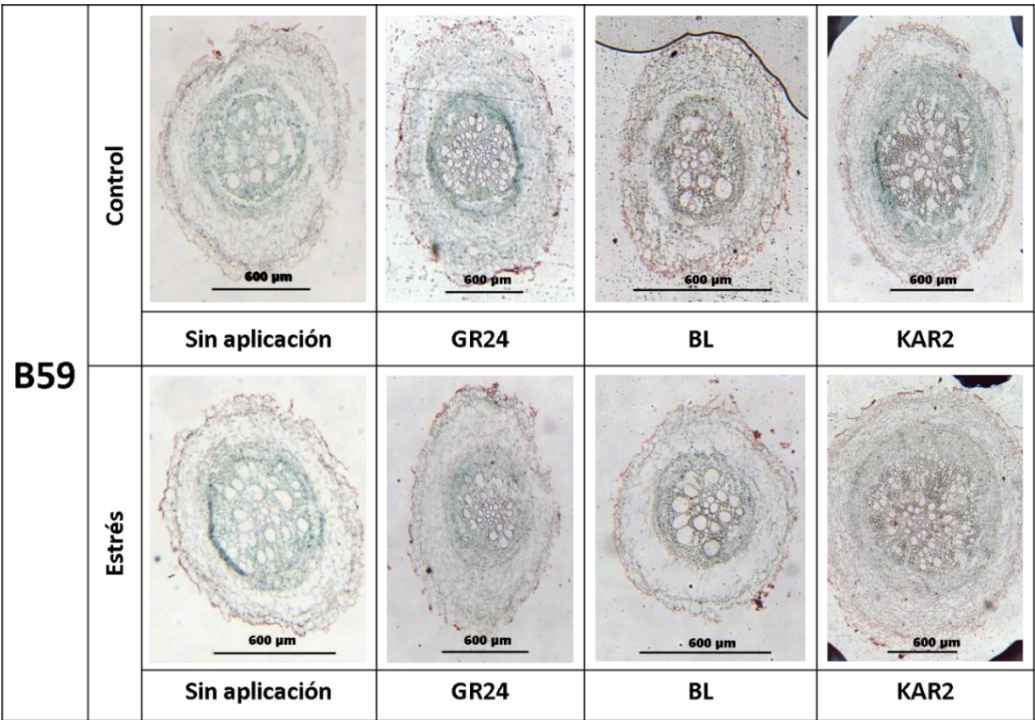


Fig. 30. Cortes histológicos de la raíz principal de plántulas de la línea endocriada B59: controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 μ M); BL (0,01 μ M) o KAR2 (10 nM).

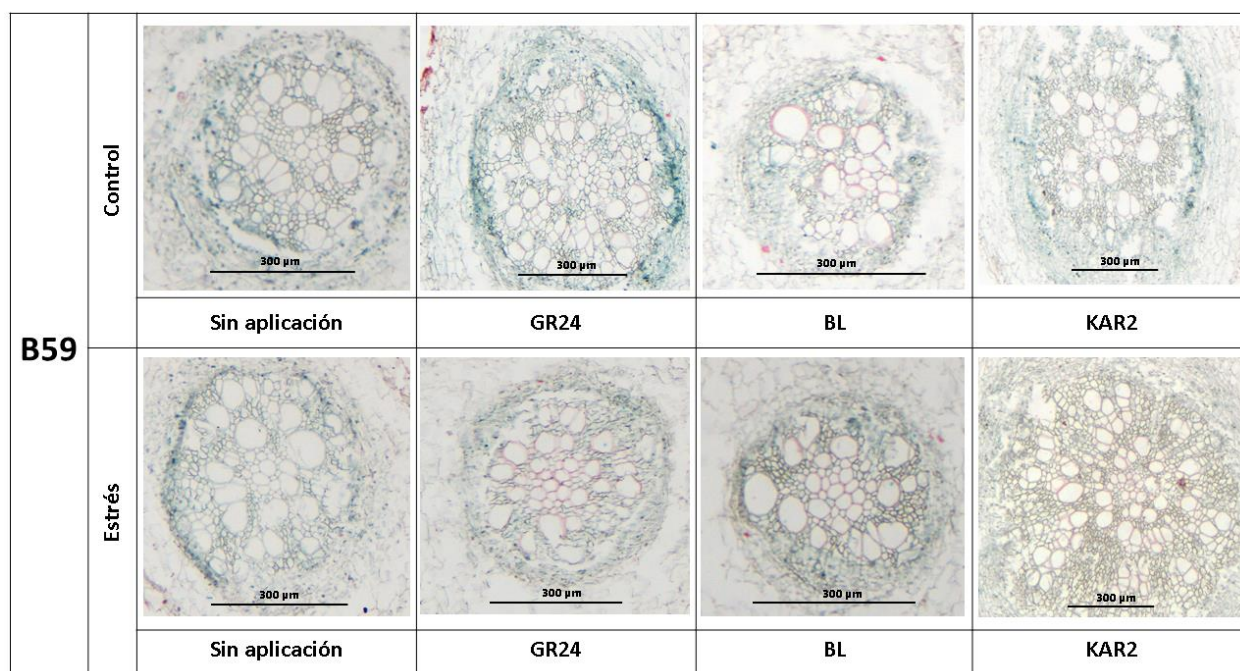


Fig. 31. Cortes histológicos en detalle del cilindro central la raíz principal de plántulas de la línea endocriada B59: controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 μ M); BL (0,01 μ M) o KAR2 (10 nM).

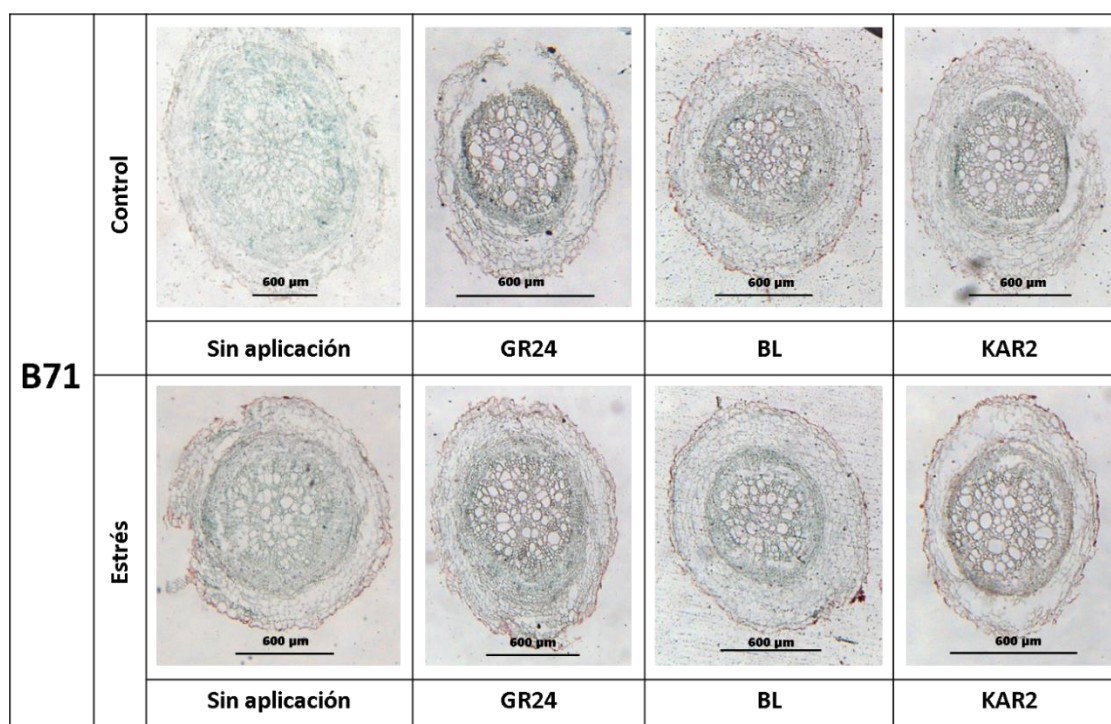


Fig. 32. Cortes histológicos de la raíz principal de plántulas de la línea endocriada B71: controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 μ M); BL (0,01 μ M) o KAR2 (10 nM).

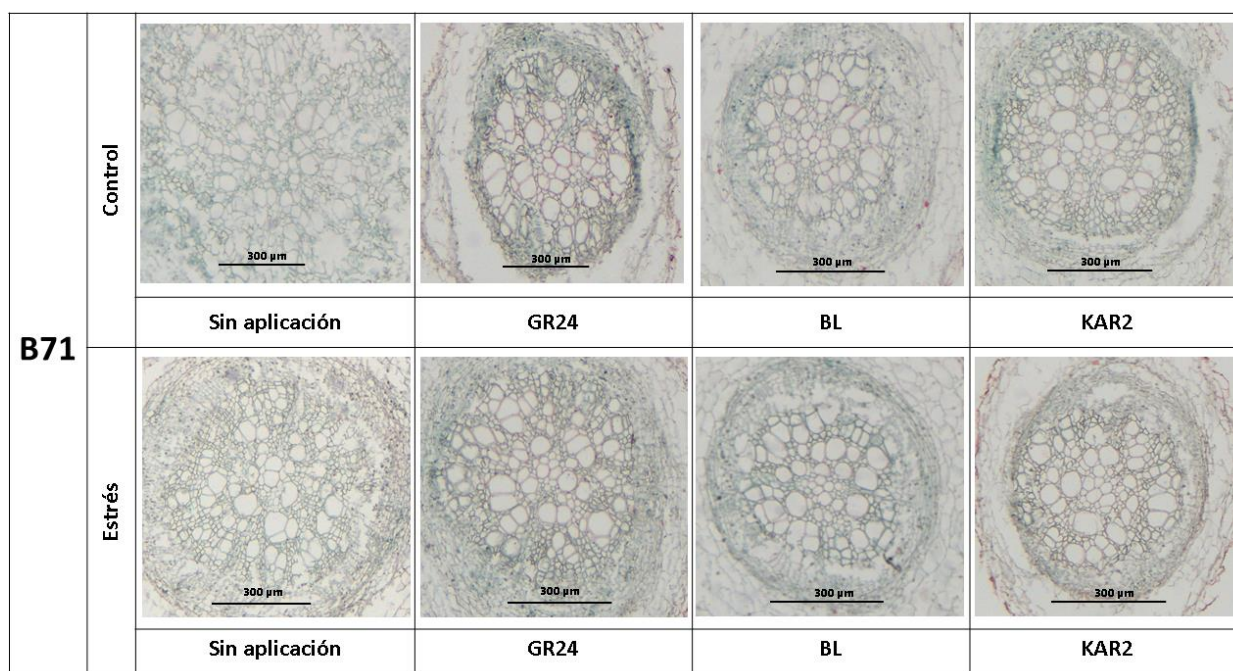


Fig. 33. Cortes histológicos en detalle del cilindro central de la raíz principal de plántulas de la línea endocriada B71: controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM).

Tabla 2. Área total, área del cilindro central, y área de la corteza de la raíz principal de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM) (n=4± SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a p<0,05 en cada columna.

		Cond.		Área		Área cilindro		Área	
Línea		Hídrica	Tratamiento	total (µm²)		central (µm²)		corteza (µm²)	
Raíz Principal	B59	Control	Sin tratar	231524,83 ± 37809	c	78748,58 ± 20733	e	152776,25 ± 17137	c
			GR24	279747,62 ± 118706	c	74476,18 ± 28564	e	205271,44 ± 90147	c
			BL	135896,13 ± 39322	d	42366,11 ± 18335	e	93530,02 ± 21195	d
			KAR2	381620,95 ± 95753	b	199728,72 ± 62340	c	181892,23 ± 34030	c
		Estrés Hídrico	Sin tratar	164230,41 ± 2546	d	60259,69 ± 3147	e	103970,71 ± 2908	d
			GR24	231798,81 ± 23032	c	65625,31 ± 14558	e	166185,5 ± 8512	c
			BL	117683,73 ± 15413	d	34443,77 ± 2747	e	83239,96 ± 17675	d
			KAR2	569336,95 ± 41158	a	250747,035 ± 8070	b	339894,67 ± 10159	a
	B71	Control	Sin tratar	629579,85 ± 77392	a	364092,14 ± 42198	a	265487,72 ± 36763	b
			GR24	129340,02 ± 8766	d	49461,835 ± 3122	e	79878,18 ± 5644	d
			BL	225479,67 ± 13725	c	84328,92 ± 7240	e	141150,76 ± 7270	c
			KAR2	294298,74 ± 54026	c	98724,67 ± 10698	e	195574,07 ± 43710	c
		Estrés Hídrico	Sin tratar	294215,92 ± 6960	c	151217,87 ± 10336	d	142998,04 ± 4029	c
			GR24	256366,48 ± 13623	c	104248,21 ± 19878	e	140681,43 ± 11974	c
			BL	215834,69 ± 14745	c	79789,52 ± 4915	e	136045,17 ± 18400	c
			KAR2	148076,22 ± 2085	d	67957,11 ± 1463	e	80119,12 ± 3271	d

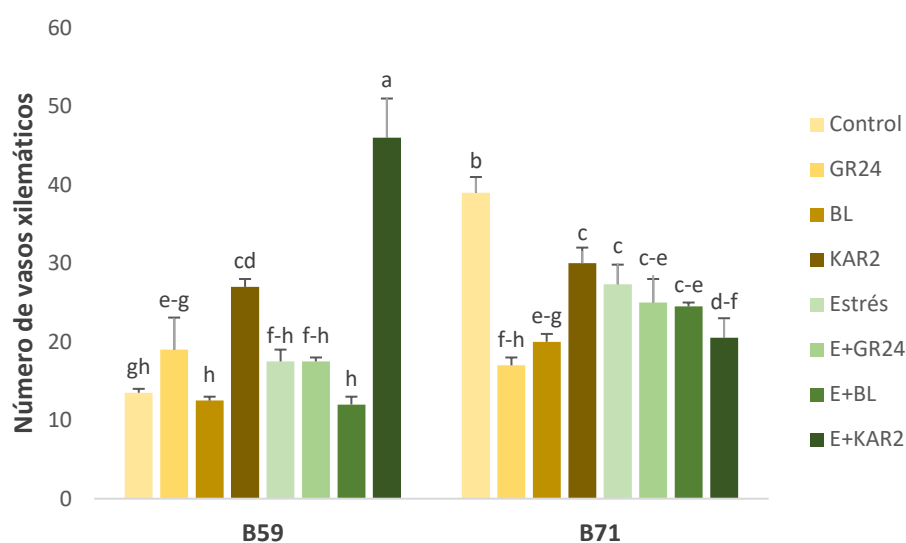


Fig. 34. Número de vasos xilemáticos de raíz principal de plántulas de las líneas endocriadas de girasol B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 μ M); BL (0,01 μ M) o KAR2 (10 nM) ($n=4 \pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

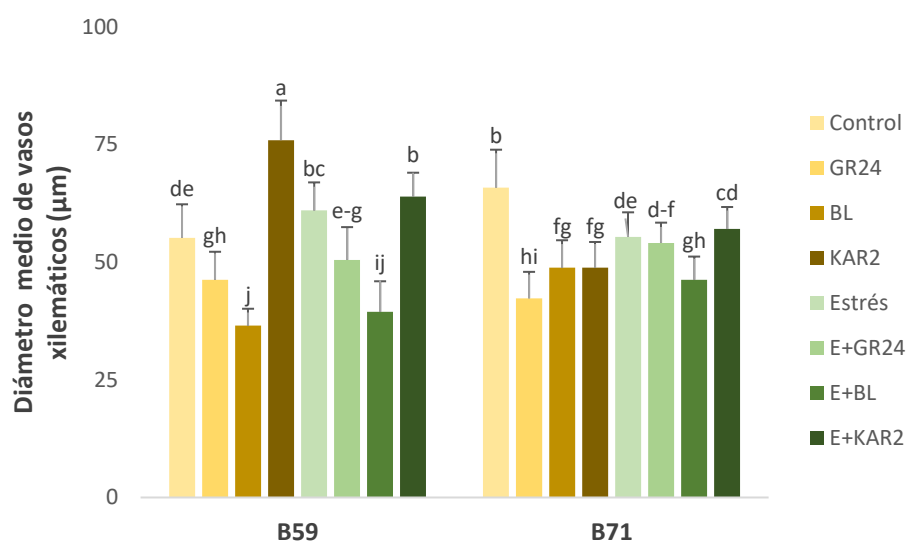


Fig. 35. Diámetro de vasos xilemáticos de raíz principal de plántulas de las líneas endocriadas de girasol B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 μ M); BL (0,01 μ M) o KAR2 (10 nM) ($n=4 \pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

En relación con las raíces laterales, aquellas pertenecientes a plántulas B71 crecidas bajo condiciones control presentaron los mayores valores de área total y área de la corteza; las raíces laterales de B59 evidenciaron la mayor área de cilindro central (Tabla 3). Luego del

tratamiento de estrés hídrico, una respuesta diferencial en las raíces laterales de ambas líneas en estudio fue detectada: las plántulas estresadas de B59 evidenciaron un aumento en el área total y en el área de la corteza, con una disminución significativa en el área del cilindro central (Tabla 3 y Fig. 36). En el caso de B71, se observó una disminución significativa en las tres áreas cuantificadas por efecto del tratamiento de estrés hídrico aplicado (Tabla 3 y Fig. 38). Cuando se aplicaron los PGRs en plántulas controles, se observó un incremento en el área total y de la corteza ocasionado por la aplicación de KAR2 en raíces laterales de B59 y a su vez, una disminución en el área del cilindro central luego de la aplicación de los tres reguladores (Tabla 3). En el caso de B71, el área total y de la corteza evidenciaron una reducción debido a la aplicación de los tres PGRs mientras que, el área del cilindro central incrementó luego de la aplicación de KAR2 (Tabla 3). En cuanto a las raíces laterales de plántulas estresadas de B59 tratadas con los PGRs mostraron células poco diferenciadas y abundancia de tejido parenquimático (Fig. 36 y 37), mientras que en las de B71 se observó la presencia de elementos de conducción lignificados (Fig. 38 y 39). La aplicación exógena de GR24 en plántulas estresadas ocasionó un aumento en las tres áreas analizadas en las raíces laterales de la línea B59, mientras que en B71 causó disminución. Luego de la aplicación exógena de BL, se observó un aumento significativo en el área del cilindro central de las raíces laterales de B59 y una disminución en las raíces de B71. Por último, la aplicación de KAR2 en plántulas estresadas provocó una reducción en las tres áreas cuantificadas de las raíces laterales de ambas líneas endocriadas en estudio (Tabla 3).

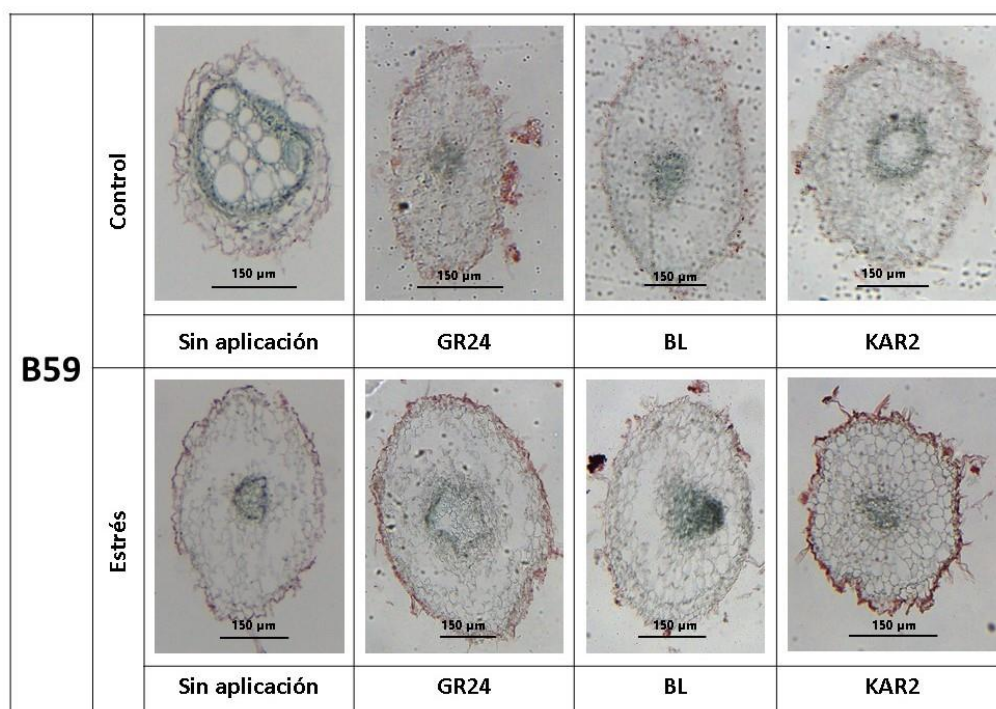


Fig. 36. Cortes histológicos de las raíces laterales de plántulas de la línea endocriada B59: controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM).

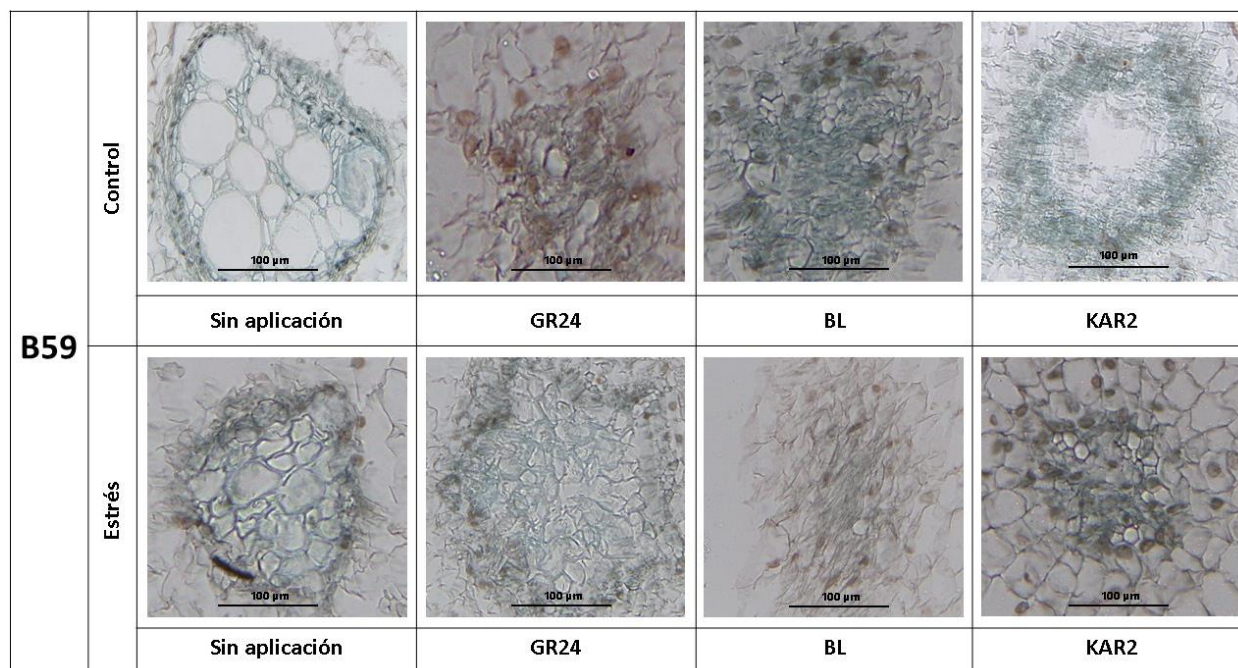


Fig. 37. Cortes histológicos en detalle del cilindro central de las raíces laterales de plántulas de la línea endocriada B59: controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM).

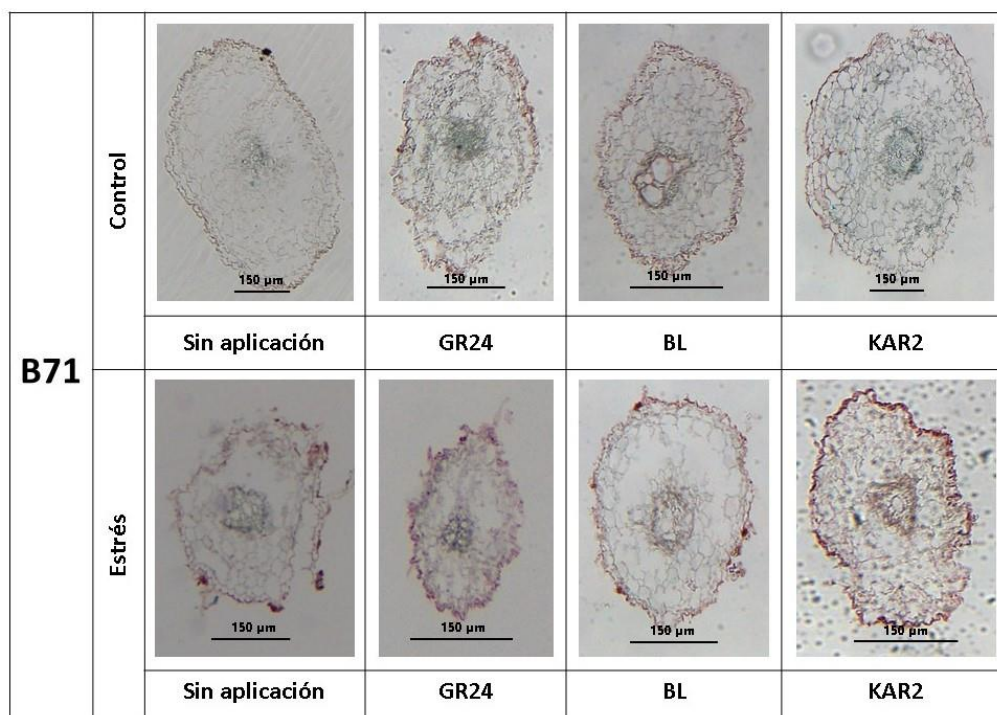


Fig. 38. Cortes histológicos de las raíces laterales de plántulas de la línea endocriada B71: controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM).

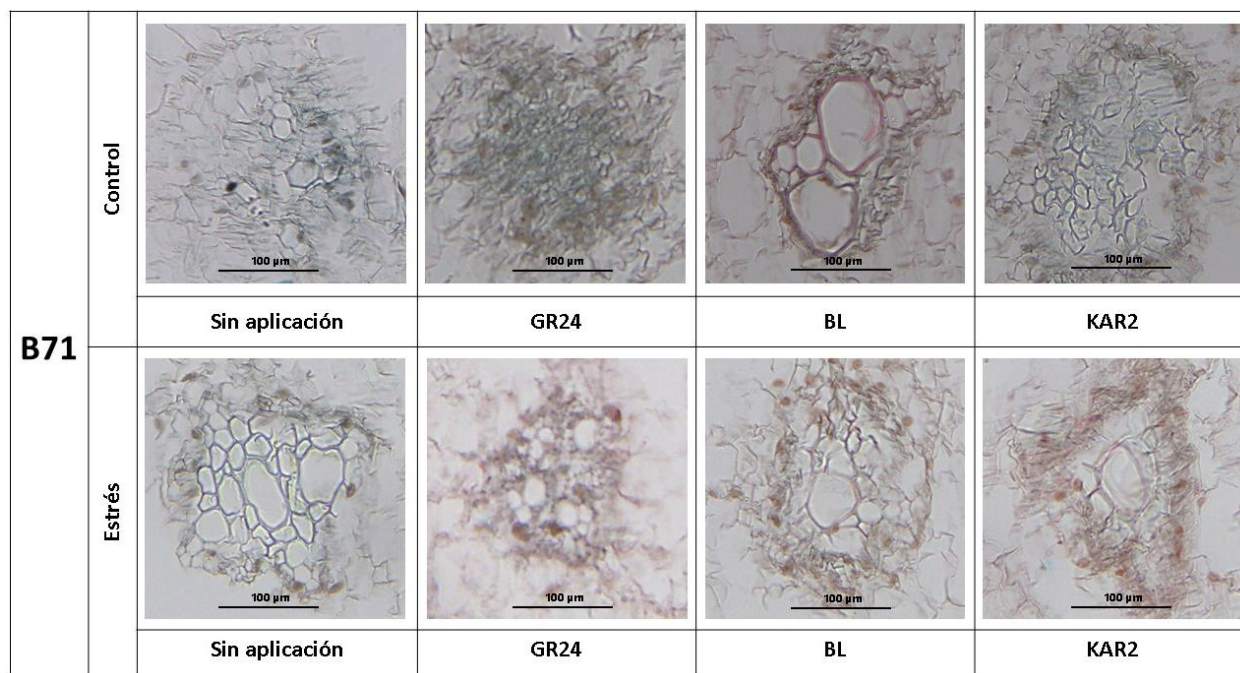


Fig. 39. Cortes histológicos en detalle del cilindro central de las raíces laterales de plántulas de la línea endocriada B71: controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM).

Tabla 3. Área total, área del cilindro central, y área de la corteza de las raíces laterales de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM) (n=4± SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a p<0,05 en cada columna.

		Cond,		Área		Área cilindro		Área	
Línea		Hídrica	Tratamiento	total (µm ²)		central (µm ²)		corteza (µm ²)	
Raíz Lateral	B59	Control	Sin tratar	37287,97 ± 4111	g	18170,11 ± 2092	b	19117,86 ± 2045	g
			GR24	23977,89 ± 291	h	1564,23 ± 197	f	22413,48 ± 94	g
			BL	69244,38 ± 3263	c	7923 ± 2207	d	61321,38 ± 1060	b
			KAR2	61944,77 ± 1178	d	7135,62 ± 509	d	54809,15 ± 670	c
		Estrés Hídrico	Sin tratar	49812,01 ± 4659	e	3026,98 ± 36,3	f	46785,02 ± 4695	d
			GR24	94553,32 ± 848	a	12677,73 ± 897,5	c	81875,58 ± 49	a
			BL	54201,415 ± 710	e	5454,995 ± 162	e	48746,42 ± 872	d
			KAR2	28973,92 ± 74	g	2043,4 ± 204	f	26930,1 ± 131	f
	B71	Control	Sin tratar	86042,88 ± 3067	b	9508,25 ± 1399	d	76534,63 ± 2363	a
			GR24	40987,12 ± 642	f	3151,32 ± 40	f	37835,8 ± 602	e
			BL	31388,55 ± 759	g	2856,545 ± 155	f	28532,01 ± 914	f
			KAR2	73575,15 ± 11028	c	24681,33 ± 2675	a	48893,82 ± 10927	d
		Estrés Hídrico	Sin tratar	35150,7 ± 4490	g	4572,83 ± 876	e	30577,82 ± 3614	f
			GR24	15413,84 ± 346	i	1062,12 ± 140	f	14351,71 ± 206	h
			BL	33400,03 ± 85	g	3423,38 ± 236	f	29976,64 ± 321	f
			KAR2	32605,81 ± 2653	g	2640,7 ± 31	f	29965,10 ± 2622	f

Parámetros fisiológicos

Se observó un aumento en el nivel endógeno de JA en las plántulas de ambas líneas crecidas en condición control luego de la aplicación de los tres PGRs, siendo KAR2 el que ocasionó el mayor incremento (Fig. 40). Cuando las plántulas fueron sometidas a estrés hídrico se registró un leve aumento en JA en raíces de las plántulas de la línea B71. Las raíces estresadas de B59 evidenciaron un incremento significativo como consecuencia de la aplicación de GR24 y KAR2. Por otro lado, se observó en las raíces de B71 un mayor contenido de JA luego de la aplicación de los tres reguladores empleados, mayormente BL (Fig. 40).

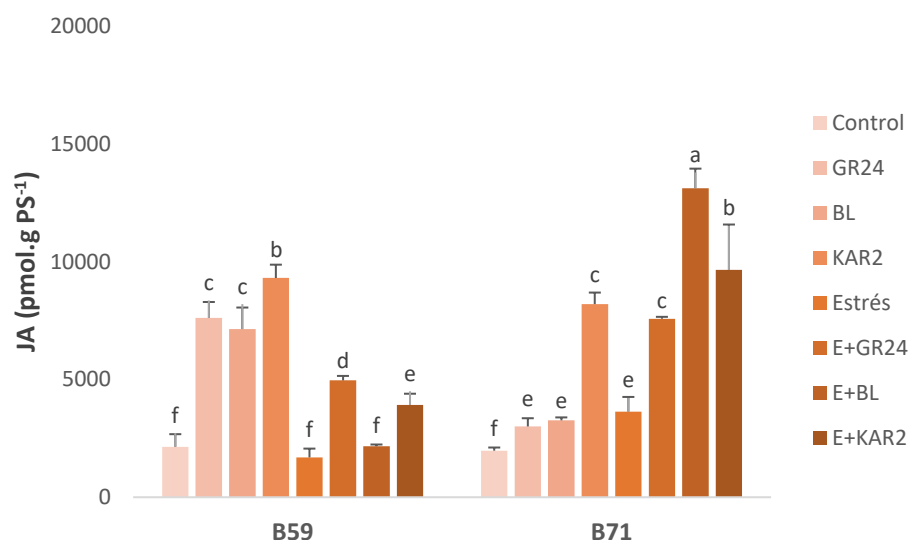


Fig. 40. Niveles endógenos de ácido jasmónico (JA) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM) ($n=4\pm SE$). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p<0,05$.

Con respecto a los niveles de AIA cuantificados bajo condición control, experimentaron un incremento cuando se aplicó GR24 y KAR2 en las plántulas B59 y, una disminución en B71, mientras que, la aplicación de BL ocasionó un incremento sólo en B71 (Fig. 41). Cuando las plántulas fueron sometidas a estrés hídrico, se registró un aumento en los niveles AIA en B71. Por otro lado, los tres PGRs produjeron un aumento en el nivel endógeno de esta fitohormona en las raíces de B59. En cambio, en las raíces de B71 solo luego de la aplicación de BL se detectó un incremento significativo (Fig. 41).

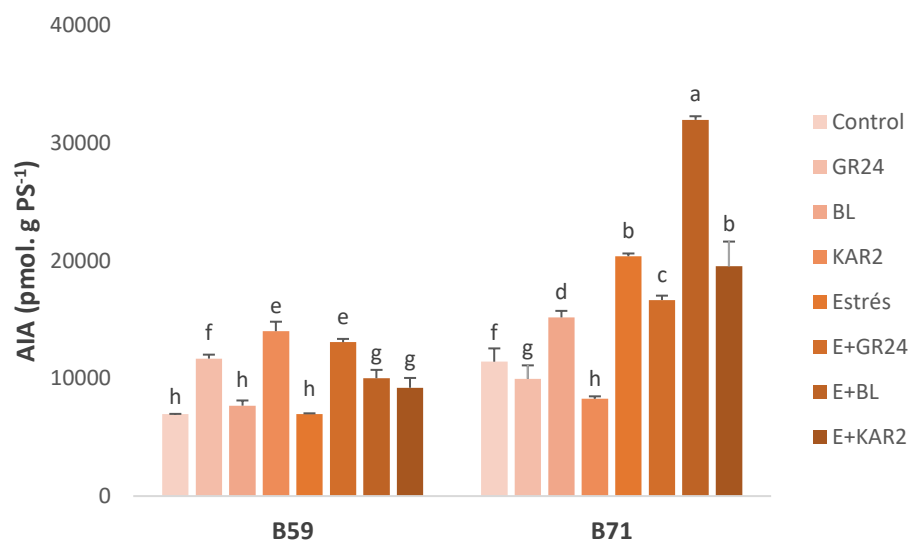


Fig. 41. Niveles endógenos de ácido indol acético (AIA) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM) ($n=4\pm SE$). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p<0,05$.

En cuanto a ABA, sus niveles endógenos se vieron incrementados con la aplicación de BL en plántulas de B71 bajo condición control y, disminuidos con la aplicación de KAR2 en B71 y GR24 en ambas líneas endocriadas (Fig. 42). Luego del estrés hídrico impuesto, se detectó una disminución en el nivel endógeno de esta fitohormona en las raíces de la línea B59, en tanto que aquellas de B71 mostraron un aumento significativo en este parámetro. La aplicación de GR24 incrementó el nivel endógeno de ABA en ambas líneas endocriadas mientras que, BL ocasionó un aumento de esta fitohormona en las raíces de B71 (Fig. 42).

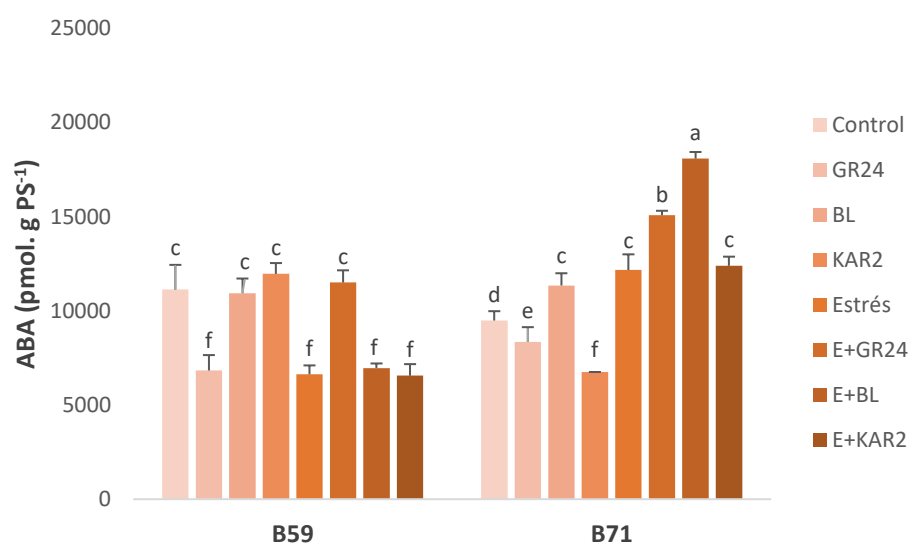


Fig. 42. Niveles endógenos de ácido abscísico (ABA) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM) ($n=4\pm SE$). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p<0,05$.

En cuanto a los niveles endógenos de ZEA, bajo la condición control la aplicación de GR24 ocasionó un incremento en sus niveles en raíces de la línea B59, y la aplicación de BL, en la línea B71 (Fig. 43). Por otro lado, la aplicación de KAR2 ocasionó un incremento en el nivel endógeno de ZEA en B59 y, contrariamente una disminución en B71. Cuando las plántulas fueron sometidas a estrés hídrico, el nivel de ZEA se mantuvo sin cambios en las raíces de B59, aunque incrementó significativamente en raíces de B71. Además, la aplicación de BL promovió un notable aumento del 63% en el contenido endógeno de ZEA en B71, mientras que en B59, los reguladores GR24 y BL produjeron leves cambios (Fig. 43).

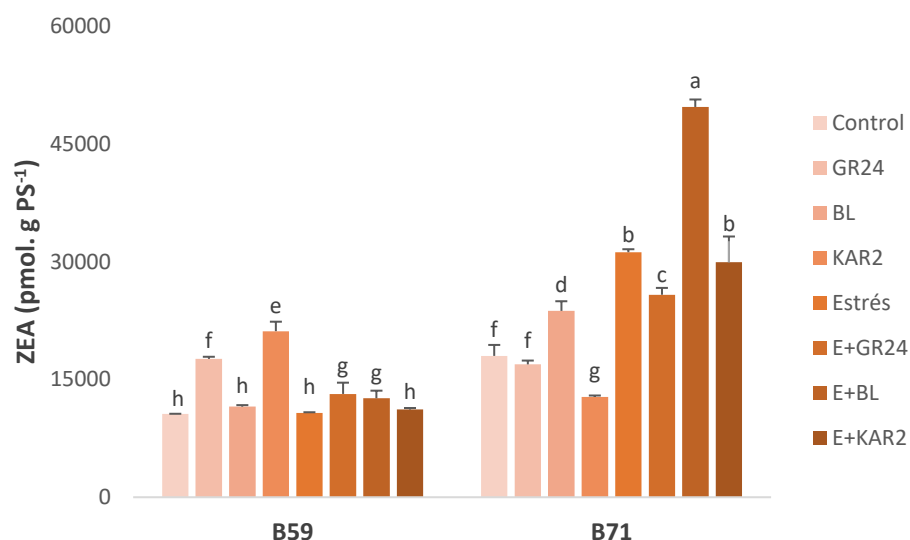


Fig. 43. Niveles endógenos de zeatina (ZEA) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 μ M); BL (0,01 μ M) o KAR2 (10 nM) ($n=4\pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p<0,05$.

Bajo condiciones de crecimiento control, la aplicación de los distintos PGRs disminuyó el contenido endógeno de GA₁ en raíces de ambas líneas endocriadas (Fig. 44). Cuando las plántulas fueron sometidas a estrés hídrico, se observó una disminución en B59 mientras que en B71 se registró un aumento significativo. La aplicación de BL ocasionó una disminución del contenido de GA₁ en raíces de B59, mientras que la aplicación de KAR2 ocasionó este efecto en raíces de ambas líneas (Fig. 44).

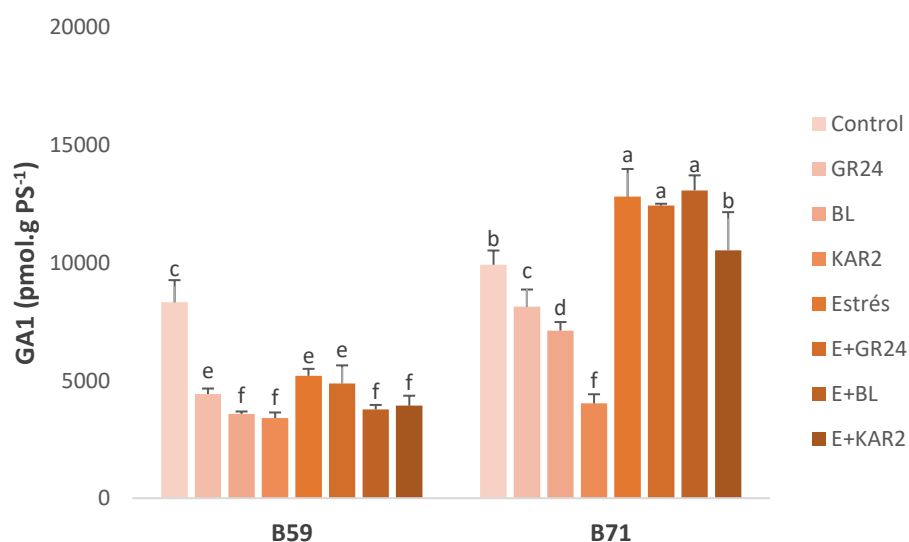


Fig. 44. Niveles endógenos de giberelina 1 (GA1) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 μ M); BL (0,01 μ M) o KAR2 (10 nM) ($n=4\pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p<0,05$.

En cuanto al contenido endógeno de brasinolide (BL), bajo condiciones de crecimiento control las raíces de B59 evidenciaron un menor contenido que las de B71 (Fig. 45). Cuando las plántulas fueron sometidas a estrés hídrico, se observó una disminución en el contenido endógeno de esta fitohormona en las raíces de la línea B59 y contrariamente, un aumento significativo en raíces de B71. La aplicación de BL y KAR2 ocasionó un incremento en el contenido endógeno de BL en raíces de plántulas control de ambas líneas y en raíces de plántulas estresadas solo de la línea B59 (Fig. 45).

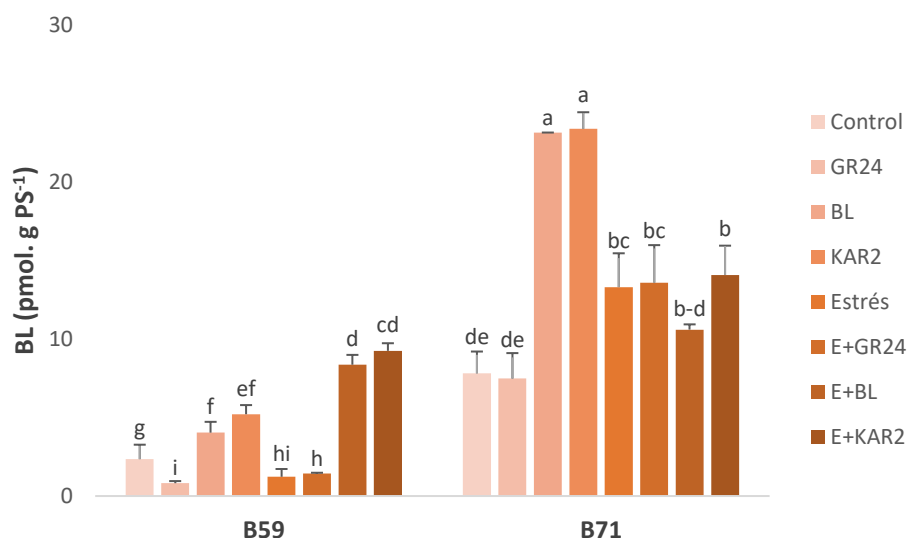


Fig. 45. Niveles endógenos de brasinolide (BL) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM) ($n=4 \pm SE$). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

En referencia a 24-epibrasinolide (24-epiBL), se observó un aumento significativo (7,55 veces) en su contenido endógeno en raíces de B71 por efecto del estrés hídrico impuesto (Fig. 46). La aplicación exógena de los tres PGRs ocasionó un aumento de 24-epiBL en raíces de plántulas control de ambas líneas, mientras que en raíces de plántulas estresadas la aplicación de KAR2 incrementó el nivel endógeno de 24-epiBL en raíces de B59 y lo disminuyó en B71 (Fig. 46).

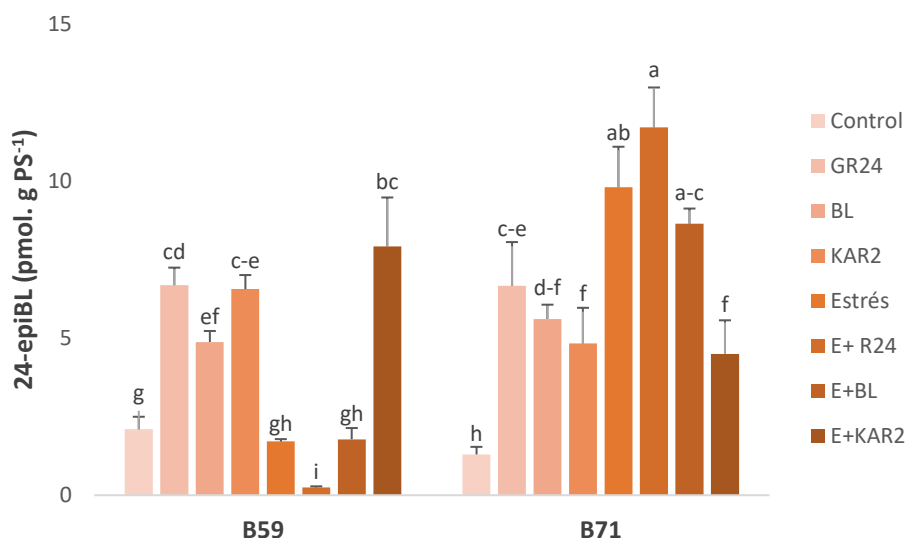


Fig. 46. Niveles endógenos de 24-epibrasinolide (24-epiBL) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM) ($n=4 \pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

28- norcastasterona (28-norCS) presentó un contenido endógeno mayor en raíces de plántulas control pertenecientes a la línea B71 (Fig. 47). Por otro lado, evidenció un aumento significativo en raíces de plántulas estresadas pertenecientes a ambas líneas en estudio. La aplicación de KAR2 en plántulas crecidas bajo condición control incrementó el contenido de este brasinoesteroide en raíces de ambas líneas, siendo dicho incremento notablemente mayor en B71. En raíces de plántulas estresadas, la aplicación exógena de BL ocasionó un incremento significativo en el contenido endógeno de 28-norCS en ambas líneas, mientras que la aplicación de GR24 solo lo hizo en raíces de B71. Contrariamente, luego de la aplicación de KAR2 se observó una disminución en el contenido de 28-norCS en raíces de ambas líneas (Fig. 47).

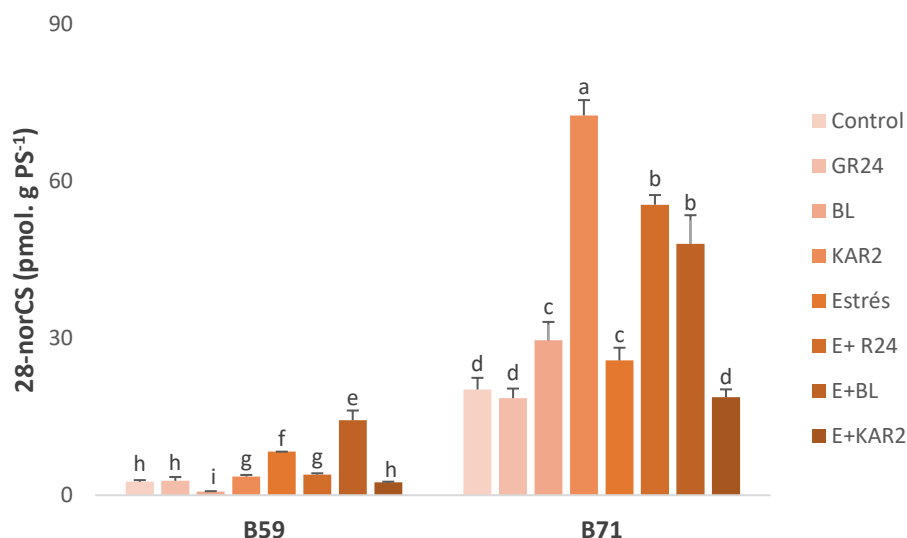


Fig. 47. Niveles endógenos de 28- norcastasterona (28-norCS) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM) ($n=4 \pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

El contenido endógeno de castasterona (CS) fue significativamente mayor en raíces de B59 crecidas bajo condición control (Fig. 48). Un incremento significativo (4,15 veces) en el contenido endógeno de esta fitohormona fue registrado en raíces de plántulas de la línea B59 cuando las mismas fueron sometidas a estrés hídrico. La aplicación KAR2 en plántulas crecidas bajo condición control produjo un aumento en el contenido de CS en raíces de ambas líneas mientras que la aplicación de GR24 lo ocasionó solo en raíces de B59. En raíces de plántulas estresadas, los tres PGRs incrementaron el contenido de CS, siendo estos aumentos más notables en B59 (Fig. 48).

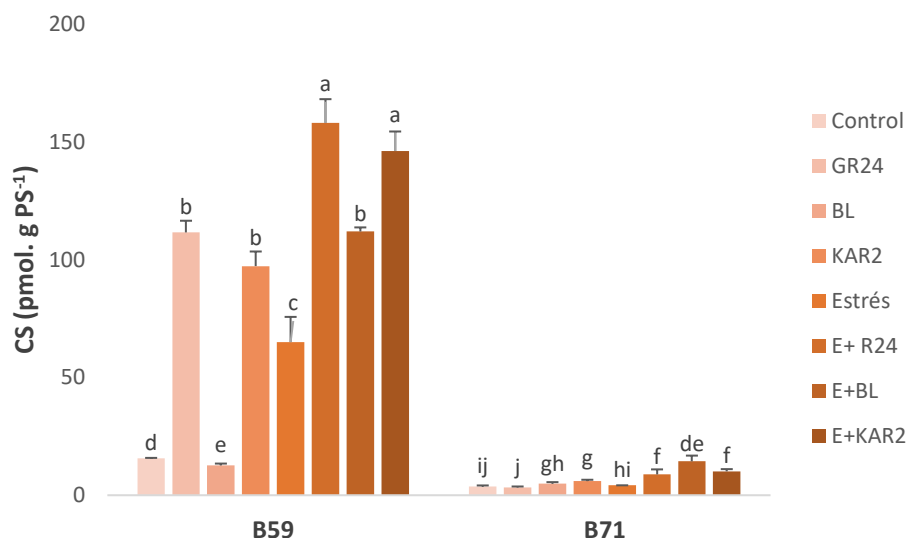


Fig. 48. Niveles endógenos de castasterona (CS) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM) ($n=4 \pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

Con respecto a 28- homocasterona (28-homoCS), el contenido endógeno de esta fitohormona fue mayor en raíces de plántulas control de B71 y evidenció un aumento significativo (2,12 veces) en raíces de plántulas estresadas pertenecientes a esta línea (Fig. 49). La aplicación de GR24 y BL en plántulas crecidas bajo condición control ocasionó un incremento en el contenido de 28-homoCS en raíces de B59 mientras que en B71 ocasionó una disminución. En raíces de plántulas crecidas bajo estrés hídrico la aplicación de BL y KAR2 incrementó notablemente el contenido de 28-homoCS en B59 (3,98 y 10,11 veces respectivamente) mientras que en B71 la aplicación de los tres PGRs disminuyeron el contenido endógeno de este brasinoesteroide (Fig. 49).

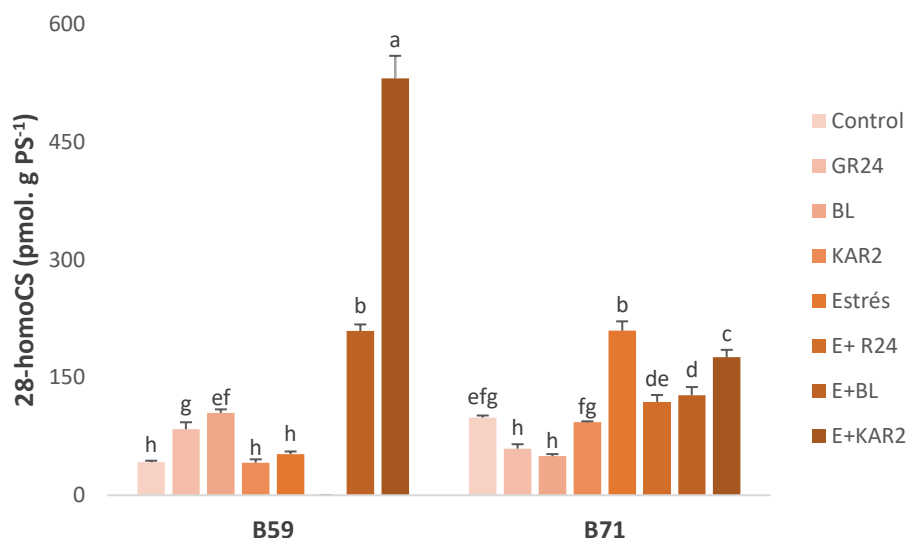


Fig. 49. Niveles endógenos de 28- homocasterona (28- homoCS) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM) (n=4± SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a p<0,05.

En cuanto a homodolicholide (homoDL), su contenido endógeno bajo condición control, fue mayor en raíces de B59 (Fig. 50). El estrés hídrico ocasionó un incremento significativo en el nivel endógeno de esta fitohormona en raíces de B59 mientras que en raíces de B71 provocó una disminución. La aplicación exógena de BL en plántulas estresadas ocasionó un notable incremento (1,96 veces) en el contenido de homoDL en raíces de B59 (Fig. 50).

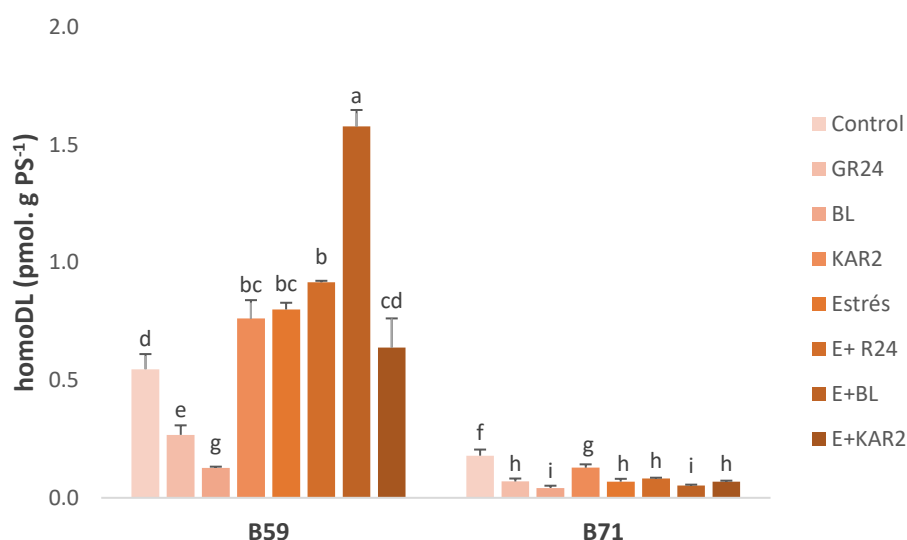


Fig. 50. Niveles endógenos de homodolicholide (homoDL) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM) (n=4± SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a p<0,05.

Respecto al contenido endógeno de teasterona (TE), resultó significativamente mayor en raíces de plántulas control B59 (Fig. 51). Se observó una disminución en raíces de plántulas estresadas de ambas líneas, siendo notablemente mayor en B59 (9,41 veces). La aplicación exógena de BL ocasionó un aumento leve en el nivel endógeno de TE en raíces de plántulas estresadas de ambas líneas en estudio. Por otro lado, luego de la aplicación de KAR2 se observó un aumento de 9,34 veces en el contenido de TE de raíces de plántulas estresadas de B59 mientras que para B71 fue registrada una disminución significativa de 2,81 veces (Fig. 51).

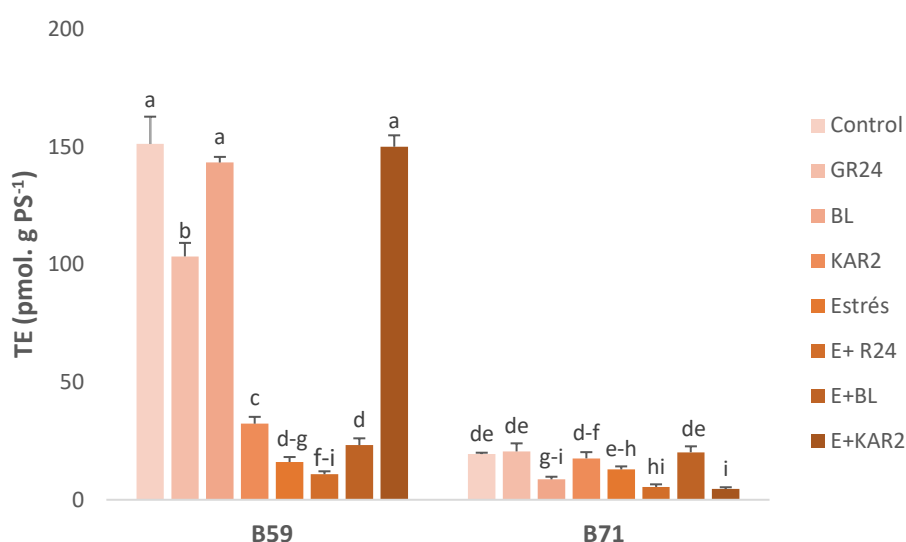


Fig. 51. Niveles endógenos de teasterona (TE) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM) (n=4± SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a p<0,05.

Parámetros bioquímicos

Las raíces de las plántulas de ambas líneas endocriadas evidenciaron un aumento significativo (1,91 veces en B59 y 2,24 veces en B71) en el contenido de carbohidratos solubles totales cuando fueron sometidas a estrés hídrico (Fig. 52). La aplicación de PGRs tanto a plántulas controles como estresadas incrementó significativamente el contenido de carbohidratos solo en raíces de plántulas B71, siendo BL el que produjo el mayor efecto (Fig. 52).

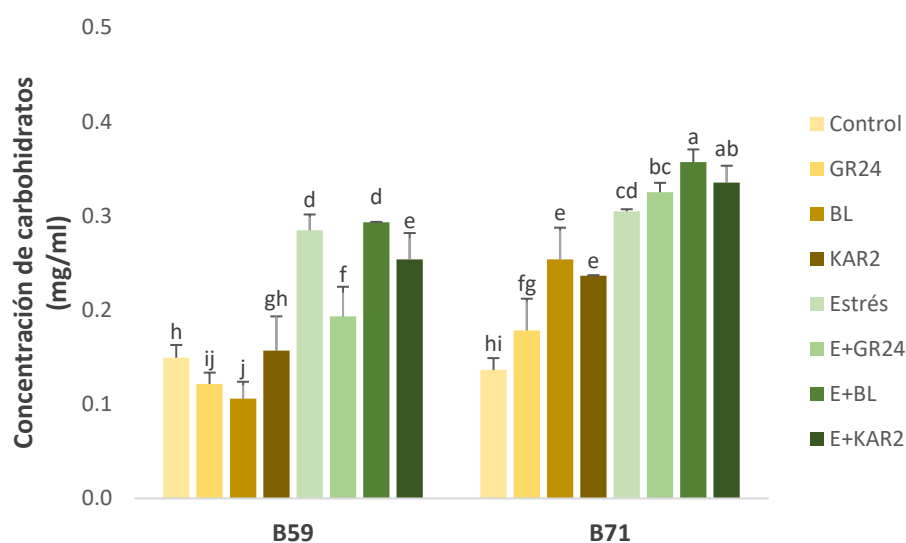


Fig. 52. Concentración de carbohidratos solubles totales en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM) ($n=4 \pm SE$). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

En cuanto a la concentración de prolina, se evidenció el mayor valor en raíces control de B71 (Fig. 53). Por otro lado, se observó un notable aumento (7 veces) en la concentración de prolina en raíces de plántulas estresadas de la línea B59 en comparación con aquellas crecidas en condiciones óptimas de humedad. Contrariamente, las raíces de B71 evidenciaron una disminución significativa en dicho compuesto cuando las plántulas fueron sometidas a estrés hídrico. La aplicación de los tres PGRs ocasionó un aumento significativo en el contenido de prolina en las raíces estresadas de plántulas B71. Por otro lado, en las raíces de plántulas B59 se observó una menor concentración de prolina luego de la aplicación exógena de los tres PGRs respecto de aquellas plántulas estresadas sin aplicación (Fig. 53).

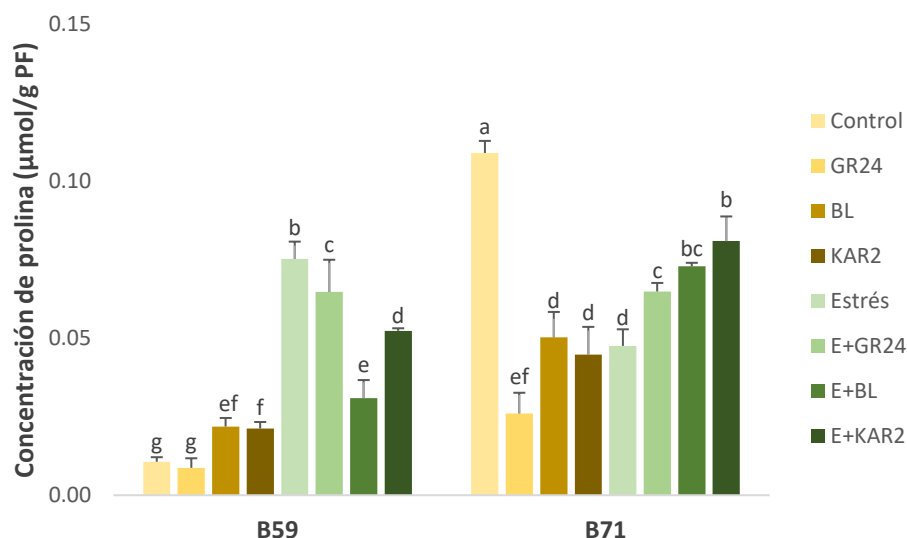


Fig. 53. Concentración de prolina en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 μ M); BL (0,01 μ M) o KAR2 (10 nM) ($n=4 \pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

En cuanto a la concentración de glicina betaína, la misma fue mayor en raíces de plántulas control de B71 (Fig. 54) y se evidenció un aumento significativo en las raíces de ambas líneas endocriadas (1,3 veces en B59 y 1,27 veces en B71) por efecto del estrés hídrico impuesto. La aplicación de GR24 ocasionó un aumento en el contenido de este compuesto en raíces de ambas líneas crecidas en condiciones control, mientras que KAR2 produjo dicho efecto solo en raíces de B71. Por otro lado, BL y KAR2 causaron una reducción significativa en glicina betaína en raíces de plántulas estresadas de ambas líneas (Fig. 54).

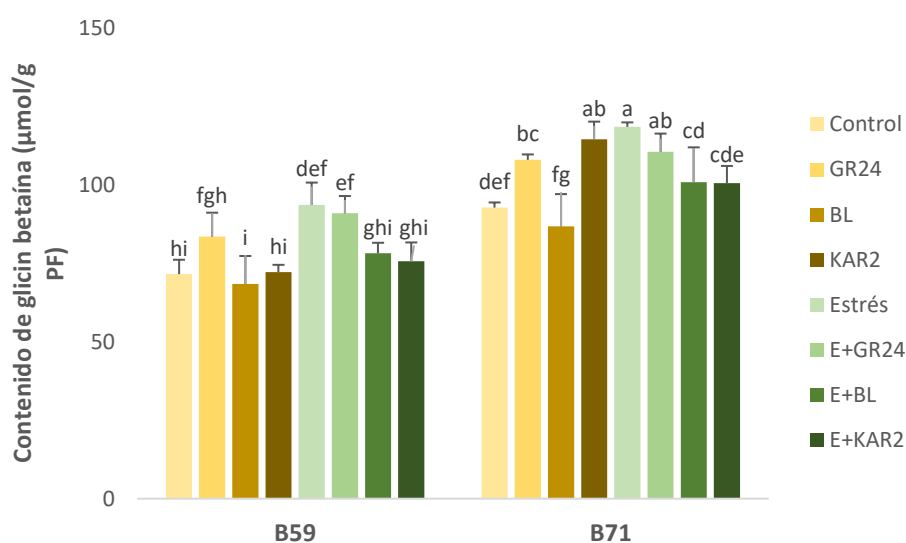


Fig. 54. Concentración de glicina betaína en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 μ M); BL (0,01 μ M) o KAR2 (10 nM) ($n=4 \pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

La Fig. 55 resume los resultados obtenidos respecto al contenido de H_2O_2 . Bajo condición control se observó un mayor contenido de dicho compuesto en raíces de la línea B71. Por otro lado, se registró un aumento significativo en el contenido de H_2O_2 en las raíces de las plántulas de ambas líneas en respuesta al tratamiento de estrés hídrico impuesto. La aplicación de los tres PGRs ocasionó una disminución en dicho contenido en las raíces de plántulas estresadas B71; en B59, este efecto solo lo causó la aplicación de GR24 y KAR2 (Fig. 55).

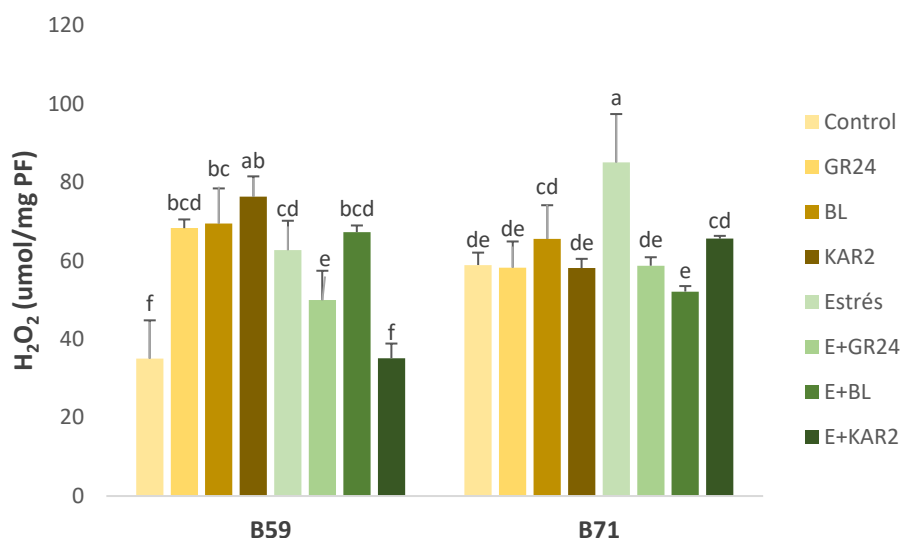


Fig. 55. Contenido de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 μ M); BL (0,01 μ M) o KAR2 (10 nM) ($n=4 \pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $P < 0,05$.

En líneas generales, el contenido de GSH fue mayor en raíces de plántulas de la línea B71. Las plántulas estresadas de ambas líneas evidenciaron un mayor contenido de GSH respecto a sus controles (Tabla 4).

Tabla 4. Contenido de glutatión reducido (GSH) en raíces de plántulas según línea (B59 y B71) y condición hídrica (control y estrés hídrico) ($n=4 \pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $P < 0,05$.

Línea	Condición Hídrica	Media
B71	Estrés hídrico	1,46 $\pm$ 0,08 a
B71	Control	1,10 $\pm$ 0,17 b
B59	Estrés hídrico	0,98 $\pm$ 0,09 c
B59	Control	0,78 $\pm$ 0,15 d

Las raíces de plántulas estresadas de ambas líneas tratadas con los PGRs mostraron un mayor contenido de GSH con respecto a aquellas que no recibieron aplicación. Particularmente, cuando se aplicó BL de manera exógena el contenido de GSH mostró un incremento significativo tanto en raíces controles como estresadas de ambas líneas (Tabla 5).

Tabla 5. Contenido de glutatión reducido (GSH) en raíces de plántulas de ambas líneas según condición hídrica (control y estrés hídrico) y tratamiento con PGRs (GR24 (3 uM), BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM)) (n=4± SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a P < 0,05.

Condición Hídrica	Tratamiento (PGRs)	Media
Estrés hídrico	BL	1,34 ± 0,33 a
Estrés hídrico	GR24	1,20 ± 0,31 b
Estrés hídrico	KAR2	1,18 ± 0,37 b
Estrés hídrico	Sin aplicación	1,16 ± 0,36 b
Control	BL	1,16 ± 0,24 b
Control	KAR2	0,97 ± 0,25 c
Control	GR24	0,85 ± 0,23 d
Control	Sin aplicación	0,79 ± 0,20 d

En cuanto al contenido de MDA bajo condición control, se registró el mayor valor en las raíces de B71 (Fig. 56). El tratamiento de estrés hídrico impuesto incrementó levemente el contenido de MDA en raíces de plántulas de la línea B59. En la línea B71, no se observaron modificaciones en este compuesto. Por otro lado, la aplicación exógena de GR24 y KAR2 disminuyó significativamente el contenido de MDA sólo en raíces de plántulas estresadas B59 (Fig. 56).

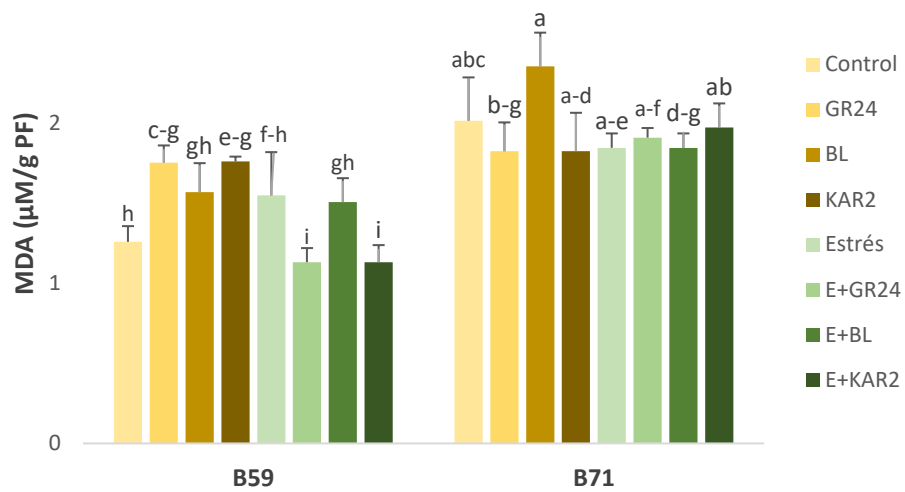


Fig. 56. Contenido de malondialdehído (MDA) en raíces de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (3 uM); BL (0,01 uM) o KAR2 (10 nM) ($n=4 \pm SE$). Letras diferentes indican diferencias significativas a $P < 0,05$.

Discusión

El estrés hídrico es uno de los estreses ambientales más perjudiciales, considerado de tipo multidimensional debido a que provoca cambios a nivel morfológico, fisiológico y bioquímico limitando la productividad de los cultivos alrededor del mundo (Ranjan et al., 2022). El sistema radical es el primer sitio de detección de la disponibilidad hídrica en el suelo (Li et al., 2021a), y se encuentra bien documentado que su arquitectura sufre modificaciones bajo condiciones de déficit hídrico, tendientes a favorecer la absorción de agua y nutrientes, por lo tanto, desempeñando un rol crucial en la adaptación de los cultivos a este tipo de estrés (Ye et al., 2018; Ranjan et al., 2022; Sandar et al., 2022). En este trabajo, plántulas de girasol de las líneas endocriadas B59 y B71 presentaron modificaciones en distintos parámetros morfo-anatomo-histológicos, fisiológicos y bioquímicos de su sistema radical luego de ser sometidas a un breve período de estrés hídrico moderado durante su crecimiento vegetativo temprano (V4).

Parámetros morfo-anatomo-histológicos

La raíz constituye un órgano fundamental en las plantas, que proporciona soporte estructural a los órganos aéreos y actúa como el principal sitio de percepción y absorción de agua y nutrientes del suelo necesarios para su crecimiento y desarrollo (Du et al., 2020; Li et al., 2021a). Debido a su estrecho contacto con el suelo, este órgano se encuentra severamente afectado por el estrés hídrico, y es por ello que la planta posee la capacidad de modificar la arquitectura de su sistema radical (número de raíces, longitud, posición y ángulo) en una forma ventajosa de adaptación frente a dicha condición estresante (Djanaguiraman et al., 2019). Se encuentra ampliamente documentado que, frente a un escenario ambiental caracterizado por la escasez hídrica, los cultivos evidencian diferentes estrategias a nivel de sus sistemas radicales con la finalidad de modificar la dirección de crecimiento y la ramificación de las raíces hacia aquellas zonas del suelo donde el agua se encuentre más disponible (Calleja-cabrera et al., 2020).

La raíz principal evidenció diversas modificaciones cuando las plántulas fueron sometidas a estrés hídrico. En primer lugar, la disminución en su longitud observada en raíces de ambas líneas representa una respuesta típica observada para varios cultivos, entre ellos trigo (Chen et al., 2021) y arroz (Tiwari et al., 2021) en respuesta al estrés hídrico (Calleja-cabrera et al., 2020). Tal disminución fue ligeramente mayor en B59, lo cual podría coincidir

con su mayor sensibilidad frente a este tipo de estrés. Luego del tratamiento exógeno con los diferentes PGRs, se observó una disminución en la longitud de la raíz principal en plántulas crecidas bajo estrés. Contrariamente a nuestros resultados, Ribeiro et al. (2019) reportaron que, en plántulas de soja expuestas a déficit hídrico, el tratamiento con otro brasinoesteroide como 24-epibrassinolide incrementó dicho parámetro en comparación con aquellas plántulas no tratadas. Por otro lado, la aplicación exógena de GR24 en colza no tuvo efecto significativo en la longitud de la raíz primaria (Ni et al., 2020); mientras que Yang et al. (2023) observaron que, bajo estrés por sequía, el tratamiento con GR24 aumentó la longitud de la raíz en plántulas de alfalfa. En contraste con nuestros resultados, Shah et al. (2020) observaron que, bajo condiciones de estrés osmótico y salino, la aplicación de KAR1 promovió el crecimiento de longitud de la raíz primaria. Por otro lado, no se han informado modificaciones significativas de KARs sobre la longitud de la raíz primaria de *Arabidopsis* (Villaécija-Aguilar et al., 2019), mientras que un efecto positivo del tratamiento con KAR1 fue registrado en la raíz de arroz, tomate y maíz (Antala et al., 2019).

La superficie de la raíz se relaciona de manera directa con el área disponible para la absorción de agua y nutrientes (Mao et al., 2017; Zhao et al., 2024b). El incremento detectado tanto en la superficie como en la superficie proyectada de la raíz principal de ambas líneas concuerda con Quandahor et al. (2021), quienes reportaron que diferentes cultivares de papa con tolerancia variable a la sequía (Qingshu 9: tolerante, Longshu 3: moderadamente tolerante y Atlantic: sensible), mostraron un aumento diferencial en estos parámetros bajo estrés hídrico comparado con la condición control, siendo Atlantic el cultivar que presentó los menores valores y Qingshu 9, los mayores. Contrariamente, la disminución observada en la superficie de la raíz principal de B59 y superficie proyectada de ambas líneas endocriadas en estudio luego de la aplicación exógena de los tres PGRs, no coincide con lo reportado previamente por otros autores. En este sentido, Salah et al. (2022) observaron que la aplicación foliar de BRs en plantas de maíz en estadio de crecimiento V3 y V5 bajo influencia de otro tipo de estrés abiótico tal como el encharcamiento, ocasionó un aumento en la superficie radicular. Por otro lado, Li et al. (2019) reportaron un aumento significativo en la superficie del sistema radical de plántulas de vid ‘Cabernet Sauvignon’ asperjadas con GR24 bajo condiciones de estrés hídrico.

Además, en las plántulas sometidas a estrés hídrico y en comparación con sus respectivos controles, se observó un incremento en el diámetro medio de la raíz principal en la línea B59, mientras que en B71 este parámetro disminuyó. Esta respuesta opuesta podría estar asociada a diferentes estrategias morfológicas desarrolladas por cada línea en relación

con su sensibilidad frente a estrés hídrico. Se ha reportado que, bajo condiciones de sequía, tanto el desarrollo de raíces de menor como de mayor grosor son respuestas que benefician a los cultivos frente a este estrés (Kou et al., 2022). En nuestro estudio, el aumento registrado en B59 podría vincularse con la capacidad de las raíces de mayor grosor para penetrar a mayor profundidad, explorar suelos compactos y mejorar la absorción de agua (Wasaya et al., 2018; Li et al., 2021a). En contraste, la reducción observada en B71 constituye una respuesta frecuentemente detectada en plantas sometidas a estrés hídrico, debido a que el desarrollo de raíces más finas favorece la conservación de recursos cuando disminuye la producción de materia seca y, al incrementar la relación superficie-volumen, mejora la captación del agua disponible en el suelo (Kou et al., 2022). En este sentido, la reducción en el diámetro radical disminuye la barrera apoplástica para el ingreso de agua al xilema, incrementando la conductancia hidráulica (Kim et al., 2020). Estos resultados concuerdan con lo informado por Canales et al. (2021), quienes registraron una disminución en el diámetro promedio de las raíces de un genotipo resistente de *Avena sativa* L. posterior al tratamiento de estrés hídrico. En cuanto al efecto de los PGRs, la disminución del diámetro de la raíz principal en plántulas estresadas de B71 tras la aplicación exógena de KAR2, y en B59 luego de la aplicación de los tres reguladores, podría interpretarse como una estrategia orientada a incrementar la relación superficie-volumen y favorecer así el ingreso de agua hacia el interior de la raíz. En concordancia, Xu et al. (2021) reportaron una disminución significativa en el diámetro de la raíz de plantas de *Vitis vinifera* L. crecidas bajo un estrés de tipo físico como la restricción radicular tras la aplicación de GR24 (0,1 M) en comparación con su respectivo control. Por el contrario, en las raíces de plántulas estresadas de la línea B71, el incremento inducido por la aplicación de BL podría estar relacionado con una mejora en la capacidad de penetración del sustrato por parte de raíces de mayor grosor, en coincidencia con lo observado por Salah et al. (2022) en raíces de maíz bajo condiciones de anegamiento luego de la aplicación foliar de brasinoesteroides.

El ángulo de inserción hace referencia al ángulo comprendido entre una raíz lateral y la raíz principal a partir de la cual emerge (Mitchell et al., 2018; Kiryushkin et al., 2024) y determina la distribución de las raíces en el sustrato y la capacidad de exploración en los distintos horizontes del suelo (Schneider et al., 2022). Un sistema radical superficial con ángulos poco pronunciados posee una mayor capacidad de exploración en las capas superiores del suelo, donde se encuentran disponibles nutrientes con poca movilidad; por el contrario, un sistema con ángulos menores es capaz de captar nutrientes móviles y agua de horizontes más profundos del suelo (Schneider et al., 2022). En nuestro estudio, el sistema

radical de plántulas de la línea B71 mostró una disminución en el ángulo de inserción de las raíces laterales bajo condiciones de estrés hídrico, mientras que en la línea B59 se observó un incremento de este parámetro. Esta respuesta diferencial entre genotipos podría reflejar estrategias contrastantes para enfrentar la condición desfavorable, optimizando la captación de agua y nutrientes en distintos horizontes del suelo. En este sentido, la reducción del ángulo de inserción en plántulas estresadas de B59 tratadas con GR24 y BL sugiere una modificación de la arquitectura radical orientada a favorecer la exploración en profundidad del sustrato, lo que potencialmente contribuiría a una mayor absorción de agua y nutrientes disponibles en capas más profundas.

En cuanto al número de raíces laterales, su incremento en plántulas de B71 luego de la exposición al estrés es una respuesta típicamente observada para otras especies. Ranjan et al. (2022) reportaron que la arquitectura del sistema radical es capaz de modificarse considerablemente bajo estrés hídrico, estimulando la formación de raíces laterales y pelos radiculares, entre otras alteraciones. En concordancia, Mahmood et al. (2022) informaron bajo condiciones de estrés hídrico un aumento significativo en el número de raíces laterales de plántulas de algodón de genotipos tolerantes a dicho estrés. Además, es importante destacar que cada línea muestra una respuesta diferente frente al estrés hídrico en cuanto a la disposición de las mismas con respecto a la raíz principal. En el caso de la línea B59, las raíces laterales se concentran en la zona superior de la raíz principal y con menor densidad a lo largo de la misma, mientras que en B71 se observa claramente la disposición de raíces laterales a lo largo de toda la extensión de la raíz principal, y principalmente en su porción final, lo cual podría permitirle la exploración en profundidad del suelo. Ha sido demostrado que genotipos de trigo que presentan mayor cantidad de raíces en profundidad y menor en superficie tienden a un mayor rendimiento bajo condiciones de secano (Wasaya et al., 2018).

Luego de la aplicación de los PGRs se observó una disminución del número de raíces laterales en plántulas estresadas de ambas líneas. En concordancia con nuestros resultados, Jiu et al. (2022) observaron una disminución en el número de raíces laterales en plantas de *Vitis vinifera* L. luego de la aplicación de GR24. Por otro lado, Liu et al. (2020) reportaron que la aplicación de GR24 no tuvo efectos significativos en el número de raíces laterales de plantas de festuca (*Festuca arundinacea* Schreb.) expuestas a estrés hídrico mientras que, por el contrario, la aplicación de brasinolide promovió la producción de raíces laterales en dichas plantas. En contraposición con nuestros resultados, se ha informado que en plántulas de *Sapium sebiferum* L. crecidas bajo condiciones de estrés osmótico y salino, la aplicación de KAR1 aumentó el número de raíces laterales por plántula (Shah et al., 2020).

En referencia a la producción de biomasa, la disminución observada en peso fresco y el aumento en peso seco en raíces de B59, en contraste con la estabilidad, es decir la ausencia de modificaciones en B71, pone en evidencia la sensibilidad diferencial de las líneas frente a la condición de estrés hídrico. Filová (2014) reportó que, en plantas de girasol sometidas a estrés hídrico, la reducción del peso de las raíces se relacionó con la severidad del estrés impuesto. Por otro lado, el aumento en peso tanto fresco como seco evidenciado en las raíces de plántulas estresadas de ambas líneas luego de la aplicación de los PGRs coincide con lo reportado por distintos autores. En girasol, por ejemplo, se observó una compensación en la reducción de biomasa causada por estrés hídrico leve luego de la aplicación de un tratamiento con 28-homobrassinolide (Filová, 2014). Además, se ha informado que KAR1 ocasionó un incremento en la biomasa radical de plantas de *Sapium sebiferum* crecidas bajo condiciones de estrés hídrico y salino (Shah et al., 2020; Kamran et al., 2024). Ni et al. (2020) observaron que el peso seco de la raíz de colza aumentó significativamente cuando se trató a las plantas con distintas concentraciones de GR24 en comparación con la condición control. Por otro lado, en nuestro trabajo, las modificaciones observadas en el peso seco radical ocasionadas por la aplicación exógena de los PGRs se correlacionan con la respuesta relativa de la biomasa radical al estrés observada en las líneas endocriadas en estudio. Dicha respuesta se vio incrementada con la aplicación de los tratamientos en ambas líneas.

En relación con los parámetros histológicos evaluados, la disminución del área total, del cilindro central y de la corteza de la raíz principal observada en la línea B71 por efecto del estrés hídrico, podría asociarse a una respuesta típica de los cultivos frente a esta condición, dado que, como se mencionó anteriormente, las raíces tienden a volverse más finas para favorecer la conducción del agua hacia el xilema (Kim et al., 2020). La reducción del cilindro central coincide con lo informado por Zulfiqar et al. (2020) en dos cultivares de *Tagetes erecta* L. con respuesta contrastante al estrés por sequía inducido por supresión de riego. En nuestro estudio, esta disminución en las raíces de plántulas crecidas bajo estrés hídrico, se relacionó directamente con una disminución significativa en el número y tamaño de los vasos xilemáticos, junto con una mayor lignificación de estos elementos. En este sentido, ha sido reportado que, bajo condiciones de escasez hídrica, la reducción del área de los tejidos conductores constituye una respuesta adaptativa de las plantas (Haworth et al., 2017), debido a que los vasos xilemáticos de mayor diámetro presentan una mayor susceptibilidad a la cavitación en comparación con vasos más pequeños (Canales et al., 2021). Similarmente, en raíces de girasol pertenecientes a cuatro híbridos (BRS323,

OLISUN03, AGUARÁ06 y HELIO250), se registró una reducción en el diámetro de vasos xilemáticos por efecto del estrés hídrico impuesto por supresión de riego (da Silva et al., 2025).

En cuanto al efecto de los PGRs, en las raíces de plántulas estresadas de B71 los PGRs aplicados tendieron a reforzar/mejorar las respuestas previamente desencadenadas por esta línea como consecuencia del tratamiento de estrés hídrico. La disminución del área total, de la corteza y particularmente, del cilindro central inducida por los tres reguladores podría estar relacionado con la reducción en el número de vasos xilemáticos y, en el caso del tratamiento con BL, también con una disminución en su diámetro. En este sentido, la presencia de vasos de menor tamaño implicaría un menor riesgo de cavitación, favoreciendo una conducción más eficiente del agua hacia el resto de la planta (Haworth et al., 2017; Canales et al., 2021). Sin embargo, nuestros resultados no concuerdan con lo reportado por Ribeiro et al. (2019), quienes observaron que la aplicación de 24-epibrassinolide en plantas de soja crecidas bajo estrés hídrico incrementó el área total de la raíz y el diámetro del cilindro vascular, entre otros parámetros. Por otro lado, en las raíces de B59 sometidas al tratamiento de estrés, el aumento de las áreas cuantificadas tras la aplicación de KAR2 podría estar asociado con un incremento en el número de vasos xilemáticos, lo que potencialmente favorecería una mayor conducción de agua y nutrientes.

En las raíces laterales, y como ya se mencionó anteriormente para el caso de la raíz principal, el aumento del área total y del área de la corteza de plántulas estresadas de la línea B59 podría representar una estrategia de defensa propia de este genotipo sensible al estrés, en la cual un mayor grosor radical favorecería la penetración en profundidad del suelo y optimizaría la extracción de agua (Wasaya et al., 2018; Li et al., 2021a). En contraste, la disminución observada de estas áreas en las raíces laterales de plántulas estresadas de B71 sugiere el desarrollo de raíces más finas, con mayor superficie de contacto con la humedad del sustrato, lo que favorecería el ingreso de agua al xilema a través de una vía apoplástica reducida (Kim et al., 2020; Kou et al., 2022). Por otra parte, la disminución detectada en el área del cilindro central de raíces laterales de B71 luego de la aplicación del tratamiento de estrés, podría asociarse al igual que en la raíz principal, con una disminución en el número y tamaño de los elementos conductores del xilema, una respuesta adaptativa típica orientada a reducir el riesgo de cavitación (Haworth et al., 2017; Canales et al., 2021). Bajo nuestras condiciones experimentales, la disminución del área total, de la corteza y del cilindro central inducida por los tres PGRs en raíces laterales de plántulas estresadas de B71 podría vincularse (al igual que lo hipotetizado para el caso de la raíz principal) con la formación de

raíces de menor grosor y tejidos conductores con vasos de menor diámetro, lo que aumentaría la superficie de absorción en contacto con el sustrato y favorecería una conducción hídrica más eficiente. Por el contrario, el incremento observado en estas tres áreas cuantificadas en raíces laterales de plántulas estresadas de B59 tras la aplicación de GR24 podría interpretarse como una estrategia en la que las raíces laterales más gruesas, combinadas con menores ángulos de inserción, potenciarían la exploración en profundidad del suelo y la extracción de agua desde horizontes más profundos.

Parámetros fisiológicos

Además de los efectos sobre la morfología, el estrés hídrico puede afectar distintos parámetros fisiológicos (Bandurska, 2022). Las respuestas de las plantas a este tipo de estrés abiótico, requieren de la acción coordinada de múltiples fitohormonas (Zia et al., 2021; Sharma y Kumar, 2021; Wahab et al., 2022).

ABA es una fitohormona que modula la arquitectura, el crecimiento del sistema radical y la conductividad hidráulica en condiciones de escasez hídrica (Aslam et al., 2022). En este trabajo, se registró un incremento en los niveles endógenos de ABA cuando las plántulas de la línea B71 fueron sometidas a estrés hídrico moderado, lo cual podría estar directamente relacionado con la inhibición del crecimiento en longitud de la raíz principal y el incremento en el número de raíces laterales (en conjunto con la reorientación de sus ángulos de crecimiento). En este sentido, se ha reportado que el ABA se encuentra involucrado en el crecimiento y orientación de las raíces laterales hacia las fuentes de agua presentes en el sustrato (Puértolas et al., 2025). Además, el incremento de ABA, podría estar asociado con la reducción observada en la biomasa de la parte aérea y el área foliar de las plántulas de esta línea endocriada. En este sentido, se ha reportado que esta fitohormona posee un rol dual, promoviendo o inhibiendo el crecimiento de las raíces y de la parte aérea de las plantas en condiciones de estrés hídrico dependiendo de su concentración (Aslam et al., 2022).

La aplicación de GR24 ocasionó un incremento significativo de los niveles endógenos de ABA en raíces de B59; mientras que GR24 y BL lo hicieron en raíces de B71. Se encuentra documentado que las SLs tienen la capacidad de inducir la tolerancia al estrés hídrico mediante la activación de la vía de señalización de ABA (Wu et al., 2022a), regulando la expresión de genes asociados con el desarrollo de las plantas y de respuesta al estrés (Bhoi et al., 2021). A nivel morfológico, ABA y SLs en conjunto regulan la arquitectura radical

propiciando la absorción de agua y nutrientes en condiciones de estrés hídrico (Dong et al., 2025). En nuestro estudio, la acción conjunta de ABA y SLs podría verse reflejada en el incremento observado en el peso fresco y seco de las raíces de plántulas estresadas de ambas líneas luego del tratamiento con GR24. En este sentido, se ha reportado que, en plantas de trigo sometidas a condiciones de sequía, la aplicación de GR24 mejoró la relación raíz-parte aérea (Sedaghat et al., 2021). Diversos estudios han reportado que la aplicación exógena de BRs se relaciona con un incremento en el nivel endógeno de ABA y, por lo tanto, con la mitigación de los efectos nocivos del estrés hídrico (Wang et al., 2019; Ahammed et al., 2020).

El AIA, una de las principales fitohormonas del grupo de las Aux participa activamente en la respuesta al estrés hídrico mediante la modulación de la arquitectura radical y la activación de vías de señalización hormonal (principalmente en sinergia con ABA), lo que conduce a un incremento de la resistencia al estrés (Yadav et al., 2021; Shaffique et al., 2023). El aumento significativo en el nivel endógeno de AIA evidenciado en las raíces de plántulas estresadas de B71, podría estar relacionado con la activación de ABA como respuesta al estrés impuesto, siendo que también se registró un incremento significativo en el nivel endógeno de esta fitohormona. En conjunto, ABA y AIA estimulan la formación de raíces laterales, lo que coincide con el aumento observado en el número de raíces laterales bajo estas condiciones experimentales. En concordancia con nuestros resultados, Hu et al. (2024) observaron en su estudio, que el contenido de AIA fue significativamente mayor en raíces de un genotipo tolerante de trigo (JM262) en respuesta al estrés hídrico lo que podría contribuir al desarrollo de un mayor número de raíces laterales en comparación con el genotipo sensible (YN24).

La aplicación de los PGRs ocasionó un incremento significativo en el nivel endógeno de AIA en las raíces de ambas líneas (GR24, BL y KAR2 en B59 y solo BL en B71). Diversos estudios reportan que las SLs interactúan sinérgicamente con las auxinas estimulando la ramificación de brotes y el desarrollo de las raíces (Wu et al., 2022a). Se postula que las SLs regulan el nivel de auxinas en el ápice de la raíz primaria, inhibiendo la salida de las mismas y favoreciendo su acumulación dentro de las células del meristema, aumentando finalmente su longitud (Wani et al., 2020). En nuestro trabajo, la acción de SLs y AIA no se reflejó en la longitud de la raíz principal debido a que, contrariamente a lo esperado, la misma disminuyó en las plántulas estresadas tratadas exógenamente con GR24. Por otro lado, se ha reportado que auxinas y SLs regulan la formación de raíces laterales y alargamiento de pelos radicales (Omoarelojie et al. 2019). Esto podría estar relacionado con

el aumento observado en el peso tanto fresco como seco en las raíces de plántulas de la línea B59 tratadas con GR24. Por otro lado, se ha reportado que la interacción BRs-Aux regula varios aspectos del crecimiento y desarrollo, sin embargo, los mecanismos aún no se encuentran completamente descritos. En *Arabidopsis*, por ejemplo, se ha demostrado que el crecimiento radical inducido por auxinas está regulado por el gen BRX (BRAVIS RADIX), que depende del nivel umbral de BRs (Ahanger et al., 2018). En este sentido, en nuestro estudio, el incremento en el contenido de Aux en raíces estresadas de ambas líneas endocriadas ocasionado por la aplicación exógena de BRs, podría estar estimulando el crecimiento radical, lo cual se vio reflejado en el mantenimiento de la longitud de la raíz principal (sólo en B71) y en el incremento en el peso seco de las raíces de ambas líneas. Si bien la interacción de auxinas con KARs aún no ha sido bien estudiada, Ahmad et al. (2022) observaron que KAR1 presenta un gran potencial como promotor del crecimiento vegetal bajo condiciones de estrés. Además, el tratamiento con KAR1 mejora distintos parámetros de crecimiento y fisiológicos tales como biomasa de brotes y raíces, área foliar y contenido relativo de agua (Khan et al. 2019; Ahmad et al. 2022). Se han informado efectos positivos del tratamiento con KAR1 en plántulas de arroz, debido a que se observó un incremento en la longitud de la raíz y el número de raíces laterales; y, además, se registró un mayor rendimiento en plántulas de tomate cultivadas en condiciones de restricción hídrica, lo cual indica el potencial del tratamiento con KARs para mitigar el efecto del estrés hídrico en los cultivos (Antala et al., 2019). En este sentido, observamos en nuestro estudio un aumento en la biomasa seca de raíces de plántulas estresadas de la línea B59 luego de ser tratadas con KAR2.

Las CKs son otro grupo de fitohormonas que desempeña entre sus funciones un rol clave en la regulación de la arquitectura radical y participan en las respuestas y adaptaciones de las plantas a los cambios ambientales, promoviendo la tolerancia al estrés hídrico (Landrein et al., 2018; Naulin et al., 2020). Nuestros resultados concuerdan con lo anteriormente expuesto debido a que se registró un remarcable incremento en el nivel endógeno de ZEA en las raíces de la línea B71 cuando las plántulas fueron sometidas al tratamiento de estrés hídrico. Cuando se aplicaron los tratamientos con los PGRs, GR24 ocasionó un incremento en el nivel endógeno de ZEA en las raíces de plántulas tratadas de B59. CKs y SLs son hormonas antagónicas; ambas se producen en las raíces, aunque comunican diferentes mensajes a la parte aérea, siendo CKs las que promueven el crecimiento de los brotes (Rehman et al., 2021). En este sentido, el incremento de ZEA ocasionado por la aplicación de GR24 podría coincidir con el mayor desarrollo observado

en la parte aérea de las plántulas estresadas de B59 tratadas con este regulador del crecimiento vegetal, las cuales evidenciaron una mayor área foliar y biomasa (tanto fresca como seca). Por otra parte, se encuentra documentado que el crosstalk entre CKs y BRs participa en la regulación del desarrollo de raíces laterales mediante la modulación de los niveles y el transporte de auxinas (Ahanger et al., 2018). Esto concuerda con nuestros resultados, ya que las plántulas estresadas de ambas líneas luego del tratamiento con BL mostraron un incremento significativo en el nivel endógeno de ZEA y también de auxinas, siendo este aumento mucho más notorio en B71. Esto podría estar relacionado, al menos en parte, con el mantenimiento de la longitud de la raíz principal y, además, con el aumento significativo de peso seco que se observó en las raíces pertenecientes a las plántulas estresadas de la línea B71 luego de la aplicación exógena de BL.

Las GAs también desempeñan un rol importante en la respuesta de las plantas frente a estrés abiótico, y se ha informado que en niveles reducidos son capaces de mejorar la tolerancia al estrés hídrico debido a que suprimen el crecimiento vegetal (Yadav et al., 2021). En concordancia, se observó en nuestro estudio que la aplicación de estrés hídrico moderado ocasionó una reducción en el nivel endógeno de GA1 en raíces de la línea B59. Al aplicar los tratamientos con los PGRs, se pudo observar un incremento en los niveles endógenos de esta fitohormona, siendo GR24 el regulador que causó efectos leves en las raíces de las plántulas estresadas de ambas líneas. Las SLs y las GAs interactúan durante el crecimiento y desarrollo de las plantas (Marzec, 2017) regulando procesos tales como el alargamiento de la hoja y la longitud del entrenudo (Rehman et al., 2021; Castro-Camba et al., 2022). Ambas pueden afectar el crecimiento debido a que estimulan la división celular (Yang et al., 2019). De acuerdo con nuestros resultados, esto podría estar relacionado con el incremento en el área foliar y la biomasa observado en las plántulas de ambas líneas crecidas bajo estrés hídrico luego de la aplicación del tratamiento con GR24.

Otra de las fitohormonas que modula las respuestas de las plantas frente a estrés hídrico es JA (Yadav et al., 2021). En varios estudios se ha observado que la vía de señalización de JA se asocian con el alivio del estrés hídrico, registrándose un rápido incremento en el nivel endógeno de esta fitohormona en plantas de cítricos y *Arabidopsis* (Raza et al., 2021). En este trabajo se observó un incremento en el nivel endógeno de JA cuando las plántulas de la línea B71 fueron sometidas a estrés hídrico moderado. Esto podría estar relacionado con la disminución en la longitud de la raíz principal observada en las plántulas estresadas de esta línea. En este sentido, múltiples autores han reportado que JA en elevadas concentraciones (típicas de estrés abiótico severo) inhibe la elongación de la raíz

primaria al interferir con la división celular en el tejido meristemático y promueve la lignificación de las paredes celulares (Li et al., 2022; Han et al., 2023; Wu et al., 2024).

Cuando se aplicaron los PGRs a las plántulas estresadas, los tres ocasionaron un incremento en el nivel endógeno de JA, siendo más marcado en B71. Aunque no se encuentra claramente descrita la interacción de JA con los reguladores del crecimiento aplicados en este trabajo, se encuentra documentado que SLs-JA en conjunto modulan diversos procesos como la elongación del mesocotilo y la senescencia; por lo tanto, no se puede anular totalmente su crosstalk (Omoarelojie et al. 2019). De la misma manera, se ha reportado que, en conjunto con BRs, JA interactúa tanto de forma sinérgica como antagónica durante el desarrollo vegetal tanto en condiciones normales como de estrés (Ahanger et al., 2018). Por otro lado, Sun et al. (2020) enunció en su estudio una acumulación de JA inducida por la aplicación exógena de KAR1 que actuaría como molécula señal endógena.

Los BRs desempeñan un papel crucial en la tolerancia al estrés por sequía (Iqbal et al., 2022). En nuestro estudio, se detectaron siete de este grupo de fitohormonas en raíces de plántulas de ambas líneas endocriadas, B59 y B71. En líneas generales, las raíces de B59 presentaron un mayor contenido endógeno de castasterona (CS), 28-homocasterona (28-homoCS), homodolicholide (homoDL) y teasterona (TE) mientras que, las raíces de B71 evidenciaron un mayor contenido de brasinolide (BL), 24-epibrasinolide (24-epiBL) y 28-norcastasterona (28-norCS). En las raíces de plántulas crecidas bajo nuestras condiciones experimentales de estrés hídrico, se observó una activación diferencial de las distintas vías de síntesis de los brasinoesteroides (C27, C28 y C29). En el caso de B59 y por efecto del estrés aplicado se observó un aumento de 28 norCS, CS, homoDL y una disminución de BL y TE, compuestos pertenecientes a las tres vías de síntesis. Por otro lado, en las raíces de plántulas estresadas de B71, se observó un aumento en el contenido endógeno de BL, 24-epiBL y 28-homoCS y una disminución de homoDL y TE, compuestos pertenecientes solo a dos de las vías de síntesis (C28 y C29). Esta activación diferencial de las rutas de biosíntesis de BRs podría encontrarse en concordancia con la sensibilidad particular de cada línea frente al estrés hídrico, siendo B59 la línea sensible y, por lo tanto, requiriendo de una mayor variedad de compuestos para hacer frente a dicha condición desfavorable. Cuando las plántulas estresadas fueron tratadas con los distintos PGRs se observaron diversas modificaciones en el contenido endógeno de BRs, aunque en general, la aplicación exógena de GR24, BL y KAR2 mantuvo la activación de las tres rutas de síntesis en las raíces de B59 mientras que, favoreció la activación de una tercera ruta en las raíces de B71. Entre las modificaciones encontradas, cabe destacar el aumento en el contenido endógeno de CS

ocasionado en raíces de ambas líneas por la aplicación exógena de los tres reguladores de crecimiento vegetal. Malaga et al. (2020) reportaron que el aumento significativo en el contenido de CS detectado en líneas de cebada tolerantes a la sequía sugeriría un papel de dicho compuesto en la aclimatación de las plantas a la escasez de agua.

Por otro lado, es importante resaltar que homoDL y TE, dos de los BRs detectados y cuantificados en nuestro trabajo, son compuestos poco conocidos. HomoDL está presente en plantas en cantidades relativamente escasas en comparación con otros BRs como CS. Sadura et al. (2020) postularon que este compuesto podría ser responsable del mejor desempeño de los cloroplastos en mutantes de cebada expuestos a estrés por temperatura. En el caso de TE, este compuesto fue cuantificado y reportado por nuestro grupo en plántulas de girasol en estadio vegetativo (V2) crecidas bajo condiciones de estrés hídrico generado por la aplicación de manitol (Boero et al., 2023). Además, otros autores han observado una acumulación de TE significativamente mayor en líneas de cebada de invierno después de aplicar un tratamiento de estrés por sequía (Malaga et al., 2020). Por lo tanto, la aplicación de los distintos PGRs podría estar influenciando los niveles endógenos de BRs como una estrategia fisiológica que permitiría mejorar la respuesta de las plántulas de girasol frente al estrés hídrico impuesto.

Parámetros bioquímicos

En referencia a los procesos bioquímicos, diversas alteraciones en el metabolismo de carbohidratos fueron reportadas frente a situaciones de estrés abiótico, como, por ejemplo, un aumento en la concentración de azúcares solubles u otros osmolitos (Fábregas y Fernie, 2019). Los azúcares desempeñan un importante rol como moléculas señales en la regulación de las respuestas al estrés y en los mecanismos de tolerancia desarrollados por las plantas (Ozturk et al., 2021). De acuerdo con ello, en este estudio se detectó un remarcable aumento en la concentración de carbohidratos en las raíces de ambas líneas cuando las plántulas fueron sometidas a estrés hídrico, siendo las de B71 las que evidenciaron el mayor incremento. Esto podría estar relacionado, al menos en parte, con la tolerancia que presenta esta línea frente a estrés hídrico. En concordancia, Du et al. (2020) documentaron la acumulación de azúcares solubles en raíces de plántulas de soja asociada con una mayor tolerancia de la planta al estrés hídrico. Por otro lado, Kosar et al. (2022) observaron en su estudio, un aumento en el contenido endógeno de azúcares solubles totales en plantas de dos

cultivares de girasol (FH 598 y Hysun 33) en respuesta al tratamiento de estrés hídrico impuesto mediante supresión de riego.

La aplicación exógena de los tres PGRs promovió significativamente la acumulación de carbohidratos en raíces de la línea B71 bajo condiciones de estrés hídrico. En concordancia con estos resultados, Khan et al. (2021) observaron un aumento en la acumulación de azúcares solubles en plantas de trigo bajo estrés por sequía y, además, dicha acumulación se vio potenciada luego de la aplicación de 24-epibrasinolide. Por otro lado, fue informado que la aplicación foliar de GR24 ocasionó un incremento en el contenido de azúcares solubles en raíces de alfalfa bajo condiciones de sequía (Yang et al., 2023). En referencia a KARs, a la fecha si bien la información es escasa, se ha reportado que KAR1 es capaz de regular positivamente la biosíntesis de metabolitos entre ellos, azúcares solubles que facilitan el ajuste osmótico en respuesta a estreses abióticos (Ahmad et al., 2022).

En plantas, los osmolitos más comúnmente reportados en condiciones de estrés son prolina y glicina betaína, ya que actúan como osmoprotectores para numerosas especies y, por lo tanto, están involucrados en la adaptación a estrés hídrico (Ilyas et al., 2021; Haghpanah et al., 2024). En nuestro estudio, se registró un aumento de ambos osmolitos en raíces de plántulas B59 luego del tratamiento de estrés hídrico, en tanto que en raíces estresadas de B71 solo se observó un aumento en el contenido de glicina betaína. En concordancia con nuestros resultados, Wang et al. (2022) detectaron acumulación significativa de prolina en raíces, tallos y hojas de plantas de dos germoplasmas de sandía: M08 e Y34, tolerante y sensible a la sequía respectivamente. Previamente, Niu et al. (2021) observaron que plantas de pera bajo condiciones de estrés hídrico incrementaron su contenido endógeno de glicina betaína y, además, la suplementación exógena de tal compuesto potenció dicha acumulación, ayudando a mitigar el daño oxidativo inducido por el estrés hídrico. Por otro lado, Goche et al. (2020) reportaron un aumento en los niveles de prolina y glicina betaína en raíces y hojas de dos variedades de sorgo sometidas a estrés hídrico mediante suspensión de riego. Además, observaron que el nivel endógeno de glicina betaína fue mayor en raíces que en hojas, y que tanto este osmolito como prolina se incrementaron significativamente en la variedad de sorgo tolerante a la sequía (SA1441), en contraste con la variedad sensible (ICSB338) (Goche et al., 2020).

En cuanto a los PGRs, su aplicación favoreció la acumulación de prolina en raíces estresadas de plántulas B71 bajo nuestras condiciones experimentales. En línea con nuestros resultados, se reportó que el nivel endógeno de prolina aumentó en plantas de maíz sometidas a estrés hídrico, y esto fue más pronunciado en aquellas expuestas al estrés y tratadas con

24-epibrassinolide (Ghasemi et al., 2022). Por otro lado, Luqman et al. (2023) informaron que luego de la aplicación exógena de GR24 mediante aspersión foliar aumentó considerablemente la concentración de prolina en dos híbridos de maíz bajo condiciones de estrés hídrico. Además, Shah et al. (2020) reportaron que bajo condiciones de estrés osmótico y salino se indujo un mayor nivel de prolina en plántulas de *Sapium sebiferum* luego de ser suplementadas con KAR1.

Entre las alteraciones bioquímicas que pueden observarse por efecto del estrés hídrico, se incluye la acumulación de EROs (Ramírez et al., 2020). El H₂O₂ constituye una de las EROs más importantes en las plantas, debido a que, si bien en concentraciones elevadas puede generar daño oxidativo a nivel celular, a niveles moderados este compuesto actúa como una molécula señal clave que participa en la transducción de señales que regulan diversos mecanismos de respuesta evidenciados por las plantas cuando éstas son sometidas a condiciones de estrés abiótico (Iqbal et al., 2025). El aumento en el contenido de H₂O₂ observado en las raíces estresadas de las plántulas de ambas líneas, está en concordancia con lo reportado recientemente por Ahmad et al. (2024), quienes detectaron un aumento de H₂O₂ en plantas de cebada cuando las mismas fueron expuestas a condiciones de estrés hídrico.

La aplicación foliar de GR24 y KAR2 ocasionó una disminución en el contenido de H₂O₂ en raíces de plántulas estresadas de ambas líneas en estudio, mientras que BL produjo este efecto sólo en las raíces de B71. En línea con nuestros resultados, Baltacier et al. (2023) reportaron una disminución significativa en el contenido de H₂O₂ en plántulas de tomate sometidas a estrés hídrico luego de la aplicación de GR24. Por otro lado, los resultados obtenidos por Shah et al. (2020) evidenciaron un menor contenido de H₂O₂ en plántulas estresadas de *Sapium sebiferum* tratadas con KAR1, en comparación con aquellas sin tratar crecidas tanto bajo estrés osmótico como salino. Zeng et al. (2022) observaron en su estudio que plántulas de uva expuestas a estrés hídrico presentaron niveles elevados de H₂O₂, mientras que la aplicación exógena de 24-epibrassinolide logró disminuir la concentración de tal compuesto, indicando así que este PGR podría participar en la eliminación de los radicales libres generados por el estrés hídrico.

Entre los mecanismos de detoxificación de EROs de tipo no enzimáticos, aquellos dependientes del GSH son de vital importancia para proteger a las plantas de los efectos adversos de la sequía y mejorar su tolerancia a dicho estrés (Hasanuzzaman et al., 2017; Nguyen et al., 2019). En este estudio, una mayor acumulación de GSH se detectó en raíces de plántulas estresadas de ambas líneas, siendo dicha acumulación más importante en las raíces de la línea tolerante B71. En línea con nuestros resultados, se encuentra ampliamente

documentado que en condiciones de estrés por sequía una mayor producción de GSH y el mantenimiento del equilibrio redox [relación GSH reducido/GSH oxidado (GSSG)] son esenciales para mantener los mecanismos de detoxificación celular (Nguyen et al., 2019). En este sentido, Jiang et al. (2022) reportaron un incremento significativo de GSH en plantas de maíz sometidas a sequía en comparación con la condición de riego óptimo. Por otro lado, en plantas de girasol se ha observado una acumulación de GSH en respuesta a condiciones de sequía (Labudda y Azam, 2014).

La aplicación foliar de los PGRs promovió la acumulación de GSH en raíces de plántulas estresadas de ambas líneas bajo nuestras condiciones experimentales. En concordancia, Ahammed et al. (2017) reportaron que 24-epibrasinolide es capaz de inducir los sistemas de defensa antioxidantes no enzimáticos en pepino y aumentar el contenido de compuestos antioxidantes, entre ellos GSH. En este sentido, Zeng et al. (2022) observaron que la aplicación de 24-epibrassinolide favoreció la acumulación de GSH bajo estrés por sequía en *Vitis vinifera* L. En adición, recientemente Xie et al. (2024) detectaron incremento en el contenido de GSH cuando se aplicó exógenamente GR24 a plántulas de soja sometidas a diferentes intensidades de estrés hídrico. Además, se ha reportado que, en plántulas de trigo sometidas a estrés salino, el tratamiento con KAR1 incrementó significativamente el contenido de GSH y redujo el contenido de glutatión oxidado (GSSG), lo cual favoreció la relación GSH/GSSG en las plántulas (Shah et al., 2021).

En condiciones de estrés hídrico, la acumulación excesiva de EROs es capaz de ocasionar daños en las membranas celulares a través de la peroxidación de los ácidos grasos insaturados (Jiang et al., 2022). Esto puede ser observado a través de un aumento en el contenido de MDA, un marcador clave del daño oxidativo que ocurre en las membranas celulares (Huang et al., 2019). En el presente estudio, la acumulación de MDA cuantificada en raíces de plántulas estresadas de la línea B59 podría estar indicando el daño ocurrido en las membranas de los tejidos radicales. En contraposición, en raíces de B71 no se observaron modificaciones en el contenido de este compuesto por efecto del tratamiento de estrés hídrico impuesto. Esta acumulación diferencial de MDA entre líneas podría estar en estrecha relación con la sensibilidad de cada una al estrés hídrico. Coincidentemente con estos resultados, se informó que plantas transgénicas de *Arabidopsis* evidenciaron mejor tolerancia a la sequía comparado con las plantas silvestres, lo cual fue asociado con una menor acumulación de MDA en respuesta al estrés hídrico (Nguyen et al., 2019).

En raíces de plántulas estresadas de la línea sensible B59, la aplicación exógena de GR24 y KAR2 mitigó de forma significativa la acumulación de MDA, lo cual podría estar

indicando, al menos en parte, un alivio en el daño oxidativo en las membranas celulares de los tejidos radicales luego de la aplicación de estos PGRs. Similarmente, fue reportado por Song et al. (2023) que la aplicación de GR24 redujo el contenido de MDA en las raíces de dos variedades de trigo bajo estrés por sequía y, por lo tanto, la tolerancia de las variedades sensibles podría incrementarse mediante la aplicación de este regulador vegetal. Otro estudio en trigo reveló un aumento en el contenido de MDA por efecto del estrés hídrico y, posteriormente, una reducción significativa de dicho indicador luego de la aplicación de GR24, lo cual contribuye al cuerpo de conocimientos acerca del rol de este compuesto en la mitigación del daño oxidativo a las membranas (Guo et al., 2023). Por otro lado, Shah et al. (2021) reportaron que un mayor contenido de MDA fue detectado en plántulas de trigo bajo estrés salino, pero la aplicación de KAR1 disminuyó significativamente el nivel endógeno de tal compuesto.

Análisis integrado de los parámetros evaluados y conclusiones

El análisis integral de los parámetros morfo-anatomo-histológicos, fisiológicos y bioquímicos evaluados en el presente estudio reveló que las plántulas de las líneas B59 y B71 mostraron diferentes estrategias de respuesta al estrés hídrico a nivel de su sistema radical, y que las mismas se correlacionaron con el grado de sensibilidad intrínseco que presenta cada línea a este tipo de estrés abiótico.

A nivel morfo-anatomo-histológico, la tolerancia de la línea B71 se expresó a través del desarrollo de un sistema radical compuesto por raíces de menor diámetro, con una mayor superficie y tejidos conductores más eficientes, características que favorecerían la exploración en mayor profundidad y la absorción de agua y nutrientes del suelo. En contraste, la línea sensible B59 mostró modificaciones estructurales menores que las de B71 en las raíces de las plántulas estresadas.

A nivel fisiológico, la línea B71 exhibió una respuesta hormonal de mayor complejidad, caracterizada por niveles endógenos más elevados de fitohormonas “clásicas” y múltiples interacciones entre éstas y los BRs asociados a dos de sus vías de biosíntesis: C28 y C29. En contraste, la sensibilidad de la línea B59 se vio reflejada a través de la detección de BRs endógenos sintetizados a través de las tres rutas de biosíntesis (C27, C28 y C29) como mecanismo fisiológico para mantener una respuesta optimizada frente al estrés.

A nivel bioquímico, las raíces de la línea tolerante B71 requirieron un aumento en la concentración de carbohidratos y glicina betaína para alcanzar un ajuste osmótico eficiente. En su lugar, la línea sensible B59 necesitó acumular simultáneamente carbohidratos, prolina y glicina betaína para afrontar el estrés hídrico impuesto. Asimismo, en las raíces de B71, el sistema antioxidante presentó niveles basales más elevados de GSH y H_2O_2 , conjuntamente con una rápida acumulación de ambos compuestos ocasionada por el estrés hídrico, lo cual propició una respuesta más eficiente ante dicho estrés, al tiempo que logró mitigar posibles daños a las membranas celulares, hecho que se reflejó en la ausencia de cambios en el contenido de MDA. Por el contrario, la línea sensible B59 presentó un incremento moderado de GSH y, en consecuencia, una acumulación de H_2O_2 y MDA, indicando un daño oxidativo más severo comparado con la línea tolerante.

En conjunto, las modificaciones observadas en la línea B71 ponen de manifiesto su tolerancia al estrés hídrico, lo cual se correlaciona con su mayor capacidad para lograr el equilibrio entre crecimiento y tolerancia al estrés.

A modo de síntesis, se realizó un análisis de componentes principales (ACP), una técnica estadística que permite simplificar un conjunto de datos con numerosas variables mediante su transformación en un número reducido de componentes principales que conservan la mayor parte de la información original, posibilitando la detección de patrones o agrupamientos (Greenacre et al., 2022). En este estudio, el ACP se realizó a partir de las variables morfo-anatomo-histológicas, fisiológicas y bioquímicas evaluadas, comparando ambas líneas crecidas en condición control y sometidas a estrés hídrico moderado (Fig. 57), a fin de identificar cuáles de ellas explican la mayor parte de la variabilidad observada en los resultados, determinar las diferencias entre tratamientos, y analizar de manera integrada cómo responde cada línea endocriada frente al tratamiento de estrés hídrico impuesto (Fig. 58).

En dicho análisis, el CP1 (52,5%) y el CP2 (25,9 %) explicaron el 78,4 % de la variabilidad total presente en el conjunto de datos y permitieron diferenciar claramente los tratamientos (combinación entre línea y condición hídrica) en función de las variables evaluadas. La línea B71 bajo condición control se asoció con variables como prolina, diámetro y número de vasos, longitud de raíz principal, áreas (total, del cilindro central y de la corteza) de raíz principal y laterales, lo que sugiere una conservación estructural (morfo-anatomo-histológica) y osmótica en condiciones óptimas de humedad. Bajo estrés hídrico, esta línea se asoció con concentraciones elevadas de ABA, JA, AIA, GA_1 , ZEA, H_2O_2 , GSH, glicina betaína y carbohidratos, así como BRs (24-epiBL, BL, 28-norCS y 28-homoCS), lo

que indica una respuesta adaptativa a nivel redox y hormonal frente al déficit hídrico. Por el contrario, la línea endocriada B59 se asoció con área foliar y peso fresco tanto de parte aérea como de raíces, reflejando un mayor crecimiento en condiciones no estresantes. En estrés hídrico, B59 evidenció una correlación con CS, homoDL y peso seco de raíces, sugiriendo la activación de rutas específicas de señalización. En conjunto, este análisis revela que B71 enfrenta la condición estresante principalmente mediante ajustes en parámetros bioquímicos y una red hormonal integrada, mientras que B59 revela una señalización específica mediada por BRs y modificaciones en parámetros morfo-anatomo-histológicos (Fig. 57 y 58).

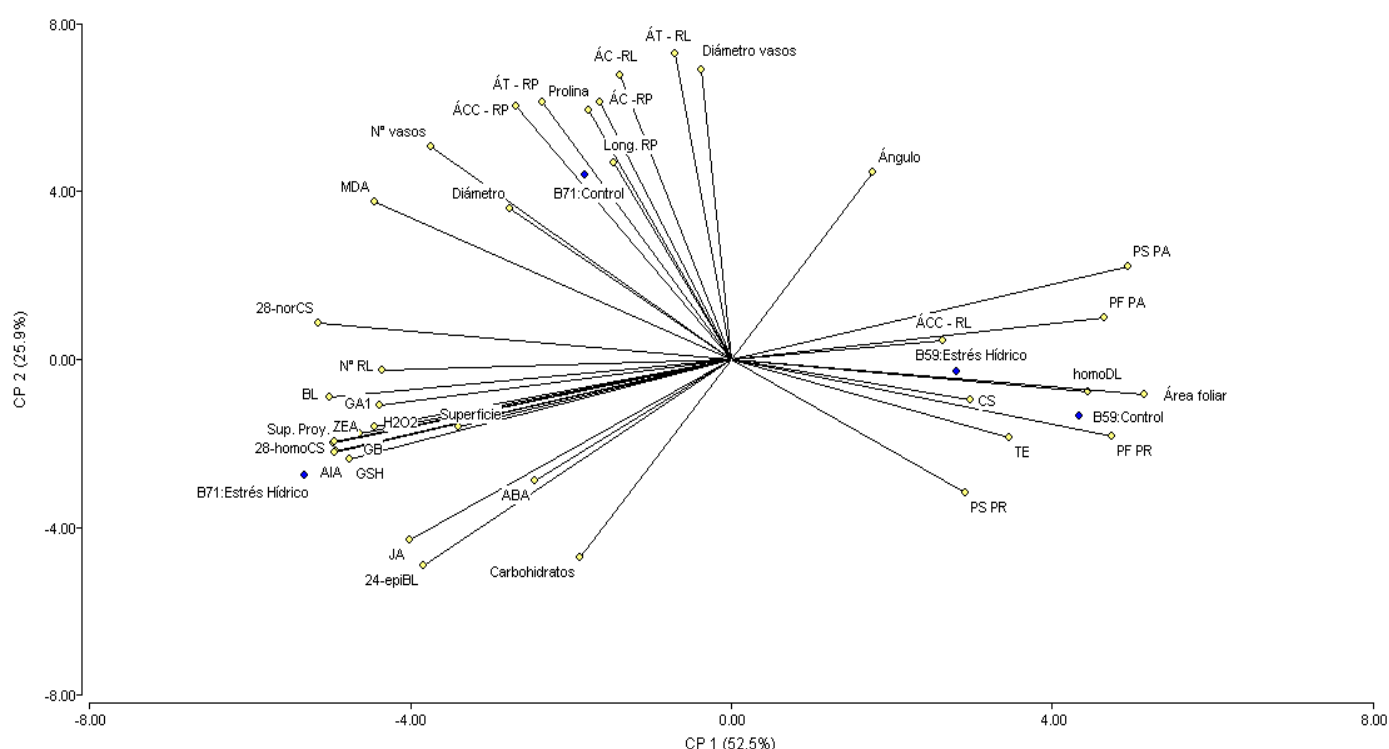


Fig. 57. Biplot del Análisis de Componentes Principales (ACP) obtenido a partir de las variables morfo-anatomo-histológicas, fisiológicas y bioquímicas evaluadas en ambas líneas endocriadas bajo condiciones control y estrés hídrico moderado. Los puntos azules representan a cada tratamiento (B59: Control, B59: Estrés Hídrico, B71: Control y B71: Estrés Hídrico). Los vectores indican la contribución y dirección de cada variable al ordenamiento multivariado. Abreviaturas: ACC (área del cilindro central), AC (área de la corteza), AT (área total), RL (raíces laterales), Nº RL (número de raíces laterales), RP (raíz principal), Long. RP (longitud de raíz principal), Sup. Proy. (superficie proyectada), Nº vasos (número de vasos xilemáticos), PS (peso seco), PF (peso fresco), PA (parte aérea), PR (parte radical), TE (teasterona), homoDL (homodolicholide), CS (castasterona), BL (brasinolide), 24-epiBL (24-epibrasinolide), 28-norCS (28-norcastasterona), 28-homoCS (28-homocastasterona), JA (ácido jasmónico), ABA (ácido abscísico), AIA (ácido indol acético), ZEA (zeatina), GA1 (giberelina 1), GSH (glutación reducido), GB (glicina betaína), H₂O₂ (peróxido de hidrógeno) y MDA (malondialdehído).

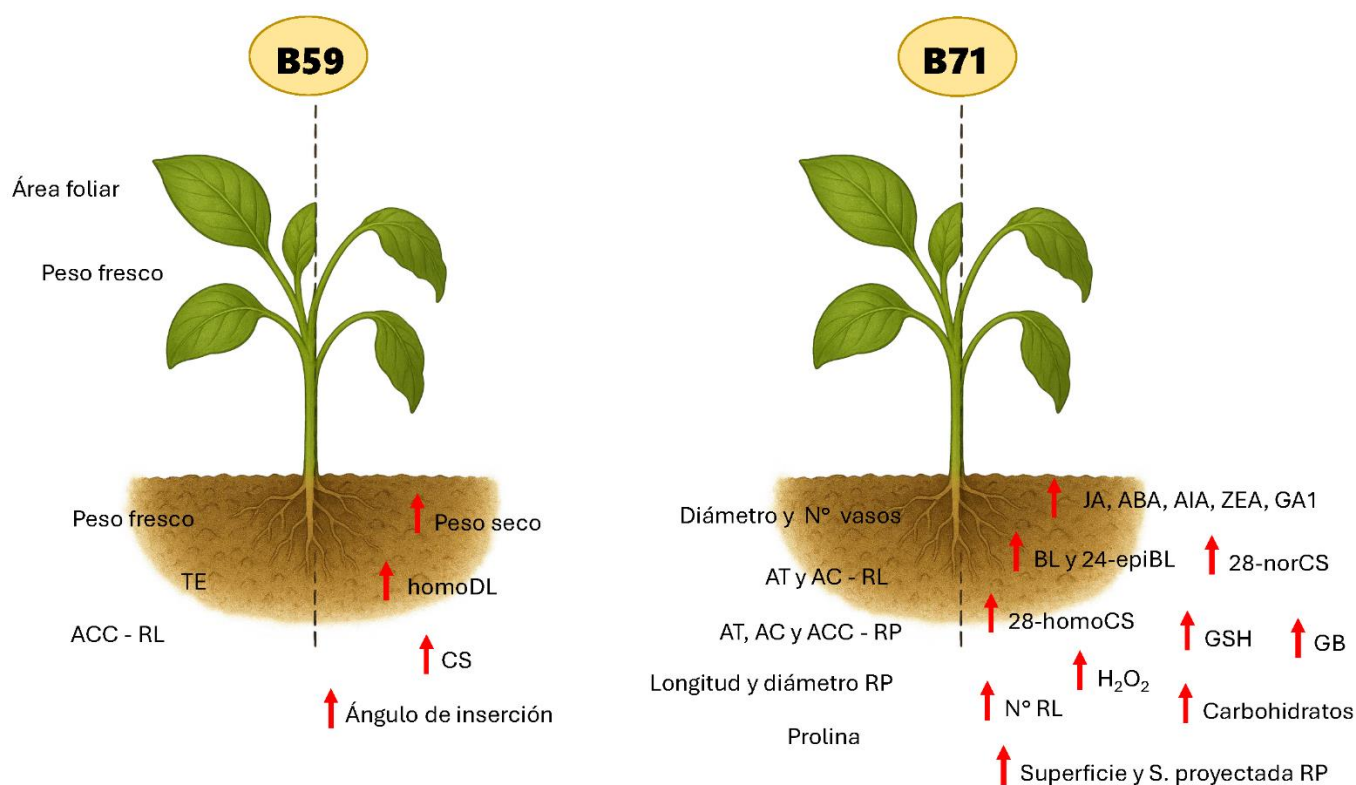


Fig. 58. Representación esquemática de los principales parámetros que caracterizaron la respuesta de cada línea endocriada en condiciones de irrigación óptima (hacia la izquierda de la línea punteada) y, modificaciones positivas observadas en las plántulas por efecto del tratamiento de estrés hídrico moderado, evidenciadas a través de aumentos (flechas rojas) en distintos parámetros morfo-anatómicos, fisiológicos y bioquímicos (hacia la derecha de la línea punteada). Abreviaturas: ACC (área del cilindro central), AC (área de la corteza), AT (área total), RL (raíces laterales), N° RL (número de raíces laterales), RP (raíz principal), S. proyectada (superficie proyectada), TE (teasterona), homoDL (homodolicholide), CS (castasterona), BL (brasinolide), 24-epiBL (24-epibrasinolide), 28-norCS (28-norcastasterona), 28-homoCS (28-homocastasterona), JA (ácido jasmónico), ABA (ácido abscísico), AIA (ácido indol acético), ZEA (zeatina), GA1 (giberelina 1), GSH (glutación reducido), GB (glicina betaína), H₂O₂ (peróxido de hidrógeno).

La aplicación exógena de los diferentes PGRs en plántulas sometidas a condiciones de estrés hídrico produjo diversas modificaciones en los parámetros morfo-anatómicos, fisiológicos y bioquímicos evaluados en este estudio. Asimismo, el efecto fisiológico de cada PGR varió entre plántulas pertenecientes de ambas líneas.

Particularmente, a nivel de su estructura morfo-anatómica, la raíz principal de plántulas B59 evidenció respuestas similares frente a la aplicación de los tres PGRs, mientras que en B71 los efectos resultaron más heterogéneos. A nivel histológico, las modificaciones más notorias en la raíz principal de B59 fueron inducidas por GR24 y KAR2; en cambio, en

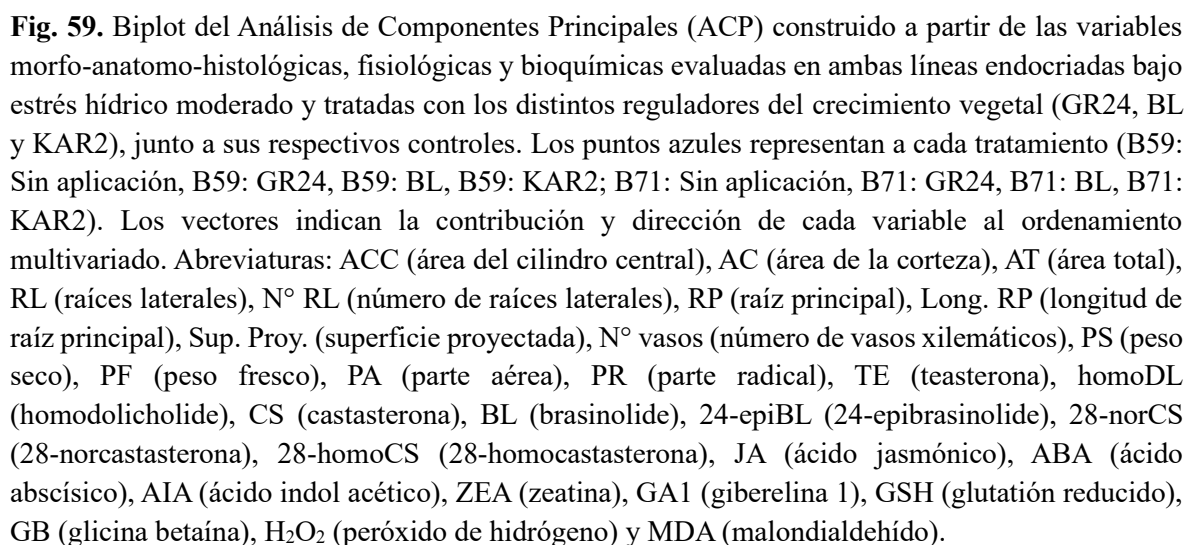
la línea tolerante B71, los tres reguladores actuaron en forma coordinada, mejorando las respuestas ocasionadas por el tratamiento de estrés hídrico. Finalmente, en las raíces laterales de ambas líneas, se destacó particularmente el efecto producido por GR24.

En relación con los niveles endógenos de las fitohormonas “clásicas” cuantificados en plántulas sometidas a estrés y tratadas con PGRs, los reguladores GR24 y KAR2 indujeron los cambios más significativos en las raíces de B59, mientras que BL provocó las modificaciones más notables en las raíces de B71. Asimismo, la aplicación de los tres PGRs promovió la acumulación de BRs. En las raíces de ambas líneas endocriadas se evidenció la activación de las tres vías de síntesis de BRs (C27, C28 y C29).

De manera similar a lo observado para los parámetros morfo-anatomo-histológicos, comparando la respuesta de las dos líneas en estudio, a nivel bioquímico, la aplicación de los reguladores del crecimiento vegetal produjo una acumulación diferencial de carbohidratos solubles, prolina y glicina betaína, siendo la línea tolerante la que mostró una mejor respuesta de adaptación al estrés. Por otra parte, la aplicación de los tres PGRs contribuyó al alivio del estrés oxidativo en la línea sensible B59, evidenciado por la reducción en el contenido de H_2O_2 en las raíces de plántulas estresadas y el incremento en la acumulación del compuesto antioxidante no enzimático GSH. Estas modificaciones se vieron reflejadas en una disminución del contenido de MDA.

Se realizó un segundo ACP que resumió la variabilidad de los parámetros morfo-anatomo-histológicos, fisiológicos y bioquímicos evaluados en plántulas de ambas líneas endocriadas bajo condiciones de estrés hídrico moderado y tratadas con los distintos PGRs (Fig. 59), a fin de identificar las variables con mayor poder explicativo, determinar las diferencias entre tratamientos y analizar la respuesta particular de cada línea (Fig. 60).

El CP1 explicó el 48,7% de la variabilidad total de los datos y separó principalmente a los tratamientos de la línea B71 con respecto a la línea B59. En este caso, la línea tolerante se asoció con variables bioquímicas como el contenido de carbohidratos, prolina y GSH, y parámetros fisiológicos, como el contenido de fitohormonas clásicas (JA, ABA, ZEA, AIA y GA1) y BRs tales como BL, 28-norCS y 24-epiBL. En contraposición, la línea B59 se relacionó principalmente con variables morfológicas y BRs como homoDL, TE y CS. En adición, el CP2 (22,0 %) distinguió particularmente el tratamiento B59:KAR2, asociado a variables como el número y diámetro de vasos, áreas de raíz principal (área total, de cilindro central y de la corteza) y el contenido de CS, TE y 28-homoCS. En conjunto, este análisis explicó el 70,7 % de la variabilidad total presente en el conjunto de datos y evidenció las respuestas diferenciales entre las líneas en estudio debido a la aplicación de los PGRs bajo



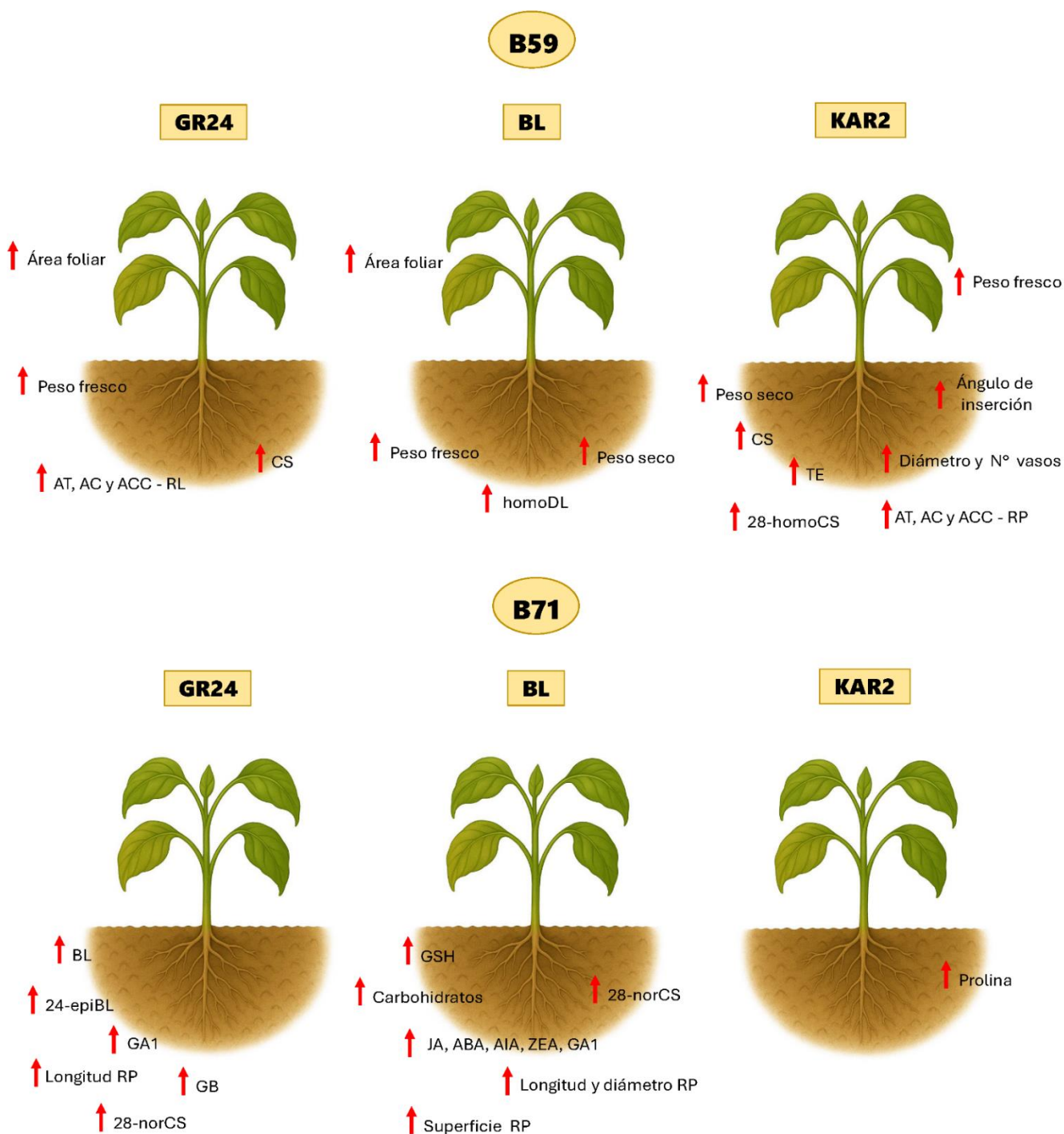


Fig. 60. Representación esquemática de la respuesta de las plántulas de ambas líneas endocriadas crecidas en condiciones de estrés hídrico moderado luego de la aplicación de los distintos reguladores del crecimiento vegetal (GR24, BL y KAR2). Las flechas rojas representan los incrementos observados en los principales parámetros morfo-anatomo-histológicos, fisiológicos y bioquímicos asociados a cada respuesta. Abreviaturas: ACC (área del cilindro central), AC (área de la corteza), AT (área total), RL (raíces laterales), RP (raíz principal), TE (teasterona), homoDL (homodolicholide), CS (castasterona), BL (brasinolide), 24-epiBL (24-epibrasinolide), 28-norCS (28-norcastasterona), 28-homoCS (28-homocastasterona), JA (ácido jasmónico), ABA (ácido abscísico), AIA (ácido indol acético), ZEA (zeatina), GA1 (giberelina 1), GSH (glutación reducido), GB (glicina betaína), H₂O₂ (peróxido de hidrógeno).

En síntesis, a partir de los resultados obtenidos en este estudio, se evidencia que cada línea endocriada mostró una respuesta particular a nivel de su sistema radical frente al estrés hídrico, relacionada con una intrincada y compleja red que comprende diferentes niveles, tales como morfológico, anatomo-histológico, fisiológico y bioquímico, tendiente a equilibrar su grado de tolerancia/sensibilidad al estrés y el crecimiento. Por lo tanto, desentrañar estas interacciones y comprender su significancia funcional en las respuestas al estrés implica un desafío debido a la naturaleza dinámica de los compuestos involucrados y las diversas señales ambientales a las que se enfrentan las plantas. En tal sentido, este trabajo contribuye a tal fin, brindando conocimiento específico sobre la respuesta a nivel radical de un cultivo de importancia agroeconómica como el girasol.

Consideraciones finales y perspectivas

Los resultados de este estudio plantean nuevos interrogantes y posibles líneas de investigación orientadas a profundizar la comprensión de las respuestas de plántulas de girasol a nivel de su sistema radical frente a estrés hídrico, y a la acción fisiológica de los PGRs evaluados (GR24, BL y KAR2).

En primer lugar y, con la finalidad de complementar el perfil hormonal obtenido, sería fundamental cuantificar la concentración endógena de estrigolactonas, dado que este grupo de fitohormonas ha sido escasamente estudiado y reportado en la bibliografía, especialmente en cultivos como el girasol, sometidos a estrés hídrico.

Por otra parte, futuras investigaciones podrían enfocarse en caracterizar los mecanismos moleculares asociados con la respuesta al estrés hídrico mediante análisis genéticos, lo que permitiría identificar posibles rutas de señalización y genes regulados tanto por el estrés hídrico como por la acción de cada PGR en ambas líneas endocriadas. Asimismo, sería importante validar estas respuestas en condiciones de cultivo a campo, con el fin de evaluar la estabilidad de los mecanismos identificados y el potencial uso de los PGRs como herramientas alternativas para mitigar los efectos adversos del estrés hídrico en girasol. Finalmente, integrar este conocimiento en programas de mejoramiento genético contribuiría a la obtención de genotipos de girasol más tolerantes a este tipo de estrés abiótico.

Dado que este estudio se focalizó en la respuesta del sistema radical de girasol, el análisis de la parte aérea (hojas + tallo) representaría un complemento esencial para obtener conocimientos más profundos sobre la plántula completa. Este análisis permitiría evaluar la respuesta integrada entre ambos órganos frente al estrés hídrico y la acción de los PGRs, al tiempo que posibilitará determinar cómo tales ajustes contribuyen al mantenimiento del crecimiento y al equilibrio hídrico de la plántula.

Referencias bibliográficas

- Adeleke, B. S., Babalola, O. O. (2020). Oilseed crop sunflower (*Helianthus annuus*) as a source of food: Nutritional and health benefits. *Food Science & Nutrition*, 8(9), 4666-4684.
- Affortit, P., Ahmed, M. A., Grondin, A., Delzon, S., Carminati, A., Laplaze, L. (2024). Keep in touch: the soil–root hydraulic continuum and its role in drought resistance in crops. *Journal of Experimental Botany*, 75(2), 584-593.
- Agee, E., He, L., Bisht, G., Couvreur, V., Shahbaz, P., Meunier, F., Gough, C. M., Matheny, A. M., Bohrer, G., Ivanov, V. (2021). Root lateral interactions drive water uptake patterns under water limitation. *Advances in Water Resources*, 151, 103896.
- Aguirrezábal, L. A. N., Orioli, G. A., Hernández, L. F., Pereyra, V. R., Miravé, J. P. (1998). Girasol: aspectos fisiológicos que determinan el rendimiento. En *Unidad Integrada Balcarce. Convenio entre INTA (Estación Experimental Agropecuaria Balcarce) y la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Mar del Plata. Balcarce, Argentina.*
- Ahammed, G. J., Li, X., Liu, A., Chen, S. (2020). Brassinosteroids in plant tolerance to abiotic stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 39, 1451-1464.
- Ahammed, G. J., He, B. B., Qian, X. J., Zhou, Y. H., Shi, K., Zhou, J., Yu, J. Q., Xia, X. J. (2017). 24-Epibrassinolide alleviates organic pollutants-retarded root elongation by promoting redox homeostasis and secondary metabolism in *Cucumis sativus* L. *Environmental Pollution*, 229, 922-931.
- Ahanger, M. A., Ashraf, M., Bajguz, A., Ahmad, P. (2018). Brassinosteroids regulate growth in plants under stressful environments and crosstalk with other potential phytohormones. *Journal of Plant Growth Regulation*, 37, 1007-1024.
- Ahmad, B., Qadir, S. U., Dar, T. A., Alam, P., Yousuf, P. Y., Ahmad, P. (2022). Karrikins: smoke-derived phytohormones from stress alleviation to signaling. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1-13.
- Ahmad, M. A., Saleem, A., Tahir, M., Khilji, S. A., Sajid, Z. A., Landry, K. B., El-Sheikhd, M. A., Ahmad, P. (2024). Modulation of the polyamines, osmolytes and antioxidant defense system to ameliorate drought stress tolerance in *Hordeum vulgare* L. using ascorbic acid. *South African Journal of Botany*, 171, 726-736.
- Ahmad, S., Ahmad, R., Yasin, M. (2009). Sunflower (*Helianthus annuus* L.) response to drought stress at germination and seedling growth stages. *Pakistan Journal of Botany*, 41, 647-654.
- Akerboom, T. P., Sies, H. (1981). Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. In *Methods in enzymology* (Vol. 77, pp. 373-382). Academic Press.
- Al Abboud, M. A., Ismail, K. S., Remesh, M., Nowwar, A. I. (2024). A novel approach for reducing water stress on sunflower plants by using medicinal plant extracts rather than artificial growth regulators. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 52(1), 13464-13464.
- Albalasmeh, A. A., Berhe, A. A., Ghezzehei, T. A. (2013). A new method for rapid determination of carbohydrate and total carbon concentrations using UV spectrophotometry. *Carbohydrate polymers*, 97(2), 253-261.
- Ali, M. S., Baek, K. H. (2020). Jasmonic acid signaling pathway in response to abiotic stresses in plants. *International journal of molecular sciences*, 21(2), 621.
- Ali, S., Mir, R. A., Haque, M. A., Danishuddin, Almalki, M. A., Alfredan, M., Khalifa, A., Mahmoudi, H., Shahid, M., Tyagi, A., Mir, Z. A. (2025). Exploring physiological and molecular dynamics of drought stress responses in plants: challenges and future directions. *Frontiers in Plant Science*, 16, 1565635.
- Ali, S., Abbas, Z., Seleiman, M. F., Rizwan, M., Yavaş, I., Alhammad, B. A., Shami, A., Hasanuzzaman, M., Kalderis, D. (2020a). Glycine betaine accumulation, significance and interests for heavy metal tolerance in plants. *Plants* 9, 896.

- Ali, S., Hayat, K., Iqbal, A., Xie, L. (2020b). Implications of abscisic acid in the drought stress tolerance of plants. *Agronomy*, 10(9), 1323.
- Altaf, M. A., Shahid, R., Kumar, R., Altaf, M. M., Kumar, A., Khan, L. U., Saqib, M., Nawaz, M. A., Saddiq, B., Bahadur, S., Tiwari, R. K., Lal, M. K., Naz, S. (2023). Phytohormones mediated modulation of abiotic stress tolerance and potential crosstalk in horticultural crops. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(8), 4724-4750.
- Alvarez, M. E., Savouré, A., Szabados, L. (2022). Proline metabolism as regulatory hub. *Trends in Plant Science*, 27(1), 39-55.
- Ameen, M., Zia, M. A., Najeeb Alawadi, H. F., Naqve, M., Mahmood, A., Shahzad, A. N., Khan, B. A., Alhammad, B. A., Aljabri, M., Seleiman, M. F. (2024). Exogenous application of selenium on sunflower (*Helianthus annuus* L.) to enhance drought stress tolerance by morpho-physiological and biochemical adaptations. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1427420.
- An, J., Cheng, C., Hu, Z., Chen, H., Cai, W., Yu, B. (2018). The *Panax ginseng* PgTIP1 gene confers enhanced salt and drought tolerance to transgenic soybean plants by maintaining homeostasis of water, salt ions and ROS. *Environmental and experimental botany*, 155, 45-55.
- Anjum, N. A., Gill, S. S., Corpas, F. J., Ortega-Villasante, C., Hernandez, L. E., Tuteja, N., Sofo, A., Hasanuzzaman, M., Fujita, M. (2022). Recent insights into the double role of hydrogen peroxide in plants. *Frontiers in Plant Science*, 13, 843274.
- Antala, M. (2022). Physiological roles of karrikins in plants under abiotic stress conditions. In *Emerging Plant Growth Regulators in Agriculture* (pp. 193-204). Academic Press.
- Antala, M., Sytar, O., Rastogi, A., Brestic, M. (2019). Potential of karrikins as novel plant growth regulators in agriculture. *Plants*, 9(1), 43.
- ASAGIR. (2003). Cuadernillo informativo N° 3: Girasol/usos.
- ASAGIR. (2019a). Historia. El girasol en la Argentina. <http://www.asagir.org.ar/acerca-de-historia-456>
- ASAGIR. (2019b). Importancia económica. <http://www.asagir.org.ar/acerca-de-importancia-economica-460>
- Ashraf, F., Siddiqi, E. H. (2024). Mitigation of drought-induced stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.) via foliar application of Jasmonic acid through the augmentation of growth, physiological, and biochemical attributes. *BMC Plant Biology*, 24(1), 592.
- Aslam, M. M., Waseem, M., Jakada, B. H., Okal, E. J., Lei, Z., Saqib, H. S. A., Yuan, W., Xu, W., Zhang, Q. (2022). Mechanisms of abscisic acid-mediated drought stress responses in plants. *International journal of molecular sciences*, 23(3), 1084.
- Aslam, M. M., Rehman, S., Khatoon, A., Jamil, M., Yamaguchi, H., Hitachi, K., Tsuchida, K., Li, X., Sunohara, Y., Matsumoto, H., Komatsu, S. (2019). Molecular responses of maize shoot to a plant derived smoke solution. *International journal of molecular sciences*, 20(6), 1319.
- Aslam, M. M., Jamil, M., Khatoon, A., Hendawy, S. E., Al-Suhaibani, N. A., Malook, I., Rehman, S. U. (2017). Physiological and biochemical responses of maize (*Zea mays* L.) to plant derived smoke solution. *Pakistan Journal of Botany*, 49(2), 435-443.
- Bajguz, A., Chmur, M., Gruszka, D. (2020). Comprehensive overview of the brassinosteroid biosynthesis pathways: substrates, products, inhibitors, and connections. *Frontiers in plant science*, 11, 1034.
- Bajguz, A., Piotrowska-Niczyporuk, A. (2023). Biosynthetic pathways of hormones in plants. *Metabolites*, 13(8), 884.
- Baldrianová, J., Černý, M., Novák, J., Jedelský, P. L., Divíšková, E., Brzobohatý, B. (2015). Arabidopsis proteome responses to the smoke-derived growth regulator karrikin. *Journal of proteomics*, 120, 7-20.

- Baltacier, G., Donat, S., Acar, O. (2023). The effects of exogenous salicylic acid and strigolactone applications on seedling growth and antioxidant activity in tomato seedlings under short-term drought stress. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 13(1), 89-101.
- Bandurska, H. (2022). Drought stress responses: Coping strategy and resistance. *Plants*, 11(7), 922.
- Barnhart, M. H., Masalia, R. R., Mosley, L. J., Burke, J. M. (2022). Phenotypic and transcriptomic responses of cultivated sunflower seedlings (*Helianthus annuus* L.) to four abiotic stresses. *PLoS One*, 17(9), e0275462.
- Baroi, A., Ritu, S. A., Khan, M. S. U., Uddin, M. N., Hossain, M. A., Haque, M. S. (2024). Absciscic acid and glycine betaine-mediated seed and root priming enhance seedling growth and antioxidative defense in wheat under drought. *Heliyon*, 10(9).
- Basit, F., Alyafei, M., Hayat, F., Al-Zayadneh, W., El-Keblawy, A., Sulieman, S., Sheteiwy, M. S. (2025). Deciphering the role of glycine betaine in enhancing plant performance and defense mechanisms against environmental stresses. *Frontiers in Plant Science*, 16, 1582332.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. A., Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39, 205-207.
- Bhaskarla, V., Zinta, G., Ford, R., Jain, M., Varshney, R. K., Mantri, N. (2020). Comparative root transcriptomics provide insights into drought adaptation strategies in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *International journal of molecular sciences*, 21(5), 1781.
- Bhoi, A., Yadu, B., Chandra, J., Keshavkant, S. (2021). Contribution of strigolactone in plant physiology, hormonal interaction and abiotic stresses. *Planta*, 254, 1-21.
- Bhutto, L. A., Osborne, C. P., Quick, W. P. (2023). Osmotic adjustment and metabolic changes under drought stress conditions in wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. *Pakistan Journal of Botany*, 55, 915-923.
- Boero, A., Ramírez, F., Oklestkova, J., Vigliocco, A., Strnad, M., Alemano, S., Andrade, A. (2023). A Differential phytohormone profile in the aerial part and roots as a response to water stress underlying morphophysiological and biochemical changes in two inbred sunflower lines at early growth stage. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(11), 7083-7095.
- Bolsa de Cereales de Buenos Aires. 2025. Informes y datos. En: <https://www.bolsadecereales.com/estimaciones-informes>.
- Bolsa de Cereales de Córdoba. (2025). Informe económico N° 452: Girasol.
- Bolsa de Comercio de Rosario. 2025. En: <https://www.bcr.com.ar/es>.
- Brumos, J., Robles, L. M., Yun, J., Vu, T. C., Jackson, S., Alonso, J. M., Stepanova, A. N. (2018). Local auxin biosynthesis is a key regulator of plant development. *Developmental cell*, 47(3), 306-318.
- Burton, A. L., Williams, M., Lynch, J. P., Brown, K. M. (2012). RootScan: software for high-throughput analysis of root anatomical traits. *Plant and soil*, 357(1), 189-203.
- Calleja-Cabrera, J., Boter, M., Oñate-Sánchez, L., Pernas, M. (2020). Root growth adaptation to climate change in crops. *Frontiers in Plant Science*, 11, 544.
- Calvo-Polanco, M., Ribeyre, Z., Dauzat, M., Reyt, G., Hidalgo-Shrestha, C., Diehl, P., Frenger, M., Simonneau, T., Muller, B., Salt, D. E., Franke, R. B., Maurel, C., Boursiac, Y. (2021). Physiological roles of Casparian strips and suberin in the transport of water and solutes. *New Phytologist*, 232(6), 2295-2307.
- Canales, F. J., Risipail, N., García-Tejera, O., Arbona, V., Pérez-de-Luque, A., Prats, E. (2021). Drought resistance in oat involves ABA-mediated modulation of transpiration and root hydraulic conductivity. *Environmental and Experimental Botany*, 182, 104333.
- Cannea, F. B., Padiglia, A. (2025). Antioxidant Defense Systems in Plants: Mechanisms, Regulation, and Biotechnological Strategies for Enhanced Oxidative Stress Tolerance. *Life*, 15(8), 1293.
- Castaño, F. (2018). The sunflower crop in Argentina: past, present and potential future. *Oilseeds and fats, Crops and Lipids*, 25(1): D105.

- Castro-Camba, R., Sánchez, C., Vidal, N., Vielba, J. M. (2022). Interactions of gibberellins with phytohormones and their role in stress responses. *Horticulturae*, 8(3), 241.
- Cechin, I., Cardoso, G. S., Fumis, T. D. F., Corniani, N. (2015). Nitric oxide reduces oxidative damage induced by water stress in sunflower plants. *Bragantia*, 74(2), 200-206.
- Černý, M., Habanova, H., Berka, M., Luklova, M., Brzobohatý, B. (2018). Hydrogen peroxide: its role in plant biology and crosstalk with signalling networks. *International journal of molecular sciences*, 19(9), 2812.
- Chen, X, Zhu, Y, Ding, Y, Pan, R, Shen, W, Yu, X, Xiong, F. (2021). The relationship between characteristics of root morphology and grain filling in wheat under drought stress. *PeerJ*, 9, e12015.
- Chimungu, J.G, Maliro, M. F., Nalivata, P. C., Kanyama-Phiri, G., Brown, K. M., Lynch, J. P. (2015). Utility of root cortical aerenchyma under water limited conditions in tropical maize (*Zea mays* L.). *Field Crops Res*, 171, 86-98.
- D'Ambrogio de Argüeso, A. (1986). Manual de técnicas en histología vegetal. Hemisferio Sur, Buenos Aires, 83.
- Darbani, S. P., Mehrabi, A. A., Pordad, S. S., Maleki, A., Farshadfar, M. (2020). Effect of drought stress on agro-morphological traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes and identification of informative ISSR markers. *Plant Genetic Resources*, 18(2), 49-62.
- Das, S., Shil, S., Rime, J., Alice, A. K., Yumkhaibam, T., Mounika, V., Singh, A. P., Kundu, M., Lalhmangaihual, H. P., Hazarika, T. K., Singh, A. K., Singh, S. (2025). Phytohormonal signaling in plant resilience: Advances and strategies for enhancing abiotic stress tolerance. *Plant Growth Regulation*, 105(2), 329-360.
- da Silva, O. B., de Castro, E. M., Vassura, Y., Pires, M. V., de Carvalho, C. G. P., de Carvalho, L. M., Pereira, M. P. (2025). Root system morphoanatomy of sunflower genotypes under water deficit. *BMC Plant Biology*, 25(1), 449.
- Debaeke, P., Casadebaig, P., Langlade, N. (2021). New challenges for sunflower ideotyping in changing environments and more ecological cropping systems. *Oilseeds and fats, Crops and Lipids*, 28.
- De Cuyper, C., Struk, S., Braem, L., Gevaert, K., De Jaeger, G., Goormachtig, S. (2017). Strigolactones, karrikins and beyond. *Plant, cell & environment*, 40(9), 1691- 1703.
- De la Mata Saez, L. (2016). Efectos de factores ambientales sobre la regulación del desarrollo de la hoja primaria de plantas de girasol (*Helianthus annuus* L.). Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba (España).
- de la Vega, A. J., Zuil, S. G., Vazquez, A. N., Bertero de Romano, A. (2024). Past Contributions and Present Challenges of Sunflower Breeding in Argentina. *Helia*, 47(80), 52-70.
- de la Vega, A.J, Chapman, S. C. (2010). Mega-environment differences affecting genetic progress for yield and relative value of component traits. *Crop Science*, 50(2), 574–583.
- Deng, Q., Wang, H., Qiu, Y., Wang, D., Xia, Y., Zhang, Y., Pei, M., Zhao, Y., Xu, X., Zhang, H. (2025). The Multifaceted Impact of Karrikin Signaling in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(6), 2775.
- Desta, B., Amare, G. (2021). Paclobutrazol as a plant growth regulator. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 8(1), 1-15.
- Dhanapal, A. P., York, L. M., Hames, K. A., Fritschi, F. B. (2021). Genome-wide association study of topsoil root system architecture in field-grown soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Frontiers in Plant Science*, 11, 590179.
- Dietz, K. J., Zörb, C., Geilfus, C. M. (2021). Drought and crop yield. *Plant Biology*, 23(6), 881-893.
- Dikilitas, M., Simsek, E., Roychoudhury, A. (2020). Role of proline and glycine betaine in overcoming abiotic stresses. *Protective chemical agents in the amelioration of plant abiotic stress: biochemical and molecular perspectives*, 1-23.

- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C. W. (2014). InfoStat versión 2014. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina, URL <http://www.infostat.com.ar>.
- Djanaguiraman, M., Prasad, P. V. V., Kumari, J., Rengel, Z. (2019). Root length and root lipid composition contribute to drought tolerance of winter and spring wheat. *Plant and Soil*, 439(1), 57-73.
- Dong, J., Fu, H., Wang, Z., Zhang, L., Liu, Z., Hu, Y., Shen, F., Wang, W. (2025). Mechanisms of Strigolactone-Regulated Abiotic Stress Responses in Plants. *Plants*, 14(16), 2582.
- Dong, S., Zhou, X., Qu, Z., Wang, X. (2023). Effects of drought stress at different stages on soluble sugar content of soybeans. *Plant, Soil & Environment*, 69(11).
- Duddek, P., Carminati, A., Koebernick, N., Ohmann, L., Lovric, G., Delzon, S., Rodriguez-Dominguez, C. M., King, A., Ahmed, M. A. (2022). The impact of drought-induced root and root hair shrinkage on root–soil contact. *Plant Physiology*, 189(3), 1232-1236.
- Du, Y., Zhao, Q., Chen, L., Yao, X., Zhang, W., Zhang, B., Xie, F. (2020). Effect of drought stress on sugar metabolism in leaves and roots of soybean seedlings. *Plant physiology and biochemistry*, 146, 1-12.
- Du, Y., Scheres, B. (2018). Lateral root formation and the multiple roles of auxin. *Journal of Experimental Botany*, 69(2), 155-167.
- Dumanović, J., Nepovimova, E., Natić, M., Kuća, K., Jačević, V. (2021). The significance of reactive oxygen species and antioxidant defense system in plants: A concise overview. *Frontiers in plant science*, 11, 552969.
- Durgbanshi, A., Arbona, V., Pozo, O., Miersch, O., Sancho, J. V., Gómez-Cadenas, A. (2005). Simultaneous determination of multiple phytohormones in plant extracts by liquid chromatography– electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(22), 8437-8442.
- Dvořák, P., Krasylenko, Y., Zeiner, A., Šamaj, J., Takáč, T. (2021). Signaling toward reactive oxygen species-scavenging enzymes in plants. *Frontiers in Plant Science*, 11, 618835.
- Edmond, V. D. V., Hong, Z., Nelson, A. S. (2025). Sugar alcohols in plants: implications for enhancing tree seedlings drought tolerance and production strategies. *BMC Plant Biology*, 25(1), 891.
- EL Sabagh, A., Islam, M. S., Hossain, A., Iqbal, M. A., Mubeen, M., Waleed, M., Reginato, M., Battaglia, M., Ahmed, S., Rehman, A., Arif, M., Athar, H. U. R., Ratnasekera, D., Danish, S., Raza, M. A., Rajendran, K., Mushtaq, M., Skalicky, M., Brestic, M., Soufan, W., Fahad, S., Pandey, S., Kamran, M., Datta, R., Abdelhamid, M. T. (2022). Phytohormones as growth regulators during abiotic stress tolerance in plants. *Frontiers in Agronomy*, 4, 765068.
- Escalante-Magaña, C., Aguilar-Caamal, L. F., Echevarría-Machado, I., Medina-Lara, F., Cach, L. S., Martínez-Estévez, M. (2019). Contribution of glycine betaine and proline to water deficit tolerance in pepper plants. *HortScience*, 54(6), 1044-1054.
- Fábregas, N., Fernie, A. R. (2019). The metabolic response to drought. *Journal of experimental botany*, 70(4), 1077-1085.
- Fang, P., Hu, Y., Guo, Q., Li, L., Xu, P. (2023). Karrikins, redox and plant abiotic stress tolerance: a focal review. *Plant Stress*, 9, 100185.
- Farooq, M., Wahid, A., Basra, S. M. A. (2009). Improving water relations and gas exchange with brassinosteroids in rice under drought stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 195(4), 262-269.
- Felemban, A., Braguy, J., Zurbruggen, M. D., Al-Babili, S. (2019). Apocarotenoids involved in plant development and stress response. *Frontiers in plant science*, 10, 1168.
- Feng, D., Liu, W., Chen, K., Ning, S., Gao, Q., Chen, J., Liu, J., Sun, X., Xu, W. (2024). Exogenous substances used to relieve plants from drought stress and their associated underlying mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(17), 9249.

- Fernández-Moroni, I., Frayse, M., Presotto, A., Cantamutto, M. (2012). Evaluation of argentine wild sunflower biotypes for drought stress during reproductive stage. *HELIA* 35: 29-36.
- Filová, A. (2014). The responses of *Helianthus annuus* L. to foliar application of 28 homobrassinolide. *Research Journal of Agricultural Science*, 46 (1), 226–235.
- Franco-Navarro, J. D., Padilla, Y. G., Álvarez, S., Calatayud, Á., Colmenero-Flores, J. M., Gómez-Bellot, M. J., Hernández, J. A., Martínez-Alcalá, I., Penella, C., Pérez-Pérez, J. G., Sánchez-Blanco, M. J., Tasa, M., Acosta-Motos, J. R. (2025). Advancements in Water-Saving Strategies and Crop Adaptation to Drought: A Comprehensive Review. *Physiologia Plantarum*, 177(4), e70332.
- Furlan, A. L., Bianucci, E., Giordano, W., Castro, S., Becker, D. F. (2020). Proline metabolic dynamics and implications in drought tolerance of peanut plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 151, 566-578.
- Gao, J., Zhuang, S., Zhang, W. (2024). Advances in plant auxin biology: Synthesis, metabolism, signaling, interaction with other hormones, and roles under abiotic stress. *Plants*, 13(17), 2523.
- Ghaffari, M., Gholizadeh, A., Rauf, S., Shariati, F. (2023). Drought-stress induced changes of fatty acid composition affecting sunflower grain yield and oil quality. *Food Science & Nutrition*, 11(12), 7718-7731.
- Ghasemi, A., Farzaneh, S., Moharramnejad, S., Sharifi, R. S., Youesf, A. F., Telesinski, A., Kalaji, H. M., Mojski, J. (2022). Impact of 24-epibrassinolide, spermine, and silicon on plant growth, antioxidant defense systems, and osmolyte accumulation of maize under water stress. *Scientific Reports*, 12(1), 14648.
- Ghosh, U. K., Islam, M. N., Siddiqui, M. N., Cao, X., Khan, M. A. R. (2022). Proline, a multifaceted signalling molecule in plant responses to abiotic stress: understanding the physiological mechanisms. *Plant Biology*, 24(2), 227-239.
- Goche, T., Shargie, N. G., Cummins, I., Brown, A. P., Chivasa, S., Ngara, R. (2020). Comparative physiological and root proteome analyses of two sorghum varieties responding to water limitation. *Scientific Reports*, 10(1), 11835.
- Greenacre, M., Groenen, P. J., Hastie, T., d'Enza, A. I., Markos, A., Tuzhilina, E. (2022). Principal component analysis. *Nature Reviews Methods Primers*, 2(1), 100.
- Grieve, C. M., Grattan, S. R. (1983). Rapid assay for determination of water-soluble quaternary ammonium compounds. *Plant and soil*, 70, 303-307.
- Guo, S., Wei, X., Ma, B., Ma, Y., Yu, Z., Li, P. (2023). Foliar application of strigolactones improves the desiccation tolerance, grain yield and water use efficiency in dryland wheat through modulation of non-hydraulic root signals and antioxidant defense. *Stress Biology*, 3(1), 54.
- Gupta, S., Kaur, R., Upadhyay, A., Chauhan, A., Tripathi, V. (2024). Unveiling the secrets of abiotic stress tolerance in plants through molecular and hormonal insights. *Biotech*, 14(10), 252.
- Gusain, S., Kumari, K., Joshi, R. (2024). Physiological, hormonal and molecular dynamics of root system architectural response to drought stress signaling in crops. *Rhizosphere*, 31, 100922.
- Haghpanah, M., Hashemipetroudi, S., Arzani, A., Araniti, F. (2024). Drought tolerance in plants: physiological and molecular responses. *Plants*, 13(21), 2962.
- Haj Sghaier, A., Khaeim, H., Tarnawa, Á., Kovács, G. P., Gyuricza, C., Kende, Z. (2023). Germination and seedling development responses of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds to temperature and different levels of water availability. *Agriculture*, 13(3), 608.
- Han, X., Kui, M., He, K., Yang, M., Du, J., Jiang, Y., Hu, Y. (2023). Jasmonate-regulated root growth inhibition and root hair elongation. *Journal of Experimental Botany*, 74(4), 1176-1185.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., Fujita, M., Fotopoulos, V. (2020). Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*, 9(8), 681.

- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Anee, T. I., Fujita, M. (2017). Glutathione in plants: biosynthesis and physiological role in environmental stress tolerance. *Physiology and molecular biology of plants*, 23, 249-268.
- Haworth, M., Centritto, M., Giovannelli, A., Marino, G., Proietti, N., Capitani, D., De Carlo, A., Loreto, F. (2017). Xylem morphology determines the drought response of two *Arundo donax* ecotypes from contrasting habitats. *Gcb Bioenergy*, 9(1), 119-131.
- Heath, R. L., Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of biochemistry and biophysics*, 125(1), 189-198.
- Hou, L., Zhang, A., Wang, R., Zhao, P., Zhang, D., Jiang, Y., Diddugodage, C. J., Wang, X., Ni, Z., Xu, S. (2019). Brassinosteroid regulates root development with highly redundant genes in hexaploid wheat. *Plant and Cell Physiology*, 60(8), 1761-1777.
- Hu, L., Lv, X., Zhang, Y., Du, W., Fan, S., Kong, L. (2024). Transcriptomic and Metabolomic Profiling of Root Tissue in Drought-Tolerant and Drought-Susceptible Wheat Genotypes in Response to Water Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(19), 10430.
- Hu, L., Xie, Y., Fan, S., Wang, Z., Wang, F., Zhang, B., Li, H., Song, J., Kong, L. (2018). Comparative analysis of root transcriptome profiles between drought-tolerant and susceptible wheat genotypes in response to water stress. *Plant Science*, 272, 276-293.
- Huang, H., Ullah, F., Zhou, D. X., Yi, M., Zhao, Y. (2019). Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses. *Frontiers in plant science*, 10, 800.
- Hussain, S., Khan, M., Altaf, M. T., Shah, M. N., Alfagham, A. T. (2025). Deciphering the morpho-physiological and biochemical response of sunflower hybrids with the application of biochar and slow-release nitrogen fertilizers under drought stress for sustainable crop production. *Frontiers in Plant Science*, 16, 1541123.
- Hussain, S., Farooq, S., Bashir, M. A., Atta, S., Jan, M., Maqbool, M. M., Hussain, A., Mushtaq, M. N. (2021). 15. Absciscic Acid (ABA) mitigates drought stress in sunflower by enhancing water relations and osmotic adjustments. *Pure and Applied Biology*, 10(1), 182-193.
- Hussain, M. A., Fahad, S., Sharif, R., Jan, M. F., Mujtaba, M., Ali, Q., Ahmad, A., Ahmad, H., Amin, N., Ajayo, B. S., Sun, C., Gu, C., Ahmad, I., Jiang, Z., Hou, J. (2020). Multifunctional role of brassinosteroid and its analogues in plants. *Plant Growth Regulation*, 92, 141-156.
- Hussain, H. A., Men, S., Hussain, S., Chen, Y., Ali, S., Zhang, S., Zhang, K., Li, Y., Xu, Q., Liao, C., Wang, L. (2018b). Interactive effects of drought and heat stresses on morpho-physiological attributes, yield, nutrient uptake and oxidative status in maize hybrids. *Scientific Reports*, 9(1), 1-12.
- Hussain, M., Farooq, S., Hasan, W., Ul-Allah, S., Tanveer, M., Farooq, M., Nawaz, A. (2018a). Drought stress in sunflower: Physiological effects and its management through breeding and agronomic alternatives. *Agricultural water management*, 201, 152-166.
- Ilyas, M., Nisar, M., Khan, N., Hazrat, A., Khan, A. H., Hayat, K., Fahad, S., Khan, A., Ullah, A. (2021). Drought tolerance strategies in plants: a mechanistic approach. *Journal of Plant Growth Regulation*, 40, 926-944.
- Iqbal, H., Yaning, C., Raza, S. T., Karim, S., Shareef, M., Waqas, M. (2025). From Lab to Field: Harnessing H₂O₂-Mediated Upregulation of Plant Capacities Under Abiotic Stresses. *Physiologia Plantarum*, 177(5), e70488.
- Iqbal, S., Wang, X., Mubeen, I., Kamran, M., Kanwal, I., Díaz, G. A., Abbas, A., Parveen, A., Atiq, M. N., Alshaya, H., El-Abedin, T. K. Z., Fahad, S. (2022). Phytohormones trigger drought tolerance in crop plants: outlook and future perspectives. *Frontiers in Plant Science*, 12, 799318.
- Jamil, M., Kanwal, M., Aslam, M. M., Khan, S. U., Malook, I., Tu, J., ur Rehman, S. (2014). Effect of plant-derived smoke priming on physiological and biochemical characteristics of rice under salt stress condition. *Australian Journal of Crop Science*, 8(2), 159-170.

- Janzen, G. M., Dittmar, E. L., Langlade, N. B., Blanchet, N., Donovan, L. A., Temme, A. A., Burke, J. M. (2023). Similar transcriptomic responses to early and late drought stresses produce divergent phenotypes in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11), 9351.
- Jarin, A., Ghosh, U. K., Hossain, M. S., Mahmud, A., Khan, M. A. R. (2024). Glycine betaine in plant responses and tolerance to abiotic stresses. *Discover Agriculture*, 2(1), 127.
- Jeandet, P., Formela-Luboińska, M., Labudda, M., Morkunas, I. (2022). The role of sugars in plant responses to stress and their regulatory function during development. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 5161.
- Jiang, Z., Zhu, H., Zhu, H., Tao, Y., Liu, C., Liu, J., Yang, F., Li, M. (2022). Exogenous ABA enhances the antioxidant defense system of maize by regulating the AsA-GSH cycle under drought stress. *Sustainability*, 14(5), 3071.
- Jiu, S., Xu, Y., Xie, X., Wang, J., Xu, J., Liu, X., Sun, W., Xu, W., Wang, S., Zhang, C. (2022). Strigolactones affect the root system architecture of cherry rootstock by mediating hormone signaling pathways. *Environmental and Experimental Botany*, 193, 104667.
- Jocković, J., Grahovac, N., Milovac, Ž., Jocković, M., Jocić, S., Marjanović Jeromela, A., Cvejić, S. (2025). Exploring *Helianthus* species for resilience to drought during the critical reproductive stage. *Plants*, 14(4), 631.
- Jocković, M., Jocić, S., Cvejić, S., Dedić, B., Jocković, J., Ćuk, N., Radanović, A., Jocković, J., Jeromela, A. M., Miklič, V., Miladinović, D. (2024). Unveiling sunflower morphological and phenological adaptations to drought stress. *Oilseeds and fats, Crops and Lipids*, 31, 29.
- Jogawat, A., Yadav, B., Chhaya, Lakra, N., Singh, A. K., Narayan, O. P. (2021). Crosstalk between phytohormones and secondary metabolites in the drought stress tolerance of crop plants: a review. *Physiologia Plantarum*, 172(2), 1106-1132.
- Johansen, D. A. (1940) *Plant Microtechnique*. 1a ed. Mc Graw Hill Book Co. New York, 521 pp.
- Julkowska, M. M., Testerink, C. (2015). Tuning plant signaling and growth to survive salt. *Trends in plant science*, 20(9), 586-594.
- Kalra, A., S. Goel, and A. A. Elias. (2024). Understanding Role of Roots in Plant Response to Drought: Way Forward to Climate- Resilient Crops. *The plant genome*, 17(1): e20395.
- Kamran, M., Melville, K. T., Waters, M. T. (2024). Karrikin signalling: impacts on plant development and abiotic stress tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 75(4), 1174-1186.
- Kaneko, T., Horie, T., Nakahara, Y., Tsuji, N., Shibasaka, M., Katsuhara, M. (2015). Dynamic regulation of the root hydraulic conductivity of barley plants in response to salinity/osmotic stress. *Plant and Cell Physiology*, 56(5), 875-882.
- Kapoor, R. T., Alam, P., Chen, Y., Ahmad, P. (2024). Strigolactones in plants: from development to abiotic stress management. *Journal of Plant Growth Regulation*, 43(3), 903-919.
- Katyayini, N. U., Rinne, P. L., Tarkowská, D., Strnad, M., van der Schoot, C. (2020). Dual role of gibberellin in perennial shoot branching: inhibition and activation. *Frontiers in Plant Science*, 11, 736.
- Kayak, N., Kal, Ü., Dal, Y., Yavuz, D., Seymen, M. (2023). Do proline and glycine betaine mitigate the adverse effects of water stress in spinach? *Gesunde Pflanzen*, 75(1), 97-113.
- Keipp, K., Hütsch, B. W., Ehlers, K., Schubert, S. (2020). Drought stress in sunflower causes inhibition of seed filling due to reduced cell-extension growth. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 206(5), 517-528.
- Khan, A., Pan, X., Najeeb, U., Tan, D. K. Y., Fahad, S., Zahoor, R., Luo, H. (2018). Coping with drought: stress and adaptive mechanisms, and management through cultural and molecular alternatives in cotton as vital constituents for plant stress resilience and fitness. *Biological research*, 51.
- Khan, I., Awan, S. A., Ikram, R., Rizwan, M., Akhtar, N., Yasmin, H., Sayyed, R. Z., Ali, S., Ilyas, N. (2021). Effects of 24-epibrassinolide on plant growth, antioxidants defense system, and

- endogenous hormones in two wheat varieties under drought stress. *Physiologia plantarum*, 172(2), 696-706.
- Khan, N., Bano, A., Babar, M. A. (2019). Metabolic and physiological changes induced by plant growth regulators and plant growth promoting rhizobacteria and their impact on drought tolerance in *Cicer arietinum* L. *PloS one*, 14(3), e0213040.
- Khan, P., Abdelbacki, A. M., Albaqami, M., Jan, R., Kim, K. M. (2025). Proline promotes drought tolerance in maize. *Biology*, 14(1), 41.
- Kim Y, Chung YS, Lee E, Tripathi P, Heo S, Kim KH. (2020). Root response to drought stress in rice (*Oryza sativa* L.). *Int. J. Mol. Sci.*, 21(4), 1513.
- Kiryushkin, A. S., Ilina, E. L., Kiikova, T. Y., Pawlowski, K., Demchenko, K. N. (2024). Do DEEPER ROOTING 1 Homologs regulate the lateral root slope angle in cucumber (*Cucumis sativus*)? *International Journal of Molecular Sciences*, 25(4), 1975.
- Klein, S. P., Schneider, H. M., Perkins, A. C., Brown, K. M., Lynch, J. P. (2020). Multiple integrated root phenotypes are associated with improved drought tolerance. *Plant physiology*, 183(3), 1011-1025.
- Kopecká, R., Kameniarová, M., Černý, M., Brzobohatý, B., Novák, J. (2023). Abiotic stress in crop production. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7), 6603.
- Kosakivska, I. V., Vedenicheva, N. P., Babenko, L. M., Voytenko, L. V., Romanenko, K. O., Vasyuk, V. A. (2022). Exogenous phytohormones in the regulation of growth and development of cereals under abiotic stresses. *Molecular Biology Reports*, 49(1), 617-628.
- Kosar, F., Alshallash, K. S., Akram, N. A., Sadiq, M., Ashraf, M., Alkhalifah, D. H. M., Latef, A. A. H. A., Elkelish, A. (2022). Trehalose-induced regulations in nutrient status and secondary metabolites of drought-stressed sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. *Plants*, 11(20), 2780.
- Kou, X., Han, W., Kang, J. (2022). Responses of root system architecture to water stress at multiple levels: A meta-analysis of trials under controlled conditions. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1085409.
- Kramna, B., Prerostova, S., Vankova, R. (2019). Strigolactones in an experimental context. *Plant Growth Regulation*, 88(2), 113-128.
- Kuromori, T., Seo, M., Shinozaki, K. (2018). ABA transport and plant water stress responses. *Trends in plant science*, 23(6), 513-522.
- Labudda, M., Azam, F. M. S. (2014). Glutathione-dependent responses of plants to drought: a review. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 83(1).
- Landrein, B., Formosa-Jordan, P., Malivert, A., Schuster, C., Melnyk, C. W., Yang, W., Turnbull, C., Meyerowitz, E. M., Locke, J. C. W., Jönsson, H. (2018). Nitrate modulates stem cell dynamics in Arabidopsis shoot meristems through cytokinins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(6), 1382-1387.
- Li, C., Xu, M., Cai, X., Han, Z., Si, J., Chen, D. (2022). Jasmonate signaling pathway modulates plant defense, growth, and their trade-offs. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(7), 3945.
- Li, C., Li, L., Reynolds, M. P., Wang, J., Chang, X., Mao, X., Jing, R. (2021a). Recognizing the hidden half in wheat: root system attributes associated with drought tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 72(14), 5117-5133.
- Li, P. F., Ma, B. L., Wei, X. F., Guo, S., Ma, Y. Q. (2024). Deeper root distribution and optimized root anatomy help improve dryland wheat yield and water use efficiency under low water conditions. *Plant and Soil*, 501(1), 437-454.
- Li, Q., Zhao, M., Wang, N., Liu, S., Wang, J., Zhang, W., Yang, N., Fan, P., Wang, R., Wang, H., Du, N. (2020a). Water use strategies and drought intensity define the relative contributions of hydraulic failure and carbohydrate depletion during seedling mortality. *Plant Physiology and Biochemistry*, 153, 106-118.

- Li, R.Y., Min, Z., Fang, Y.L. (2019). Effects of strigolactones on growth of ‘Cabernet Sauvignon’ seedlings under drought stress. *Journal of Northwest A&F University*, 47, 73-83.
- Li, S. M., Zheng, H. X., Zhang, X. S., Sui, N. (2021b). Cytokinins as central regulators during plant growth and stress response. *Plant cell reports*, 40(2), 271-282.
- Li, T., Zhang, Y., Liu, Y., Li, X., Hao, G., Han, Q., Zhao, T. (2020b). Raffinose synthase enhances drought tolerance through raffinose synthesis or galactinol hydrolysis in maize and *Arabidopsis* plants. *Journal of Biological Chemistry*, 295(23), 8064-8077.
- Liao, Z., Chen, B., Boubakri, H., Farooq, M., Mur, L. A. J., Urano, D., Teo, C. H., Tan, B. C., Hasan, M. D. M., Aslam, M. M., Tahir, M. Y., Fan, J. (2025). The regulatory role of phytohormones in plant drought tolerance. *Planta*, 261(5), 1-22.
- Liaqat, W., Altaf, M. T., Barutçular, C., Mohamed, H. I., Ahmad, H., Jan, M. F., & Khan, E. H. (2024). Sorghum: a star crop to combat abiotic stresses, food insecurity, and hunger under a changing climate: a review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 24(1), 74-101.
- Liu, H., Mu, Y., Xuan, Y., Wu, X., Wang, W., Zhang, H. (2024). Hydrogen peroxide signaling in the maintenance of plant root apical meristem activity. *Antioxidants*, 13(5), 554.
- Liu, Y., Zhang, J., Huang, B. (2020). Priming effects of phytometabolites and hormones on rooting characteristics in tall fescue exposed to water stress. *Crop Science*, 60(5), 2732-2743.
- Luqman, M., Shahbaz, M., Maqsood, M. F., Farhat, F., Zulfqar, U., Siddiqui, M. H., Masood, A., Aqeel, M., Haider, F. U. (2023). Effect of strigolactone on growth, photosynthetic efficiency, antioxidant activity, and osmolytes accumulation in different maize (*Zea mays* L.) hybrids grown under drought stress. *Plant Signaling & Behavior*, 18(1), 2262795.
- Mhamdi, A., Van Breusegem, F. (2018). Reactive oxygen species in plant development. *Development*, 145(15), dev164376.
- Mahmood, T., Iqbal, M. S., Li, H., Nazir, M. F., Khalid, S., Sarfraz, Z., Hu, D., Baojun, C., Geng, X., Tajo, S. M., Dev, W., Iqbal, Z., Zhao, P., Hu, G., Du, X. (2022). Differential seedling growth and tolerance indices reflect drought tolerance in cotton. *BMC Plant Biology*, 22(1), 331.
- Mahmood, T., Khalid, S., Abdullah, M., Ahmed, Z., Shah, M. K. N., Ghafoor, A., Du, X. (2019). Insights into drought stress signaling in plants and the molecular genetic basis of cotton drought tolerance. *Cells*, 9(1), 105.
- Malaga, S., Janeczko, A., Janowiak, F., Waligórski, P., Oklestkova, J., Dubas, E., Krzewska, M., Nowicka, A., Surówka, E., Rapacz, M., Wójcik-Jagła, M., Kopeć, P., Hura, T., Ostrowska, A., Kaczanowska, K., Żur, I. (2020). Involvement of homocastasterone, salicylic and abscisic acids in the regulation of drought and freezing tolerance in doubled haploid lines of winter barley. *Plant Growth Regulation*, 90, 173-188.
- Mao, J., Zhang, D., Li, K., Liu, Z., Liu, X., Song, C., Li, G., Zhao, C., Ma, J., Han, M. (2017). Effect of exogenous Brassinolide (BR) application on the morphology, hormone status, and gene expression of developing lateral roots in *Malus hupehensis*. *Plant Growth Regulation*, 82, 391-401.
- Martinez, F. E., Dunford, N., Salas, J. (2015). Sunflower chemistry, production, processing and utilization. En: *Sunflower chemistry, production, processing and utilization*. Martinez-Force E, Dunford N, Salas J (Eds). Elsevier. Urbana, Illinois, USA, pp 53-93.
- Marzec, M. (2017). Strigolactones and gibberellins: a new couple in the phytohormone world? *Trends in plant science*, 22(10), 813-815.
- Miranda, M. T., Da Silva, S. F., Silveira, N. M., Pereira, L., Machado, E. C., Ribeiro, R. V. (2021). Root osmotic adjustment and stomatal control of leaf gas exchange are dependent on citrus rootstocks under water deficit. *Journal of Plant Growth Regulation*, 40(1), 11-19.
- Mishra, N., Jiang, C., Chen, L., Paul, A., Chatterjee, A., Shen, G. (2023). Achieving abiotic stress tolerance in plants through antioxidative defense mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1110622.

- Mitchell K, French E, Beckerman J, Iyer-Pascuzzi A, Volenec J, Gibson K. (2018). Biochar alters the root systems of large crabgrass. *HortScience*, 53(3), 354-359.
- Morales, M., Munné-Bosch, S. (2024). Malondialdehyde assays in higher plants. In *ROS Signaling in Plants: Methods and Protocols* (pp. 79-100). New York, NY: Springer US.
- Mubarik, M. S., Khan, S. H., Sajjad, M., Raza, A., Hafeez, M. B., Yasmeen, T., Rizwan, M., Ali, S., Arif, M. S. (2021). A manipulative interplay between positive and negative regulators of phytohormones: A way forward for improving drought tolerance in plants. *Physiologia Plantarum*, 172(2), 1269-1290.
- Mukherjee, A., Gaurav, A. K., Singh, S., Yadav, S., Bhowmick, S., Abeysinghe, S., Verma, J. P. (2022). The bioactive potential of phytohormones: A review. *Biotechnology Reports*, 35, e00748.
- Müller, M., Munné-Bosch, S. (2021). Hormonal impact on photosynthesis and photoprotection in plants. *Plant Physiology*, 185(4), 1500-1522.
- Munns, R., Passioura, J. B. (1984). Hydraulic resistance of plants. III. Effects of NaCl in barley and lupin. *Functional Plant Biology*, 11(5), 351-359.
- Mwale, S. S., Hamusimbi, C., Mwansa, K. (2003). Germination, emergence and growth of sunflower (*Helianthus annuus* L.) in response to osmotic seed priming. *Seed Science and Technology*, 31, 199-206.
- Naeem, M., Aftab, T. (eds.) (2022) *Emerging Plant Growth Regulators in Agriculture: Roles in Stress Tolerance*. Academic Press, Cambridge.
- Naulin, P. A., Armijo, G. I., Vega, A. S., Tamayo, K. P., Gras, D. E., de la Cruz, J., Gutiérrez, R. A. (2020). Nitrate induction of primary root growth requires cytokinin signaling in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology*, 61(2), 342-352.
- Ngoroyemoto, N., Gupta, S., Kulkarni, M. G., Finnie, J. F., Van Staden, J. (2019). Effect of organic biostimulants on the growth and biochemical composition of *Amaranthus hybridus* L. *South African Journal of Botany*, 124, 87-93.
- Nguyen, K. H., Mostofa, M. G., Watanabe, Y., Tran, C. D., Rahman, M. M., & Tran, L. S. P. (2019). Overexpression of GmNAC085 enhances drought tolerance in *Arabidopsis* by regulating glutathione biosynthesis, redox balance and glutathione-dependent detoxification of reactive oxygen species and methylglyoxal. *Environmental and experimental botany*, 161, 242-254.
- Ni, M. A., Lin, W. A. N., Wei, Z. H. A. O., Liu, H. F., Jun, L. I., Zhang, C. L. (2020). Exogenous strigolactones promote lateral root growth by reducing the endogenous auxin level in rapeseed. *Journal of Integrative Agriculture*, 19(2), 465-482.
- Niu, T., Zhang, T., Qiao, Y., Wen, P., Zhai, G., Liu, E., Al-Bakre, D. A., Al-Harbi, M. S., Gao, X., Yang, X. (2021). Glycinebetaine mitigates drought stress-induced oxidative damage in pears. *Plos one*, 16(11), e0251389.
- Noctor, G., Cohen, M., Trémulot, L., Châtel-Innocenti, G., Van Breusegem, F., Mhamdi, A. (2024). Glutathione: a key modulator of plant defence and metabolism through multiple mechanisms. *Journal of Experimental Botany*, 75(15), 4549-4572.
- Oklestkova, J., Tarkowská, D., Eyer, L., Elbert, T., Marek, A., Smržová, Z., Novák, O., Fránek, M., Zhabinskii, V. N., Strnad, M. (2017). Immunoaffinity chromatography combined with tandem mass spectrometry: A new tool for the selective capture and analysis of brassinosteroid plant hormones. *Talanta*, 170, 432-440.
- Omoarelojie, L. O., Kulkarni, M. G., Finnie, J. F., Van Staden, J. (2019). Strigolactones and their crosstalk with other phytohormones. *Annals of botany*, 124(5), 749-767.
- Oneto, C. D., Otegui, M. E., Baroli, I., Beznec, A., Faccio, P., Bossio, E., Blumwald, E., Lewi, D. (2016). Water deficit stress tolerance in maize conferred by expression of an isopentenyltransferase (IPT) gene driven by a stress-and maturation-induced promoter. *Journal of biotechnology*, 220, 66-77.

- Orimoloye, I. R. (2022). Agricultural drought and its potential impacts: enabling decision-support for food security in vulnerable regions. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 6, 838824.
- Ozturk, M., Turkeyilmaz Unal, B., García-Caparrós, P., Khursheed, A., Gul, A., Hasanuzzaman, M. (2021). Osmoregulation and its actions during the drought stress in plants. *Physiologia plantarum*, 172(2), 1321-1335.
- Panda, S. K., Gupta, D., Patel, M., Vyver, C. V. D., Koyama, H. (2024). Functionality of reactive oxygen species (ROS) in plants: Toxicity and control in *Poaceae* crops exposed to abiotic stress. *Plants*, 13(15), 2071.
- Pandey, V. P., Awasthi, M., Singh, S., Tiwari, S., Dwivedi, U. N. (2017). A comprehensive review on function and application of plant peroxidases. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 6(1), 308.
- Parada, F., Oklestkova, J., Arce-Johnson, P. (2022). Characterization of endogenous levels of brassinosteroids and related genes in grapevines. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1827.
- Parwez, R., Aftab, T., Gill, S. S., Naeem, M. (2022). Absciscic acid signaling and crosstalk with phytohormones in regulation of environmental stress responses. *Environmental and Experimental Botany*, 199, 104885.
- Pedraza, M. V., Pereyra, V. R., Aguirrezábal, L. A. N., Lurlund, A. (2000). Publicación de INTA, pp. 18-19.
- Planas-Riverola, A., Gupta, A., Betegón-Putze, I., Bosch, N., Ibañes, M., Caño Delgado, A. I. (2019). Brassinosteroid signaling in plant development and adaptation to stress. *Development*, 146(5), dev151894.
- Prince, S. J., Murphy, M., Mutava, R. N., Durnell, L. A., Valliyodan, B., Shannon, J. G., Nguyen, H. T. (2017). Root xylem plasticity to improve water use and yield in water-stressed soybean. *Journal of Experimental Botany*, 68(8), 2027-2036.
- Ptošková, K., Szczółka, M., Jaworek, P., Tarkowská, D., Petřík, I., Pavlović, I., Novák, O., Thomas, S. G., Phillips, A. L., Hedden, P. (2022). Changes in the concentrations and transcripts for gibberellins and other hormones in a growing leaf and roots of wheat seedlings in response to water restriction. *BMC plant biology*, 22(1), 284.
- Puértolas, J., Castro-Valdecantos, P., Chen, M., Zhang, J., Dodd, I. C. (2025). Drought-Induced Absciscic Acid Accumulation in Soybean Roots Depends on NCED Gene Expression More Than Shoot-to-Root ABA Transport. *Plant, Cell & Environment*.
- Qiao, M., Hong, C., Jiao, Y., Hou, S., Gao, H. (2024). Impacts of drought on photosynthesis in major food crops and the related mechanisms of plant responses to drought. *Plants*, 13(13), 1808.
- Quandahor, P., Gou, Y., Lin, C., Coulter, J. A., Liu, C. (2021). Comparison of root tolerance to drought and aphid (*Myzus persicae* Sulzer) resistance among different potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars. *Scientific reports*, 11(1), 628.
- Rai, G. K., Kumar, P., Choudhary, S. M., Singh, H., Adab, K., Kosser, R., Magotra, I., Kumar, R. R., Singh, M., Sharma, R., Corrado, G., Rouphael, Y. (2023). Antioxidant potential of glutathione and crosstalk with phytohormones in enhancing abiotic stress tolerance in crop plants. *Plants*, 12(5), 1133.
- Rajper, F. K., Jatoi, W. A., Channa, Q. A., Memon, S., Fatima, N., Ansari, M. A., Lund, M. M., Bhatti, H. A., Keerio, S., Mirani, K. (2021). 9. Performance of sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes morphological and yield traits under water deficit conditions. *Pure and Applied Biology (PAB)*, 11(1), 79-91.
- Rajput, V. D., Harish, Singh, R. K., Verma, K. K., Sharma, L., Quiroz-Figueroa, F. R., Meena, M., Gour, V. S., Minkina, T., Sushkova, S., Mandzhieva, S. (2021). Recent developments in enzymatic antioxidant defense mechanism in plants with special reference to abiotic stress. *Biology*, 10(4), 267.

- Ramírez, F., Escalante, M., Vigliocco, A., Pérez-Chaca, M. V., Reginato, M., Molina, A., Di Rienzo, J. A., Andrade, A., Alemano, S. (2020). Biochemical and molecular approach of oxidative damage triggered by water stress and rewatering in sunflower seedlings of two inbred lines with different ability to tolerate water stress. *Functional Plant Biology*, 47(8), 727-743.
- Rane, J., Singh, A. K., Tiwari, M., Prasad, P. V., Jagadish, S. K. (2022). Effective use of water in crop plants in dryland agriculture: implications of reactive oxygen species and antioxidative system. *Frontiers in Plant Science*, 12, 778270.
- Ranjan, A., Sinha, R., Singla-Pareek, S. L., Pareek, A., Singh, A. K. (2022). Shaping the root system architecture in plants for adaptation to drought stress. *Physiologia plantarum*, 174(2), e13651.
- Rao, M. J., Duan, M., Zhou, C., Jiao, J., Cheng, P., Yang, L., Wei, W., Shen, Q., Ji, P., Yang, Y., Conteh, O., Yan, D., Yuan, H., Rauf, A., Ai, J., Zheng, B. (2025). Antioxidant defense system in plants: Reactive oxygen species production, signaling, and scavenging during abiotic stress-induced oxidative damage. *Horticulturae*, 11(5), 477.
- Raza, A., Charagh, S., Zahid, Z., Mubarik, M. S., Javed, R., Siddiqui, M. H., Hasanuzzaman, M. (2021). Jasmonic acid: a key frontier in conferring abiotic stress tolerance in plants. *Plant Cell Reports*, 40(8), 1513-1541.
- Rehman, N. U., Li, X., Zeng, P., Guo, S., Jan, S., Liu, Y., Huang, Y., Xie, Q. (2021). Harmony but not uniformity: role of strigolactone in plants. *Biomolecules*, 11(11), 1616.
- Rehman, A., ur Rehman, S., Khatoon, A., Qasim, M., Itoh, T., Iwasaki, Y., Wang, X., Sunohara, Y., Matsumoto, H., Komatsu, S. (2018). Proteomic analysis of the promotive effect of plant-derived smoke on plant growth of chickpea. *Journal of proteomics*, 176, 56-70.
- Ribeiro, D. G. D. S., Silva, B. R. S. D., Lobato, A. K. D. S. (2019). Brassinosteroids induce tolerance to water deficit in soybean seedlings: contributions linked to root anatomy and antioxidant enzymes. *Acta Physiologiae Plantarum*, 41(6), 82.
- Ruan, J., Zhou, Y., Zhou, M., Yan, J., Khurshid, M., Weng, W., Cheng, J., Zhang, K. (2019). Jasmonic acid signaling pathway in plants. *International journal of molecular sciences*, 20(10), 2479.
- Sachdev, S., Ansari, S. A., Ansari, M. I., Fujita, M., Hasanuzzaman, M. (2021). Abiotic stress and reactive oxygen species: Generation, signaling, and defense mechanisms. *Antioxidants*, 10(2), 277.
- Sadura, I., Latowski, D., Oklestkova, J., Gruszka, D., Chyc, M., Janeczko, A. (2020). Molecular dynamics of chloroplast membranes isolated from wild-type barley and a brassinosteroid-deficient mutant acclimated to low and high temperatures. *Biomolecules*, 11(1), 27.
- Salah, A., Nwafor, C. C., Han, Y., Liu, L., Rashid, M., Batool, M., Mahmou, A., Cao, C., Zhan, M. (2022). Spermidine and brassinosteroid regulate root anatomical structure, photosynthetic traits and antioxidant defense systems to alleviate waterlogging stress in maize seedlings. *South African Journal of Botany*, 144, 389-402.
- Salvi, P., Manna, M., Kaur, H., Thakur, T., Gandass, N., Bhatt, D., Muthamilarasan, M. (2021). Phytohormone signaling and crosstalk in regulating drought stress response in plants. *Plant Cell Reports*, 40, 1305-1329.
- Sandar, M. M., Ruangsiri, M., Chutteang, C., Arunyanark, A., Toojinda, T., Siangliw, J. L. (2022). Root characterization of Myanmar upland and lowland rice in relation to agronomic and physiological traits under drought stress condition. *Agronomy*, 12(5), 1230.
- Schneider, H. M., Lor, V. S. N., Hanlon, M. T., Perkins, A., Kaeppler, S. M., Borkar, A. N., Bhosale, R., Zhang, X., Rodriguez, J., Bucksch, A., Bennett, M. J., Brown, K. M., Lynch, J. P. (2022). Root angle in maize influences nitrogen capture and is regulated by calcineurin B-like protein (CBL)-interacting serine/threonine-protein kinase 15 (ZmCIPK15). *Plant, Cell & Environment*, 45(3), 837-853.

- Schneider, H. M., Lynch, J. P. (2018). Functional implications of root cortical senescence for soil resource capture. *Plant and Soil*, 423(1), 13-26.
- Sedaghat, M., Emam, Y., Mokhtassi-Bidgoli, A., Hazrati, S., Lovisolo, C., Visentin, I., Cardinale, F., Tahmasebi-Sarvestani, Z. (2021). The potential of the synthetic strigolactone analogue GR24 for the maintenance of photosynthesis and yield in winter wheat under drought: investigations on the mechanisms of action and delivery modes. *Plants*, 10(6), 1223.
- Seleiman, M. F., Refay, Y., Al-Suhaibani, N., Al-Ashkar, I., El-Hendawy, S., Hafez, E. M. (2019). Integrative effects of rice-straw biochar and silicon on oil and seed quality, yield and physiological traits of *Helianthus annuus* L. grown under water deficit stress. *Agronomy*, 9(10), 637.
- Shah, F. A., Ni, J., Tang, C., Chen, X., Kan, W., Wu, L. (2021). Karrikinolide alleviates salt stress in wheat by regulating the redox and K⁺/Na⁺ homeostasis. *Plant Physiology and Biochemistry*, 167, 921-933.
- Shah, F. A., Wei, X., Wang, Q., Liu, W., Wang, D., Yao, Y., Hu, H., Chen, X., Huang, S., Hou, J., Lu, R., Liu, C., Ni, J., Wu, L. (2020). Karrikin improves osmotic and salt stress tolerance via the regulation of the redox homeostasis in the oil plant *Sapium sebiferum*. *Frontiers in Plant Science*, 11, 216.
- Shaffique, S., Hussain, S., Kang, S. M., Imran, M., Injamum-Ul-Hoque, M., Khan, M. A., Lee, I. J. (2023). Phytohormonal modulation of the drought stress in soybean: outlook, research progress, and cross-talk. *Frontiers in plant science*, 14, 1237295.
- Sharma, A., Dheer, P., Rautela, I., Thapliyal, P., Thapliyal, P., Bajpai, A. B., Sharma, M. D. (2024). A review on strategies for crop improvement against drought stress through molecular insights. *3 Biotech*, 14(7), 173.
- Sharma, M., Kumar, P. (2021). Role of secondary metabolites and phytohormones in drought stress tolerance. *Journal of Food Processing and Preservation*, 8(3), 1917-1946.
- Sharma, S., Bennett, M. J., Mehra, P. (2025). Roles of hormones in regulating root growth–water interactions. *Journal of Experimental Botany*, 76(7), 1987-1995.
- Shehzad, M. A., Hussain, I., Akhtar, G., Ahmad, K. S., Nawaz, F., Faried, H. N., Mehmood, A. (2023). Insights into physiological and metabolic modulations instigated by exogenous sodium nitroprusside and spermidine reveals drought tolerance in *Helianthus annuus* L. *Plant Physiology and Biochemistry*, 202, 107935.
- Shoaib, M., B. P. Banerjee, M. Hayden, S. Kant. (2022). “Roots' Drought Adaptive Traits in Crop Improvement.” *Plants* 11: 2256.
- Sidhu, J. S., Lopez-Valdivia, I., Strock, C. F., Schneider, H. M., Lynch, J. P. (2024). Cortical parenchyma wall width regulates root metabolic cost and maize performance under suboptimal water availability. *Journal of experimental botany*, 75(18), 5750-5767.
- Singh, S., Uddin, M., Khan, M. M. A., Chishti, A. S., Singh, S., Bhat, U. H. (2023). The role of plant-derived smoke and karrikinolide in abiotic stress mitigation: An Omic approach. *Plant Stress*, 7, 100147.
- Singh, S., Melo, J. S., Eapen, S., D'souza, S. F. (2006). Phenol removal using *Brassica juncea* hairy roots: role of inherent peroxidase and H₂O₂. *Journal of biotechnology*, 123(1), 43-49
- Smirnoff, N., Arnaud, D. (2019). Hydrogen peroxide metabolism and functions in plants. *New phytologist*, 221(3), 1197-1214.
- Solanki, M., Shukla, L. I. (2023). Recent advances in auxin biosynthesis and homeostasis. *3 Biotech*, 13(9), 290.
- Song, M., Zhou, S., Hu, N., Li, J., Huang, Y., Zhang, J., Chen, X., Du, X., Niu, J., Yang, X., He, D. (2023). Exogenous strigolactones alleviate drought stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) by promoting cell wall biogenesis to optimize root architecture. *Plant Physiology and Biochemistry*, 204, 108121.

- Sood, M. (2025). Reactive oxygen species (ROS): plant perspectives on oxidative signaling and biotic stress response. *Discover Plants*, 2(1), 187.
- Sood, M. (2023). Jasmonates: “The master switch” for regulation of developmental and stress responses in plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(8), 5247-5265.
- Srivastava, A., Pandey, G. C. (2023). Role of cytokinins and gibberellins in crops response to heat and drought stress. *Journal of Cereal Research* 15 (2): 170-176.
- Sun, H., Xu, Z., Zhou, J., Guo, L. (2020). Karrikins-induced accumulation of Salvianolic acid B is regulated by Jasmonic acid and hydrogen peroxide in *Salvia miltiorrhiza*. *South African Journal of Botany*, 130, 371-374.
- Tariq, A., Ullah, I., Sardans, J., Graciano, C., Mussarat, S., Ullah, A., Zeng, F., Wang, W., Al-Bakre, D. A., Ahmed, Z., Ali, S., Zhang, Z., Yaseen, A., Peñuelas, J. (2023). Strigolactones can be a potential tool to fight environmental stresses in arid lands. *Environmental Research*, 229, 115966.
- Tarkowská, D., Novák, O., Oklestkova, J., Strnad, M. (2016). The determination of 22 natural brassinosteroids in a minute sample of plant tissue by UHPLC–ESI MS/MS. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 408, 6799-6812.
- Tiwari, P., Srivastava, D., Chauhan, A. S., Indoliya, Y., Singh, P. K., Tiwari, S., Fatima, T., Mishra, S. K., Dwivedi, S., Agarwal, L., Singh, P. C., Asif, M. H., Tripathi, R. D., Shirke, P. A., Chakrabarty, D., Chauhan, P. S., Nautiyal, C. S. (2021). Root system architecture, physiological analysis and dynamic transcriptomics unravel the drought-responsive traits in rice genotypes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 207, 111252.
- Tomasella, M., Casolo, V., Aichner, N., Petruzzellis, F., Savi, T., Trifilò, P., Nardini, A. (2019). Non-structural carbohydrate and hydraulic dynamics during drought and recovery in *Fraxinus ornus* and *Ostrya carpinifolia* saplings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 145, 1-9.
- Trápani, N., López, P. M., Sadras, V. O., Hall, A. J. (2003). Ciclo ontogénico, dinámica del desarrollo y generación del rendimiento y la calidad en girasol. En: Producción de Granos, bases funcionales para su manejo. Satorre EH, Benech Arnold RL, Slafer GA, de la Fuente EB, Miralles DJ, Otegui ME, Savin R (Eds). Editorial Fac. de Agron. Univer. de Bs As, Argentina, pp 203-241.
- Tripathi, D. K., Yadav, S. R., Mochida, K., Tran, L. S. P. (2022). Plant growth regulators: true managers of plant life. *Plant and Cell Physiology*, 63(12), 1757-1760.
- Ullah, A., Manghwar, H., Shaban, M., Khan, A. H., Akbar, A., Ali, U., Ali, E., Fahad, S. (2018). Phytohormones enhanced drought tolerance in plants: A coping strategy. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 33103-33118.
- USDA (2024). Oilseeds: World Markets and Trade.
- Valgimigli, L. (2023). Lipid peroxidation and antioxidant protection. *Biomolecules*, 13(9), 1291.
- Villaécija-Aguilar, J. A., Hamon-Josse, M., Carbonnel, S., Kretschmar, A., Schmidt, C., Dawid, C., Bennett, T., Gutjahr, C. (2019). SMAX1/SXML2 regulate root and root hair development downstream of KAI2-mediated signalling in *Arabidopsis*. *PLoS genetics*, 15(8), e1008327.
- Verbeke, S., Padilla-Díaz, C. M., Haesaert, G., Steppe, K. (2022). Osmotic adjustment in wheat (*Triticum aestivum* L.) during pre-and post-anthesis drought. *Frontiers in Plant Science*, 13, 775652.
- Vukašinović, N., Wang, Y., Vanhoutte, I., Fendrych, M., Guo, B., Kvasnica, M., Jiroutová, P., Oklestkova, J., Strnad, M., Russinova, E. (2021). Local brassinosteroid biosynthesis enables optimal root growth. *Nature plants*, 7(5), 619-632.
- Wahab, A., Abdi, G., Saleem, M. H., Ali, B., Ullah, S., Shah, W., Marc, R. A. (2022). Plants’ physio-biochemical and phyto-hormonal responses to alleviate the adverse effects of drought stress: A comprehensive review. *Plants*, 11(13), 1620.

- Wang, P., Liu, W. C., Han, C., Wang, S., Bai, M. Y., Song, C. P. (2024). Reactive oxygen species: multidimensional regulators of plant adaptation to abiotic stress and development. *Journal of Integrative Plant Biology*, 66(3), 330-367.
- Wang, Y., Tan, Z., Han, Y., Zhu, M., Li, X., Yang, Z., Zhang, X. (2025). Foliar application of Karrikin 1 enhanced heat tolerance of creeping bentgrass by activating antioxidant defense, signaling transduction, and stress responsive pathways. *Grass Research*, 5(1).
- Wang, Y. T., Chen, Z. Y., Jiang, Y., Duan, B. B., Xi, Z. M. (2019). Involvement of ABA and antioxidant system in brassinosteroid-induced water stress tolerance of grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Scientia Horticulturae*, 256, 108596.
- Wang, Z., Yang, Y., Yadav, V., Zhao, W., He, Y., Zhang, X., Wei, C. (2022). Drought-induced proline is mainly synthesized in leaves and transported to roots in watermelon under water deficit. *Horticultural Plant Journal*, 8(5), 615-626.
- Wani, K. I., Zehra, A., Choudhary, S., Naeem, M., Khan, M. M. A., Castroverde, C. D. M., Aftab, T. (2020). Mechanistic insights into strigolactone biosynthesis, signaling, and regulation during plant growth and development. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1-17.
- Wasaya, A., Zhang, X., Fang, Q., Yan, Z. (2018). Root phenotyping for drought tolerance: a review. *Agronomy*, 8(11), 241.
- Wu, F., Gao, Y., Yang, W., Sui, N., Zhu, J. (2022). Biological functions of strigolactones and their crosstalk with other phytohormones. *Frontiers in Plant Science*, 13, 821563.
- Wu, J., Chen, Y., Xu, Y., An, Y., Hu, Z., Xiong, A., Wang, G. (2024). Effects of jasmonic acid on stress response and quality formation in vegetable crops and their underlying molecular mechanisms. *Plants*, 13(11), 1557.
- Wu, J., Wang, J., Hui, W., Zhao, F., Wang, P., Su, C., Gong, W. (2022). Physiology of plant responses to water stress and related genes: A review. *Forests*, 13(2), 324.
- Xie, F., Liu, Y., Zhao, Q., Liu, X., Wang, C., Wang, Q., Wang, O., Wei, O., Zhao, X., Jiang, J., Liu, R., Chen, Y., Cui, G., Han, J. (2024). Exogenous Application of Melatonin and Strigolactone by Regulating Morphophysiological Responses and Gene Expression to Improve Drought Resistance in Fodder Soybean Seedlings. *Agronomy*, 14(8), 1803.
- Xu, Y., Wang, J., Wang, R., Wang, L., Zhang, C., Xu, W., Wang, S., Jiu, S. (2021). The role of strigolactones in the regulation of root system architecture in grapevine (*Vitis vinifera* L.) in response to root-restriction cultivation. *International journal of molecular sciences*, 22(16), 8799.
- Yadav, B., Jogawat, A., Gnanasekaran, P., Kumari, P., Lakra, N., Lal, S. K., Pawar, J., Narayan, O. P. (2021). An overview of recent advancement in phytohormones mediated stress management and drought tolerance in crop plants. *Plant Gene*, 25, 100264.
- Yang, T., Lian, Y., Wang, C. (2019). Comparing and contrasting the multiple roles of butenolide plant growth regulators: strigolactones and karrikins in plant development and adaptation to abiotic stresses. *International journal of molecular sciences*, 20(24), 6270.
- Yang, Y., Gu, M., Chen, J., Zhang, R., Liu, Z., Shi, Y., Liu, D., Wang, L. (2023). Comparative transcriptomes reveal the mitigation effect of GR24 in alfalfa under drought stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(5), 3150-3161.
- Yang, Y., Guo, Y., Zhong, J., Zhang, T., Li, D., Ba, T., Xu, T., Chang, L., Zhang, Q., Sun, M. (2020). Root physiological traits and transcriptome analyses reveal that root zone water retention confers drought tolerance to *Opisthopappus taihangensis*. *Scientific Reports*, 10(1), 2627.
- Ye, H., Roorkiwal, M., Valliyodan, B., Zhou, L., Chen, P., Varshney, R. K., Nguyen, H. T. (2018). Genetic diversity of root system architecture in response to drought stress in grain legumes. *Journal of Experimental Botany*, 69(13), 3267-3277.
- Yoneyama, K., Brewer, P. B. (2021). Strigolactones, how are they synthesized to regulate plant growth and development? *Current Opinion in Plant Biology*, 63, 102072.

- Yuan, G. F., Jia, C. G., Li, Z., Sun, B., Zhang, L. P., Liu, N., Wang, Q. M. (2010). Effect of brassinosteroids on drought resistance and abscisic acid concentration in tomato under water stress. *Scientia Horticulturae*, 126(2), 103-108.
- Zeng, G., Gao, F., Li, C., Li, D., Xi, Z. (2022). Characterization of 24-epibrassinolide-mediated modulation of the drought stress responses: Morphophysiology, antioxidant metabolism and hormones in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 184, 98-111.
- Zhang, Y., Wu, X., Wang, X., Dai, M., Peng, Y. (2025). Crop root system architecture in drought response. *Journal of Genetics and Genomics*, 52(1), 4-13.
- Zhang, H., Zhao, D., Tang, Z., Zhang, Y., Zhang, K., Dong, J., Wang, F. (2022). Exogenous brassinosteroids promotes root growth, enhances stress tolerance, and increases yield in maize. *Plant Signaling & Behavior*, 17(1), 2095139.
- Zhao, J., Wang, J., Liu, J., Zhang, P., Kudoyarova, G., Liu, C. J., Zhang, K. (2024a). Spatially distributed cytokinins: Metabolism, signaling, and transport. *Plant Communications*, 5(7).
- Zhao, J., Guo, B., Hou, Y., Yang, Q., Feng, Z., Zhao, Y., Yang, X., Fan, G., Kong, D. (2024b). Multi-dimensionality in plant root traits: progress and challenges. *Journal of Plant Ecology*, 17(4), rtac043.
- Zheng, C., Chen, J. P., Wang, X. W., Li, P. (2025). Reactive Oxygen Species in Plants: Metabolism, Signaling, and Oxidative Modifications. *Antioxidants*, 14(6), 617.
- Zheng, Y., Zhan, Q., Shi, T., Liu, J., Zhao, K., Gao, Y. (2020). The nuclear transporter SAD2 plays a role in calcium-and H₂O₂-mediated cell death in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 101(2), 324-333.
- Zhou, Y., C. Wang, Q. Tang, J. Wang, M.- H. Li. (2024). Morphological Responses of Root Hairs to Changes in Soil and Climate Depend on Plant Life Form. *Frontiers in Forests and Global Change* 7: 1324405.
- Zhou, Y., He, R., Guo, Y., Liu, K., Huang, G., Peng, C., Liu, Y., Zhang, M., Li, Z., Duan, L. (2019). A novel ABA functional analogue B2 enhances drought tolerance in wheat. *Scientific reports*, 9(1), 2887.
- Zia, R., Nawaz, M. S., Siddique, M. J., Hakim, S., Imran, A. (2021). Plant survival under drought stress: Implications, adaptive responses, and integrated rhizosphere management strategy for stress mitigation. *Microbiological research*, 242, 126626.
- Zivcak, M., Brestic, M., Sytar, O. (2016). Osmotic adjustment and plant adaptation to drought stress. In *Drought stress tolerance in plants, Vol 1: physiology and biochemistry* (pp. 105-143). Cham: Springer International Publishing.
- Zulfiqar, F., Younis, A., Riaz, A., Mansoor, F., Hameed, M., Akram, N. A., Abideen, Z. (2020). Morpho-anatomical adaptations of two *Tagetes erecta* L. cultivars with contrasting response to drought stress. *Pakistan Journal of Botany*, 52(3), 801-810.

ANEXO I – Ensayos preliminares

Metodología N° 1 – Sistema hidropónico de crecimiento de plántulas

Material vegetal

Semillas de dos líneas endocriadas de girasol: B59 y B71, caracterizadas como sensible y tolerante a estrés hídrico, provistas por la Estación Experimental Agropecuaria (EEA)-INTA Manfredi.

Ensayo de pre-germinación

Veinticinco semillas de cada línea, previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio 3%, fueron pre-germinadas en bandejas plásticas conteniendo como soporte toallas de papel humedecidas a saturación con agua destilada. Las bandejas se cubrieron con bolsas de nylon y se colocaron en Cuartos Ambientales Conviron PR48 programados con 8 h de oscuridad a 20 °C y 80% de HR y 16 h de luz ($160 \mu\text{mol.m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) a 28 °C y 70% de HR para permitir la pre-germinación de las semillas por 72 h. Como criterio de germinación se consideró la profusión de la radícula a través del clamidocarpo. Transcurridas 72 h, se seleccionaron aquellas plántulas que presentaron una longitud radical de 2 cm y se transfirieron a los contenedores hidropónicos. La experiencia se llevó a cabo por cuadruplicado.

Diseño del sistema hidropónico de crecimiento

El sistema consistió en recipientes plásticos (24 cm de alto x 10,5 cm de diámetro) independientes entre sí y de color azul oscuro para evitar la penetración de luz y la proliferación de algas. En la parte superior de cada recipiente, se diseñó una superficie de soporte para permitir el anclaje de las plántulas y la inmersión de las raíces dentro de la solución nutritiva de crecimiento. La superficie de apoyo estaba constituida por dos estructuras circulares superpuestas de goma espuma (10,3 cm de diámetro y 1 cm de espesor) y telgopor (10,3 cm de diámetro y 0,2 cm de espesor) con perforaciones de manera tal que las raíces quedaran inmersas en la solución de crecimiento. Además, a ambas estructuras, se les realizó una perforación lateral en forma de medio círculo para permitir la introducción de la manguera aireadora. Por último, se instaló el sistema de oxigenación compuesto por un aireador y mangueras de manera tal que proporcionara un suministro adecuado de oxígeno a cada uno de los recipientes (Ver más detalles en la Fig. 61).

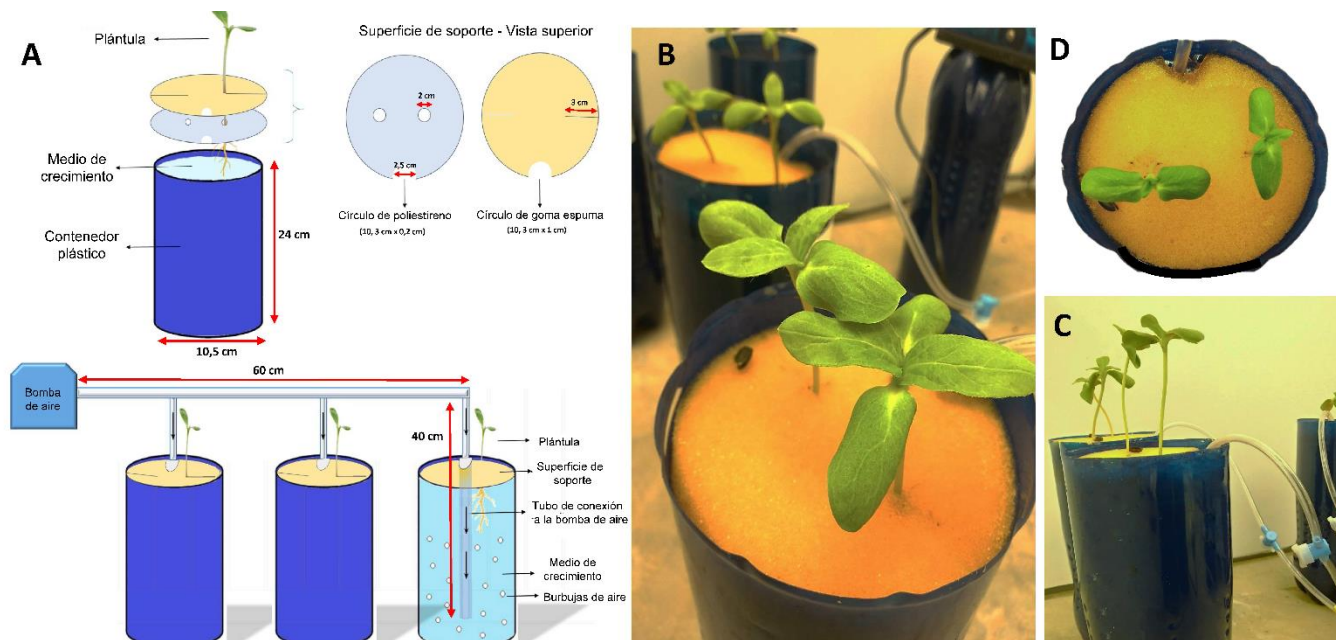


Fig. 61. Diagrama esquemático ilustrativo del sistema de cultivo hidropónico (A) y configuración hidropónica final: vista superior (B y D) y vista lateral (C).

Parámetros evaluados

pH: Se evaluaron diferentes valores de pH (desde 4 a 7) a fin de determinar el rango óptimo que permitiera el crecimiento saludable de las plántulas. Para ello, se empleó un pHmetro (pH/mV meter, Automatic Temperature Compensation, AZ Model: 8601) y los valores se ajustaron con hidróxido de potasio 1M.

Contenido de oxígeno disuelto y conductividad eléctrica: El nivel de oxígeno disuelto y la conductividad eléctrica de la solución nutritiva se midieron en el medio hidropónico durante todo el experimento. Para ello, se empleó un oxímetro portátil con sensor YSI DO200 y un conductímetro portátil Lutron CD-4303, respectivamente.

Conductancia estomática: Esta medición se realizó a ~9 a.m. sobre la línea media de la hoja (evitando la nervadura central) de plántulas de 17 días de edad (tiempo en el que alcanzaron la superficie foliar mínima requerida para esta determinación), empleando para ello un Leaf Porometer, Model SC-1 (Decagon Devices; Pullman, WA, EE. UU.).

Condiciones de luz: Se evaluaron dos intensidades lumínicas: $160 \mu\text{mol.m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ y $110 \mu\text{mol.m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, a fin de establecer las condiciones óptimas de crecimiento de las plántulas.

Estas intensidades se configuraron utilizando herramientas específicas del Cuarto Ambiental de crecimiento (Convicon GR48).

Ensayo de crecimiento vegetativo (V4)

Dos plántulas (por repetición) de tamaño uniforme y sin lesiones visibles en la raíz se transfirieron a cada recipiente plástico y se conectó el sistema de oxigenación. Durante los primeros 7 días cada recipiente se llenó con agua, la cual fue reemplazada en adelante por solución nutritiva de Hoagland a un pH ajustado a 6,3. Estos contenedores se colocaron en Cuartos Ambientales Convicon PR48 programados con un fotoperiodo de 8 h de oscuridad a 18°C y 90% de humedad relativa (HR) y 16 h de luz ($110 \mu\text{mol.m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) a 28°C y 80% de HR. Cada 2 días se renovó completamente la solución, manteniendo el nivel de solución nutritiva en 1,8 L (volumen inicial) y el pH entre 6,2-6,3. Los tratamientos aplicados fueron: 1. Hoagland 50% carga iónica (control) durante 24 días; 2. Hoagland suplementado con manitol 400 mM (estrés hídrico) durante 14 días.

Aplicación de manitol: Se evaluaron varias concentraciones y modos de aplicación del manitol. En primer lugar, se realizó la aplicación de manitol 400 mM en forma de solución disuelta en el medio nutritivo Hoagland, aunque esto resultó en un estrés demasiado severo, lo cual ocasionó la muerte de las plántulas. Por lo tanto, se optó por disminuir la concentración a 200 mM y su aplicación se realizó mediante “pulsos” aplicados cada dos días (4 pulsos de 50 mM o 3 pulsos de 66.6 mM). Finalmente, dicha concentración resultó igualmente severa que la primera concentración ensayada, por lo tanto, se suspendió su aplicación en este sistema experimental.

Parámetros morfológicos

Cuando las plántulas alcanzaron los 24 días edad, el sistema de raíces completo se aisló de cada plántula, colocó en bandeja y cuidadosamente se desenredó a fin de minimizar su superposición. A continuación, se tomaron fotografías del mismo con una cámara NIKON D5100. Luego, se midieron distintos parámetros de forma manual y empleando el software ImageJ (con su complemento SmartRoot). Se determinó longitud, superficie proyectada, superficie, volumen y diámetro medio de la raíz principal. Además, el número de raíces laterales y el ángulo de inserción de las mismas.

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente aleatorizado con 4 repeticiones temporales. Los datos de los parámetros morfo-fisiológicos se analizaron mediante el software estadístico Infostat® (Di Rienzo et al., 2014). Los datos se sometieron a análisis de varianza (ANOVA) y las diferencias significativas entre las medias se determinaron mediante comparaciones por pares utilizando la prueba de Tukey a un nivel de $p < 0,05$. En caso de ausencia de homogeneidad, se realizó una prueba no paramétrica (Kruskal Wallis), seguida de comparaciones múltiples no paramétricas.

Resultados

pH

El rango de pH establecido como óptimo para evitar desequilibrios en la disponibilidad de nutrientes o síntomas de deficiencia/toxicidad en las plántulas de girasol fue 6,2- 6,3. Dentro de ese rango, efectivamente las plántulas pudieron absorber todos los nutrientes necesarios que les permitieron alcanzar un crecimiento saludable. Mientras que a valores más bajos de pH (rango entre 5,8-6,1) las plántulas mostraron algunos síntomas de deficiencias minerales, tal como puede apreciarse en la Fig. 62.

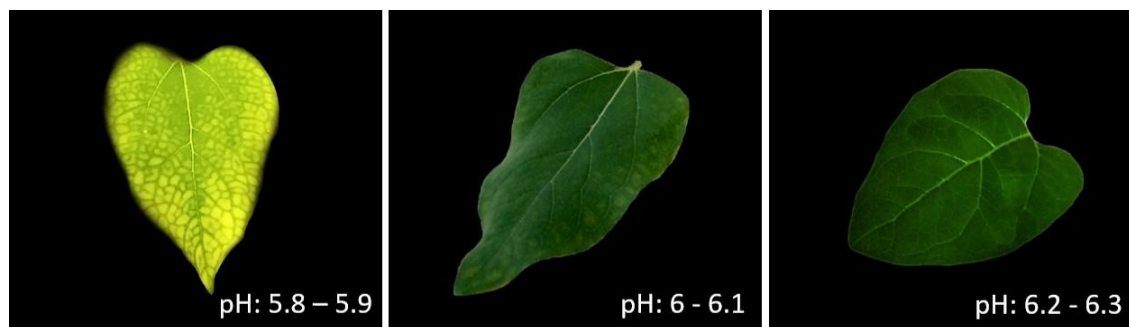


Fig. 62. Fotografías representativas de hojas de plántulas de girasol de 24 días crecidas bajo diferentes rangos de pH.

Contenido de oxígeno, conductividad eléctrica y conductancia estomática

Bajo nuestras condiciones experimentales, los niveles óptimos de oxígeno oscilaron entre 7,63 y 7,78 ppm durante todo el experimento (Fig. 63A). En referencia a la conductividad eléctrica, se observó un notable aumento de la misma cuando la solución del medio hidropónico (agua) se reemplazó con la solución de Hoagland, y posteriormente un aumento gradual hasta alcanzar valores entre 1,1 y 1,2 dSm⁻¹ (Fig. 63B). Por otro lado, la conductancia

estomática mostró un aumento significativo durante el curso del experimento (Fig. 63C), y fue mayor al momento de la cosecha.

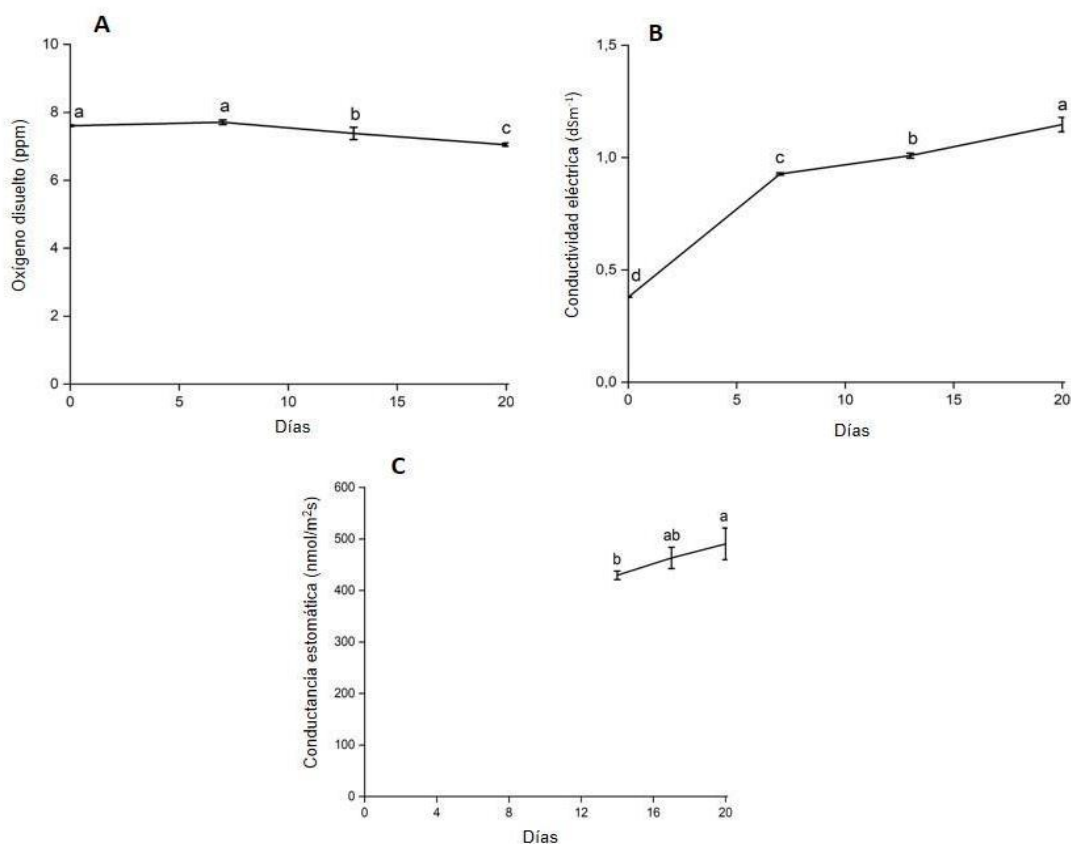


Fig. 63. Parámetros evaluados en el sistema de cultivo hidropónico: oxígeno disuelto (A) y conductividad eléctrica (B). Conductancia estomática medida en hojas de plántulas de la línea B59 (17 días de edad) cultivadas en el sistema hidropónico (C). El eje horizontal representa los días a partir de que las semillas germinadas fueron colocadas en el sistema de cultivo hidropónico. Los experimentos se realizaron por triplicado ($\pm$ SE).

Parámetros morfológicos

Al momento de cosecha se logró una correcta extracción de las raíces del sistema hidropónico, obteniéndose así material vegetal limpio e intacto para las determinaciones posteriores (Fig. 64). A partir de cada sistema radical fue posible realizar distintas mediciones y se determinó que las plántulas de la línea endocriada B59 poseían un sistema radical caracterizado por una raíz principal con una longitud de 12,95 cm promedio, un número aproximado de 66 raíces laterales y ángulos de inserción menores de 50°, entre otras características evaluadas (Tabla 6).

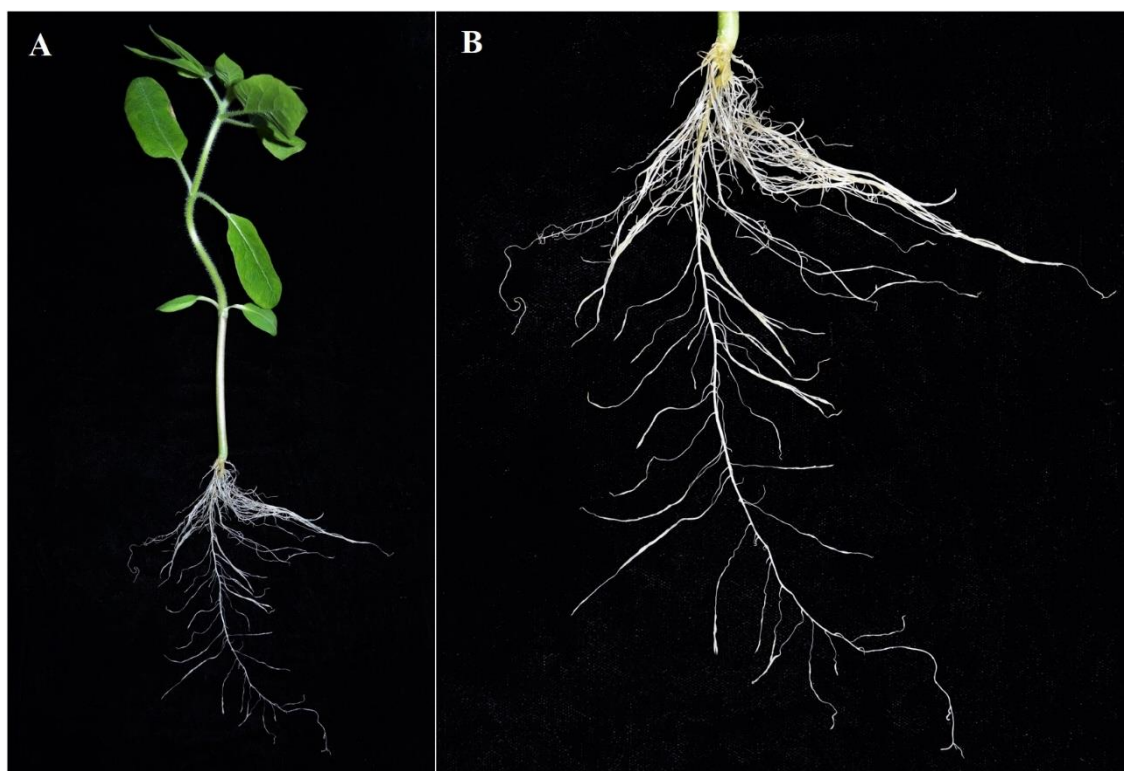


Fig. 64. Ensayo de crecimiento vegetativo de girasol realizado en el sistema de cultivo hidropónico. Fotografía de una plántula de girasol de la línea B59 de 24 días de edad cultivada en el sistema hidropónico diseñado (A). Imagen en primer plano del sistema de raíces (B).

Tabla 6. Parámetros morfológicos evaluados en raíces de plántulas de la línea endocriada de girasol B59 cultivadas en sistema hidropónico. Los experimentos se realizaron por cuadruplicado ($\pm$ SE).

Parámetro	
Longitud de raíz principal (cm)	$12,95 \pm 0,94$
Número de raíces laterales	$66,44 \pm 5,92$
Ángulo de inserción (grados)	$47,22 \pm 8,26$
Superficie proyectada (cm ²)	$0,93 \pm 0,20$
Superficie (cm ²)	$1,15 \pm 0,38$
Volumen (cm ³)	$0,02 \pm 0,01$
Diámetro medio (cm)	$0,02 \pm 0,002$

Estos resultados fueron publicados en el artículo científico: “The design of an easy-to-make hydroponic cultivation medium to obtain root systems in sunflower (*Helianthus annuus* L.) during early vegetative growth”. **Aldana Boero**, Federico Ramírez, Ana Vigliocco, Andrea Andrade, Sergio Alemán. (2022). Journal of Plant Growth Regulation. <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10691-5>.

NOTA: Esta metodología permitió un crecimiento adecuado de las plántulas bajo condiciones control; no obstante, al realizar la aplicación de manitol para generar el tratamiento de estrés hídrico, las mismas no fueron capaces de continuar con su crecimiento y desarrollo de manera saludable y adecuada, debido a que el manitol se adhirió a las raíces formando una capa “mucosa”, impidiendo de esta forma su correcta oxigenación y aumentando la severidad del estrés impuesto. Por ello, y también atendiendo a la sugerencia efectuada por uno de los miembros de la Comisión Evaluadora de Tesis, se optó por desestimar el empleo del sistema hidropónico como medio de crecimiento de las plántulas. En su lugar, se decidió probar un método de crecimiento empleando un sustrato sólido. Dicha metodología se describe a continuación.

Metodología N° 2 – Sustrato sólido de crecimiento

Material vegetal

Se emplearon semillas de dos líneas endocriadas de girasol: B59 y B71, caracterizadas como sensible y tolerante a estrés hídrico, provistas por la Estación Experimental Agropecuaria (EEA)-INTA Manfredi.

Ensayo de pre-germinación

Veinticinco semillas de cada línea, previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio 3%, fueron pre-germinadas en bandejas de plástico conteniendo como soporte toallas de papel humedecidas a saturación con agua destilada. Las bandejas se cubrieron con bolsas de nylon y se colocaron en Cuartos Ambientales Conviron PR48 programados con 8 h de oscuridad a 20 °C y 80% de HR y 16 h de luz ($160 \mu\text{mol.m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) a 28 °C y 70% de HR para permitir la pre-germinación de las semillas por 48 h. Como criterio de germinación se consideró la profusión de la radícula a través del clamidocarpo. Se cosecharon las semillas germinadas que poseían una longitud radical dentro del rango ($X \pm \delta$). La experiencia se realizó por cuadruplicado.

Ensayo para selección de sustrato

Se evaluaron diferentes sustratos sólidos con la finalidad de seleccionar aquel más adecuado para el crecimiento y desarrollo de las plántulas y que al mismo tiempo permitiera una extracción óptima del sistema radical.

Los sustratos ensayados consistieron en:

- Arena gruesa + perlita (1:1) más una capa superficial de arena fina (para soportar la semilla/plántula al momento de la siembra).
- Arena gruesa + perlita + tierra (1:1:1).
- Arena gruesa + perlita + tierra (1:1:2).

Los componentes de cada sustrato fueron mezclados en las proporciones correspondientes y humedecidos al 60% de capacidad de campo (c.c.) al momento de siembra. En cada maceta se sembró una semilla de girasol de las líneas endocriadas arriba mencionadas y las mismas se mantuvieron en Cuartos Ambientales Conviron PR48 programados con las condiciones ambientales antes mencionadas. Se realizaron riegos con Hoagland 50% carga iónica cada 2 días y al 10° día postsiembra se inició la aplicación de los siguientes tratamientos: **1.** Hoagland 50% carga iónica (control) durante 14 días; **2.** Hoagland suplementado con manitol 265 mM (estrés hídrico moderado) durante 14 días. Al momento de cosecha (24 días de edad de las plántulas, estadio de crecimiento vegetativo V4), el sistema de raíces completo de cada plántula se aisló, colocó en una bandeja y cuidadosamente se desenredó a fin de minimizar su superposición. Se midieron parámetros morfológicos tanto de parte aérea como radical (longitud de parte aérea, número de raíces laterales y ángulo de inserción) como criterio para la selección del sustrato de siembra más apropiado.

Finalmente, se optó por la combinación de arena gruesa, perlita y tierra en la proporción 1:1:1 como sustrato a emplear debido a que las plántulas evidenciaron un adecuado crecimiento, al tiempo que permitió una correcta extracción del sistema radical en su totalidad. Respecto a los otros dos sustratos ensayados, se descartó la posibilidad de utilizarlos debido a que la combinación arena gruesa y perlita no se asemeja al medio natural de crecimiento del cultivo; mientras que la combinación arena gruesa, perlita y tierra (proporción 1:1:2) dificulta la extracción del sistema radical intacto debido a que su nivel de compactación provoca la ruptura de las raíces.

Ensayo para selección de concentraciones de reguladores del crecimiento vegetal (PGRs)

Material vegetal

Se emplearon semillas de dos líneas endocriadas de girasol: B59 y B71, caracterizadas como sensible y tolerante a estrés hídrico, provistas por la Estación Experimental Agropecuaria (EEA)-INTA Manfredi.

Ensayo exploratorio de aplicación de PGRs

Se realizaron una serie de ensayos en los cuales se evaluaron distintas concentraciones de los reguladores del crecimiento vegetal propuestos en este proyecto de Tesis, a fin de optar por aquella más efectiva en su respuesta fisiológica, la cual será empleada en adelante. La elección de las distintas concentraciones a ensayar se estableció en base a reportes bibliográficos para otras especies agronómicas, a saber: GR24: trigo de invierno (Sedaghat et al., 2021- Plants, 10:1223); BL: arroz (Farooq et al., 2009- J. Agronomy & Crop Science, 195: 262-269); tomate (Yuan et al., 2010- Scientia Horticulturae 126: 103-108); KAR2: *Amaranthus hybridus* (Ngoroyemoto et al., 2019- South African Journal of Botany 124: 87-93).

Los reguladores del crecimiento vegetal y sus concentraciones fueron las siguientes:

- KAR2: karrikina. Concentraciones: 1 uM y 10 nM.
- GR24: estrigolactona sintética. Concentraciones: 1 uM, 3 uM, 5 uM y 10 uM.
- BL: brasinolide. Concentraciones: 0,01 uM y 1 uM.

NOTA: Se ensayaron cuatro concentraciones de GR24: en primer lugar, se evaluó 5 uM y 10 uM, pero en ambos casos las plántulas sufrieron daños por fitotoxicidad (se anexan fotografías; Fig. 74 y 75) y, por lo tanto, se decidió evaluar el efecto de las otras dos concentraciones (1 y 3 uM). En el caso de BL, se presentan resultados solo de una de las concentraciones aplicadas (0,01 uM) debido a que la otra seleccionada (1 uM) ocasionó daños por fitotoxicidad a las plántulas luego de ser aplicado (se anexan fotografías; Fig. 76). En este caso particular, no se decidió evaluar otra concentración debido a que empleando 0,01 uM se observó respuesta por parte de las plántulas.

Ensayo de pre-germinación

Veinticinco semillas de cada línea, previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio 3%, fueron pre-germinadas en bandejas plásticas conteniendo como soporte toallas de papel humedecidas a saturación con agua destilada. Las bandejas se cubrieron con bolsas de nylon y se colocaron en Cuartos Ambientales Conviron PR48 programados con 8 h de oscuridad a 20 °C y 80% de HR y 16 h de luz ($160 \mu\text{mol.m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) a 28 °C y 70% de HR para permitir la pre-germinación de las semillas por 48 h. Como criterio de germinación se consideró la profusión de la radícula a través del clamidocarpo. Se cosecharon las semillas germinadas que poseían una longitud radical dentro del rango ($X \pm \delta$). La experiencia se realizó por cuadruplicado.

Ensayos de crecimiento vegetativo (V4) y aplicación exógena de PGRs

Las semillas germinadas a las 48 h se trasplantaron a macetas de 20 x 40 cm conteniendo como sustrato una mezcla de arena gruesa, perlita y tierra (1:1:1) humedecida al 60% de capacidad de campo (c.c.). En cada maceta se sembró una semilla de girasol y las mismas se mantuvieron en Cuartos Ambientales Conviron PR48 programados con las condiciones ambientales antes mencionadas. Se realizaron riegos con Hoagland 50% carga iónica cada 2 días y al 10° día postsiembra se inició la aplicación de los siguientes tratamientos: **1.** Hoagland 50% carga iónica (control) durante 14 días; **2.** Hoagland suplementado con manitol 265 mM (estrés hídrico moderado) durante 14 días. La aplicación de Hoagland y Hoagland suplementado con manitol 265 mM se efectuó mediante riego a saturación. A los 17 días post-siembra y sucesivamente cada dos días, se realizó la aplicación mediante aspersión foliar de las soluciones de los reguladores del crecimiento vegetal, empleando las concentraciones anteriormente descritas. Al momento de cosecha (estadio V4), cada plántula se aisló, colocó en una bandeja y se seccionó en parte aérea y radical. Posteriormente se realizaron distintas determinaciones morfológicas.

Determinaciones morfológicas

Para la determinación de *área foliar* se realizaron mediciones no destructivas de la porción más ancha de la hoja. Se calculó según Aguirrezábal et al. (1998) como sigue:

$$Y = 0,8X + 0,697X^2$$

En dicha ecuación se consideró el ancho medio del segundo par de hojas como el valor de X, resultando Y como la superficie de la hoja en cm^2 . La experiencia se realizó por cuadruplicado.

La *longitud de parte aérea y de la raíz principal* se registró de forma manual, empleando para ello una regla. Para la longitud de parte aérea se consideró la altura del tallo principal, desde la base hasta el ápice. Para la longitud de la raíz principal, se tomó desde el cuello de la raíz hasta el ápice radical. La experiencia se realizó por cuadruplicado.

Para las determinaciones de biomasa, se evaluó el *peso fresco* (PF) de parte aérea y parte radical. Posteriormente, el material vegetal se colocó en estufa a 75 °C hasta obtener *peso seco* (PS) constante.

La *respuesta relativa de la biomasa radicular al estrés (RBRE)*, se determinó según Quandahor et al. (2021) como sigue:

RBRE: (peso seco de raíces bajo estrés / peso seco de raíces en condición control) x 100

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con arreglo factorial y 4 repeticiones temporales. Los factores considerados fueron: línea endocriada, condición hídrica y tratamiento con los reguladores del crecimiento vegetal. Los datos de las distintas determinaciones fueron analizados con el software Infostat (Di Rienzo et al., 2014), empleando ANOVA considerando los efectos principales de cada factor y las interacciones entre ellos (dobles y triple). Se empleó a posteriori un test de Rangos Múltiples de diferencias mínimas significativas (LSD de Fisher; $P < 0,05$).

Resultados

En condiciones de crecimiento control, la aplicación de GR24 (1 μM y 3 μM) ocasionó una disminución significativa en la conductancia estomática de las plántulas de ambas líneas, B59 y B71 (Fig. 65A), mientras que la aplicación de BL (0,01 μM) (Fig. 65B) y KAR2 (1 μM) (Fig. 65C) produjo un incremento. Cuando las plántulas fueron sometidas a estrés hídrico moderado, la aplicación de GR24 (3 μM) (Fig. 65A) y KAR2 (1 μM y 10 nM) (Fig. 65C) resultó en un aumento leve no significativo de este parámetro en la línea B59; mientras que en plántulas de la línea B71 la aplicación de KAR2 (1 μM) incrementó significativamente su conductancia estomática (Fig. 65C). Las plántulas tratadas con BL no mostraron cambios en dicho parámetro (Fig. 65B).

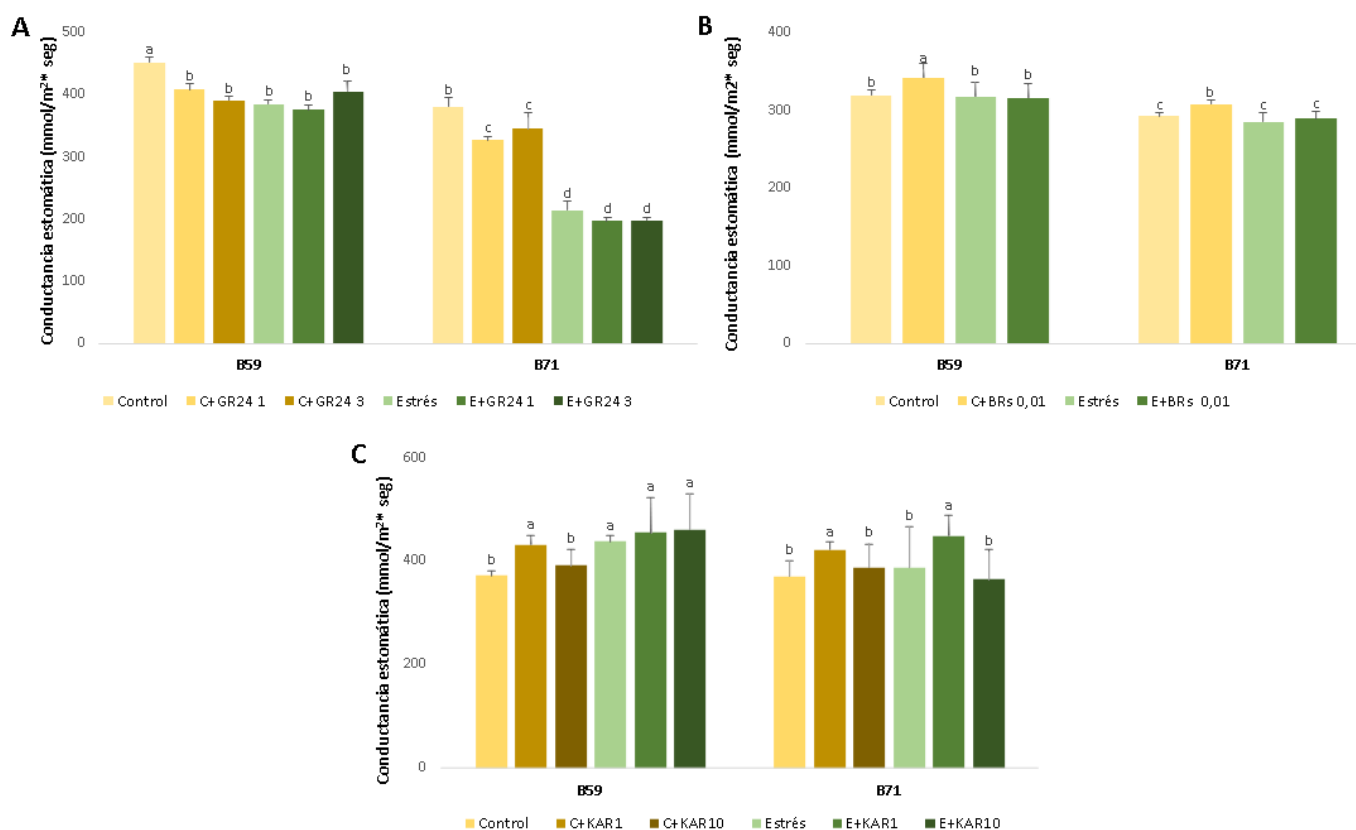


Fig. 65. Conductancia estomática en hojas de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (1 y 3 μM) (A); BL (0,01 μM) (B) o KAR2 (1 μM y 10 nM) (C) ($n=4 \pm \text{SE}$). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

En cuanto a la longitud de la parte aérea, no se observaron modificaciones luego de la aplicación de los PGRs a plántulas B59 crecidas en condiciones control (Fig. 66A, B, C); mientras que la línea B71 evidenció una reducción significativa posterior a la aplicación de KAR2 a ambas concentraciones evaluadas (Fig. 66C). Bajo condiciones de estrés hídrico moderado, se observó que la aplicación de GR24 (3 μ M) causó una disminución de la longitud de parte aérea en la línea B59 y contrariamente, un aumento en plántulas B71 (Fig. 66A). La aplicación de BL y KAR2 no produjo diferencias significativas en este parámetro con respecto a las plántulas estresadas sin tratar (Fig. 66B y 66C).

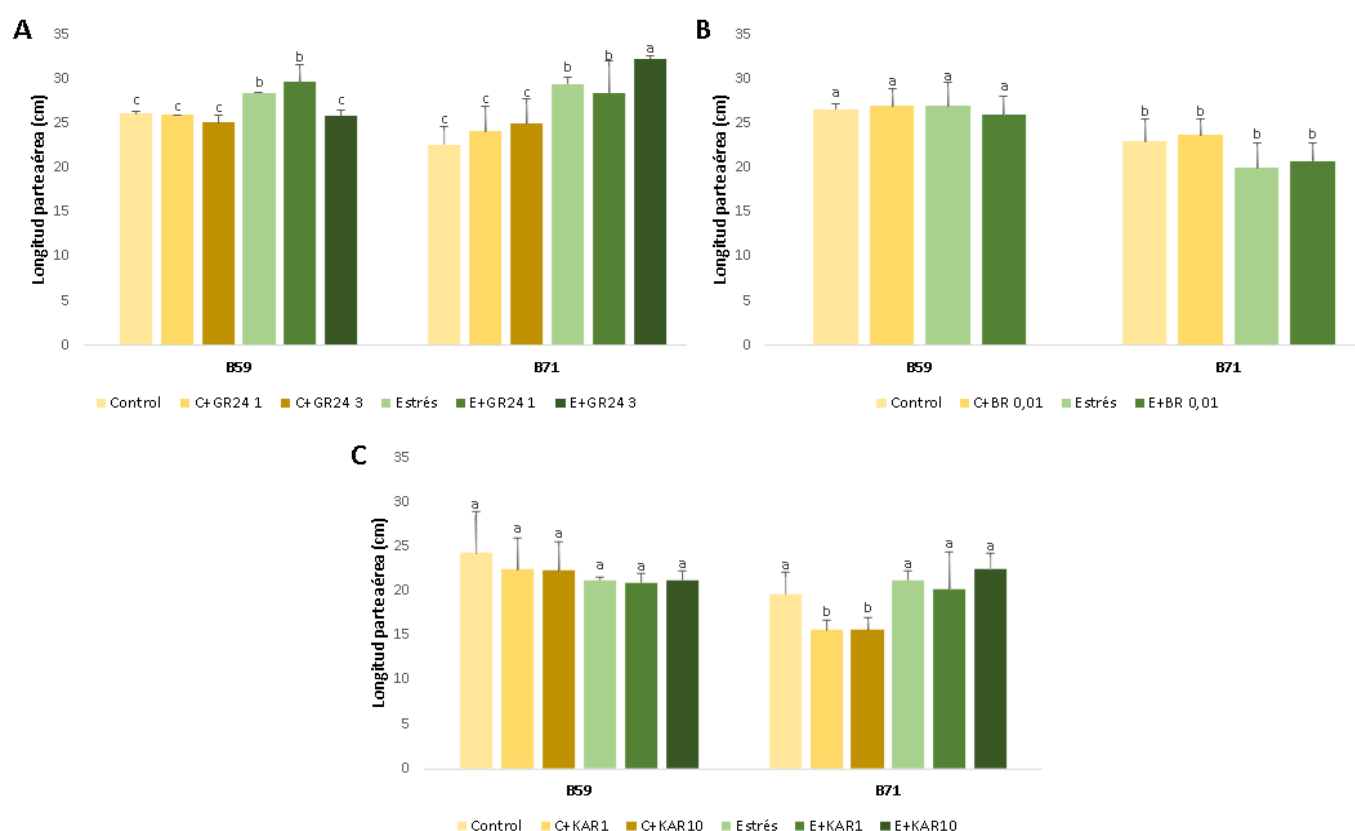


Fig. 66. Longitud de parte aérea de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (1 y 3 μ M) (A); BL (0,01 μ M) (B) o KAR2 (1 μ M y 10 nM) (C) ($n=4 \pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

Bajo condiciones de crecimiento control, la longitud de raíz principal presentó una disminución tras la aplicación de GR24 (1 μ M) a plántulas de ambas líneas endocriadas y GR24 (3 μ M) a plántulas de B59 (Fig. 67A). BL produjo un aumento no significativo en la raíz principal de las plántulas B59 y una disminución significativa en aquellas pertenecientes

a la línea B71 (Fig. 67B). Por otro lado, la aplicación de KAR2 (1 μ M y 10 nM) no afectó este parámetro en B59, aunque ocasionó un aumento significativo en la longitud de la raíz principal de las plántulas de la línea B71 (Fig. 67C). Bajo condiciones de estrés hídrico, la aplicación de GR24 (1 μ M y 3 μ M) provocó un incremento estadísticamente significativo en la longitud de la raíz principal de las plántulas B59, mientras que para la línea B71 solo ocurrió con la aplicación de GR24 3 μ M (Fig. 67A). La aplicación de BL no provocó cambios significativos en este parámetro (Fig. 67B). El tratamiento con KAR2 1 μ M incrementó la longitud de raíz principal solo en plántulas de la línea B59, y la concentración 10 nM produjo dicho efecto en B71 (Fig. 67C).

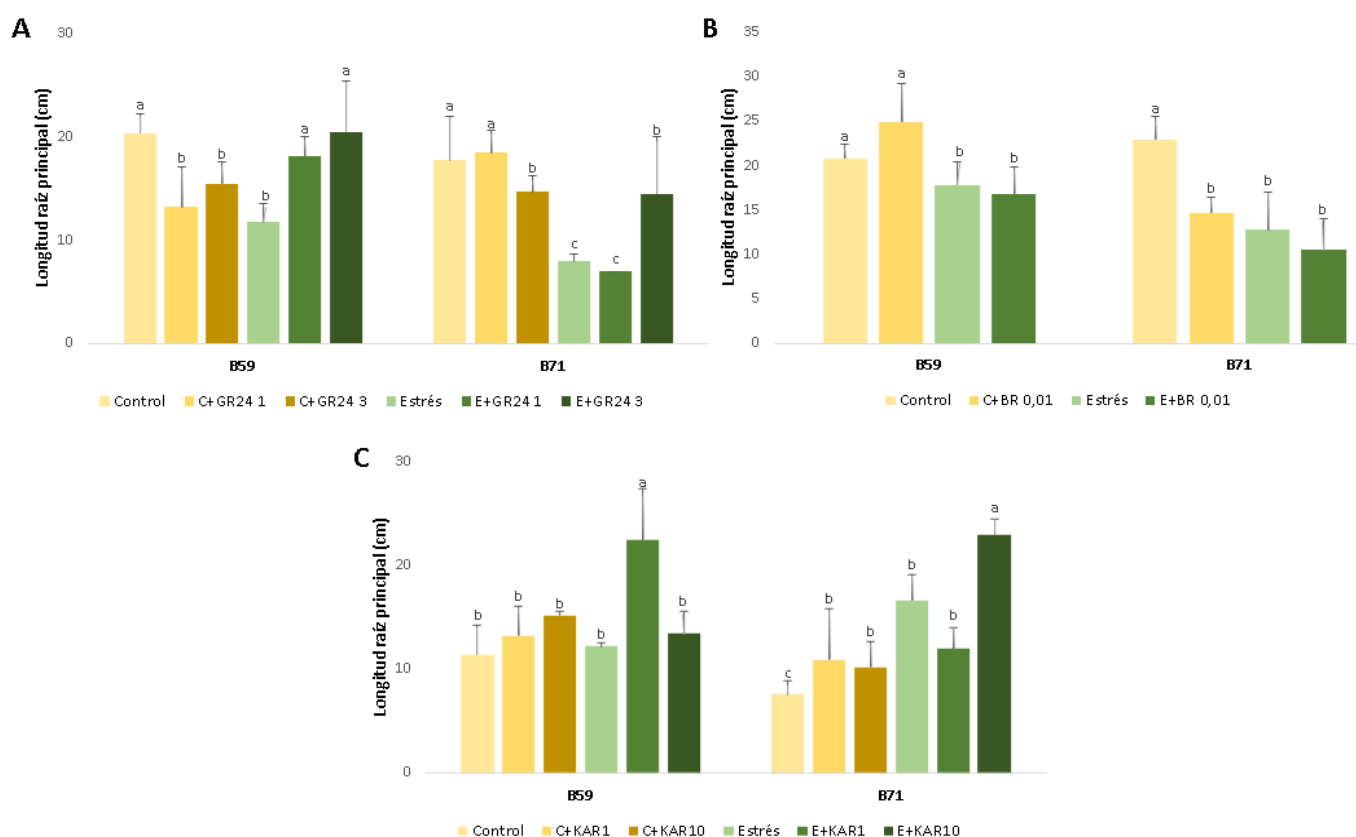


Fig. 67. Longitud de raíz principal de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (1 y 3 μ M) (A); BL (0,01 μ M) (B) o KAR2 (1 μ M y 10 nM) (C) ($n=4 \pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

En relación al peso fresco de la parte aérea de las plántulas de ambas líneas en estudio, en condiciones control de crecimiento, se detectó una reducción posterior a la aplicación de GR24 (1 μ M) (Fig. 68A), mientras que KAR2 (1 μ M y 10 nM) solo produjo este efecto en

B71 (Fig. 68C). Por otro lado, la aplicación de BL no evidenció cambios en este parámetro para ninguna de las líneas (Fig. 68B). Cuando las plántulas fueron sometidas a estrés hídrico, un aumento significativo en el peso fresco de plántulas B59 fue detectado luego de la aplicación de GR24 (1 μ M) y en aquellas de la línea B71 cuando se aplicó la concentración 3 μ M (Fig. 68A). Asimismo, la aplicación de BL no indujo cambios sobre este parámetro (Fig. 68B). La aplicación de KAR2 1 μ M incrementó de forma leve y no significativa el peso fresco de plántulas de ambas líneas, mientras que a 10 nM un aumento significativo en dicho parámetro sólo fue registrado en plántulas B59 (Fig. 68C).

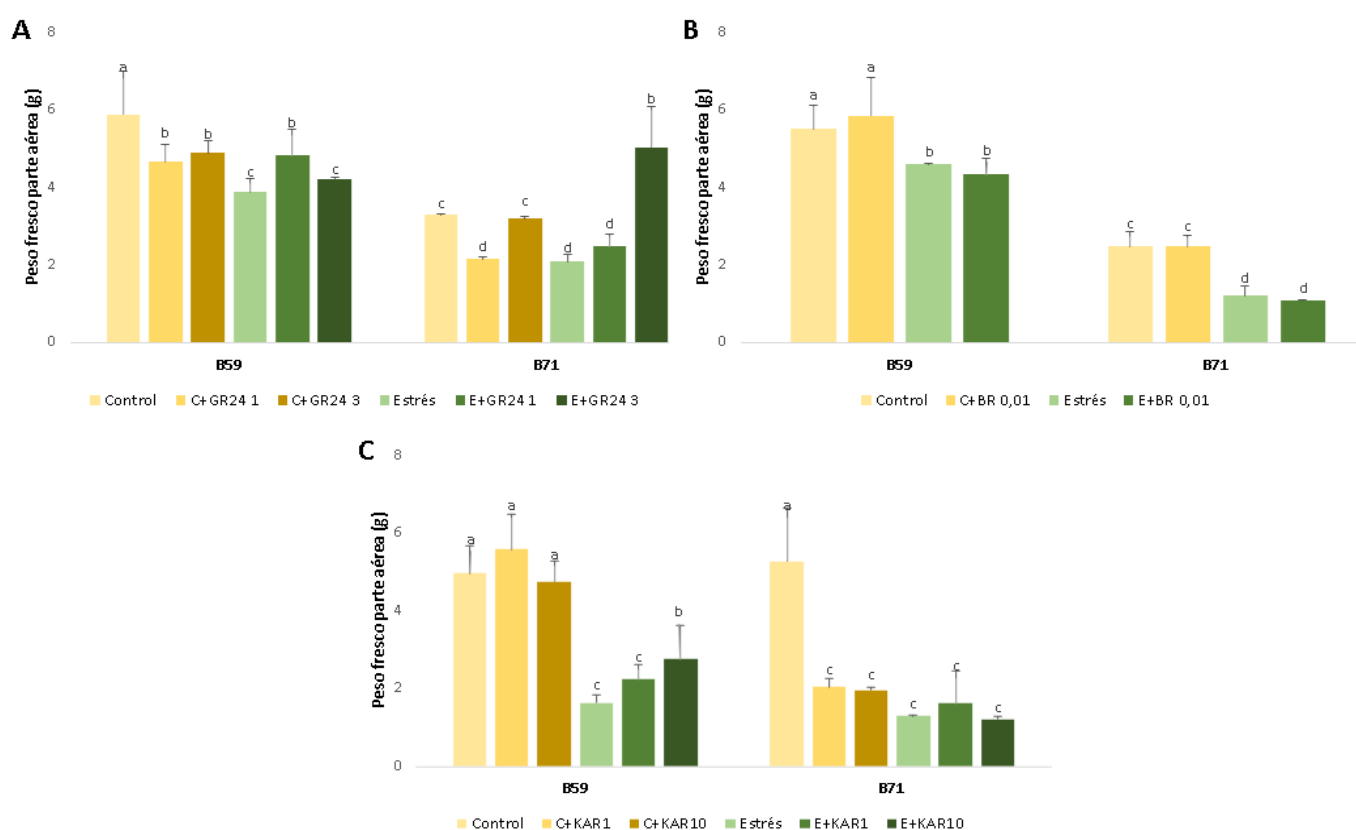


Fig. 68. Peso fresco de parte aérea de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (1 y 3 μ M) (A); BL (0,01 μ M) (B) o KAR2 (1 μ M y 10 nM) (C) ($n=4 \pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

En cuanto al peso fresco de la parte radical, GR24 aplicada a 3 μ M causó una disminución en dicho parámetro en plántulas B59, mientras que las de B71 incrementaron su peso fresco radical en condiciones de crecimiento control (Fig. 69A). La aplicación de BL incrementó el peso fresco radical de plántulas B59 y contrariamente, lo disminuyó en la línea B71 (Fig. 69B). Por otro lado, las raíces de B59 presentaron un mayor peso fresco luego de ser tratadas

con KAR2 (1 μ M y 10 nM), mientras que las de B71 evidenciaron un menor peso fresco (Fig. 69C). Las plántulas estresadas de ambas líneas presentaron un mayor peso radical cuando se las trató exógenamente con la solución de GR24 (1 μ M y 3 μ M) y KAR2 (10 nM) (Fig. 69A y C). Además, KAR2 (1 μ M) también incrementó el peso fresco de las raíces B59 (Fig. 69C). El tratamiento con BL no provocó cambios con respecto a las plántulas no tratadas en ninguna de las líneas bajo estudio (Fig. 69B).

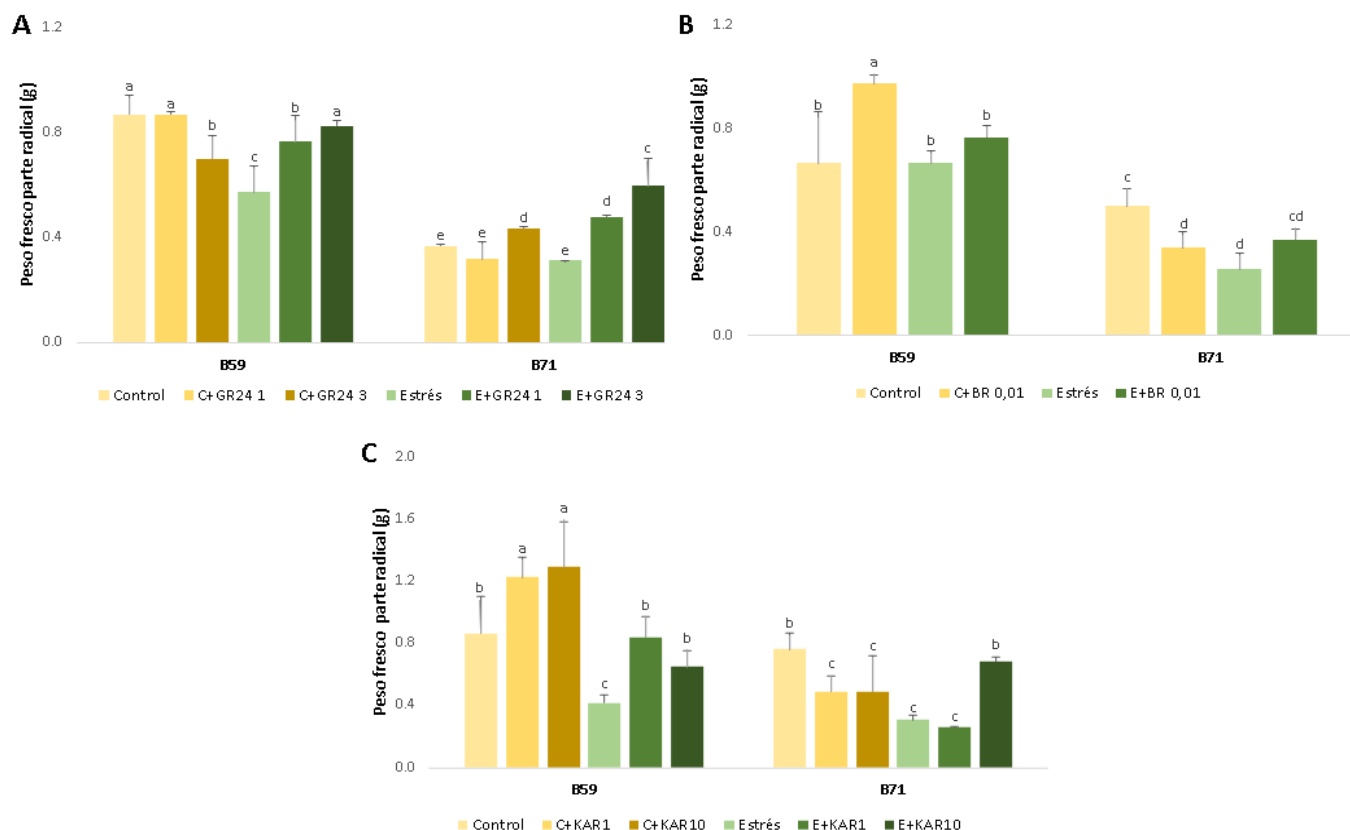


Fig. 69. Peso fresco de parte radical de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (1 y 3 μ M) (A); BL (0,01 μ M) (B) o KAR2 (1 μ M y 10 nM) (C) ($n=4 \pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

En comparación con las plántulas control, la aplicación de GR24 (1 μ M y 3 μ M) redujo el peso seco de la parte aérea de las plántulas de ambas líneas endocriadas (Fig. 70A). BL causó un aumento en de dicho parámetro en plántulas de la línea B59, mientras que en la línea B71 no se detectaron diferencias en este parámetro (Fig. 70B). Por otro lado, un aumento en el peso de la parte aérea de B59 y contrariamente, una reducción en B71 fueron registrados posterior a la aplicación de KAR2 para ambas concentraciones ensayadas, 1 μ M y 10 nM (Fig. 70C). Cuando las plántulas de ambas líneas fueron expuestas a estrés hídrico moderado,

aquellas tratadas con GR24 (1 μ M y 3 μ M) presentaron un mayor peso seco de su parte aérea (Fig. 70A). Las plántulas tratadas con BL no evidenciaron cambios en el peso fresco de su parte aérea (Fig. 70B) mientras que aquellas tratadas con KAR2 (1 μ M y 10 nM) presentaron aumentos leves (no significativos) en dicho parámetro (Fig. 70C).

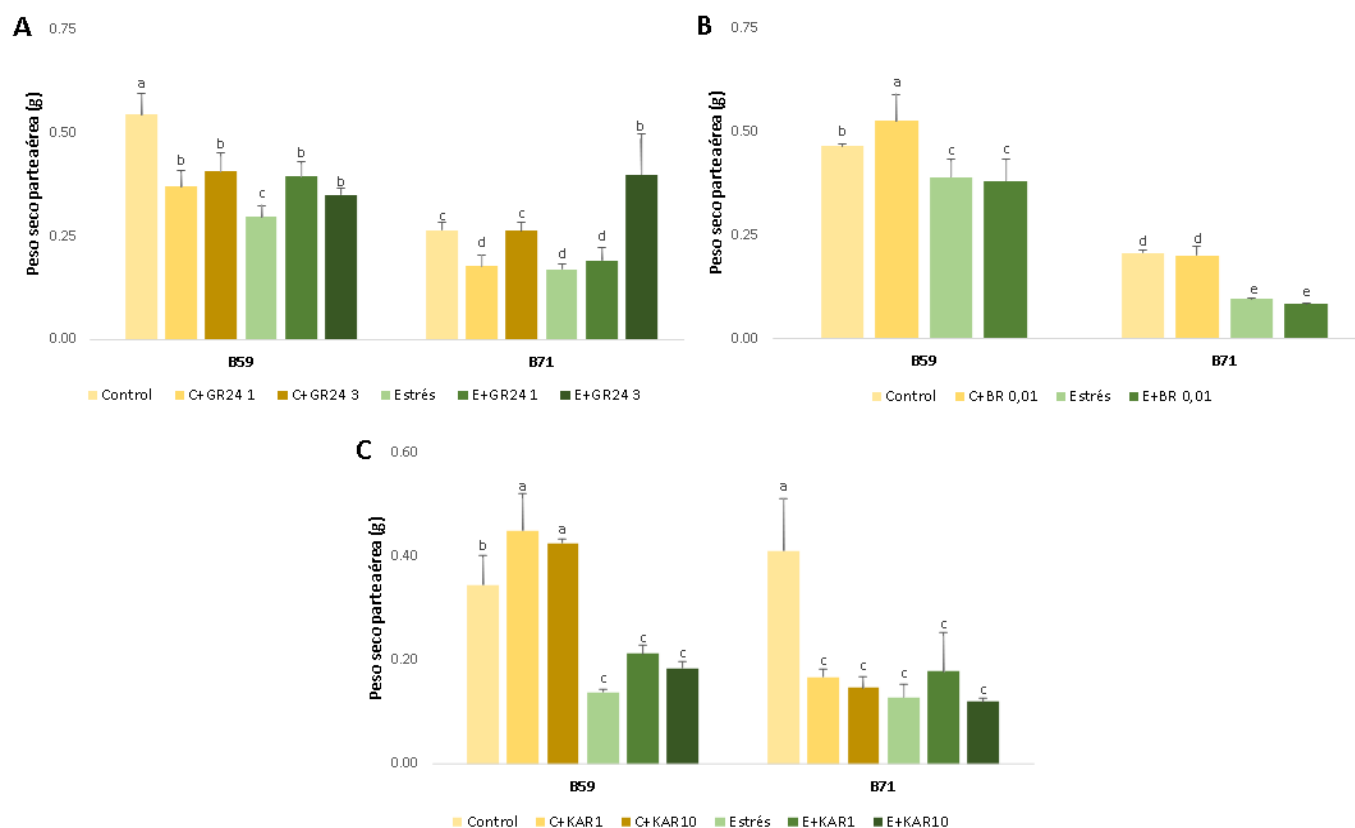


Fig. 70. Peso seco de parte aérea de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (1 y 3 μ M) (A); BL (0,01 μ M) (B) o KAR2 (1 μ M y 10 nM) (C) ($n=4 \pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

Bajo condiciones control, sólo las plántulas pertenecientes a la línea B59 tratadas con BL y KAR2 (1 μ M y 10 nM) evidenciaron un aumento en el peso seco de la parte radical (Fig. 71B y C). Los demás tratamientos aplicados no ocasionaron modificaciones en el este parámetro. Por el contrario, las plántulas estresadas de ambas líneas mostraron aumento en el peso seco de las raíces cuando se trataron exógenamente con GR24 (1 μ M y 3 μ M) (Fig. 71A). Además, tras la aplicación de BL, aumentó el peso de las raíces de plántulas B71 (Fig. 71B). Por otro lado, las plántulas estresadas de ambas líneas tratadas con KAR2 (10 nM) presentaron un aumento estadísticamente significativo en el peso seco de sus raíces (Fig. 71C).

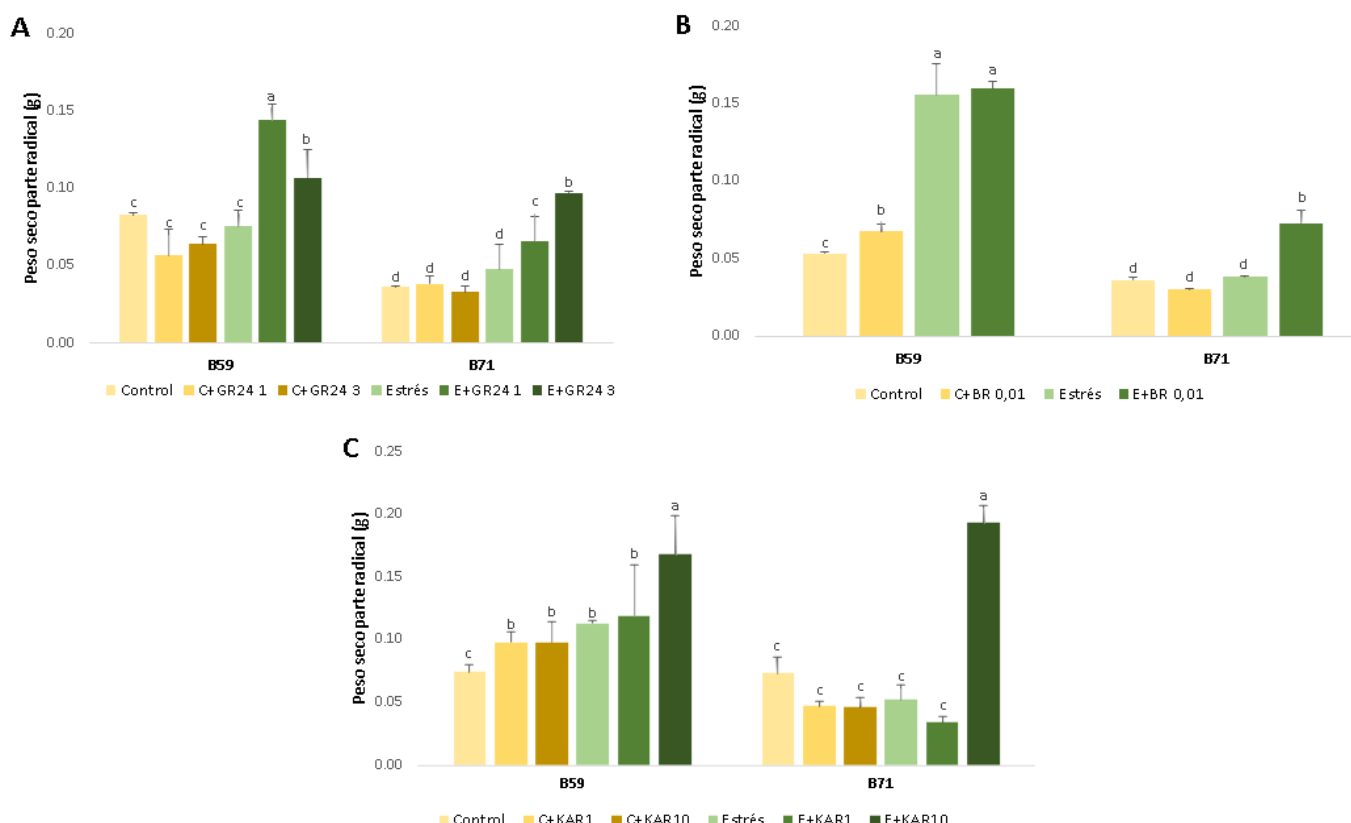


Fig. 71. Peso seco de parte radical de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (1 y 3 μ M) (A); BL (0,01 μ M) (B) o KAR2 (1 μ M y 10 nM) (C) ($n=4 \pm$ SE). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

En relación al área foliar, GR24 1 μ M indujo una reducción en ambas líneas endocriadas comparado con la condición control. La concentración 3 μ M redujo el área foliar de las plántulas B59 mientras que la incrementó levemente en B71 (Fig. 72A). Las plántulas B59 tratadas con BL presentaron un incremento en dicho parámetro, mientras que las de B71 una reducción significativa (Fig. 72B). La aplicación de KAR2 a ambas concentraciones ensayadas (1 μ M y 10 nM) condujo a un aumento en el área foliar de las plántulas B59 mientras que no ocasionó cambios en las de B71 (Fig. 72C). Bajo estrés hídrico, GR24 a 1 μ M produjo un aumento del área foliar exclusivamente en la línea B59 mientras que la concentración 3 μ M lo hizo en ambas líneas endocriadas; no obstante, fue significativo solo para B71 (Fig. 72A). Posterior a la aplicación de BL, un incremento significativo de este parámetro fue observado en las plántulas B59 (Fig. 72B). La aplicación de KAR2 (1 μ M y 10 nM) no ocasionó modificaciones en el área foliar de ninguna de las dos líneas bajo estudio (Fig. 72C).

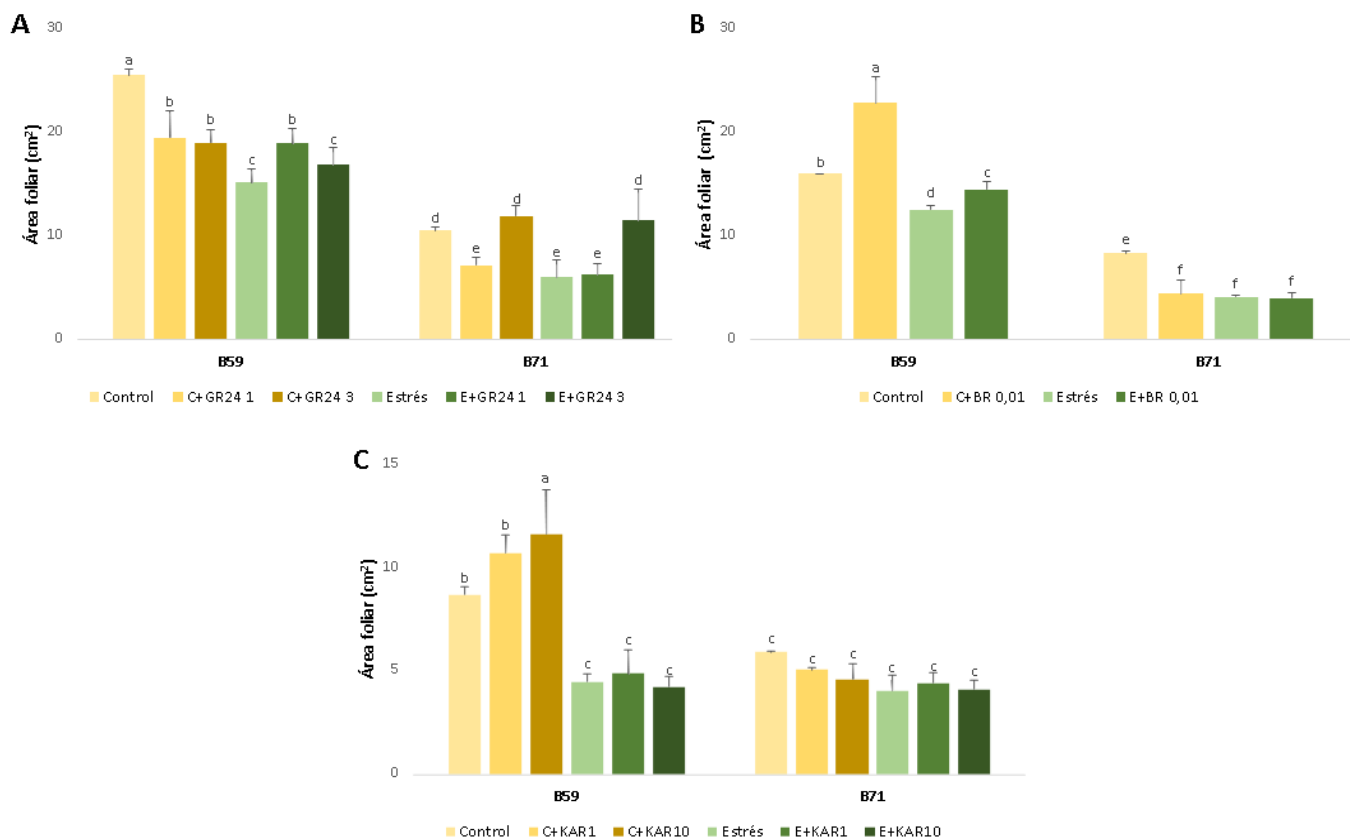


Fig. 72. Área foliar de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 controles, estresadas y tratadas con GR24 (1 y 3 μM) (A); BL (0,01 μM) (B) o KAR2 (1 μM y 10 nM) (C) ($n=4 \pm \text{SE}$). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$.

La respuesta relativa de la biomasa radical al estrés fue mejorada en ambas líneas con respecto a las plántulas sin tratar cuando se aplicó GR24 en ambas concentraciones (1 μM y 3 μM) (Fig. 73A) y KAR2 a 10 nM (Fig. 73C). El efecto positivo de la aplicación de BL (0,01 μM) se observó sólo en la línea B71 (Fig. 73B).

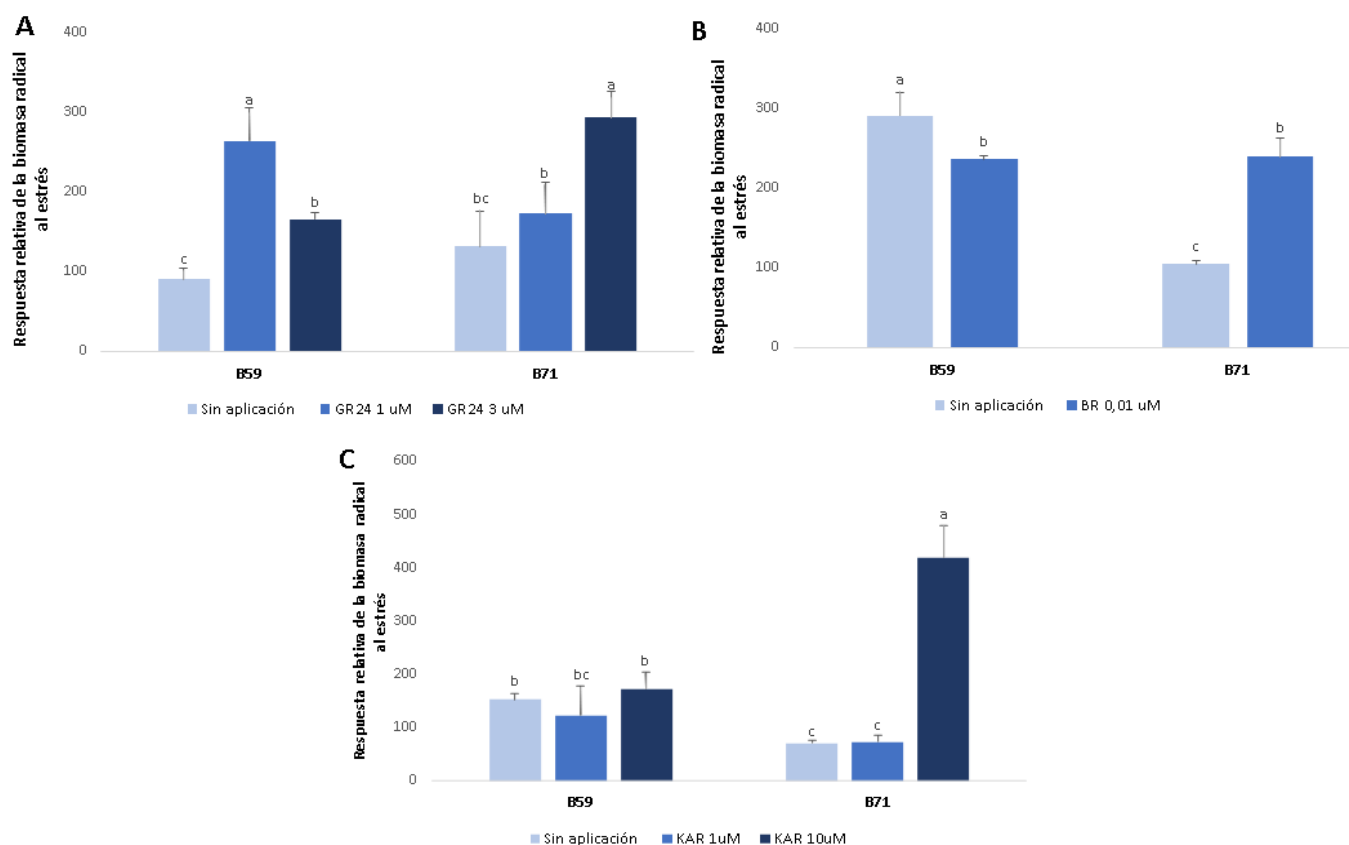


Fig. 73. Respuesta relativa de la biomasa radicular al estrés de plántulas de las líneas endocriadas B59 y B71 sin aplicación de reguladores de crecimiento y tratadas con GR24 (1 y 3 uM) (**A**); BL (0,01 uM) (**B**) o KAR2 (1 uM y 10 nM) (**C**) ($n=4 \pm SE$). Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0.05$.

CONCENTRACIONES DE PGRs SELECCIONADAS

Una vez analizados los resultados de los ensayos exploratorios anteriormente descritos, las soluciones de GR24 (3 μ M), BL (0,01 μ M) y KAR2 (10 nM) fueron seleccionadas como óptimas para continuar su aplicación en los ensayos posteriores.

Fitotoxicidad

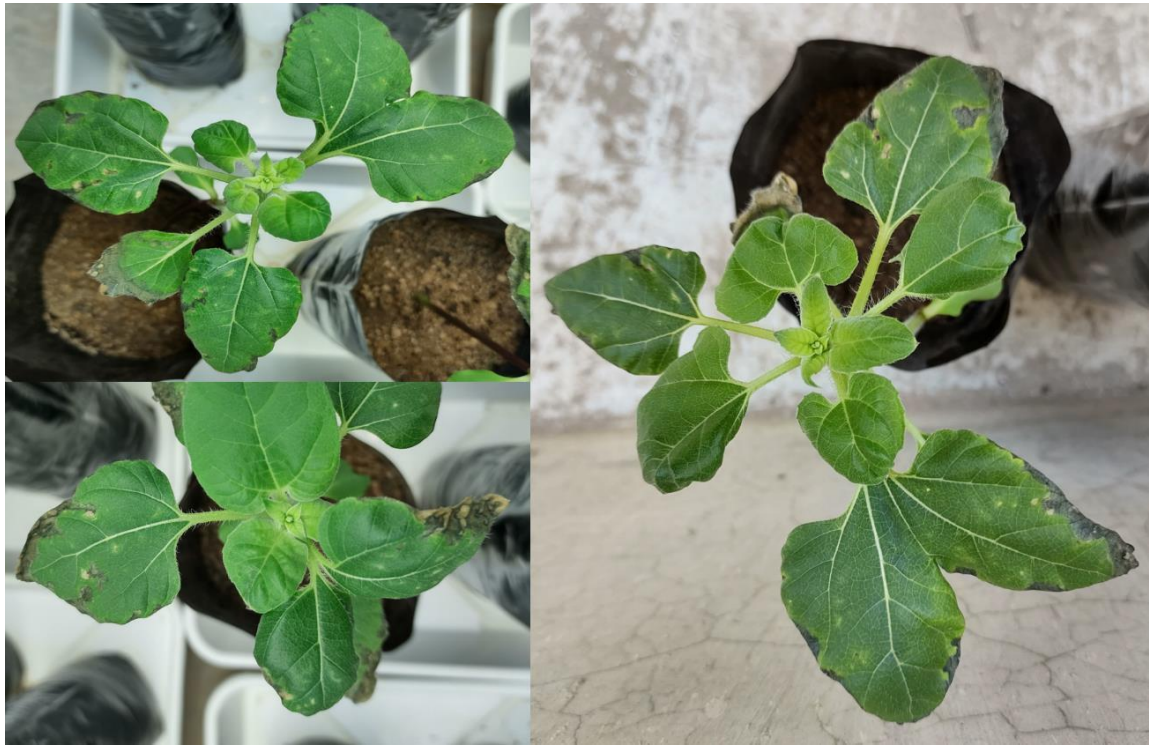


Fig. 74. Fotografías de plántulas de ambas líneas endocriadas en las cuales se observan síntomas de fitotoxicidad luego de la aplicación de la solución de GR24 a la concentración 5 μ M.



Fig. 75. Fotografías de plántulas de ambas líneas endocriadas en las cuales se observan síntomas de fitotoxicidad luego de la aplicación de la solución de GR24 a la concentración 10 μ M.

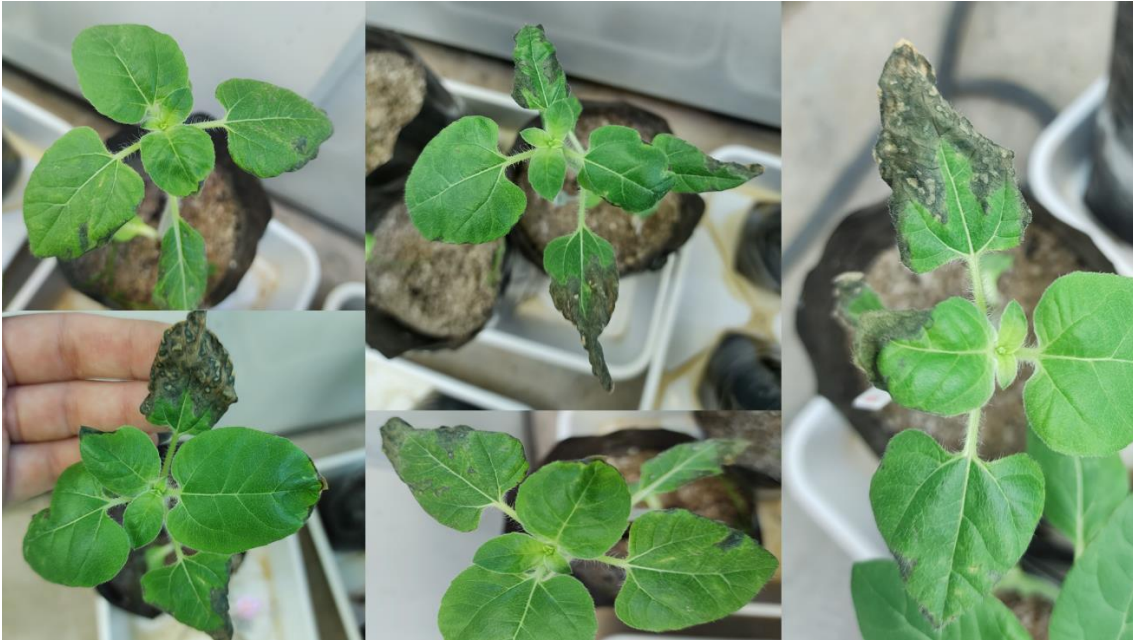


Fig. 76. Fotografías de plántulas de ambas líneas endocriadas en las cuales se observan síntomas de fitotoxicidad luego de la aplicación de la solución de BL a la concentración 1 μ M.