

Efectos hormonales de un bioestimulante basado en proteínas animales hidrolizadas enzimáticamente (Pepton) en plantas de tomate sometidas a estrés hídrico

Los bioestimulantes han acumulado interés debido a su capacidad de mejora del crecimiento de las plantas y la tolerancia al estrés abiótico. La mayoría de los estudios se centran en sus efectos, pero en este estudio se examina el mecanismo de acción y el efecto antioxidante de un hidrolizado enzimático (Pepton) en el perfil hormonal de las plantas de tomate bajo estrés hídrico. Los resultados indican un aumento de las fitohormonas promotoras del crecimiento (auxina y citoquinina) en condiciones de estrés hídrico. También se obtuvieron niveles mejorados de ácido salicílico y ácido jasmónico, resultando en una mayor producción de vitamina E debido al mayor contenido de γ -tocoferol por unidad de clorofila en los tratamientos con Pepton. Se concluye que Pepton ejerce un efecto positivo en el perfil hormonal y su equilibrio, y en los mecanismos de defensa en condiciones de estrés hídrico.

**Andrea Casadesús¹,
Javier Polo^{2*} y Sergi
Munné-Bosch^{1,3}**

¹Departamento de Biología Evolutiva, Ecología y Ciencias Ambientales, Universidad de Barcelona, Barcelona, España.

²Departamento de I+D, APC Europe S.L., Granollers, España.

³Instituto de Nutrición y Seguridad Alimentaria (INSA), Universidad de Barcelona, Barcelona, España.

Introducción

Los bioestimulantes están resurgiendo como herramientas importantes para mejorar los rendimientos y mitigar los efectos negativos del estrés en los cultivos hortícolas. Entre las diferentes categorías de bioestimulantes, los basados en proteínas animales hidrolizadas enzimáticamente representan un enfoque eficaz y atractivo desde el punto de vista económico para mitigar los efectos negativos de los diferentes tipos de estrés en los cultivos hortícolas (Polo y col., 2006; Phelan y col., 2009; Colla y col., 2014, 2017; Polo y Mata, 2018). Pepton 85/16® (Pepton) es un bioestimulante natural obtenido mediante un proceso patentado de hidrólisis enzimática de proteínas animales, disponible en forma de microgranulado y altamente hidrosoluble (APC Europe S.L., España). Pepton ha mostrado efectos beneficiosos en cultivos comerciales, sobre todo en condiciones de estrés abiótico.

Las fitohormonas son cruciales para la regulación del crecimiento vegetativo. Las interacciones entre las fitohormonas son responsables de coordinar varios procesos en el crecimiento y desarrollo de las plantas, especialmente en respuesta a factores internos y externos. Las auxinas, citoquininas y giberelinas (GAs) se encargan de promover el crecimiento vegetativo (Wolters y Jürgens, 2009;

Davies, 2010). Las principales fitohormonas relacionadas con el estrés incluyen el ácido abscísico (ABA), el etileno, los jasmonatos y los salicilatos (Wolters y Jürgens, 2009). El ácido jasmónico desempeña un papel importante en la coordinación de la defensa contra el estrés biótico, por ejemplo, los ataques por herbívoros o las infecciones por patógenos necrótrofos (Wang y Wu, 2013).

A pesar de varios ejemplos de efectos similares a las hormonas atribuidos a los bioestimulantes, aplicados en cultivos hortícolas (Philipson, 1985; Parrado y col., 2008), el mecanismo de acción como bioestimulantes de los péptidos animales hidrolizados sigue siendo una incógnita en gran medida. Los péptidos animales hidrolizados contienen varios aminoácidos, en particular aminoácidos aromáticos como el triptófano y la fenilalanina, a su vez precursores de la síntesis de auxina, hecho que se ha propuesto para explicar su acción (Dai y col., 2013; Zhao, 2014). Por otra parte, el ácido glutámico, la glicina y, en menor medida, la alanina y la arginina se han considerado metabolitos fundamentales en el proceso de síntesis de la clorofila (Von Wettstein y col., 1995). Sin embargo, es necesario investigar para comprender mejor los posibles mecanismos de acción de estos productos en cultivos económicamente relevantes en condiciones de

estrés. Por lo tanto, el presente trabajo se propuso para entender el mecanismo de acción de un bioestimulante basado en proteínas animales hidrolizadas enzimáticamente (Pepton), que anteriormente ha demostrado promover el crecimiento y el rendimiento de varios cultivos hortícolas, especialmente en condiciones de estrés.

Materiales y métodos

Condiciones de crecimiento, tratamientos y muestreos

Se eligió el tomate como cultivo modelo para estudiar las acciones de los productos bioestimulantes porque es un cultivo de alto valor producido en todo el mundo, con un período de crecimiento relativamente corto y su uso en estudios de investigación se asocia a un coste menor que otros cultivos. Además, existe abundante información sobre la variación de los componentes fisiológicos de los tomates asociados a condiciones de estrés. Semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum*, var. 'Ailsa Craig'), obtenidas del Servicio de Campos Experimentales de la Universidad de Barcelona, fueron sembradas en macetas de 1 dm³ en condiciones de día largo en una cámara de crecimiento (12 h luz/12 h oscuridad). Después de un mes de crecimiento, las plántulas fueron trasplantadas a macetas de 3 dm³ y depositadas en un invernadero con una distancia entre macetas de 20 cm. Se establecieron dos tratamientos, concretamente, plantas sometidas a estrés hídrico sin Pepton y plantas sometidas a estrés hídrico con Pepton. Para establecer condiciones de déficit hídrico, las plantas fueron regadas con 0,5 dm³ de solución nutritiva Hoagland cada dos días durante las primeras seis semanas, y posteriormente con 1 dm³ cada dos días hasta el final del período de tratamiento, respondiendo de este modo al aumento de la demanda evapotranspirativa a medida que avanzaba la temporada hacia pleno verano. Se aplicó Pepton mediante fertirrigación una vez cada dos semanas a una dosis equivalente a 4 Kg/ha, es decir, 200 mg de Pepton disueltos en 0,5 dm³ de agua de riego, que corresponde al nivel recomendado por el proveedor para este cultivo. Las aplicaciones se realizaron una hora antes de la puesta del sol. Se recogieron muestras de hojas al inicio del experimento (semana 0), y semanas 2, 4, 8 y 12, una hora antes del amanecer. Se tomaron muestras de dos hojas jóvenes y completamente desarrolladas. Una hoja fue congelada inmediatamente en nitrógeno líquido y almacenada a -80°C para los análisis del perfil hormonal. Se utilizó la otra hoja para determinar la eficiencia cuántica máxima del fotosistema II (F_v/F_m) *in situ* con el mini-PAM II (Photosynthesis Yield Analyser, Walz, Alemania). A continuación, el limbo de la hoja fue cortado en dos partes simétricas. Se utilizó una parte para determinar el contenido relativo de agua. La otra parte fue congelada inmediatamente en nitrógeno líquido y almacenada a -80°C para la realización de los análisis de tococromanos y pigmentos fotosintéticos.

Resultados y discusión

Las plantas sometidas a estrés hídrico mostraron un contenido hídrico relativo por encima del 80% y valores de F_v/F_m por encima de 0,75 durante todo el estudio. El déficit

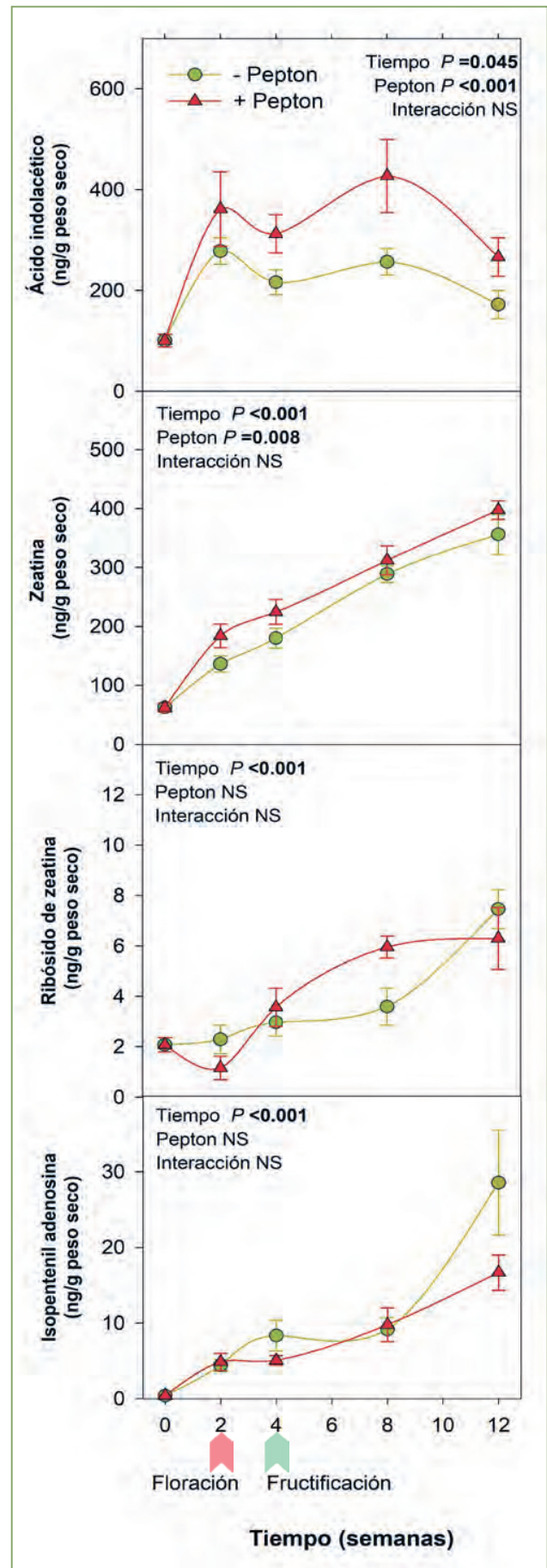


Figura 1. Variaciones del contenido endógeno de auxina y citoquininas en plantas de tomate tratadas con Pepton en condiciones de estrés hídrico.

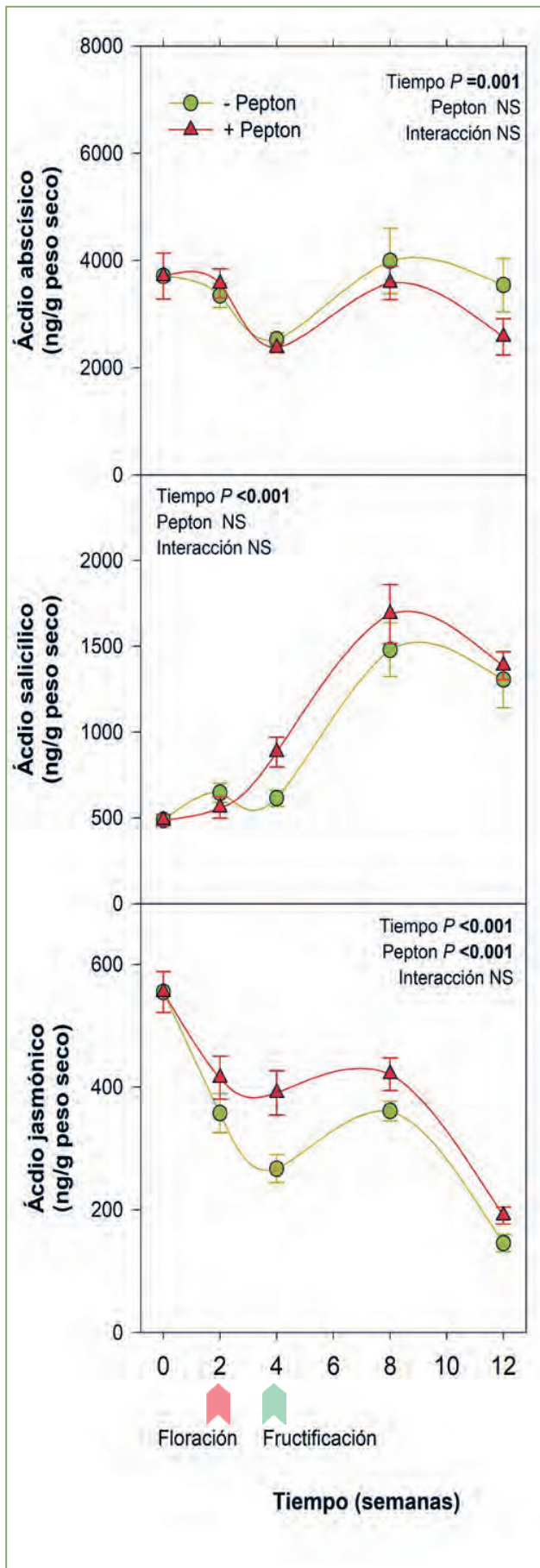


Figura 2. Variaciones en el contenido endógeno de ácido absicísico, ácido salicílico y ácido jasmónico en plantas de tomate tratadas con Pepton en condiciones de estrés hídrico.

de agua en las plantas sometidas a estrés hídrico fue leve en el contenido hídrico relativo, ya que se midió en hojas jóvenes completamente desarrolladas y las hojas más jóvenes se recuperaban rápidamente bajo las condiciones de estrés hídrico estudiadas (ciclos de estrés y recuperación), pero sí redujo sustancialmente el crecimiento de las plantas. La biomasa fue menor en las plantas sometidas a estrés hídrico comparadas con plantas bien regadas y Pepton mitigó ligeramente el fenotipo de las plantas sometidas a estrés hídrico.

Pepton aumentó las fitohormonas relacionadas con el crecimiento bajo condiciones de estrés

El tratamiento con Pepton bajo condiciones de estrés hídrico reveló un efecto significativo sobre el contenido de las principales fitohormonas relacionadas con el crecimiento. Bajo condiciones de estrés hídrico, las plantas tratadas con Pepton mostraron una concentración superior de la auxina ácido indol-3-acético frente a los controles ($P < 0,001$; Figura 1). Por otra parte, la producción aumentada de auxina en los tratamientos con Pepton también pudo estar relacionada en parte con los altos niveles de fenilalanina (5,93%) y los niveles moderados de triptófano (1,25%), dos precursores conocidos de la síntesis de auxina.

Asimismo, la concentración de citoquininas activas como la trans-zeatina (*tZ*), la cual es conocida por su efecto promotor de la división celular, también fue mayor en las plantas tratadas con Pepton en comparación con los controles, bajo condiciones de estrés hídrico ($P = 0,008$), observándose un 25-30% más de *tZ* durante las semanas 2 y 4.

Las GAs bioactivas intervienen en varios procesos de desarrollo de las plantas, por ejemplo, el tamaño de la planta o su floración. El tratamiento con Pepton también produjo un aumento significativo de GA_1 y GA_3 en condiciones de estrés hídrico ($P = 0,004$ y $P = 0,019$, respectivamente). El contenido de GA_1 aumentó progresivamente desde el inicio hasta el final del estudio en las plantas tratadas con Pepton. En la semana 12, el contenido de GA_1 y GA_3 de las plantas tratadas con Pepton fue seis y tres veces mayor, respectivamente, en comparación con las no tratadas.

Pepton mejoró la respuesta de defensa bajo condiciones de estrés hídrico

Las fitohormonas relacionadas con el estrés son cruciales para mejorar el rendimiento de las plantas en condiciones desfavorables. Los jasmonatos están relacionados estrechamente con el estrés biótico (Wolters y Jürgens, 2009) pero también intervienen en la respuesta al estrés abiótico, por ejemplo, las sequías (Jubany-Marí y col., 2010; Riemann y col., 2015; Ahmad y col., 2016). En el presente estudio, encontramos un efecto significativo de la aplicación de Pepton sobre las fitohormonas relacionadas con el estrés en condiciones de deficiencia hídrica, específicamente en el contenido de ácido jasmónico ($P < 0,001$; Figura 2). Las plantas tratadas con Pepton bajo condiciones de estrés hídrico mantuvieron valores de ácido jasmónico más altos que las plantas no tratadas durante todo el estudio. Globalmente, el mayor contenido de ácido jasmónico observado en las plantas tratadas con

Pepton puede aumentar la expresión de genes sensibles al estrés.

Pepton mejoró la protección antioxidante bajo estrés hídrico

Pepton influyó significativamente en la dinámica de acumulación de los tococromanos bajo condiciones de estrés hídrico. Concretamente, encontramos que este bioestimulante impactaba en el contenido de plastocromanol-8 y la relación plastocromanol-8/clorofila (Figura 3). Mientras los tocoferoles son omnipresentes en los tejidos fotosintéticos de todas las especies de plantas, la distribución de plastocromanol-8 y tocotrienoles es más limitada. Se ha demostrado que el plastocromanol-8 y los tocoferoles proporcionan tolerancia al estrés (Loyola y col., 2012; Fleta-Soriano y Munné-Bosch, 2017). En nuestro estudio, el efecto significativo de Pepton sobre el mayor contenido de plastocromanol-8 indica que Pepton mejora la capacidad antioxidante de las plantas de tomate.

Conclusión

A partir de los resultados obtenidos en este estudio, se concluye que el bioestimulante, basado en proteínas animales hidrolizadas enzimáticamente (Pepton), ejerce un efecto positivo sobre el perfil hormonal de las hojas de tomate y mejora las defensas abióticas bajo condiciones de estrés hídrico, incluyendo las fitohormonas y antioxidantes relacionados con la defensa.

Abreviaturas: AAB, ácido abscísico; CKs, citoquininas; PS, peso seco; Fv/Fm, eficiencia cuántica máxima del fotosistema II; GA, giberelinas; AIA, ácido indol-3-acético; IPA, isopenteniladenosina; AJ, ácido jasmónico; CRA, contenido relativo de agua; AS, ácido salicílico; tZ, trans-zeatina; tZR, trans-zeatina ribósido.

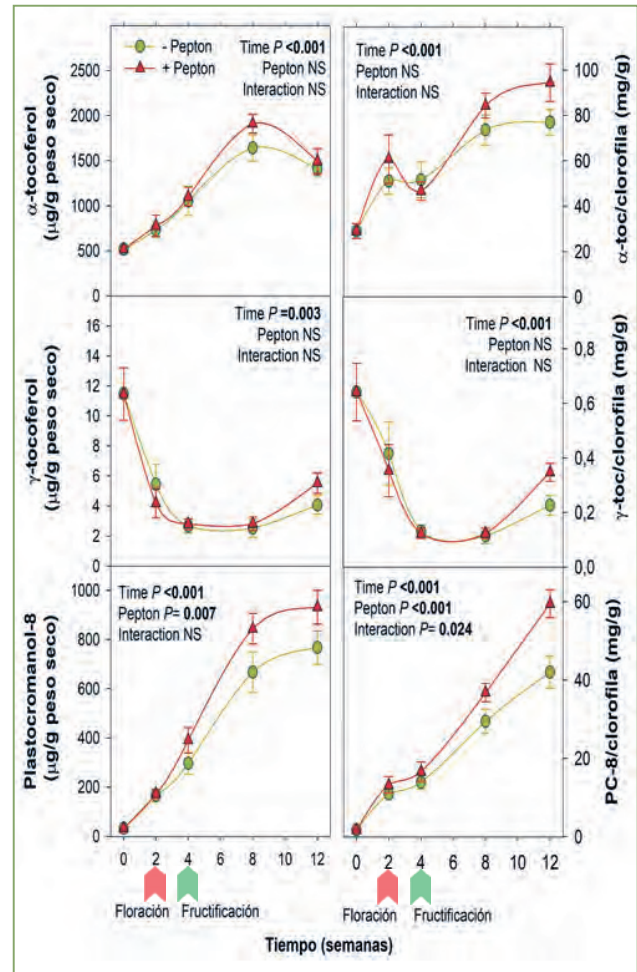


Figura 3. Variaciones en el contenido endógeno de tococromanos en plantas de tomate tratadas con Pepton bajo condiciones de estrés hídrico.

* Referencias bibliográficas disponibles bajo solicitud a los autores.

pepton®
Innovación en
Nutrición Vegetal



www.apcagro.com | info@apc-europe.com