

EFFECTO DE LA DEFICIENCIA DE FÓSFORO EN EL METABOLISMO DE CARBONO DE PLÁNTULAS DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris*)

EFFECT OF PHOSPHORUS DEFICIENCY ON CARBON METABOLISM OF BEAN (*Phaseolus vulgaris*) SEEDLINGS.

Lilia Bernal¹, Patricia Coello¹, Jorge Acosta² y Eleazar Martínez-Barajas¹

¹Departamento de Bioquímica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. 04510. México, D. F. (emtz@servidor.unam.mx). ²INIFAP. Campo Experimental Bajío. 38000. Apartado Postal 112. Celaya, Guanajuato, México.

RESUMEN

El fósforo (P) es un nutriente esencial para las plantas. Hay genotipos de frijol (*Phaseolus vulgaris*) que son menos afectados, pero la falta de una caracterización adecuada de sus respuestas bioquímicas a la carencia de P ha limitado su uso en programas de mejoramiento. En este artículo se reportan diferencias notables entre los genotipos Canario 60 (C60) y MAR1 a la falta de P: el peso seco de la raíz se redujo en proporciones similares, pero el impacto sobre la parte aérea fue mayor en C60. La falta de P no alteró la relación entre P soluble y total en hojas jóvenes y hojas maduras, pero la incrementó en la raíz de MAR1. La carencia de P modificó los niveles de glucosa, fructosa, sacarosa y almidón en hojas y raíces. Se propone que el uso eficiente del P, su movilización de la raíz a las hojas, y el mantenimiento de la capacidad para exportar fotosintatos, son cualidades de la planta que pueden mejorar el desempeño del cultivo cuando la cantidad de P asimilable no es suficiente.

Palabras clave: *Phaseolus vulgaris*, fósforo, nutrición.

INTRODUCCIÓN

El fósforo (P) es un macronutriente esencial para todos los seres vivos; es parte de estructuras biológicas, participa en muchos procesos celulares y su ausencia repercute negativamente en el crecimiento y desarrollo de las plantas (Kondracka y Rychter, 1997). La mayor parte del P del suelo está en compuestos orgánicos e inorgánicos no asimilables (Holford, 1997). Las plantas sólo pueden tomar ortofosfato (Pi, H₂PO₄), cuya concentración rara vez excede 10 µM (Holford, 1997). De las áreas agrícolas de Latinoamérica y África, 50% presentan niveles bajos de Pi (CIAT, 1987) y es frecuente que los cultivos tengan algún grado de deficiencia.

La falta de P reduce el crecimiento de la parte aérea (Lynch *et al.*, 1991), las hojas son más pequeñas (Marschner, 1995), su color más intenso (Chiera *et*

ABSTRACT

Phosphorus (P) is an essential nutrient for plants. There are genotypes of bean (*Phaseolus vulgaris*) that are less affected, but the lack of an adequate characterization of their biochemical responses to the lack of P has limited their use in breeding programs. In this article notable differences are reported among the genotypes Canario 60 (C60) and MAR1 to the lack of P: the dry weight of the root was reduced in similar proportions, but the impact on the aboveground part was greater in C60. The lack of P did not alter the relationship between soluble and total P in young leaves and mature leaves, but increased it in the root of MAR1. The lack of P modified the levels of glucose, fructose, saccharose and starch in leaves and roots. It is proposed that the efficient use of P, its mobilization from the root to the leaves, and the maintenance of the capacity to export photosynthates, are qualities of the plant that can improve the performance of the crop when the amount of assimilable P is not sufficient.

Key words: *Phaseolus vulgaris*, phosphate, nutrition.

INTRODUCCIÓN

Phosphorus (P) is an essential macronutrient for all living beings; it is part of biological structures, participates in many cellular processes and its absence has negative repercussions on the growth and development of plants (Kondracka and Rychter, 1997). Most of the P of the soil is found in unassimilable organic and inorganic compounds (Holford, 1997). Plants can only assimilate orthophosphate (Pi, H₂PO₄), whose concentration rarely exceeds 10 µM (Holford, 1997). Of the agricultural areas of Latin America and Africa, 50% present low levels of Pi (CIAT, 1987), and it is frequent that the crops have some degree of deficiency.

The lack of P reduces the growth of the aboveground part (Lynch *et al.*, 1991), the leaves are smaller (Marschner, 1995), their color more intense (Chiera *et al.*, 2002), and there is an accumulation of glucose, fructose, saccharose and starch in leaves

Recibido: Abril, 2006. Aprobado: Febrero, 2007.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 41: 417-423. 2007.

al., 2002), y se acumula glucosa, fructosa, sacarosa y almidón en hojas y raíces (Cierezko y Barbachowska, 2000; Bernal *et al.*, 2005). La carencia de P promueve el uso del P almacenado en la vacuola y su movilización hacia estructuras en desarrollo (Jeschke *et al.*, 1997; Dietz y Helios, 1990; Rao *et al.*, 1993), se aumenta la superficie de absorción (Lynch y Brown, 2001), y se expresan transportadores de Pi de alta afinidad (Liu *et al.*, 1998). Además, se estimula la producción y secreción de ácidos orgánicos (cítrico y málico) y enzimas (fosfatasa y ARNasas) que incrementan la disponibilidad de Pi (Asmar *et al.*, 1995; López-Bucio y Herrera-Estrella, 2000; Coello, 2002; Parra *et al.*, 2004). La deficiencia de P reduce el nivel de ATP, mientras que el de pirofosfato (PPi) se mantiene elevado (Fredeen *et al.*, 1990; Theodorou *et al.*, 1991) y aumenta su uso como donador de energía en reacciones de glicólisis y respiración (Rychter y Randall 1994; Plaxton, 1996).

Hay especies o genotipos que expresan alguna o varias de las modificaciones mencionadas, por lo cual los daños derivados de la falta de P dependen del genotipo, la etapa de desarrollo, y del grado y duración del periodo de deficiencia (Marschner, 1995). En frijol hay genotipos más afectados que otros (Beebe *et al.*, 1997; Nielsen *et al.*, 2001; Parra *et al.*, 2004). Sin embargo, el aprovechamiento de esta variabilidad está limitado por la falta de marcadores de selección adecuados. En este contexto, los objetivos de la presente investigación fueron: 1) analizar el efecto de la deficiencia de P sobre los niveles de P total y soluble, así como en la síntesis, transformación y distribución de carbohidratos en plantas de los genotipos C60 y MAR1; 2) evaluar si alguna de esas características puede ser usada como marcador en programas de mejoramiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se desinfectaron semillas de los genotipos Canario 60 (C60) y MAR 1 con hipoclorito de sodio al 1% durante 12 min, se enjuagaron con agua destilada y se germinaron en agrolita a 25 °C. Se colocó una plántula por maceta con 350 cm³ de agrolita y se regó cada tercer día con 50 mL de solución Hoagland modificada: 6 mM KNO₃, 4 mM Ca(NO₃)₂·4H₂O, 2 mM MgSO₄·7H₂O, 0.009 mM MnCl₂·4H₂O, 0.046 mM H₃BO₃, 0.8 μM ZnSO₄·7H₂O, 0.003 mM CuSO₄·5H₂O, 0.015 μM (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O, y 0.01 g L⁻¹ Fe (III) EDTA. Se probaron 2 tratamientos: sin Pi (-Pi) y con 500 μM de fosfato de amonio (+Pi) en la solución de riego. El tratamiento -Pi se complementó con 500 μM de sulfato de amonio. Las plantas se cultivaron en un invernadero con luz natural y temperatura promedio de 22 °C durante el día y 15 °C durante la noche. Se

and roots (Cierezko and Barbachowska, 2000; Bernal *et al.*, 2005). The lack of P promotes the use of the P stored in the vacuole and its mobilization towards developing structures (Jeschke *et al.*, 1997; Dietz and Helios, 1990; Rao *et al.*, 1993), the absorption surface is increased (Lynch and Brown, 2001), and there is expression of high affinity Pi transporters (Liu *et al.*, 1998). Furthermore, there is a stimulation of the production and secretion of organic acids (citric and malic) and enzymes (phosphatases and RNAases) that increase the availability of Pi (Asmar *et al.*, 1995; López-Bucio and Herrera-Estrella, 2000; Coello, 2002; Parra *et al.*, 2004). The deficiency of P reduces the level of ATP, whereas that of pyrophosphate (PPi) is maintained high (Fredeen *et al.*, 1990; Theodorou *et al.*, 1991) and increases its use as energy donor in reactions of glycolysis and respiration (Rychter and Randall, 1994; Plaxton, 1996).

There are species or genotypes that express one or several of the previously mentioned modifications, thus the damages derived from the lack of P are dependent on the genotype, stage of development, and the degree and duration of the period of deficiency (Marschner, 1995). In bean, there are genotypes that are more affected than others (Beebe *et al.*, 1997; Nielson *et al.*, 2001; Parra *et al.*, 2004). However, the advantage of this variability is limited by the lack of adequate selection markers. In this context, the objectives of the present study were: 1) to analyze the effect of P deficiency on the levels of total and soluble P, as well as in the synthesis, transformation and distribution of carbohydrates in plants of the genotypes C60 and MAR1; 2) to evaluate whether any of these characteristics can be used as a marker in breeding programs.

MATERIALS AND METHODS

Plant material

Seeds of the genotypes Canario 60 (C60) and MAR1 were disinfected in sodium hypochlorite at 1% during 12 min, rinsed with distilled water and germinated in agrolite at 25 °C. One seedling per pot was placed with 350 cm³ of agrolite and watered every 3 d with 50 mL of modified Hoagland solution: 6mM KNO₃, 4 mM Ca(NO₃)₂·4H₂O, 2 mM MgSO₄·7H₂O, 0.009 mM MnCl₂·4H₂O, 0.046 mM H₃BO₃, 0.8 μM ZnSO₄·7H₂O, 0.003 mM CuSO₄·5H₂O, 0.015 μM (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O, and 0.01 g L⁻¹ Fe (III) EDTA. Two treatments were tested: without Pi (-Pi) and with 500 μM of ammonium phosphate (+Pi) in the irrigation solution. The -Pi treatment was complemented with 500 μM of ammonium sulphate. The plants were cultivated in a greenhouse with natural light and average temperature of 22 °C during the day and 15 °C during the night. They were harvested at 11:00 h three weeks after

cosecharon a las 11:00 h tres semanas después del trasplante. El material utilizado para las diferentes determinaciones se congeló con N₂ líquido y se almacenó a -80 °C.

Medición de materia seca

El peso fresco de la parte aérea (hojas y tallo) y de la raíz se registró al cosechar las plantas. El peso seco se obtuvo después de 72 h de secado a 70 °C.

Medición de fósforo

La determinación de P total se hizo utilizando el método descrito por Ames (1966). Para la cuantificación del P hidrosoluble se usó el método de Pieters *et al.* (2001).

Medición de glucosa, fructosa, sacarosa y almidón

La medición de estos metabolitos se hizo siguiendo métodos previamente reportados (Bernal *et al.*, 2005).

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con cuatro tratamientos, cinco repeticiones, con una maceta como unidad experimental. El experimento se repitió cuatro veces con resultados similares. Los análisis de varianza y comparación de medias por la prueba de Tukey se realizaron con el programa SPSS 11.0 (SPSS Co. Chicago, Il.)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La ausencia de P en la solución de riego redujo el peso seco de las plántulas. En ambos genotipos el peso seco de la raíz disminuyó 30%, mientras que el peso seco de la parte aérea 66 y 46% para C60 y MAR1. (Figura 1A).

La relación entre el peso seco de la parte aérea y el de la raíz disminuyó 54% y 21% para C60 y MAR1, (Figura 1B).

La reserva de P total en C60 y MAR1 fue 21 y 16.1 mmoles/semilla; aún así, el peso seco de la parte aérea de C60 fue más afectado por el tratamiento -Pi (Figura 1). Ésto sugiere que el genotipo MAR1 dispuso de mecanismos que ayudaron a usar más eficientemente el P disponible.

El P total en hojas maduras, hojas jóvenes y raíces de plantas C60 con el tratamiento -Pi disminuyó 50, 28 y 47% (Cuadro 1).

En el genotipo MAR1 la reducción fue 42, 45 y 67% (Cuadro 1). La falta de Pi también afectó el contenido de P soluble en hojas maduras, hojas jóvenes y raíces. En las plantas de C60, la disminución fue 50, 44 y 14% y de 33, 37 y 38% en las plantas

transplantando. The material used for the different determinations was frozen with liquid N₂ and stored at -80 °C.

Measurement of dry matter

The fresh weight of the aboveground part (leaves and stem) and of the root was registered when the plants were harvested. The dry weight was obtained after 72 h of drying at 70 °C.

Measurement of phosphate

The determination of total P was made using the method described by Ames (1966). For the quantification of hydrosoluble P, the method of Pieters *et al.* (2001) was used.

Measurement of glucose, fructose, saccharose and starch

The measurement of these metabolites was made following previously reported methods (Bernal *et al.*, 2005).

Statistical analysis

The experimental design was completely randomized with four treatments, five replicates, with a pot as experimental unit. The experiment was repeated four times with similar results. The analyses of variance and comparison of means with the Tukey test were carried out with the program SPSS 11.0 (SPSS Co., Chicago, Il.)

RESULTS AND DISCUSSION

The absence of P in the irrigation solution reduced the dry weight of the seedlings. In both genotypes, the dry weight of the root decreased by 30%, while the dry weight of the aboveground part by 66 and 46% for C60 and MAR1 (Figure 1A).

The relationship between the dry weight of the aboveground part and that of the root decreased by 54% and 21% for C60 and MAR1 (Figure 1B).

The reserve of total P in C60 and MAR1 was 21 and 16.1 mmoles/seed; even so, the dry weight of the aboveground part of C60 was more affected by the -Pi treatment (Figure 1). This suggests that the genotype MAR1 employed mechanisms that helped to make a more efficient use of the available P.

The total P in mature leaves, young leaves and roots of C60 plants with the -Pi treatment decreased by 50, 28 and 47% (Table 1).

In the genotype MAR1, the reduction was 42, 45 and 67% (Table 1). The lack of Pi also affected the content of soluble P in mature leaves, young leaves and roots. In the plants of C60, the reduction was 50, 44 and 14% and of 33, 37 and 38% in the plants of the genotype MAR1 (Table 1). The reduction in

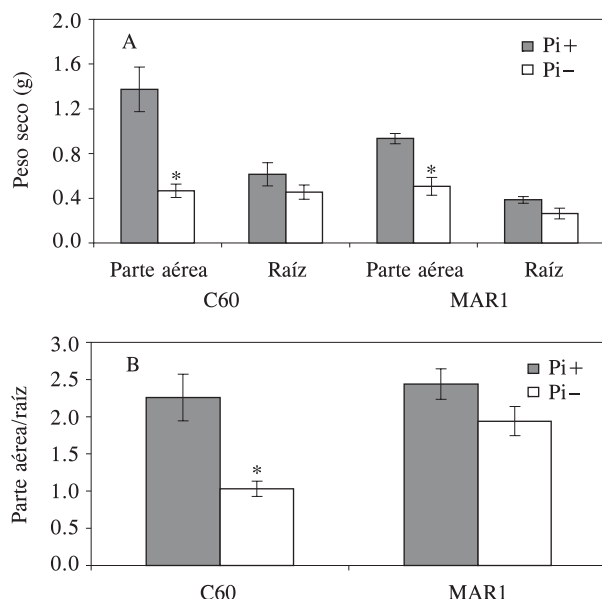


Figura 1. Peso seco (A) y relación parte aérea/raíz (B).
Figure 1. Dry weight (A) and ratio aboveground part/root (B).
* diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0.05$).

del genotipo MAR1 (Cuadro 1). La disminución en P soluble fue igual o menor que la observada en el nivel de P total, con excepción de las hojas jóvenes del genotipo C60 donde el P total disminuyó 28%, mientras que el nivel de P soluble en 44% (Cuadro 1). El P soluble representa la cantidad disponible para los procesos celulares y su disminución puede explicar porqué el crecimiento de la parte aérea de C60 resultó más afectado (Figura 1). La relación P soluble/P total cambió poco, pero se duplicó en la raíz en las plantas MAR1 del tratamiento -Pi (Cuadro 2).

La deficiencia de P promueve la degradación de compuestos fosforilados y la movilización de Pi de órganos viejos a estructuras jóvenes (Jeschke *et al.*, 1997). Las fosfatasa de la raíz cuya actividad se incrementa por deficiencia de P (Coello, 2002), pueden ayudar a mantener elevado el nivel Pi y facilitar su transporte a la parte aérea. La respuesta de las fosfatasa de raíz en MAR1 es mayor que en C60 (Parra *et*

soluble P was equal to or less than that observed in the level of total P, except that in the young leaves of the genotype C60, where the total P decreased by 28%, while the level of soluble P decreased 44% (Table 1). The soluble P represents the amount available for the cellular processes and its reduction can explain why the growth of the aboveground part of C60 was the most affected (Figure 1). The ratio soluble P/total P changed little, but was doubled in the root in the MAR1 plants of the -Pi treatment (Table 2).

The deficiency of P promotes the degradation of phosphorylated compounds and the mobilization of Pi from old organs to young structures (Jeschke *et al.*, 1997). The phosphatases of the root whose activity increases from P deficiency (Coello, 2002), may help to maintain a high level of Pi and facilitate its transport to the aboveground part. The response of the phosphatases of the root in MAR1 is higher than in C60 (Parra *et al.*, 2004). In plants of MAR1 of the -Pi treatment, the P content in the root decreased significantly (Table 1), and there was less effect on the dry matter in the aboveground part (Figure 1). These results suggest that in the MAR1 plants, part of the P of the root was exported to the leaves.

The lack of P also affects the metabolism of carbon (Cierezko *et al.*, 1998). In mature leaves of the two genotypes, the accumulation of starch, glucose and fructose was induced (Figure 2). Even though the levels of total and soluble P were similar in both genotypes (Table 1), the accumulation of starch, glucose and fructose induced by the absence of Pi, was higher in C60 (Figure 2).

The accumulation of starch is linked to the incapacity of the plants cultivated under deficiency of P to degrade it efficiently (Bernal *et al.*, 2005). Given that the -Pi treatment did not affect the assimilation of CO_2 (Bernal *et al.*, 2005), the increase in the concentration of glucose and fructose in mature leaves may be due to the fact that the lack of Pi reduced the capacity for synthesizing and/or exporting saccharose (Pieters *et al.*, 2001). The accumulation of photosynthetic products in mature leaves was greater

Cuadro 1. Pi total y soluble ($\mu\text{mol PO}_4 \text{ g}^{-1}$ peso fresco) en hojas y raíces de plantas regadas con solución completa y sin Pi.

Table 1. Total and soluble Pi ($\mu\text{mol PO}_4 \text{ g}^{-1}$ fresh weight) in leaves and roots of plants irrigated with complete solution and without Pi.

Genotipo	Hoja madura		Hoja joven		Raíz	
	Pi total	Pi soluble	Pi total	Pi soluble	Pi total	Pi soluble
C60+Pi	16.6±1.7 ^{a†}	6.2±0.2 ^a	42.2±10.2 ^a	21.4±0.2 ^a	14.1±2.7 ^a	3.5±0.1 ^b
C60-Pi	8.4±0.2 ^b	3.1±0.5 ^c	30.5±3.7 ^b	12.0±3.7 ^c	7.5±2.1 ^b	3.0±0.5 ^c
MAR1+Pi	13.5±0.1 ^a	4.9±0.2 ^b	37.1±1.7 ^a	16.5±1.8 ^b	12.9±1.4 ^a	4.2±0.03 ^a
MAR1-Pi	7.8±0.3 ^b	3.3±0.04 ^c	20.2±0.4 ^c	10.5±0.8 ^c	4.2±0.6 ^b	2.6±0.04 ^c

[†] Medias seguidas de superíndices diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$).

Cuadro 2. Relación del contenido de Pi soluble y Pi total en hojas y raíces de plantas regadas con solución completa y sin Pi.**Table 2. Relationship of the content of soluble Pi and total Pi in leaves and roots of plants irrigated with complete solution and without Pi.**

Genotipo	Pi soluble/Pi total		
	Hoja madura	Hoja joven	Raíz
C60 + Pi	0.38±0.05 ^{a†}	0.50±0.10 ^a	0.25±0.04 ^a
C60 - Pi	0.36±0.02 ^a	0.39±0.07 ^a	0.40±0.10 ^a
MAR1 + Pi	0.36±0.01 ^a	0.44±0.04 ^a	0.32±0.01 ^a
MAR1 - Pi	0.42±0.10 ^a	0.53±0.04 ^a	0.61±0.10 ^b

[†] Medias seguidas de superíndices diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$).

al., 2004). En las plantas MAR1 del tratamiento -Pi el contenido de P en la raíz disminuyó significativamente (Cuadro 1), y hubo menor efecto sobre la materia seca en la parte aérea (Figura 1). Estos resultados sugieren que en las plantas MAR1 parte del P de la raíz se exportó a las hojas.

La carencia de P también afecta el metabolismo de carbono (Cierezko *et al.*, 1998). En hojas maduras de los dos genotipos se indujo la acumulación de almidón, glucosa y fructosa (Figura 2). A pesar de que los niveles de P total y soluble fueron similares en ambos genotipos (Cuadro 1), la acumulación de almidón, glucosa y fructosa inducida por la ausencia de Pi, fue mayor en C60 (Figura 2).

La acumulación de almidón está ligada a la incapacidad de las plantas cultivadas en deficiencia de P para degradarlo eficientemente (Bernal *et al.*, 2005). Dado que el tratamiento -Pi no afectó la asimilación de CO₂ (Bernal *et al.*, 2005), el aumento en la concentración de glucosa y fructosa en hojas maduras puede deberse a que la falta de Pi redujo la capacidad para sintetizar y/o exportar sacarosa (Pieters *et al.*, 2001). La acumulación de productos fotosintéticos en hojas maduras fue mayor en C60 y esto puede ayudar a explicar porqué el crecimiento de este genotipo fue más afectado (Figura 1A).

En las hojas jóvenes de C60, el tratamiento -Pi redujo la concentración de sacarosa y no afectó los niveles de glucosa, fructosa y almidón (Figura 3). Las hojas jóvenes de MAR1 incrementaron las concentraciones de sacarosa, almidón y glucosa (Figura 3).

En las raíces de las plantas C60 del tratamiento -Pi se incrementaron los niveles de sacarosa, glucosa y fructosa y disminuyó el de almidón (Figura 4). Las raíces de las plantas MAR1 no presentaron cambios atribuibles a la falta de Pi (Figura 4).

La cantidad de azúcares presentes en hojas jóvenes (Figura 3) y raíces (Figura 4) refleja un balance entre

in C60, and this may help to explain why the growth of this genotype was more affected (Figure 1A).

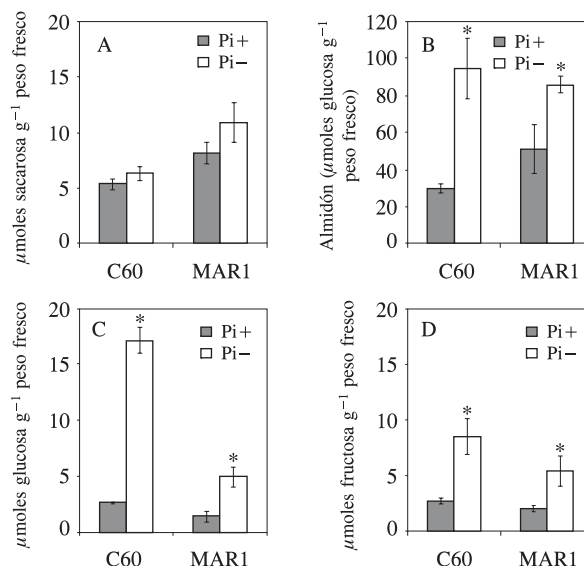
In the young leaves of C60, the -Pi treatment reduced the concentration of saccharose and did not affect the levels of glucose, fructose and starch (Figure 3). The young leaves of MAR1 increased the concentrations of saccharose, starch and glucose (Figure 3).

In the roots of the C60 plants of the -Pi treatment, there was an increase in the levels of saccharose, glucose and fructose, while the starch level was reduced (Figure 4). The roots of the MAR1 plants did not present changes attributable to the lack of Pi (Figure 4).

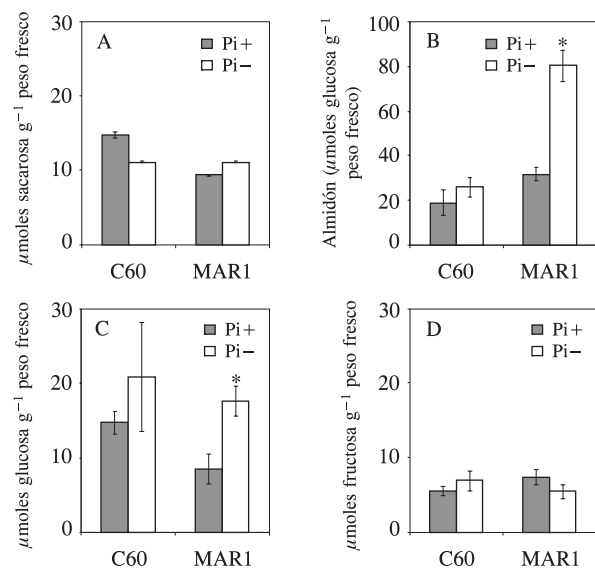
The amount of sugars present in young leaves (Figure 3) and roots (Figure 4) reflect a balance between the supply of photosynthates and the capacity of each organ to utilize them. Prior to being metabolized, glucose and fructose must be phosphorylated, for which ATP is required. The reduction in the level of ATP that characterizes plants cultivated under P deficiency can limit the metabolism of the sugars (Theodorou *et al.*, 1991) and contribute to their accumulation.

CONCLUSION

The lack of Pi produces multiple effects on the development of plants. This study demonstrates that not all the genotypes are affected in the same proportion. In this particular case, the genotype that was least affected (MAR1) was characterized by a more efficient use of the reserves of Pi present in

**Figura 2. Carbohidratos en hojas maduras.****Figure 2. Carbohydrates in mature leaves.**

* diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0.05$).

**Figura 3. Carbohidratos en hojas jóvenes.****Figure 3. Carbohydrates in young leaves.*** diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0.05$).

el suministro de fotosintatos y la capacidad de cada órgano para utilizarlos. Antes de ser metabolizadas, glucosa y fructosa deben ser fosforiladas, para lo cual se requiere ATP. La disminución en el nivel de ATP que caracteriza a plantas cultivadas en deficiencia de P puede limitar el metabolismo de los azúcares (Theodorou *et al.*, 1991) y contribuir a su acumulación.

CONCLUSIÓN

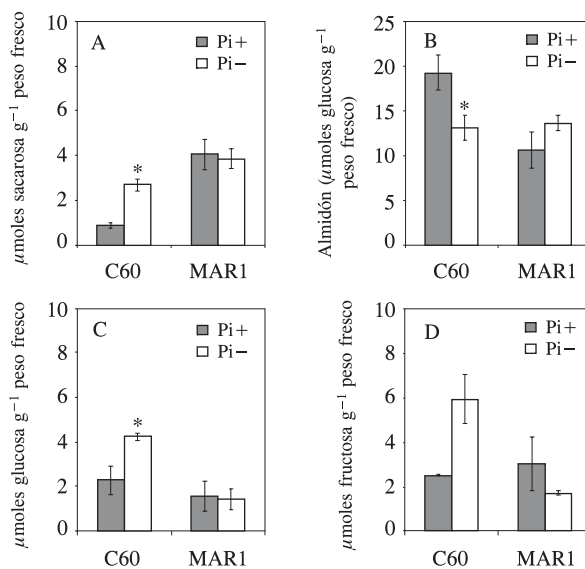
La falta de Pi produce múltiples efectos sobre el desarrollo de las plantas. Este trabajo demuestra que no todos los genotipos son afectados en la misma proporción. En este caso particular, el genotipo menos afectado (MAR1) se caracterizó por usar más eficientemente las reservas de Pi presentes en la semilla, enviar Pi de la raíz a las hojas y mantener la capacidad para exportar los fotosintatos producidos por las hojas maduras.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo de Carmen Parra y de Laurel Fabila, así como el financiamiento otorgado por DGAPA (IN201502) y Facultad de Química, UNAM (PAIP 6290-13 y 6290-14).

LITERATURA CITADA

- Ames, B. N. 1966. Assay of inorganic phosphate, total phosphate and phosphatase. *Meth. Enzymol.* 8: 115-118.
- Asmar, F., T. Agonia, and N. 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.

**Figura 4. Carbohidratos en raíces.****Figure 4. Carbohydrates in roots.*** diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0.05$).

the seed, sending Pi from the root to the leaves and maintaining the capacity to export the photosynthates produced by the mature leaves.

—End of the English version—



- Beebe, S., J. P. Lynch, N. W. Galaway, J. Tohme, and I. Ochoa. 1997. A geographical approach to identify phosphorus-efficient genotypes among landraces and wild ancestors of common bean. *Euphytica* 95: 325-336.
- Bernal, L., P. Coello, and E. Martínez-Barajas. 2005. Possible role played by R1 protein on starch accumulation in bean seedlings (*Phaseolus vulgaris*) under phosphate deficiency. *J. Plant Physiol.* 162: 970-976.
- Chiera, J., J. Thomas, and T. Ruffy. 2002. Leaf initiation and development in soybean under phosphorus stress. *J. Exp. Bot.* 53: 473-481.
- CIAT (International Center for Tropical Agriculture). 1987. CIAT Annual Report 1987. Cali, Colombia. pp: 48-52.
- Cierezko, I., and A. Barbachowska. 2000. Sucrose metabolism in leaves and roots of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) during phosphate deficiency. *J. Plant Physiol.* 156: 640-644.
- Cierezko, I., A. Zambrzycka, and A.M. Rychter. 1998. Sucrose hydrolysis in bean roots (*Phaseolus vulgaris* L.) under phosphate deficiency. *Plant Sci.* 133: 139-144.
- Coello, P. 2002. Purification and characterization of secreted acid phosphatases in phosphorus-deficient *Arabidopsis thaliana*. *Physiol. Plant.* 116: 293-298.
- Dietz, K., and L. Helios. 1990. Carbon metabolism in spinach leaves as affected by leaf age and phosphorus and sulfur metabolism. *Plant Physiol.* 93: 1219-1225.
- Fredeen, A.L., T. K. Raab, M. Rao, and N. Terry. 1990. Effects of phosphorus nutrition on photosynthesis in *Glycine max* (L.) Merr. *Planta* 181: 399-405.
- Holford, I. C. R. 1997. Soil phosphorus: its measurement and its uptake by plants. *Aust. J. Soil. Res.* 35: 227-239.

- Jeschke, W., E. Kirby, A. Peuke, J. Pate, and W. Hartung. 1997. Effects of P deficiency on assimilation and transport of nitrate and phosphate in intact plants of castor bean (*Ricinus communis* L.). J. Exp. Bot. 48: 75-91.
- Kondracka, A., and A.M. Rychter. 1997. The role of Pi recycling processes during photosynthesis in phosphate-deficient bean plants. J. Exp. Bot. 48: 1461-1468.
- Liu, C., U. S. Muchhal, M. Uthappa, A. K. Konowicz, and K.G. Ragothama. 1998. Tomato phosphate transporter genes are differentially regulated in plant tissues by phosphorus. Plant Physiol. 116: 91-99.
- López-Bucio, J., and L. Herrera-Estrella. 2000. Organic acid metabolism in plants: from adaptative physiology to transgenic varieties for cultivation in extreme soils. Plant Sci. 160: 1-13.
- Lynch, J. P., and K. M. Brown. 2001. Topsoil foraging: an architectural adaptation of plants to low phosphorus availability. Plant and Soil 237: 225-237.
- Lynch, J. P., A. Lauchli, and E. Epstein. 1991. Vegetative growth of tile common bean in response to phosphorus nutrition. Crop Sci. 30: 1165-1171.
- Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press. San Diego, CA. 889 p.
- Nielsen, K.L., A. Eshel, and J.P. Lynch. 2001. The effect of phosphorus availability on the carbon economy of contrasting common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes. J. Exp. Bot. 52: 329-339.
- Parra, 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.
- Plaxton, W. C. 1996. The organization and regulation of plant glycolysis. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 47: 185-214.
- Rao, I. M., A. L. Freeden, and N. Terry. 1993. Influence of phosphorus limitation on photosynthesis, carbon allocation and partitioning in sugar beet and soybean grown with a short photoperiod. Plant Physiol. Biochem. 31: 223-231.
- Rychter, A. M., and D. D. Randall. 1994. The effect of phosphate deficiency on carbohydrate metabolism in bean roots. Physiol. Plant. 79: 663-667.
- Theodorou, M. E., I. R. Elrifi, D. H. Turpin, and W. C. Plaxton. 1991. Effects of phosphorus limitation on respiratory metabolism in the green alga *Selenastrum minutum*. Plant Physiol. 95: 1089-1095.