

RESUMEN

Este trabajo se basa en una colaboración entre el laboratorio del profesor doctor Ramón Serrano y la empresa de fertilizantes Fertinagro Nutrientes y está motivado por la necesidad creciente de incrementar la productividad de los cultivos agrícolas al mismo tiempo que se minimiza el impacto que la agricultura tiene sobre el medio ambiente. Fertinagro Nutrientes facilitó los siguientes seis bioestimulantes para el análisis de sus efectos sobre la tolerancia a estrés abiótico en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, aportando escasa (o nula en algunos casos) información acerca de su composición: Extracto de algas, Vinacillas, Fosfito, Ácido húmico, Amino22 y Fulvato potásico. La amplia conservación de rutas metabólicas y de los mecanismos moleculares de defensa frente a estrés abiótico entre levadura y plantas justifican el uso de *S. cerevisiae* como sistema modelo para este estudio.

Todos los bioestimulantes tienen, en mayor o menor medida, efectos positivos sobre la tolerancia de la levadura frente a al menos uno de los tipos de estrés abiótico estudiados. El Extracto de algas mejora el crecimiento en condiciones de estrés salino. El Vinacillas y el Fosfito protegen frente a estrés salino y choque térmico. El Ácido húmico incrementa la tolerancia a estrés oxidativo y choque térmico. Los dos bioestimulantes más polivalentes, el Amino22 y el Fulvato potásico, fueron estudiados en mayor profundidad con el objetivo de identificar sus mecanismos de acción.

El Amino22, que es el bioestimulante más efectivo de los estudiados, mejora considerablemente el crecimiento en ausencia de estrés y bajo estrés osmótico y, en menor medida, también resulta beneficioso para el crecimiento en condiciones de estrés salino. Asimismo, el Amino22 proporciona tolerancia frente a estrés oxidativo y choque térmico. Mediante la comparación con una peptona de caseína ácida se comprobó que el principio activo responsable del efecto del Amino22 son los aminoácidos que contiene. El análisis del efecto del Amino22 sobre la expresión global de genes empleando micromatrices de DNA muestra que el bioestimulante reprime tanto genes regulados por Gcn4 e involucrados en la biosíntesis de aminoácidos y vitaminas como genes regulados por Aft1, implicados en la homeostasis de hierro. El efecto positivo de los aminoácidos sobre el crecimiento y tolerancia a estrés está relacionado, en parte al menos, con la activación de la ruta TORC1 y, además, requiere la inhibición parcial de la ruta GAAC. En cambio, dicho efecto positivo es independiente de la represión del regulón de Aft1. A raíz de la observación de que los aminoácidos reprimen el regulón de hierro, se profundizó en el estudio de la relación entre la homeostasis de aminoácidos y la de hierro en *S. cerevisiae* llegando a un modelo de regulación según el cual la activación de la ruta GAAC induciría la localización nuclear de Aft1 y la consiguiente expresión de sus genes diana, mientras que la inhibición de dicha ruta por la presencia de aminoácidos tendría el efecto contrario. La actividad de Aft1 sería controlada a través del estado de fosforilación de eIF2 α e, hipotéticamente, implicaría la regulación de la formación de complejos Fe/S.

El Fulvato potásico mejora la tolerancia a estrés osmótico, oxidativo y térmico. Los análisis de expresión mediante micromatrices y qRT-PCR indican que el tratamiento con Fulvato potásico reprime el regulón de Aft1. Esta represión se puede explicar por un aumento en el contenido

intracelular de hierro, cuya entrada depende de la oxidorreductasa codificada por el gen *FET3*. La tolerancia a estrés abiótico que proporciona el Fulvato potásico también depende de *FET3*, por lo que se concluye que el mecanismo de acción de este bioestimulante se basa en un incremento de la disponibilidad de hierro, el cual se acumula en las células sin producir daño oxidativo extra.