

RESPUESTA DE LA SOYA (*Glycine max*) A LA DEFICIENCIA DE FOSFATO

SOYBEAN (*Glycine max*) RESPONSE TO PHOSPHATE DEFICIENCY

Selene Fragoso¹, Eleazar Martínez-Barajas¹, Sonia Vázquez-Santana², Jorge Acosta³ y Patricia Coello¹

¹Departamento de Bioquímica. Facultad de Química. UNAM. 04510. México, D.F. (pcoello@servidor.unam.mx). ²Departamento de Biología Comparada. Facultad de Ciencias. UNAM. 04510. México, D.F. ³INIFAP. Campo Experimental Bajío. Apartado Postal 112. 38000. Celaya, Guanajuato, México.

RESUMEN

El fósforo es uno de los principales nutrientes requeridos por las plantas, pero también es uno de los elementos menos disponible en los suelos. La forma de fósforo asimilada por las plantas es como iones ortofosfato H_2PO_4^- y HPO_4^{2-} (Pi), pero su concentración rara vez excede $10 \mu\text{M}$; por tanto, las plantas están expuestas a una deficiencia continua de Pi. No se encontraron reportes que describan los cambios que ocurren en plantas de soya (*Glycine max*) ante la deficiencia de Pi. Por ello, este trabajo tuvo como objetivo evaluar la respuesta de la soya ante la deficiencia de Pi. En la variedad de soya Tapachula 86 en un medio con Pi o diferentes deficiencias de Pi, no cambió el crecimiento de la raíz, pero se detuvo el crecimiento del vástago. La actividad de las fosfatasa ácidas secretadas en plantas desarrolladas en ausencia de fosfato (-Pi) se incrementó casi diez veces, mientras que en los otros tratamientos de deficiencia sólo aumentó entre cuatro y cinco veces. La cantidad de Pi fue mayor en los tratamientos de ácido fítico y fosfato de aluminio, lo que sugiere que las plantas de soya también producen fitasas y ácidos orgánicos que ayudan a movilizar el Pi. Sin embargo, estas adaptaciones no fueron suficientes para promover el crecimiento normal de las plantas.

Palabras clave: Contenido de fosfato, fitasas, fosfatasa ácidas.

INTRODUCCIÓN

Después del nitrógeno y potasio, el fósforo es el nutriente que más limita el crecimiento y desarrollo de las plantas. La energía de los enlaces que forma el fosfato (Pi) con otras moléculas puede utilizarse para mantener el metabolismo celular. El Pi es sustrato y producto final de muchas reacciones enzimáticas; además participa en la regulación de vías metabólicas y en la transducción de señales (Theodorou y Plaxton, 1993).

La deficiencia de Pi afecta el crecimiento de las plantas y, dependiendo de la severidad de la deficiencia, éstas pueden presentar un color verde oscuro con manchas purpúreas o cloróticas en las hojas y, si florece o

ABSTRACT

Phosphorus is one of the principal mineral nutrients required by plants, but it is also one of the least available nutrients in soils. The form of P readily accessed by plants is as orthophosphate ions H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} (Pi), but its concentration rarely exceeds $10 \mu\text{M}$; therefore, the plants are continually exposed to phosphate deficiency. Reports describing the changes induced during phosphate deficiency in soybean (*Glycine max*) plants were not found. Therefore, the objective of this study was to evaluate the response of soybean to Pi deficiency. Root growth was not modified in soybean, var. Tapachula 86, grown under phosphate sufficiency or under different phosphate deficiencies, whereas shoot growth was stopped. Secreted acid phosphatase activity increased almost ten fold in plants grown under Pi absence, whereas the activity of these enzymes only increased between four and five times in the other Pi deficiency treatments. Amount of Pi was higher in phytic acid and in aluminum phosphate treatments, indicating that soybean plants also produce phytases and organic acids which help Pi mobilization. However, these adaptations were insufficient to promote normal plant growth.

Key words: Phosphate content, phytases, acid phosphatases.

INTRODUCTION

After nitrogen and potassium, phosphorus is the nutrient which most limits the growth and development of plants. The energy of the links formed by phosphate (Pi) with other molecules can be used to maintain cellular metabolism. Pi is substrate and final product of many enzymatic reactions; besides, participates in the regulation of metabolic pathways and in the transduction of signals (Theodorou and Plaxton, 1993).

Pi deficiency affects plant growth, and depending on the severity of the deficiency, the plants may present a dark green coloration with purple or chlorotic spots on the leaves, and if they flower or fructify, the yield will be lower than that of a healthy plant (Lynch and Beebe, 1995; Marschner, 1995). If the deficiency is greater, the development of the plant can be detained and it may die in the early stages (Marschner, 1995).

Recibido: Mayo, 2004. Aprobado: Febrero, 2005.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 39: 303-310. 2005.

fructifica, el rendimiento será menor al de una planta sana (Lynch y Beebe, 1995; Marschner, 1995). Si la deficiencia es mayor, la planta puede detener su desarrollo y morir en etapas tempranas (Marschner, 1995).

La principal causa de deficiencia de P es que las plantas pueden absorberlo sólo como iones ortofosfato (H_2PO_4^- y HPO_4^{2-}) (Schachtman *et al.*, 1998). Estos aniones son muy reactivos y en el suelo forman parte de compuestos como sales de Pi precipitadas, ésteres de Pi, fosfonatos y compuestos orgánicos como fitato. La presencia de cada una de las formas no asimilables de P depende del pH del suelo. En suelos ácidos, el P forma complejos poco solubles con aluminio y hierro, mientras que en suelos alcalinos el P se combina con Ca y Mg (López-Bucio *et al.*, 2000). Así, aunque el P abunda en el suelo, con frecuencia la forma asimilable no es suficiente para satisfacer las necesidades de las plantas (Grossman and Takahashi, 2001).

Las plantas han desarrollado adaptaciones morfológicas y metabólicas en respuesta a la deficiencia de Pi. Hay cambios en la arquitectura del sistema radical e incremento en la longitud y densidad de pelos radicales, lo que permite aumentar la superficie de absorción (Lynch y Brown, 2001). La secreción de ácidos orgánicos y fosfatasa aumenta la cantidad de Pi libre, al liberarlo de las formas orgánicas y minerales donde forma complejos (Poirier y Buchner, 2002). Se ha demostrado una correlación entre la capacidad de secretar fosfatasa y ácidos orgánicos, con la capacidad de crecer en suelos orgánicos y en suelos ácidos o alcalinos (Helal, 1990; Shen *et al.*, 2002).

La soya es un cultivo importante, porque de ella se extraen aceites para consumo humano; además, su pasta es rica en proteínas y se usa para alimentar animales domésticos (Hymowitz, 1970). En la literatura revisada no se encontró una documentación clara de los cambios en estas plantas cuando crecen en un medio con deficiencia de Pi. El objetivo de este trabajo fue evaluar el crecimiento de la raíz y del vástago bajo deficiencia de Pi (ausencia y fuentes con baja disponibilidad de P), así como evaluar si las adaptaciones presentadas al crecer en deficiencia de Pi pueden mejorar el desarrollo de las plantas cuando se cultivan en medios donde la mayor parte del P se encuentra como compuestos no asimilables.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se desinfectaron semillas de soya variedad Tapachula 86 por 1 min en una solución a 15% (v/v) de hipoclorito de sodio, se lavaron con agua desionizada y se pusieron a germinar en agrolita húmeda, hasta la emergencia de la radícula. Se transfirieron a un cultivo hidropónico, compuesto de solución Hoagland II, pH 5.3, que contenía

The main cause of Pi deficiency in plants is that it can be absorbed only in the form of orthophosphate ions (H_2PO_4^- and HPO_4^{2-}) (Schachtman *et al.*, 1998). These anions are very reactive, and in the soil form part of compounds such as precipitated Pi salts, Pi esters, phosphonates and organic compounds such as phytate. The presence of each one of the non-assimilable forms of Pi depends on the pH of the soil. In acid soils the P forms low solubility complex with aluminium and iron, whereas in alkaline soils the P combines with Ca and Mg (López-Bucio *et al.*, 2000). Thus, although Pi is abundant in the soil, the assimilable form is often insufficient to satisfy the needs of the plants (Grossman and Takahashi, 2001).

Plants have developed morphological and metabolic adaptations in response to Pi deficiency. There are changes in the architecture of the radical system and an increase in the length and density of radical hairs, which allows an increase in the absorption surface (Lynch and Brown, 2001). The secretion of organic acids and phosphatases increases the amount of free Pi, as it releases it from the organic forms and minerals where it forms complexes (Poirier and Buchner, 2002). A correlation has been demonstrated between the capacity of secreting phosphatases and organic acids, with the capacity to grow in organic soils and in acid or alkaline soils (Helal, 1990; Shen *et al.*, 2002).

Soybean is an important crop, given that it is a source of oil for human consumption; in addition, its paste is rich in proteins and is used to feed domestic animals (Hymowitz, 1970). In the reviewed literature, no clear documentation was found of the changes in these plants when they are grown in a Pi deficient medium. The objective of this study was to evaluate the growth of the root and shoot under Pi deficiency (in absence or with sources of low P availability), as well as to evaluate whether the adaptations presented while growing in Pi deficiency, may improve the development of the plants when cultivated in media where most of the P is found as non-assimilable compounds.

MATERIALS AND METHODS

Plant material

Tapachula 86 variety soybean seeds were disinfected per 1 min in a 15% (v/v) solution of sodium hypochlorite, then washed with deionized water and placed in moist agrolite to germinate, until the emergence of the radicle. They were transferred to a hydroponic culture, composed of a solution of Hoagland II, pH 5.3, which contained 3 mM KNO_3 , 2 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 1 mM MgSO_4 , 0.004 mM MnCl_2 , 0.023 mM H_3BO_3 , 0.0004 mM ZnSO_4 , 0.00015 mM CuSO_4 , 0.00005 mM H_2MoO_4 , 1 g 200 mL^{-1} Fe (III) EDTA and 500 μM $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$. After growing for two weeks in a Hoagland solution with Pi, the plants were divided into four treatments: 1) Hoagland

3 mM KNO₃, 2 mM Ca (NO₃)₂, 1 mM MgSO₄, 0.004 mM MnCl₂, 0.023 mM H₃BO₃, 0.0004 mM ZnSO₄, 0.00015 mM CuSO₄, 0.00005 mM H₂MoO₄, 1 g 200 mL⁻¹ Fe (III) EDTA y 500 μM (NH₄)₂PO₄. Después de crecer dos semanas en una solución Hoagland con Pi, las plantas se dividieron en cuatro tratamientos: 1) solución Hoagland con Pi; 2) solución Hoagland sin Pi; 3) solución Hoagland con 500 μM ácido fítico (en sustitución del Pi); 4) solución Hoagland con 50 μM de fosfato de aluminio (en sustitución de Pi). Las plantas permanecieron en el medio hidropónico de 2 a 16 d de acuerdo a cada experimento y se mantuvieron en invernadero con ciclos de 26 °C durante el día y 15 °C durante la noche; la humedad relativa fue 70%.

Cuantificación de fosfato

La determinación del Pi soluble se realizó de acuerdo con los métodos descritos por Pieters *et al.*, (2001). Para obtener el extracto, la raíz (0.01 g) y el vástago (0.003 g) se molieron por separado en nitrógeno líquido, se agregó 2 mL de agua, se calentaron a ebullición durante 5 min, se dejaron enfriar hasta 72 °C y se mantuvieron a esa temperatura durante toda la noche. El Pi se determinó por el método de Ames (1966).

Obtención de exudados radicales

Se colocaron plantas con las raíces sumergidas en 20 mL de agua desionizada, para permitir la exudación durante 3 h; esta solución se liofilizó y se congeló a -70 °C hasta su utilización.

Cuantificación de proteína secretada

Se siguió el método colorimétrico descrito por Bradford (1976) utilizando concentraciones conocidas de albúmina sérica bovina para elaborar la curva patrón.

Actividad de fosfatasa ácida secretada

Se determinó usando *p*-nitrofenil fosfato (*p*-NPP, Sigma) como sustrato (Coello, 2002).

Variables evaluadas

Se registró el peso fresco y la longitud (promedio de longitud de las tres raíces más largas) de las raíces, así como el peso fresco y altura (tomada desde la base del tallo hasta el último nodo) de los vástagos. En los exudados radicales se evaluó la actividad de fosfatasa ácida y fitasa, la cual se reporta como actividad específica (U mg⁻¹ proteína); una unidad (U) de actividad enzimática se define como la cantidad de enzima que libera 1 mmol de Pi en 1 min. La cantidad de Pi soluble se evaluó en raíces y en hojas, y se reporta como mmoles Pi g⁻¹ de tejido.

Diseño experimental y análisis de los datos

Para determinar los efectos de la deficiencia de Pi en el crecimiento de plantas de soya, éstas se desarrollaron en medios con Pi

solution with Pi, 2) Hoagland solution without Pi; 3) Hoagland solution with 500 μM phytic acid (in substitution of the Pi); 4) Hoagland solution with 50 μM of aluminum phosphate (in substitution of Pi). The plants remained in the hydroponic medium from 2 to 16 d according to each experiment, and were maintained in a greenhouse with cycles of 26 °C during the day and 15 °C during the night; the relative humidity was 70%.

Quantification of phosphate

The determination of the soluble Pi was carried out according to the methods described by Pieters *et al.* (2001). To obtain the extract, the root (0.01 g) and the shoot (0.003 g) were ground separately in liquid nitrogen, 2 mL of water were added, then heated to a boil during 5 min, left to cool to 72 °C and maintained at this temperature all night. The Pi was determined by the Ames method (1966).

Obtainment of radical exudates

Plants were placed with the roots submerged in 20 mL of de-ionized water, to allow the exudation during 3 h; this solution was liophilized and frozen at -70 °C for further utilization.

Quantification of secreted protein

The colorimetric method described by Bradford (1976) was followed, using known concentrations of bovine seric albumin to elaborate the standard curve.

Activity of secreted acid phosphatase

This was determined by using *p*-nitrophenyl phosphate (*p*-NPP, Sigma) as substrate (Coello, 2002).

Evaluated variables

The fresh weight and length (average length of the three longest roots) were recorded of the roots, as well as the fresh weight and height (taken from the base of the stem to the last node) of the shoots. In the radical exudates an evaluation was made of the activity of acid phosphate and phytase, which is reported as specific activity (U mg⁻¹ protein); one unit (U) of enzymatic activity is defined as the amount of enzyme released by 1 mmol of Pi in 1 min. The amount of soluble Pi was evaluated in roots and leaves, and is reported as mmoles Pi g⁻¹ of tissue.

Experimental design and analysis of data

To determine the effects of Pi deficiency on the growth of soybean plants, these were grown in media with Pi or with different availability of this nutrient (-Pi, phytic acid and aluminum phosphate).

The experimental design was completely random, the results were analyzed using an analysis of three repetitions and the Tukey test, using Sigma Stat 2.0 (Jendel Corp., San Rafael, CA). The results are

(t Pi) en medios con diferente disponibilidad de este nutrimento (ausencia del fosfato, -Pi; ácido fítico y fosfato de aluminio).

El diseño experimental fue completamente al azar los resultados se analizaron mediante un análisis de tres repeticiones y con la prueba de Tukey, utilizando SigmaStat 2.0 (Jendel Corp., San Rafael, CA). Los resultados se presentan como el promedio y desviación estándar de tres repeticiones independientes con 10 plantas en cada experimento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las raíces de plantas desarrolladas en los tratamientos de ausencia y baja disponibilidad, 16 máximo, no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en tamaño y peso fresco, al compararlas con plantas que crecieron en una solución con Pi (Figuras 1a y 1b).

En los vástagos de las plantas desarrolladas con baja disponibilidad o deficiencia de Pi y en medio con Pi, no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) en la altura (Figura 2a). El peso fresco de los vástagos (Figura 2b), a partir del día 14, desarrollados en ausencia de Pi, o con fitato o fosfato de aluminio, fue menor ($p \leq 0.05$) que en las plantas desarrolladas en un medio con Pi. La deficiencia de Pi promueve el crecimiento radical e inhibe el desarrollo de la parte aérea, como una estrategia para incrementar la superficie de la raíz y aumentar la absorción de Pi (Fan *et al.*, 2003; López-Bucio *et al.*, 2003). En cultivos de importancia económica, como maíz y frijol, las plantas con mayor tolerancia a la deficiencia de Pi, mantienen el crecimiento radical e incrementan el peso seco y la longitud de las raíces durante la deficiencia de este nutrimento (Gaume *et al.*, 2001; Lynch y Brown, 2001; Parra *et al.*, 2004). Los resultados del presente experimento sugieren que una estrategia similar se presentaría en soya.

La secreción de fosfatasas ácidas al medio extracelular es una respuesta de las plantas a la deficiencia de Pi (Yun y Kaeppler, 2001; Bozzo *et al.*, 2002). La actividad de fosfatasa ácida en exudados aumentó en los tratamientos de deficiencia a partir del día 12 (Figura 3a). Sin embargo, hasta el día 14, el aumento en la actividad de esta enzima fue menor en los exudados de plantas cultivadas con ácido fítico y fosfato de aluminio, lo que sugiere que la magnitud de la deficiencia de Pi no fue la misma que en las plantas desarrolladas en ausencia de este nutrimento. La actividad de la fitasa, fosfatasa ácida con especificidad para degradar ácido fítico, se induce entre los días 8 y 12, en respuesta a la deficiencia de Pi (Figura 3b). La secreción de fitasa al medio extraradical presenta ventajas importantes para las plantas. Plantas transgénicas que producen y secretan en abundancia una fitasa pueden crecer en condiciones donde la única fuente fosfatada es el ácido fítico (Richardson *et al.*, 2001).

En las raíces, el contenido de Pi fluctuó entre 25 $\mu\text{moles g}^{-1}$ peso fresco y 50 $\mu\text{moles g}^{-1}$ peso fresco en las plantas

presentadas como el promedio y desviación estándar de tres repeticiones independientes con 10 plantas en cada experimento.

RESULTS AND DISCUSSION

The roots of plants developed in the absence and low availability treatments, 16 maximum, did not present significant differences ($p > 0.05$) in size and fresh weight, when compared with plants grown in a solution with Pi (Figures 1a and 1b).

In the shoots of plants developed under Pi low availability or deficiency and in a medium with Pi, there were no significant differences ($p > 0.05$) in height (Figure 2a). The fresh weight of the shoots (Figure 2b), starting from day 14, developed under absence of Pi, or with aluminum phytate or phosphate, was lower ($p \leq 0.05$) than in the plants developed in a medium with Pi. The deficiency of Pi promotes radical growth and inhibits the development of the aerial part, as a strategy for increasing the surface of the root and the absorption of Pi (Fan *et al.*, 2003; López-Bucio *et al.*, 2003). In crops of economic importance, such as maize and bean, the plants with a greater tolerance to Pi deficiency maintain the radical growth and increase the dry weight and length of the roots during the deficiency of this nutrient (Gaume *et al.*, 2001; Lynch and Brown, 2001; Parra *et al.*, 2004). The results of the present experiment suggest that a similar strategy would be presented in soybean.

The secretion of acid phosphatases into the extracellular medium is a response of the plants to the deficiency of Pi (Yun and Kaeppler, 2001; Bozzo *et al.*, 2002). The activity of acid phosphatase in exudates increased in the deficiency treatments starting from day 12 (Figure 3a). However, until day 14, the increase in activity of this enzyme was lower in the exudates of plants cultivated with phytic acid and aluminum phosphate, which suggests that the magnitude of the Pi deficiency was not the same as in the plants developed under absence of this nutrient. The activity of the phytase, acid phosphatase with specificity for degrading phytic acid, is induced between days 8 and 12, in response to Pi deficiency (Figure 3b). The secretion of phytase to the extraradical medium presents important advantages for the plants. Transgenic plants which produce and secrete a phytase in abundance can grow in conditions where the only phosphate source is phytic acid (Richardson *et al.*, 2001).

In the roots, the Pi content fluctuated between 25 $\mu\text{moles g}^{-1}$ fresh weight and 50 $\mu\text{moles g}^{-1}$ fresh weight in the plants with sufficient Pi. In contrast, the deficiency treatments reduced ($p \leq 0.05$) the Pi content to at least 50% of the control (Figure 4a shoot; 4b roots).

The content of Pi in the shoots of plants developed in +Pi remained constant, but it was lower in the plants with

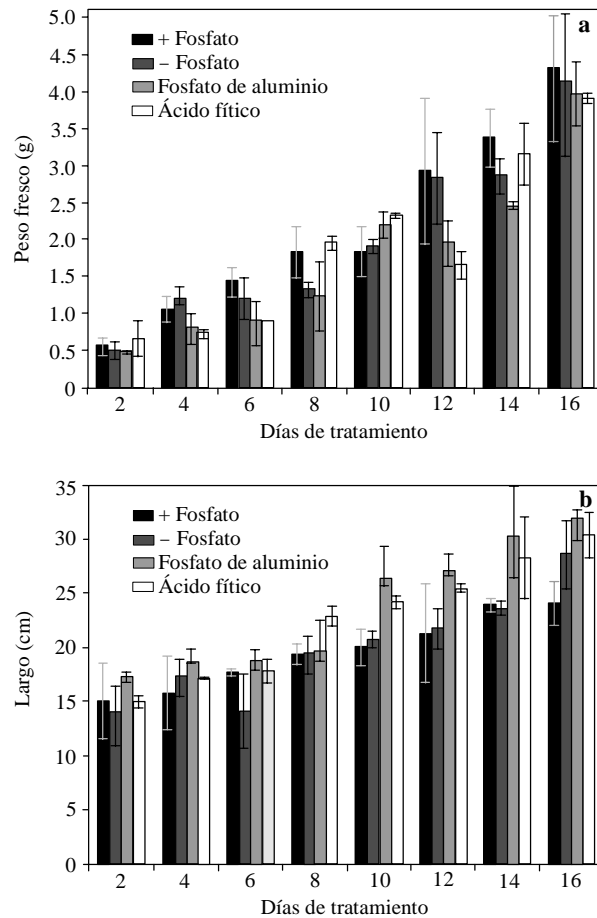


Figura 1. a) Peso fresco de las raíces de soya Pi. b) Longitud de las raíces de soya. Las raíces fueron sometidas a tratamientos de deficiencia o suficiencia de Pi.

Figure 1. a) Fresh weight of the Pi soybean roots. b) Length of the soybean roots. The roots were subjected to treatments of deficiency or sufficiency of Pi.

con suficiente Pi. En contraste, los tratamientos de deficiencia disminuyeron ($p \leq 0.05$) el contenido de Pi hasta por lo menos 50% del testigo (Figura 4a vástago; 4b raíces).

El contenido de Pi en los vástagos de plantas desarrolladas en +Pi se mantuvo constante, pero fue menor en las plantas con tratamientos de deficiencia, (Figura 4b). En plantas con deficiencia de Pi, los tratamientos con ácido fítico y fosfato de aluminio, tuvieron valores de Pi más altos ($p \leq 0.05$). Esto podría indicar que, al igual que otras especies, la soya también puede movilizar el P de fuentes con baja disponibilidad de Pi (Asmar *et al.*, 1995; Jones, 1998). Aunque esto ocurrió en las condiciones experimentales usadas, la movilización no fue suficiente para producir un crecimiento normal.

Al evaluar la relación entre el contenido de Pi en raíz y la secreción de fosfatasa, la actividad de esta enzima aumentó cuando se redujo el contenido de este nutriente

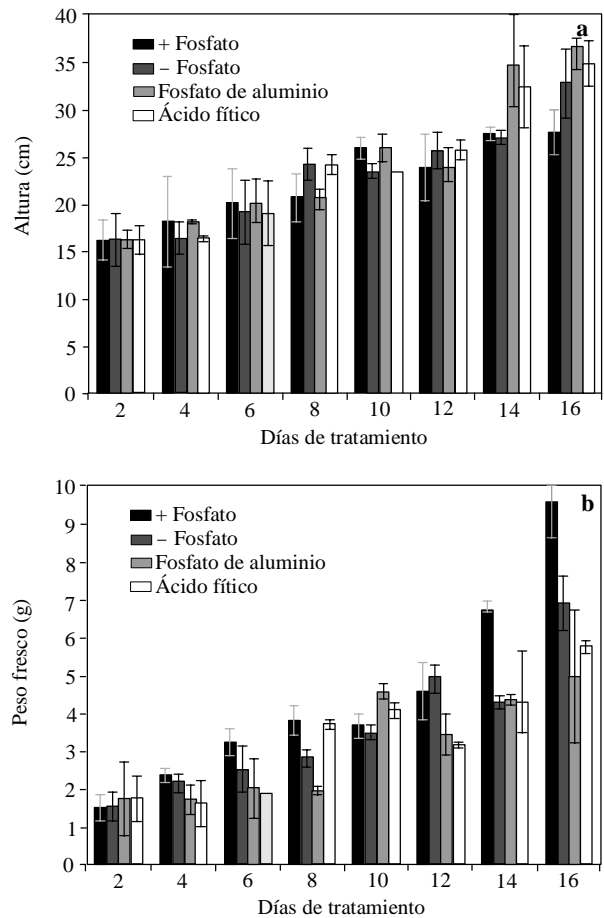


Figura 2. a) Longitud de los vástagos de soya. b) Peso fresco de vástagos de soya. Los vástagos fueron sometidos a tratamientos de deficiencia o suficiencia de Pi.

Figure 2. a) Length of the soybean shoots. b) Fresh weight of soybean shoots. The shoots were subjected to treatments of deficiency or sufficiency of Pi.

deficiency treatments (Figure 4b). In plants with Pi deficiency, the treatments with phytic acid and aluminum phosphate showed higher values of Pi ($p \leq 0.05$). This could indicate that, as in other species, soybean can also mobilize P from unavailable sources (Asmar *et al.*, 1995; Jones, 1998). However, even when this occurred under the experimental conditions used, the mobilization was not sufficient to produce normal growth.

In the evaluation of the relationship between the Pi content in the roots and the secretion of phosphatases, the activity of this enzyme increased when the content of Pi was reduced (Figure 5). This suggests that the reduction in the amount of Pi acts as a signal which stimulates the secretion and activity of this enzyme. Similar data has been found in other systems (Ticoni *et al.*, 2001; Varadarajan *et al.*, 2002). In addition, the symptoms characteristic of Pi deficiency, such as the presence of anthocyanins around the edges of the leaves and chlorosis

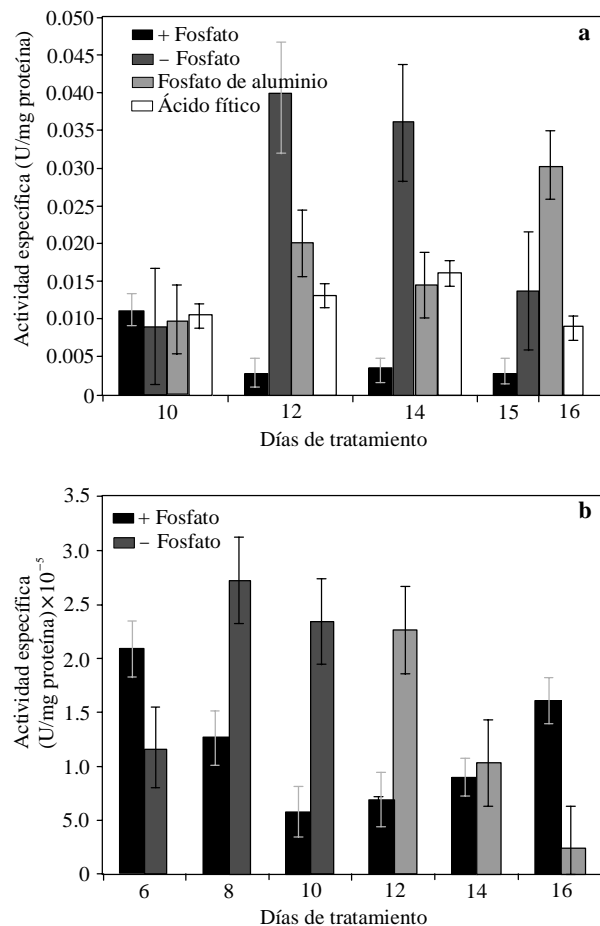


Figura 3. a) Actividad específica de fosfatasa ácida en exudados radicales de plantas sometidas a deficiencia o suficiencia de Pi. b) Actividad específica de fitasa en exudados radicales de plantas sometidas a deficiencia o suficiencia de Pi.

Figure 3. a) Specific activity of acid phosphatase in radical exudates of plants subjected to deficiency or sufficiency of Pi. b) Specific activity of phytase in radical exudates of plants subjected to deficiency or sufficiency of Pi.

(Figura 5). Esto sugiere que la disminución en la cantidad de Pi actúa como una señal que estimula la secreción y la actividad de esta enzima. Datos similares se han encontrado en otros sistemas (Ticoni *et al.*, 2001; Varadarajan *et al.*, 2002). Además, los síntomas característicos de la deficiencia de Pi, como presencia de antocianinas alrededor de los márgenes de las hojas y clorosis (Marschner, 1995), aparecieron en plantas de soya a partir del día 23 de deficiencia (datos no mostrados), lo que apoya la idea de que existen otras señales que inducen algunas de estas respuestas antes de presentarse cambios fenológicos. Una de esas señales podría ser la concentración interna de Pi. A favor de esta hipótesis, en plantas sometidas a deficiencia de Pi y luego expuestas a fosfonato (un análogo de Pi no metabolizable),

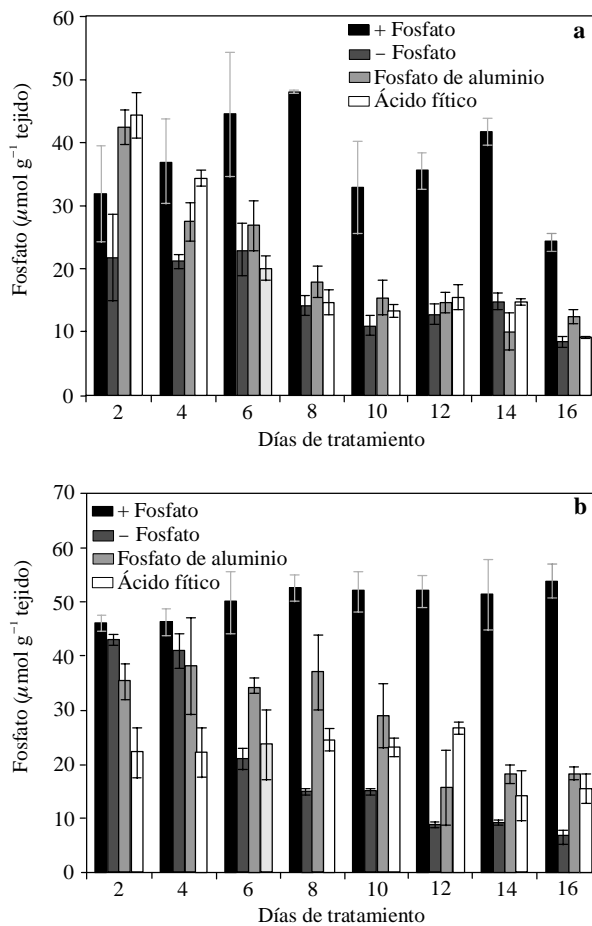


Figura 4. a) Contenido de Pi en raíces de plantas de soya. b) Contenido de Pi en vastagos de plantas de soya desarrolladas. Los tratamientos fueron deficiencia y suficiencia de Pi.

Figure 4. a) Pi content in roots of soybean plants. b) Pi content in shoots of developed soybean plants. The treatments were deficiency and sufficiency of Pi.

(Marschner, 1995), appeared in soybean plants starting on day 23 of deficiency (data not shown), which supports the idea that there are other signals that induce some of these responses before phenological changes appear. One of these signals could be the internal concentration of Pi. Supporting this hypothesis, in plants subjected to Pi deficiency and then exposed to phosphonate (a non-metabolizable analogue of Pi), some of the responses to Pi deficiency disappear, indicating that the accumulation of Pi or its analogues is sufficient to revert the response (Carswell *et al.*, 1996).

CONCLUSIONS

The Tapachula 86 variety soybean plants respond to Pi deficiency by increasing the length and weight of the root and by reducing the weight of the shoot. Although

desaparecen algunas de las respuestas a la deficiencia de Pi, lo cual indica que la acumulación de Pi o sus análogos es suficiente para revertir la respuesta (Carswell *et al.*, 1996).

CONCLUSIONES

Las plantas de soya variedad Tapachula 86 responden a la deficiencia de Pi incrementando la longitud y el peso de la raíz y disminuyendo el peso del vástago. Aunque aumenta la cantidad de Pi libre en los vástagos de plantas desarrolladas en ácido fítico y fosfato de aluminio, en las condiciones experimentales usadas, esta diferencia no es suficiente para promover un crecimiento normal. Además, la secreción de fosfatasas ácidas aumenta considerablemente en las plantas con deficiencia, y este aumento coincide con una disminución en la cantidad intracelular de Pi.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo técnico de la Q. Laurel Fabila. Este trabajo se realizó con el apoyo de los proyectos DGAPA IN201101, DGAPA IN201502, PAIP 6290-13.

LITERATURA CITADA

- Ames, B. N. 1966. Assay of inorganic phosphate, total phosphate and phosphatases. *Methods Enzymol.* 8: 115-118.
- Asmar, F. T., T. Sing, and N.E. Nielsen. 1995. Barley genotypes differ in activity of soluble extracellular phosphatase and depletion of organic phosphorus in the rhizosphere soil. *Plant Soil* 172: 117-122.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- Bozzo, G., K. G. Raghothama, and W. C. Plaxton. 2002. Purification and characterization of two secreted purple acid phosphatase isozymes from phosphate-starved tomato (*Lycopersicon esculentum*) cell cultures. *Eur. J. Biochem.* 269: 6278-6286.
- Carswell, C., B. R. Grant, M. E. Theodorou, J. Harris, J. O. Niere, and W. C. Plaxton. 1996. The fungicide phosphonate disrupts the phosphate-starvation response in *Brassica nigra* seedlings. *Plant Physiol.* 110: 105-110.
- Coello, P. 2002. Purification and characterization of secreted acid phosphatase in phosphorus-deficient *Arabidopsis thaliana*. *Physiol. Plantarum* 116: 293-298.
- Fan, M., J. Zhu, C. Richards, K. M. Brown, and J. Lynch. 2003. Physiological roles for aerenchyma in phosphorus stressed roots. *Funct. Plant Biol.* 30: 493-506.
- Gaume, A., F. Machler, C. de León, L. Narro, and E. Frossard. 2001. Low-P tolerance by maize (*Zea mays* L.) genotypes: significance of root growth, and organic acids and acid phosphatases root exudation. *Plant Soil* 228: 253-264.
- Grossman, A., and H. Takahashi. 2001. Macronutrient utilization by photosynthetic eukaryotes and the fabric of interactions. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52: 163-210.
- Helal, H. M. 1990. Varietal differences in root phosphatase activity as related to the utilization of organic phosphates. *Plant Soil* 123: 161-163.

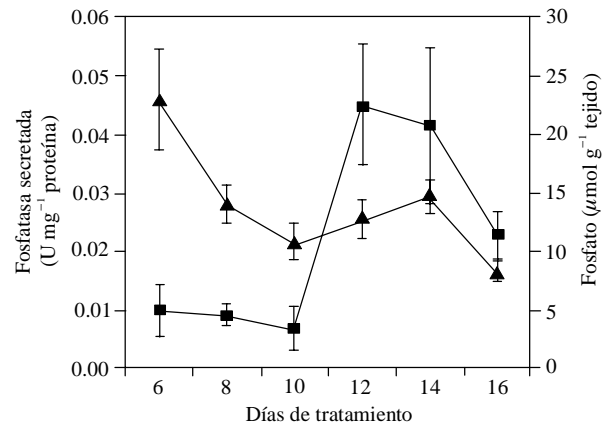
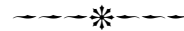


Figura 5. Actividad de fosfatasa ácida en exudados radicales en relación con el contenido de Pi libre en raíces con deficiencia de Pi.

Figure 5. Activity of acid phosphatase in radical exudates with respect to the content of free Pi in roots with Pi deficiency.

the amount of free Pi increases in the shoots of plants developed in phytic acid and aluminum phosphate, under the experimental conditions used, this difference is not enough to promote normal growth. Furthermore, the secretion of acid phosphatases increases considerably in the plants with deficiency, and this increase coincides with a reduction in the intracellular content of Pi.

—End of the English version—



- Hymowitz, T. 1970. On the domestication of the soybean. *Econ. Bot.* 24: 408-421.
- Jones, D. L. 1998. Organic acids in the rhizosphere- a critical review. *Plant Soil* 205: 25-44.
- López-Bucio, J., O. Martínez-de la Vega, A. Guevara-García, and L. Herrera-Estrella. 2000. Enhanced phosphorus uptake in transgenic tobacco plants that overproduce citrate. *Nature Biotech.* 18: 450-453.
- López-Bucio, J., A. Cruz-Ramírez, and L. Herrera-Estrella. 2003. The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Curr. Op. Plant Biol.* 6: 1-8.
- Lynch, J. P., and S. E. Beebe. 1995. Adaptation of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) to low phosphorus availability. *HortScience* 30: 1165-1171.
- Lynch, J. P., and K. M. Brown. 2001. Topsoil foraging -an architectural adaptation to low phosphorus availability. *Plant Soil* 273: 225-237.
- Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition in Higher Plants.* 2nd. Ed. Academic Press. London, England. 889 p.
- Parra, M. C., E. Martínez-Barajas, J. Acosta y P. Coello. 2004. Respuesta a la deficiencia de fosfato de genotipos de frijol contrastantes en su capacidad de crecer en suelos con bajo contenido de fósforo. *Agrociencia* 38: 131-139.
- Pieters, A. J., M. J. Paul, and D. W. Lawlor. 2001. Low sink demand limits photosynthesis under Pi deficiency. *J. Exp. Bot.* 52: 1083-1091.

- Poirier, Y., and M. Bucher. 2002. Phosphate transport and homeostasis in Arabidopsis. *In: The Arabidopsis Book*. American Society of Plant Biology USA. pp: 1-35.
- Richardson, A.E., P.A. Hadobas, and J. E. Hayes. 2001. Extracellular secretion of *Aspergillus* phytase from Arabidopsis roots enables plants to obtain phosphorus from phytate. *Plant J.* 25(6): 1-10.
- Schachtman, D., R. J. Reid, and S. M. Ayling. 1998. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *Plant Physiol.* 116: 447-453.
- Shen, H., X. Yan, M. Zhao, S. Zheng, and X. Wang. 2002. Exudation of organic acids in common bean as related to mobilization of aluminum- and iron-bound phosphates. *Env. Exp. Bot.* 48:1-9.
- Theodorou, M. E., and W. C. Plaxton. 1993. Metabolic adaptations of plant respiration to nutritional phosphate deprivation. *Plant Physiol.* 101: 339-344.
- Ticoni, C. A., C. C. Delatorre, and S. Abel. 2001. Attenuation of phosphate starvation responses by phosphite in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 127: 963-972.
- Varadarajan, D. K., A. S. Karthikeyan, P. D. Matilda, and K. G. Raghobama. 2002. Phosphite, an analogue of phosphate, suppresses the coordinate expression of genes under phosphate starvation. *Plant Physiol.* 129: 1232-1240.
- Yun, S. J., and S. M. Kaepler. 2001. Induction of maize acid phosphatase activities under phosphorus starvation. *Plant Soil* 237: 109-115.