

Plantas que producen más con menos

Javier Paz-Ares¹ y Juan Carlos del Pozo²

¹ Centro Nacional de Biotecnología (CSIC)

² Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (UPM-INIA).

Uno de los retos de la agricultura del presente siglo es seguir aumentando la producción agrícola pero reduciendo drásticamente las necesidades de fertilizantes; es decir, se necesita producir más con menos.

Las plantas necesitan extraer nutrientes del suelo para su crecimiento y desarrollo. Los nutrientes requeridos son de naturaleza inorgánica, siendo los más importantes cuantitativamente el nitrógeno, el fósforo y el potasio. La nutrición vegetal es uno de los determinantes clave de la producción agrícola y en este sentido no resulta extraño que la segunda revolución verde haya conllevado la duplicación de la cantidad de fertilizantes utilizada. Además del coste económico, la utilización de grandes cantidades de nutrientes tiene implicaciones medioambientales, ya que un porcentaje elevado de los nutrientes aportados al suelo son lixiviados por el agua de regadío o la lluvia y acaba depositándose en los acuíferos, que se deterioran por producirse la eutrofización.

Otro aspecto relevante en relación al empleo de fertilizantes es su disponibilidad. Así, mientras que para el nitrógeno, la atmósfera supone una reserva inagotable, para el fósforo las reservas disponibles son finitas, y el uso continuado a los niveles actuales llevará a su agotamiento en el futuro; estimándose que las fuentes de fósforo se agotarán en 50-200 años. Por ello, es necesario reducir las necesidades y la dependencia de fertilizantes para hacer de la agricultura una práctica sostenible.

Para reducir la aportación de fertilizantes, se puede incidir en el desarrollo de productos que liberen los nutrientes de forma controlada y en la mejora de los esquemas de fertilización, es decir, en avanzar hacia una fertilización a la carta que no solo dependa del cultivo, sino también del terreno, condiciones ambientales, etc. La estrategia de adaptar la nutrición a las plantas ha sido hasta ahora muy útil, aunque conlleva altos costes. Una estrategia complementaria consiste en adaptar las plantas a las diferentes condiciones ambientales, incluidas las nutricionales. En este sentido han despertado gran interés los mecanismos adaptativos que las plantas han desarrollado en la evolución para adecuar su crecimiento a concentraciones bajas de nutrientes. De hecho, se ha producido recientemente un enorme aumento del conocimiento sobre los mecanismos de señalización de nutrientes en plantas. Nos referiremos a los descubrimientos recientes sobre señalización de la escasez de fósforo (Pi), así como a los éxitos que se empiezan a tener con la

utilización de los mismos, y también a los avances en la mejora de fertilizantes.

RESPUESTAS ADAPTATIVAS AL AYUNO DE FOSFATO

Las respuestas adaptativas de las plantas que les permiten crecer en suelos con bajo fósforo (la forma en la que las plantas toman el fósforo) implican alteraciones en el desarrollo y bioquímicas/metabólicas. Los cambios en el desarrollo afectan a la arquitectura de las raíces, que incrementan la capacidad de exploración del suelo en búsqueda de fósforo. Incluyen una mayor tasa de crecimiento relativa de raíz *versus* parte aérea debida a un aumento del número de raíces laterales; así como a un aumento en el número y longitud de los pelos radiculares. Además, algunas plantas pueden mejorar aún más su capacidad de exploración del suelo mediante la formación de agrupamientos de raíces laterales (raíces proteoides) o mediante el establecimiento de asociaciones simbióticas con hongos micorrizas. Otra respuesta adaptativa de desarrollo es el aumento de la dominancia apical, con lo que se consigue concentrar los pocos recursos disponibles en el tallo principal y así asegurar que se produzcan semillas.

Las respuestas bioquímicas/metabólicas tienen tres funciones principales. Una de ellas es mejorar la capacidad captación y de movilización del fósforo del suelo y el reciclado del endógeno. Para ello, se aumenta la actividad de los transportadores de fósforo de alta afinidad, de fosfatasas y de RNasas, y la secreción de protones y ácidos orgánicos al medio externo. La segunda respuesta está orientada a mejorar la eficiencia en el uso del escaso fósforo disponible, por ejemplo sustituyendo los fosfolípidos por lípidos polares, tales como sulfolípidos y galactolípidos. También tiene lugar una adaptación metabólica que incluye la utilización de vías glicolíticas o respiratorias alternativas que eluden etapas que requieren Pi o ATP, cuyas concentraciones caen en situaciones de estrés prolongado de Pi, y que canalizan el exceso de NADH. Una última función de las respuestas bioquímicas es la de proteger a la planta del estrés provocado por el ayuno de fósforo mediante la acumulación de antocianinas, que actúan como protectores frente a la fotoinhibición. >>>

SEÑALIZACIÓN DEL AYUNO DE FOSFATO

Desde principios del siglo XXI se ha realizado un gran esfuerzo en el estudio de la regulación de las respuestas al ayuno de fosfato que ha permitido establecer la importancia del control transcripcional en dicha regulación. Así, por ejemplo, se ha comprobado que, tanto en la planta modelo *Arabidopsis* como en arroz, más de un 20% de sus genes responden al ayuno de fosfato.

La importancia de la regulación transcripcional en el control de las respuestas al ayuno de fosfato se ha confirmado con la identificación y caracterización del factor

UN ASPECTO RELEVANTE en relación al empleo de fertilizantes es su disponibilidad. Mientras que para el nitrógeno, la atmósfera supone una reserva inagotable, para el fósforo las reservas disponibles son finitas y el uso continuado a los niveles actuales llevará a su agotamiento en el futuro; estimándose que las fuentes se agotarán en 50-200 años.

transcripcional (FT) *PHR1* y otros miembros de su familia, como *PHL1* (Figuras 1 y 2). Se ha demostrado que estos FTs controlan de manera directa (a través de la caja P1BS en sus promotores) o indirecta al menos un 70% de los genes que responden al ayuno de fosfato. Este efecto transcripcional, se manifiesta a nivel fisiológico y bioquímico, de forma que todas las respuestas analizadas están afectadas en el doble mutante *phr1phl1*. Concomitantemente, las plantas en las que se anula la función del gen *PHR1* se ven severamente afectadas cuando se cultivan en medios pobres en Pi.

Además de *PHR1*, se han descrito otros factores transcripcionales implicados en el control de la respuesta al ayuno de fosfato, pero su papel es más subsidiario. Otros componentes conocidos de esta ruta de señalización incluyen *SPX1* y proteínas relacionadas, que hemos demostrado que actúan como inhibidores de *PHR1* de forma dependiente de fosfato (Figura 2). Ensayos *in vitro* con proteínas purificadas *PHR1* y *SPX1* mostraron que la interacción entre ambas es dependiente de Pi, lo que cualifica a *SPX1* como un componente del sistema sensor de fosfato. Además, se ha identificado la proteína *PHF1*, que actúa como cofactor esencial para el tráfico de los transportadores de fosfato de alta afinidad desde su sitio de síntesis (retículo endoplásmico) al sitio donde actúan (membrana plasmática). El gen *PHF1* está controlado transcripcionalmente por *PHR1*. Se ha demostrado que la salida del retículo endoplásmico de los transportadores de fosfato está controlada negativamente por una caseína quinasa, *CK2*, que fosforila estos

transportadores, inhibiendo su interacción con *PHF1*. Otros componentes de la ruta de señalización de fosfato son una serie de proteínas relacionadas con el sistema de ubiquitinación, *PHO2* y *NLA*. Estas proteínas controlan negativamente la actividad de transportadores de fosfato tipo *PHT1* y de *PHO1* implicado en la carga de Pi al xilema (primer paso para su translocación al tallo y hojas). Si bien los genes de estas proteínas del sistema de ubiquitinación no están controlados transcripcionalmente por *PHR1*, éste los controla postranscripcionalmente a través de su efecto en la expresión de microRNAs (*mir399* y *mir827*, respectivamente, Figura 2). También, entre los componentes conocidos de esta ruta de señalización merece mención especial *IPS1*, que se transcribe en un RNA no codificante con papel regulador. El RNA de *IPS1* inhibe la acción del microRNA *miR399* por un mecanismo que hemos denominado “imitación de diana” (*target mimicry*). Este tipo de regulación es de especial importancia en el ámbito de vertebrados. *IPS1* representa el primer caso descrito de un regulador que controla la actividad de un miRNA maduro en plantas.

Por último, la ruta de señalización al ayuno de fosfato está altamente imbricada en la red general de regulación transcripcional de plantas. Así se han descrito interacciones con rutas de señalización de varias hormonas, de sacarosa, nitrógeno, y zinc, y de sequía, lo que indica una posición jerárquicamente alta de la ruta de señalización de fosfato en el contexto del sistema regulador del desarrollo y metabolismo de plantas, que subraya la importancia capital del Pi para éstas y para cualquier otro organismo. En relación a la sequía, se ha identificado una quinasa, *PSTOL1*, con un papel esencial en el crecimiento de las plantas en condiciones de baja disponibilidad de fosfato y agua.

PLANTAS QUE PRODUCEN MÁS CON MENOS: AVANCES EN LA MEJORA DE PLANTAS Y DE FERTILIZANTES DE PI

Los avances biotecnológicos generados por la modificación de genes de señalización de la ruta del fosfato han sido limitados. Sin embargo, gracias al conocimiento ganado sobre cómo las plantas regulan la absorción y señalización de Pi, se empiezan a tener resultados esperanzadores. Como se ha mencionado, *PHF1* es un regulador positivo del transportador de fosfato y la quinasa *CK2* es un regulador negativo (Figura 2). Se ha comprobado que la sobreexpresión del gen *PHF1* en arroz, provoca incrementos en la captación de fosfato en suelos. Un fenotipo similar se ha observado cuando se transforman plantas de arroz con un gen del transportador de fosfato en el que se ha mutado la serina fosforilada por *CK2*; el efecto positivo se debe a que tiene lugar un incremento

Figura 1

Alto valor adaptativo de las respuestas al ayuno de fosfato de plantas. Comparación del crecimiento de plantas silvestres y del doble mutante *phr1 phl1* cuando se cultivan en medios con alto y bajo P. El doble mutante, que es incapaz de activar las respuestas al ayuno de fosfato, tiene muy afectado su crecimiento en bajo P.

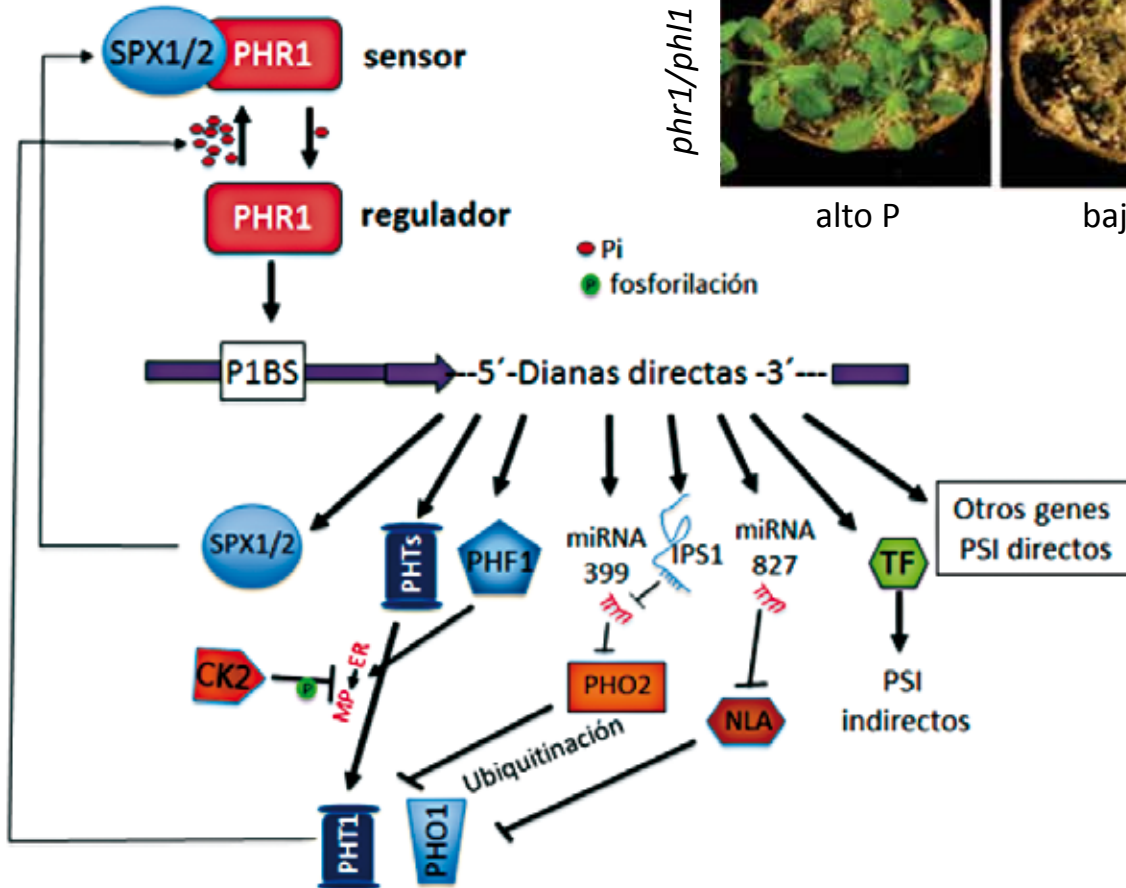
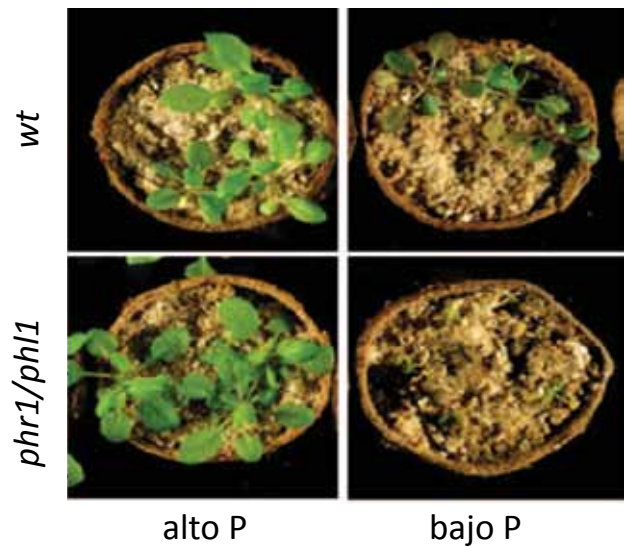


Figura 2

Modelo esquemático representando los componentes importantes de la ruta de señalización de ayuno (Pi). PHR1 induce genes que contienen la caja P1BS en su promotor en respuesta a bajo Pi (genes PSI). Algunos de estos genes son otros FT que regulan otros genes PSI de forma indirecta. SPX1 es un sensor de Pi que inhibe la actividad de PHR1 cuando la planta tiene suficiente fosfato. PHR1 regula positivamente la expresión de dos miRNA y un RNA no codificante IPS1, que modulan la amplitud de la respuesta. Estos miRNAs regulan los niveles de dos enzimas implicadas en la ubiquitinación y degradación de PHO1 y PHT1, uno de los transportadores de Pi. PHF1 actúa como facilitador del tráfico de los transportadores de Pi, PHT1, desde el retículo endoplasmático (ER) hacia la membrana plasmática (MP). De forma contraria, la quinasa CK2 fosforila PHT1 e inhibe este movimiento entre sistemas de membranas, bloqueando la actividad de los transportadores.

de la cantidad de transportador de Pi localizado en la membrana plasmática. También hemos demostrado que plantas de *Arabidopsis* en las que se sobreexpresa el gen *PHR1* tienen hiperactivada la respuesta al ayuno de fosfato, produciéndose un mayor número de frutos en medios pobres en Pi. Otro resultado importante ha sido la introgresión de un alelo hiperactivo del gen *PSTOL1*

en variedades elite no tolerantes de arroz, que ha permitido incrementar la producción en suelos pobres en fosfato, especialmente en regiones con escasez de agua. Recientemente se han realizado avances importantes en la mejora de fertilizantes de Pi. Así el grupo de José María García-Mina, en la empresa TIMAC agro, ha desarrollado nuevas formulaciones de fertilizantes- >>>

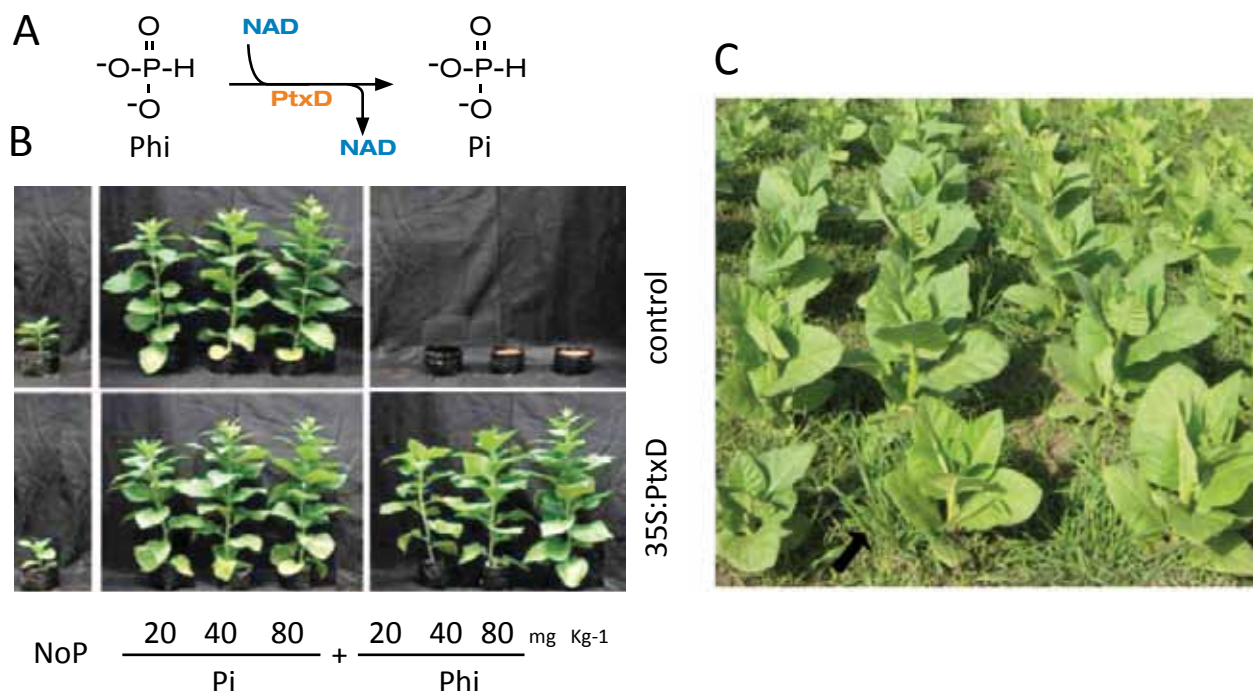


Figura 3

El sistema de fertilización basado en la utilización de fosfito. A) La enzima bacteriana PtxD transforma Phi en Pi. B) Plantas transgénicas que sobreexpresan la enzima bacteriana PtxD, que oxida el Phi a Pi son capaces de metabolizar y usar el phi como fuente de fósforo. C) Las plantas sobreexpresoras de PtxD crecen eficientemente con fertilización de Phi, mientras que el crecimiento de las malas hierbas se limita mucho pero no completamente, lo que genera un manto verde que ayuda a minimizar la erosión y la pérdida de humedad por evaporación. (Fotos Cortesía de Stella Genomics, México).

>>> tes de Pi, como por ejemplo el RCF (*rhizosphere controlled fertilizer*), un fertilizante fundamentado en la formación de complejos estables fosfato-calcio-acido húmico que no son solubles en agua pero están en forma disponible para las plantas, lo que permite minimizar las pérdidas de los nutrientes añadidos en el suelo por lixiviación y por formación de complejos insolubles en el suelo con calcio, hierro y aluminio, entre otros elementos.

Por último, otro avance de gran interés, debido al grupo de Luis Herrera Estrella, combina mejora biotecnológica y desarrollo de nuevas formulaciones. Está basado en la utilización de fosfito (Phi) como fertilizante de Pi. El Phi tiene mejores propiedades fisicoquímicas y de solubilidad que el fosfato y es inocuo para animales. Sin embargo, el Phi no se puede utilizar como fertilizante porque las plantas, y la mayoría de los organismos, no son capaces de metabolizar esta forma reducida de Pi. De hecho, aportaciones de Phi causan una reducción en el crecimiento de las plantas. La existencia de una bacteria que sí puede usar el Phi como fuente de Pi (Figura 3A), permitió generar plantas transgénicas que sobreexpresan la enzima bacteriana que oxida al fosfito a fosfato, consiguiéndose así plantas capaces de metabolizar fosfito (Figura 3B). Esto ofrece varias ventajas: a) el uso de Phi como fertilizante es

un 30% más eficiente que el de P y b) al no poder ser utilizado por otras plantas, el Phi actúa como un controlador de malas hierbas (Figura 3C). Así, con el desarrollo de esta tecnología se consiguen dos grandes objetivos de la mejora agrícola: ahorro en fertilización y reducción en el uso de herbicidas.

En suma, la posibilidad de implementar una agricultura que utilice menos fertilizantes comienza a hacerse verosímil, más allá de la retórica.

BIBLIOGRAFÍA

- Rubio V, *et al.* A conserved MYB transcription factor involved in phosphate starvation signaling both in vascular plants and in unicellular algae. *Genes Dev* **15**, 2122 (2001).
- Franco-Zorrilla JM, *et al.* Target mimicry provides a new mechanism for regulation of microRNA activity. *Nat Genet* **39**, 1033 (Aug, 2007).
- López-Arredondo DL, Herrera-Estrella L. Engineering phosphorus metabolism in plants to produce a dual fertilization and weed control system. *Nat Biotechnol* **30**, 889 (Sep, 2012).
- López-Arredondo DL, *et al.* (2014). Phosphate nutrition: improving low-phosphate tolerance in crops. *Annu Rev Plant Biol*, **65**, 95-123.
- Liu TY, Lin WY, Huang TK, Chiou TJ. MicroRNA-mediated surveillance of phosphate transporters on the move. *Trends Plant Sci* **19**, 647 (2014).
- Puga MI, *et al.* SPX1 is a phosphate-dependent inhibitor of Phosphate Starvation Response 1 in Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci U S A* **111**, 14947 (Oct 14, 2014).