

# Impacto de la disponibilidad de fosfato en la simbiosis entre leguminosas y bacterias fijadoras de nitrógeno

Ana B. Mendoza-Soto<sup>1</sup>, Rocío Reyero-Saavedra<sup>2</sup>, Oswaldo Valdés-López<sup>1,♦</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Genómica Funcional de Leguminosas, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, Tlalnepantla 54090, México.

<sup>2</sup>Programa de Genómica Funcional de Eucariotas, Centro de Ciencias Genómicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca 65211, México.

♦ Correspondencia: [oswaldovaldesl@unam.mx](mailto:oswaldovaldesl@unam.mx)

## Área Temática:

Ciencias de las Plantas

Recibido: 30 Noviembre, 2024

Aceptado: 18 de Enero, 2025

Publicado: 27 de Enero de 2025

**Cita:** Mendoza-Soto AB, Reyero-Saavedra R y Valdés-López O. 2025. Impacto de la disponibilidad de fosfato en la simbiosis entre leguminosas y bacterias fijadoras de nitrógeno. *Bioc Scientia* 1(1): 2502.



**Copyright:** © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY-NC) license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

**Resumen:** La simbiosis entre leguminosas y bacterias fijadoras de nitrógeno, comúnmente nombrados rizobios, es fundamental para proveer de nitrógeno asimilable a la cadena alimenticia. Durante dos décadas se han estudiado intensivamente los mecanismos genéticos que controlan el establecimiento y funcionamiento de esta simbiosis, la cual es afectada por la disponibilidad de fosfato. Estudios en diferentes leguminosas indican que la deficiencia de fosfato reduce significativamente la fijación simbiótica de nitrógeno. A pesar de estos avances, se desconocen los mecanismos genéticos que controlan el establecimiento y funcionamiento de esta simbiosis en condiciones de deficiencia de fosfato. Actualmente se empiezan a conocer parte de los mecanismos genéticos que controlan esta simbiosis en condiciones de deficiencia de fosfato. Conocer estos mecanismos es fundamental para seguir aprovechando los beneficios ecológicos de la simbiosis leguminosa-rizobio. Por lo anterior, el objetivo de esta revisión es discutir los avances recientes sobre el control genético de esta simbiosis en condiciones deficientes de fosfato.

**Palabras clave:** deficiencia de fosfato, rizobia, nódulos, fijación simbiótica de nitrógeno, leguminosas, señalización molecular

**Abstract:** The symbiosis between legumes and nitrogen-fixing bacteria, collectively named rhizobia, is fundamental to feeding the food chain with fixed nitrogen. Significant progress has been made in the past two decades in understanding the genetic mechanisms underlying the establishment and functioning of this symbiosis. The legume-rhizobia symbiosis is negatively impacted by phosphate availability. Phosphate deficiency significantly reduces the nitrogen-fixing activity in diverse legumes. Despite this knowledge, the genetic mechanisms that control the establishment and functioning of the legume-rhizobia symbiosis remain elusive. However, the recent progress in identifying these genetic mechanisms, particularly in the past five years, has opened up new possibilities and instilled a sense of hope and optimism in the field. Knowing the genetic mechanisms that control the legume-rhizobia symbiosis under phosphate-deficient conditions is crucial to better harnessing this symbiosis's ecological benefits. Therefore, in this review, we discuss the available knowledge on the genetic control of the legume-rhizobia symbiosis under phosphate-scarcity conditions.

**Keywords:** phosphate deficiency, rhizobia, nodules, symbiotic nitrogen fixation, legumes, signal transduction.

## INTRODUCCIÓN

El nitrógeno (N) y fósforo (P) son dos elementos fundamentales en la biosíntesis de diversas biomoléculas, incluyendo los ácidos nucleicos, proteínas, y metabolitos secundarios. Aunque el N es abundante en la atmósfera y el P en el suelo, ambos elementos no pueden ser metabolizados directamente por la mayoría de los seres vivos. Ellos pueden únicamente metabolizar formas asimilables de estos elementos. Por ejemplo, aminoácidos para obtener N, y fosfato inorgánico (Pi) para adquirir P (Vance et al., 2003; Zhong et al., 2023). Las plantas también pueden obtener N en forma de nitrato, mientras que el Pi es la única forma que ellas pueden obtener el P del suelo. Sin embargo, tanto el nitrato como el Pi son escasos en el suelo, lo cual impacta negativamente en el crecimiento, desarrollo, y productividad de las plantas.

Los fertilizantes sintéticos han sido por décadas la principal estrategia para incrementar la productividad agrícola. Desafortunadamente, su uso excesivo ha salinizado los suelos y contaminado cuerpos de agua. Además, la roca fosfórica, principal fuente para adicionar Pi a los fertilizantes sintéticos, es un recurso no renovable que está pronosticado a agotarse en menos de treinta años (Brown, 2022). Por lo que es imperante modificar las prácticas agrícolas para reducir los impactos negativos al ambiente. El aprovechamiento de las endosimbiosis entre plantas y microorganismos del suelo representa una estrategia sostenible para reducir nuestra dependencia de los fertilizantes sintéticos (Singh et al., 2023). Por ejemplo, las leguminosas establecen simbiosis con bacterias fijadoras de nitrógeno, las cuales son conocidas como rizobios. Las leguminosas “hospedan” a los rizobios dentro de raíces laterales modificadas denominadas nódulos, dentro de los cuales los rizobios transforman el nitrógeno atmosférico ( $N_2$ ) en formas asimilables, principalmente amonio ( $NH_4^+$ ) a través de la actividad del complejo nitrogenasa (Roy et al., 2020). Las leguminosas obtienen N asimilable a través de esta simbiosis, mejorando significativamente su crecimiento y desarrollo en suelos deficientes de N, además, esta simbiosis funciona como biofertilizante natural. A cambio, los rizobios obtienen carbohidratos como fuente de carbono, así como diferentes nutrientes minerales, incluyendo P (Roy et al., 2020). Al igual que el 80% de las plantas vasculares, las leguminosas también pueden establecer simbiosis con hongos micorrícicos, y a través de esta simbiosis obtienen diversos nutrientes minerales, siendo P el principal de ellos (Zhong et al., 2023).

El primer paso para establecer una simbiosis exitosa con rizobios es el reconocimiento molecular de estos microorganismos por parte de la planta hospedera. Una vez que esto ocurre, en la leguminosa se llevan a cabo diversos eventos moleculares que le permiten desarrollar nódulos y albergar a los rizobios en ellos (Roy et al., 2020). Uno de estos eventos son las rápidas y constantes oscilaciones de calcio nuclear y perinuclear denominados “*spiking* de calcio” (Roy et al., 2020). La decodificación de estas firmas de calcio activa la transcripción de una serie de factores de transcripción, entre ellos “*Nodule Inception*” (NIN) (Schauster et al., 1999). NIN regula la expresión de genes que participan en

diferentes etapas de esta simbiosis, incluyendo la infección rizobial, la organogénesis, el funcionamiento y control de número de nódulos, el metabolismo y la senescencia (Schauster et al., 1999, Marsh et al., 2007, Breakspear et al., 2014, Liu et al., 2019, Feng et al. 2021).

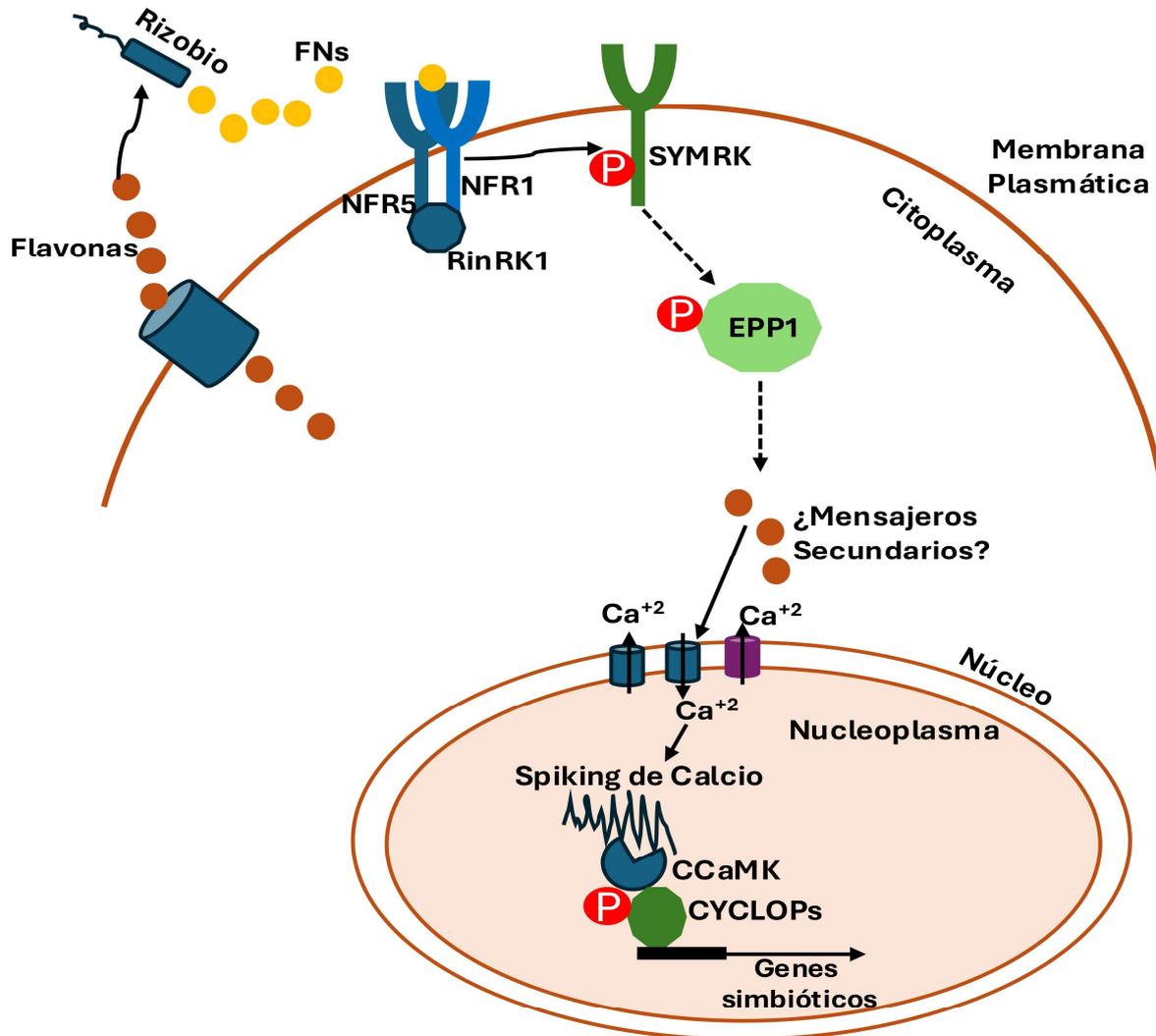
Las leguminosas que se desarrollan en asociación simbiótica con rizobios requieren más P que aquellas que son fertilizadas artificialmente. Incluso se ha estimado que alrededor del 30% del P total de la planta es canalizado hacia el nódulo (Suleiman y Tran, 2015). Esta alta demanda de P por parte de los nódulos es fundamental para asegurar una eficiente fijación de nitrógeno (Kouas et al., 2005). Debido a la importancia del P en la fijación simbiótica de nitrógeno, las leguminosas regulan finamente su transporte y homeostasis para asegurar las concentraciones necesarias para mantener su crecimiento y el buen funcionamiento de la simbiosis con rizobios. Defectos en el transporte u homeostasis del P puede comprometer el establecimiento y funcionamiento de la simbiosis leguminosa-rizobio.

El Pi es escaso en la mayoría de los suelos arables del mundo; por lo que la deficiencia de Pi es uno de los principales factores que limita el crecimiento, desarrollo, y producción de las plantas de interés agronómico (Vance et al., 2003). En el caso particular de las leguminosas, la deficiencia de Pi reduce significativamente la formación de nódulos y la fijación simbiótica de nitrógeno en diferentes especies de leguminosas (Isidra-Arellano et al. 2021). Este impacto negativo de la deficiencia de Pi no solo afecta el crecimiento y productividad de las leguminosas, sino que también se afecta el flujo de N asimilable en la cadena alimenticia. Por lo que es imperante entender como la disponibilidad de Pi regula genéticamente el establecimiento y funcionamiento de la simbiosis leguminosa-rizobio. Debido a la importancia del P en esta simbiosis, en los años recientes se han hecho avances que permitirán entender su control genético acorde a los niveles de Pi. Por lo que en esta revisión resumimos y discutimos el conocimiento disponible sobre como los niveles de Pi regulan genéticamente la simbiosis leguminosa-rizobio.

### **Establecimiento de la simbiosis leguminosa-rizobio**

Bajos niveles de N es un requisito indispensable para que las leguminosas establezcan simbiosis con rizobios. Ante esta condición nutrimental, las leguminosas liberan flavonas a la rizósfera, en donde son reconocidos por los rizobios compatibles. En respuesta, los rizobios producen lipo-quitto-oligosacaridos conocidos como Factores de Nodulación (FN) (Figura 1) (Roy et al., 2020). La leguminosa detecta los FN a través de receptores tipo cinasa ubicados en la membrana plasmática de la punta del pelo radicular denominados “Nod Factor Receptor 5” (NFR5) y NFR1 en la leguminosa modelo *Lotus japonicus* (Madsen et al., 2003, Radutoiu et al., 2003). NFR5 y NFR1 forman un complejo proteico para detectar a los FNs, la formación de este complejo proteico es mediada por la proteína “Rhizobia infection Receptor-

like Kinase 1” (RinRK1) en *L. japonicus* (Figura 1) (Zhou et al., 2024). La detección de los FNs promueve la reubicación y compartimentalización del complejo NFR5/NFR1 junto a “Flotillin 1” (Flot1) en nanodominios que se ubican en la membrana plasmática de los pelos radiculares (Zhou et al., 2024).



**Figura 1. Diálogo molecular entre leguminosas y rizobios.** En condiciones de deficiencia de N, las leguminosas sintetizan y excretan flavonas a la rizosfera. Las flavonas son detectadas por rizobios compatibles, y en respuesta sintetizan y excretan Factores de Nodulación (FNs). Los FNs son detectados por la leguminosa mediante los receptores “Nod Factor Receptor 5” (NFR5) y NFR1, los cuales forman un complejo proteico. La formación del complejo NFR5/NFR1 es mediado por la proteína “Rhizobia infection Receptor-like Kinase 1” (RinRK1). Para continuar con la decodificación de señal simbiótica, el co-receptor “Symbiosis Receptor-like Kinase” (SYMRK) es fosforilado (representado con un círculo rojo con la letra P). Una vez activo, SYMRK interacciona con la proteína “Early Phosphorylated Protein 1” (EPP1) y la fosforila. Se ha especulado que EPP1 participa en la biosíntesis de mensajeros secundarios para activar los “spiking” de calcio. Los “spiking” de calcio son decodificados por la proteína cinasa “Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase” (CCaMK), para lo cual, CCaMK fosforila al factor de transcripción CYCLOPS, el cual, a su vez, activa la transcripción de diversos genes simbióticos requeridos para la infección rizobial y formación del nódulo.

NFR5 y NFR1 decodifican la señal simbiótica a través del co-receptor “Symbiosis Receptor-like Kinase” (SYMRK) (Stracke et al., 2002). Para este propósito, cuatro residuos de serina, localizados en el motivo alfa-I de SYMRK, son fosforilados, lo cual es fundamental para propagar la señal simbiótica hacia el núcleo de las células de la raíz (Figura 1) (Abel et al., 2024). Una vez que SYMRK es activado, interacciona con diversas proteínas y las fosforila (Roy et al., 2020). Una de estas proteínas es “Early Phosphorylated Protein 1 (EPP1), la cual es fundamental para activar los “*spiking* de calcio” (Figura 1) (Ferrer-Orgaz et al., 2024). La proteína cinasa “Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase” (CCaMK) decodifica los “*spiking* de calcio”, para lo cual, CCaMK fosforila al factor de transcripción CYCLOPS, el cual, a su vez, activa la transcripción de *NIN* (Figura 1) (Singh y Parniske, 2012; Singh et al., 2014).

El factor de transcripción *NIN* activa la expresión de diversos genes que son esenciales para la infección rizobial y la formación del nódulo (Soyano et al., 2014; Roy et al., 2020). *NIN* también controla la maduración del nódulo para que este órgano radicular pueda llevar a cabo la fijación simbiótica de N (Feng et al., 2021). La transición a nódulos funcionales es mediada por el complejo proteolítico DNF1 (Feng et al., 2021). DNF1 proteoliza a *NIN* y libera su carboxilo terminal, el cual posee el dominio de unión a DNA requerido para la activación de la expresión de un conjunto de genes necesarios para la formación de simbiosomas y activar la fijación de nitrógeno (Feng et al., 2021).

En los últimos 20 años se han hecho avances significativos para entender cómo las leguminosas traducen la señal simbiótica. Este conocimiento ha ayudado a avanzar con el objetivo de que plantas monocotiledóneas (i.e., maíz) puedan fijar N<sub>2</sub> en simbiosis con rizobios. Sin embargo, aún existen vacíos conceptuales que necesitan nuestra atención. Uno de ellos es el impacto que tiene los niveles celulares de Pi en las células radiculares en las que se lleva a cabo la decodificación de los FNs. En particular se desconoce si los bajos niveles de Pi afectan la decodificación de la señal simbiótica. Esta hipótesis está fundamentada por el hecho de que la fosforilación de diversas proteínas es crucial para decodificar la señal de los FNs. Por lo que investigar los efectos de la deficiencia de Pi en etapas tempranas de la simbiosis leguminosa-rizobio es clave para entender el impacto que tiene este estrés abiótico en el establecimiento de la simbiosis entre leguminosas y rizobios.

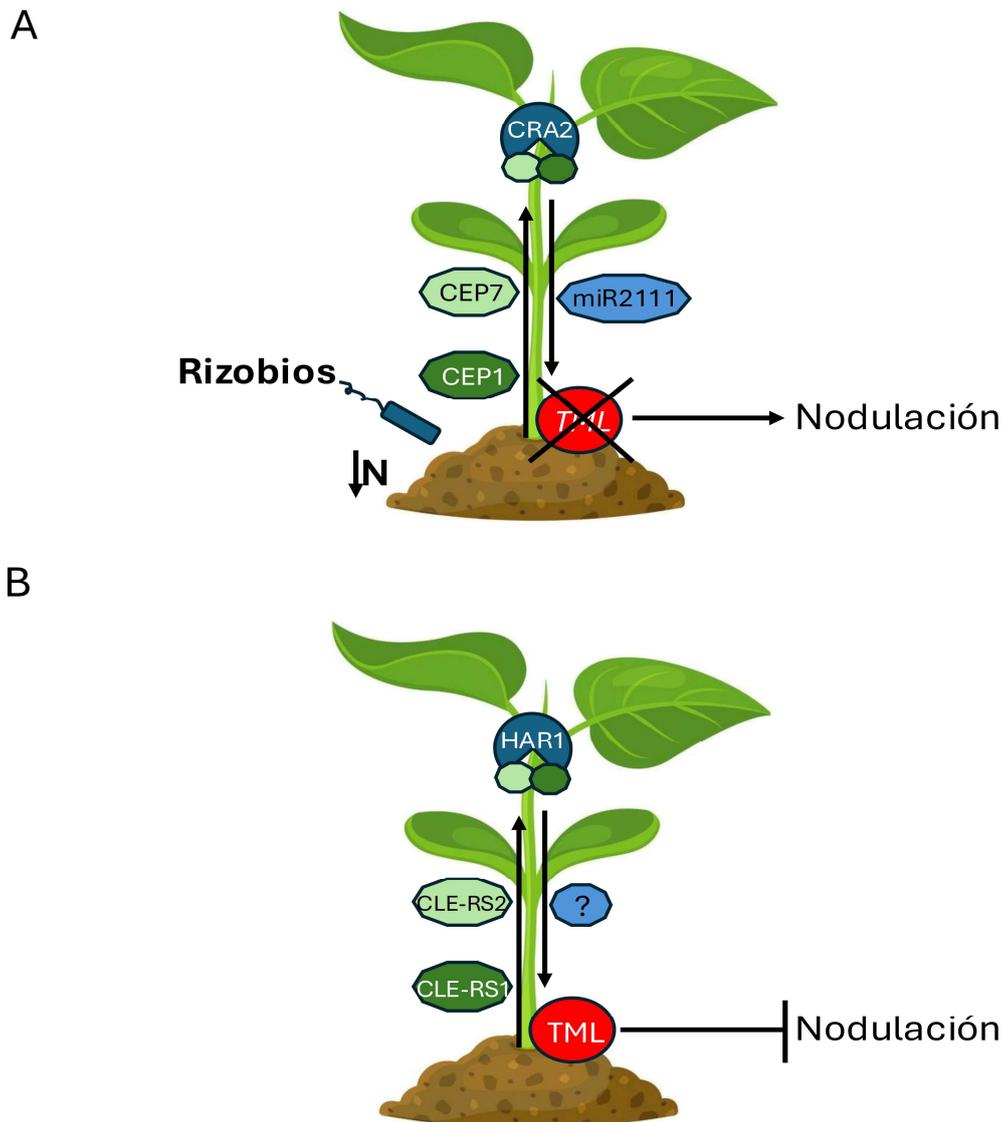
### Regulación genética de la organogénesis del nódulo

Diversas fitohormonas participan en la organogénesis del nódulo, incluyendo pequeños péptidos con actividad hormonal (Roy et al., 2020). Por ejemplo, los péptidos “C-terminal Encoded Peptides” (CEPs) son esenciales para activar la organogénesis del nódulo (Taleski et al., 2018). La biosíntesis de estos péptidos ocurre en respuesta a la deficiencia de N o a la presencia de rizobios (Figura 2A) (Imin et al., 2013, Laffont et al., 2020, Ivanovici et al., 2023). Por ejemplo, la expresión de *CEP1* es incrementada en condiciones deficientes de N (Imin et al., 2013). El péptido CEP1 es transportado vía xilema de las raíces a los tallos donde es detectado por el receptor “Compact Root Architecture 2” (CRA2) (Haul et al., 2014;

Mohd-Radzman et al., 2016). La percepción de CEP1 mediada por CRA2 activa la biosíntesis del microRNA miR2111, el cual es transportado a la raíz, donde promueve la degradación del regulador negativo de la formación de nódulos “*Too Much Love*” (*TML*) (Figura 2A) (Nishimura et al., 2002, Takahara et al., 2013; Tsikou et al., 2018; Gautrat et al., 2020). La degradación de *TML* es fundamental para que las leguminosas sean susceptibles a desarrollar nódulos en respuesta a rizobios (Figura 2A) (Imin et al., 2013). El péptido CEP7 también es esencial para activar la organogénesis del nódulo. A diferencia de CEP1, la expresión de *CEP7* es incrementada en respuesta a rizobios y su expresión es regulada por NIN (Laffont et al., 2020; Ivanovici et al., 2023). Interesantemente, CEP1 and CEP7 también participan en la percepción de niveles de N y en activar las respuestas de las plantas a la deficiencia de N, incluyendo la formación de raíces laterales (Taleski et al. 2018). Por lo que las leguminosas han adoptado vías de señalización relacionadas a la percepción de N para promover la formación de nódulos y adaptarse a suelos deficientes de este nutrimento mineral (Taleski et al. 2018).

Obtener N asimilable a través de la simbiosis con rizobios es energéticamente costoso para la leguminosa hospedera. Para evitar un desbalance energético que comprometa su desarrollo, la leguminosa regula de forma estricta el número de nódulos que desarrolla en su sistema radicular (Ferguson et al., 2019). Las leguminosas han desarrollado un complejo sistema de señalización que actúa tanto a nivel local como sistémico, el cual es denominado como Autorregulación de la Nodulación (AON, por sus siglas en inglés) (Ferguson et al., 2019). La AON inicia con la síntesis de los péptidos CLE “CLE-Related-Root Signal 1” (CLE-RS1) y CLE-RS2, los cuales son producidos durante la primera división celular de células del córtex inducida por rizobios (Ferguson et al., 2019). Al igual que los péptidos CEP, la expresión de *CLE-RS1* y *CLE-RS2* es regulada por NIN (Soyano et al., 2014). Los péptidos CLE-RS1 y CLE-RS2 son transportados vía xilema al tallo donde son detectados por el receptor tipo cinasa “Hypernodulation and Aberrant Root formation 1” (HAR1) (Figura 2B). La percepción de estos péptidos CLE activa otra vía de señalización cuya función es sintetizar moléculas señal que son transportadas a la raíz para inhibir la formación de nódulos, como la regulación de la expresión de miR2111 la cual controla el número de nódulos acorde a la disponibilidad de N (Figura 2B) (Tsikou et al., 2018, Ferguson et al., 2019, Gautrat et al., 2020).

La disponibilidad o exceso de N inhibe la simbiosis con rizobios, y ante este escenario las leguminosas emplean mecanismos no simbióticos para obtener el N del suelo. Las leguminosas también han desarrollado una vía de señalización para inhibir la formación de nódulos cuando existe N asimilable (i.e., nitrato) en el suelo. En esta vía de señalización participan dos proteínas “NIN-Like” (NLP), NLP1 y NLP4, las cuales regulan la expresión de genes que responden a la disponibilidad de nitrato (Lin et al., 2018; Nishida et al., 2020). En condiciones óptimas de N, NLP1 y NLP4 son translocadas al núcleo en donde interactúan con NIN, lo cual impide que NIN active la expresión de genes que participan en la organogénesis del nódulo y en la infección rizobial (Lin et al., 2018; Nishida et al., 2020).



**Figura 2. Regulación genética de la formación de nódulos.** (A) Ante la deficiencia de N y presencia de rizobios se sintetizan los péptidos “C-terminal Encoded Peptides” (CEPs) CEP1 y CEP7. Estos péptidos son transportados vía xilema a la parte aérea de la planta, donde son detectados por el receptor “Compact Root Architecture 2” (CRA2). Posterior a la percepción de los péptidos, se sintetiza el microRNA miR2111, el cual es transportado vía floema a las raíces, donde promueve la degradación del transcrito de “Too Much Love” (TML), lo cual permite a las leguminosas prepararse para formar nódulos y albergar a los rizobios. (B) Después de la primera división de las células corticales inducida por rizobios, se producen los péptidos “CLE-Related-Root Signal 1” (CLE-RS1) y CLE-RS2, los cuales son transportados vía xilema a la parte aérea de la planta, donde son detectados por el receptor “Hypernodulation and Aberrant Root formation 1” (HAR1). Posterior a la percepción de los péptidos CLE-RS1 y CLE-RS2 se genera moléculas señales de identidad desconocida (representada con un signo de interrogación). Esta molécula señal es transportada vía floema a la raíz, donde inhibe la degradación de TML. TML a través de un proceso aún no descrito bloquea la formación de nódulos.

Esta información sobre los diferentes mecanismos de regulación de la organogénesis del nódulo, indica que las leguminosas han desarrollado mecanismos para reducir los costos energéticos asociados a la formación de nódulos y la fijación de  $N_2$ . Es posible que estas vías de señalización o parte de ellas sean utilizadas en condiciones ambientales en las que el costo energético de la simbiosis con rizobios comprometa el crecimiento y desarrollo de las leguminosas. Esta hipótesis ha

sido evaluada experimentalmente en condiciones de deficiencia nutrimental, particularmente en deficiencia de Pi e hierro (Isidra-Arellano et al., 2020; Ito et al., 2024). Datos recientes indican que la deficiencia de Pi e hierro activa parte de la vía AON para regular el número de nódulos en esta condición nutrimental.

### Homeostasis y transporte de Pi en condiciones simbióticas con rizobios

Además de percibir y decodificar de forma correcta la señal simbiótica, el éxito de una simbiosis con rizobios también depende de un eficiente intercambio de nutrientes minerales entre ambos simbioses. Por ejemplo, cuando el rizobio deja de enviar N<sub>2</sub> asimilable, la leguminosa hospedera termina con la simbiosis. De igual forma, si la planta no envía la concentración adecuada de Pi a los nódulos, el rizobio deja de fijar N (Udvardi y Poole, 2013). Debido a la importancia del Pi en el funcionamiento del nódulo, la leguminosa regula finamente los procesos de toma, translocación, y homeostasis de Pi.

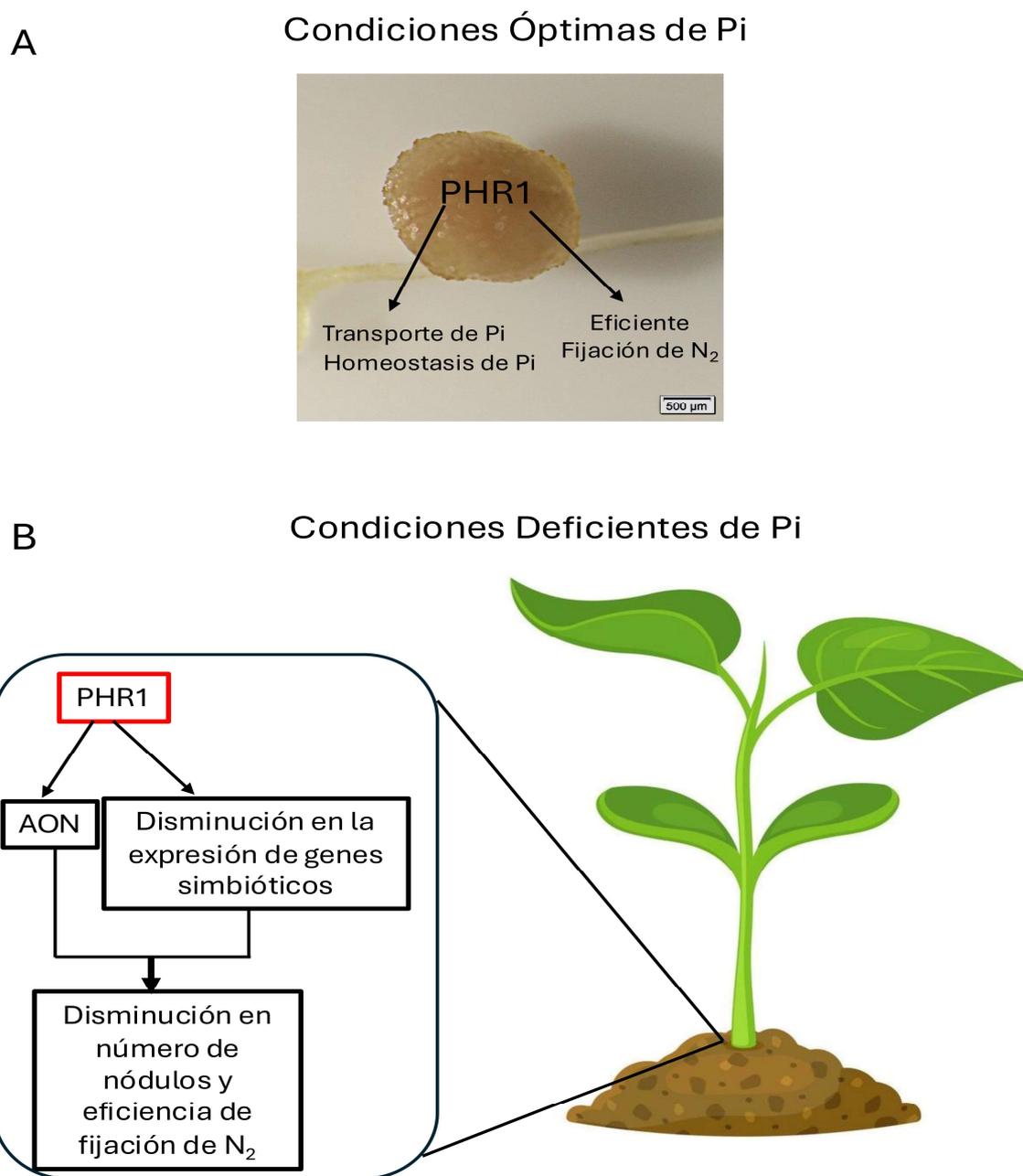
Las leguminosas han adaptado sus sistemas intrínsecos de transporte y homeostasis de Pi para sostener la formación y funcionamiento del nódulo. Inclusive, el sistema de respuesta a deficiencia de Pi denominado “Phosphate Starvation Response System” (PSR) se activa en condiciones óptimas de Pi para que los nódulos puedan recibir las concentraciones adecuadas de Pi (Isidra-Arellano et al., 2021). Asimismo, se ha documentado que el factor de transcripción “Phosphate Starvation Response 1” (PHR1), que es un regulador maestro de las respuestas a la deficiencia de Pi, se encuentra activo en los nódulos, lo que permite la activación del PSR y a su vez asegurar un aporte constante de Pi a estos órganos especializados (Isidra-Arellano et al., 2021). PHR1 es un activador crucial de la vía de señalización de Pi, ya que modula directamente la expresión de transportadores de Pi como “*Phosphate transporter traffic facilitator*” (*PHF1*) y “*Ribonuclease I*” (*RNS1*) regulando de esta forma la captación y redistribución de Pi (Isidra-Arellano et al., 2021).

Mantener el transporte y homeostasis de Pi es fundamental para evitar defectos en el desarrollo de la leguminosa y en el funcionamiento del nódulo. En este respecto, la sobreexpresión de genes que codifican para transportadores de alta afinidad por Pi incrementa el tamaño del nódulo y la actividad de fijación de nitrógeno (Lu et al., 2020). Sin embargo, la sobreexpresión de estos genes reduce el número de nódulos (Lu et al., 2020). De forma similar, la sobreexpresión de *PHR1* reduce el número de nódulos, mientras que su silenciamiento génico lo incrementa (Lu et al., 2020). Estas evidencias confirman la importancia del Pi en la simbiosis leguminosa-rizobio. Asimismo, estas evidencias indican que mantener niveles óptimos de Pi es fundamental para que el nódulo se forme y funcione adecuadamente. Finalmente, estos estudios proponen que las leguminosas han adaptado sus circuitos genéticos para asegurar que el nódulo reciba la concentración adecuada de Pi.

### Efectos de la deficiencia de Pi en el establecimiento de la simbiosis leguminosa-rizobio

Como hemos mencionado en los apartados anteriores, el Pi es un nutriente fundamental para el funcionamiento óptimo del nódulo. Sin embargo, evidencias recientes sugieren que la disponibilidad de Pi también puede modular el establecimiento de la simbiosis leguminosa-rizobio. Esta hipótesis es apoyada por el hecho de que la disponibilidad de Pi reduce significativamente el número de nódulos en diversas leguminosas (Cabeza et al., 2014; Isidra-Arellano et al., 2020). Asimismo, estudios recientes han identificado parte de los mecanismos genéticos que controlan el establecimiento de esta endosimbiosis en condiciones deficientes de Pi. Por ejemplo, los bajos niveles de Pi reducen la expresión de genes esenciales en la biosíntesis de flavonas, las cuales son fundamentales para iniciar la simbiosis con rizobios (Cabeza et al., 2014). De forma similar, la deficiencia de Pi también reduce la expresión de genes importantes en el proceso de infección rizobial, incluyendo *NIN* (Isidra-Arellano et al., 2018). Estas evidencias apoyan la hipótesis de que los niveles de Pi son fundamentales en la decodificación exitosa de la señal simbiótica.

Estudios genéticos en *Glycine max* y *Phaseolus vulgaris* han revelado que el factor de transcripción PHR1 es fundamental en la regulación del programa genético encargado de la formación y desarrollo del nódulo (Isidra-Arellano et al. 2020). Plantas de *G. max* que sobreexpresan *PHR1* desarrollan menos nódulos que las plantas silvestres. En contraste, plantas con bajos niveles de transcritos de *PHR1* no muestran reducción de nódulos en condiciones de deficiencia de Pi (Lu et al., 2020). Además, componentes genéticos de la AON (i.e. *NIN* y *TML*) contienen al menos un elemento regulatorio P1BS, al cual PHR1 se une, en sus regiones promotoras (Isidra-Arellano et al., 2020). Asimismo, plantas mutantes del receptor NARK no muestran reducción en el número de nódulos cuando crecen en condiciones de deficiencia de Pi (Isidra-Arellano et al., 2020). En conjunto estas evidencias experimentales indican que los niveles de Pi de la planta hospedera modulan la activación de la vía de señalización AON para controlar el número de nódulos en condiciones de deficiencia de Pi, así como PHR1 juega un papel fundamental en la activación de la vía de señalización AON acorde a los niveles de Pi de la planta hospedera. Estas evidencias recientes sugieren que además de ser un regulador maestro de las respuestas de las plantas a la deficiencia de Pi, PHR1 es un elemento genético clave en la simbiosis entre leguminosas y rizobios. Esta aseveración es apoyada por su papel positivo en garantizar un aporte adecuado y constante de Pi a los nódulos, y por su papel negativo en la formación de nódulos cuando los niveles de Pi celulares son bajos. Sin embargo, aún falta más experimentación para entender cómo se regula estas dos funciones de PHR1 acorde a los niveles de Pi de la planta hospedera.



**Figura 3. PHR1, un regulador fundamental en la simbiosis entre leguminosas y rizobios.** (A) En condiciones óptimas de fosfato (Pi), PHR1 se encuentra activo en los haces vasculares de los nódulos maduros. PHR1 promueve la activación de transportadores y translocadores de Pi, lo que permite un suministro adecuado y constante de Pi al nódulo. El mantenimiento del transporte y homeostasis de Pi es crucial para mantener una eficiente fijación simbiótica de nitrógeno atmosférico ( $N_2$ ). (B) En condiciones deficientes de Pi, PHR1 puede activar la vía de señalización de Autorregulación de la Nodulación (AON) y disminuir la expresión de genes simbióticos. Estas dos respuestas a la deficiencia de Pi mediadas por PHR1 conlleva a la reducción del número de nódulos y en la tasa de fijación de  $N_2$ , probablemente para evitar un desbalance energético en condiciones deficientes de Pi.

## PERSPECTIVAS Y CONCLUSIONES

Durante más de 20 años de investigación se ha logrado entender como la leguminosa detecta y decodifica la señal simbiótica, así como la regulación de los programas genéticos necesarios para la formación y funcionamiento del nódulo. También se ha avanzado en entender como las leguminosas restringen la simbiosis con rizobios cuando hay N asimilable disponible. Aunque se ha reconocido la importancia del Pi en el funcionamiento de la fijación simbiótica de N, la investigación sobre cómo los niveles de Pi de la planta hospedera impactan en el establecimiento de la simbiosis y formación del nódulo ha sido poco estudiada. La información disponible indica que el factor de transcripción PHR1 es fundamental para regular genéticamente esta simbiosis (Figura 3). Las evidencias disponibles sugieren que, en condiciones de deficiencia de Pi, PHR1 activa la AON para reducir el número de nódulos y así evitar un desbalance energético en la planta hospedera. De forma interesante, cuando la planta crece en condiciones óptimas de Pi, PHR1 se comporta como un regulador positivo favoreciendo el transporte de Pi hacia los nódulos. Estos datos indican que PHR1 puede comportarse como regulador positivo o negativo acorde a los niveles de Pi de la planta hospedera. El siguiente paso en la investigación sobre los efectos de la deficiencia de Pi en el establecimiento de la simbiosis leguminosa-rizobio es entender la regulación genética de las dos funciones que juega PHR1 en esta simbiosis. También será necesario determinar si el promotor de PHR1 contiene elementos regulatorios que controlen su actividad espaciotemporal acorde a los niveles de Pi. Manipular la actividad de PHR1 podría representar un avance para hacer más eficiente la fijación de nitrógeno en condiciones deficientes de Pi. Finalmente, también es imperante demostrar experimentalmente si la deficiencia de Pi afecta la comunicación molecular entre leguminosas y bacterias fijadoras de nitrógeno. Contar con esta información será fundamental para aprovechar al máximo los beneficios ecológicos de esta simbiosis aún en condiciones adversas que ya son comunes en los tiempos actuales.

### Agradecimientos

La investigación en el Laboratorio de Genómica Funcional de Leguminosas es financiada por el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT: DU2025-IN200523). Ana Belén Mendoza-Soto y Rocío Reyero-Saavedra son Investigadoras Postdoctorales financiadas por la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (CVU: 336932 y 347027, respectivamente).

### Conflicto de interés

Los autores no tienen conflictos de intereses que declarar.

## REFERENCIAS

- Abel NB, Nørgaard MMM, Hansen SB, *et al.* 2024. Phosphorylation of the alpha-I motif in SYMRK drive root nodule organogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Doi: 10.1073/pnas.2311522121.
- Breakspear A, Liu C, Roy S, *et al.* 2014. The root hair “infectome” of *Medicago truncatula* uncovers changes in cell cycle genes and reveals a requirement for auxin signaling in rhizobial infection. *The Plant Cell*. Doi: 10.1105/tpc.114.133496.
- Brown RM. 2022. Approaching peak phosphorus. *Nature Plants*. Doi: 10.1038/s41477-022-01247-2.

- Ferguson BJ, Mens C, Hastwell AH, Zhang M, Su H, Jones CH, Chu X, Gresshoff PM. 2019. Legume nodulation: the host controls the party. *Plant Cell & Environment*. Doi: 10.1111/pce.13348.
- Feng J, Lee T, Schiessl K, Oldroyd GED. 2021. Processing of NODULE INCEPTION controls the transition to nitrogen fixation in root nodules. *Science*. Doi: 10.1126/science.abg2804.
- Ferrer-Orgaz S, Tiwari M, Isidra-Arellano MC, et al. 2024. Early phosphorylated protein 1 is required to activate the early rhizobial infection program. *New Phytologist*. Doi: 10.1111/nph.19423.
- Gautrat P, Laffont C, Frugier F. 2020. Compact Root Architecture 2 promotes root competence for nodulation through the miR2111 systemic effector. *Current Biology*. Doi: 10.1016/j.cub.2020.01.084.
- Hault E, Laffont C, Wen J, Mysore KS, Ratet P, Duc G, Frugier F. 2014. Local and systemic regulation of plant root system architecture and symbiotic nodulation by a receptor-like kinase. *PLoS Genetics*. Doi: 10.1371/journal.pgen.1004891.
- Imin N, Mohd-Radzman NA, Ogilvie HA, Djordjevic MA. 2013. The peptide-encoding CEP1 gene modulates lateral root and nodule numbers in *Medicago truncatula*. *Journal of Experimental Botany*. Doi: 10.1093/jxb/ert369.
- Isidra-Arellano MC, Delaux PM, Valdés-López O. 2021. The phosphate starvation response system: its role in the regulation of plant-microbe interactions. *Plant & Cell Physiology*. Doi: 10.1093/pcp/pcab016.
- Isidra-Arellano MC, Pozas-Rodríguez EA, Reyero-Saavedra MDR, et al. 2020. Inhibition of legume nodulation by Pi deficiency is dependent on the autoregulation of nodulation (AON) pathway. *The Plant Journal*. Doi: 10.1111/tbj.14789.
- Ito M, Tajima Y, Ogawa-Ohnishi M, et al. 2024. IMA peptides regulate root nodulation and nitrogen homeostasis by providing iron according to internal nitrogen status. *Nature Communications*. Doi: 10.1038/s41467-024-44865-4.
- Ivanovici A, Laffont C, Larrainzar E, Patel N, Winning CS, Lee HC, Imin N, Frugier F, Djordjevic MA. 2023. The Medicago SymCEP7 hormone increase nodule number via shoots without compromising lateral root number. *Plant Physiology*. Doi: 10.1093/plphys/kiad012.
- Kouas S, Labidi N, Debez A, Abdely C. 2005. Effect of P on nodule formation and N fixation in bean. *Agronomy Sustainability and Development*. Doi: 10.1051/agro.2005034.
- Laffont C, Ivanovici A, Gautrat P, Brault M, Djordjevic MA, Frugier F. The NIN transcription factor coordinates CEP and CLE signaling peptides that regulate nodulation antagonistically. *Nature Communications*. Doi: 10.1038/s41467-020-16968-1.
- Lin JS, Li XL, Luo ZP, Mysore KS, Wen J, Xie F. 2018. NIN interacts with NLPs to mediate nitrate inhibition of nodulation in *Medicago truncatula*. *Nature Plants*. Doi: 10.1038/s41477-018-0261-3.
- Liu CW, Breakspear A, Guan D, et al. NIN acts as a network hub controlling a growth module required for rhizobial infection. *Plant Physiol*. Doi: 10.1104/pp.18.01572.
- Lu M, Cheng Z, Zhang X, et al. 2020. Spatial divergence of *PHR-PHT1* modules maintains phosphorus homeostasis in soybean nodules. *Plant Physiology*. Doi: 10.1104/pp.19.01209.
- Madsen EB, Madsen LH, Radutoiu S, Olbryt M, et al. A receptor kinase gene of LysM type is involved in legume perception of rhizobial signals. *Nature*. Doi: 10.1038/nature01231.
- Marsh JF, Rakocevic A, Mitra RM, Brocard L, Sun J, Eschstruth A, Long SR, Schultze M, Ratet P, Oldroyd GED. 2007. *Medicago truncatula* NIN is essential for rhizobial-independent nodule organogenesis induced by autoactive calcium/calmodulin-dependent protein kinase. *Plant Physiology*. Doi: 10.1104/pp.106.093021.
- Mohd-Radzman NA, Laffont C, Ivanovici A, Patel N, Ried D, Stougaard J, Frugier F, Imin N, Djordjevic MA. 2016. Different pathways act downstream of the CEP peptide receptor CRA2 to regulate lateral root and nodule development. *Plant Physiology*. Doi: 10.1104/pp.16.00113.
- Nishida H, Nosaki S, Suzuki, T, et al. 2020. Different DNA-binding specificities of NLP and NIN transcription factors underlie nitrate-induced control of root nodulation. *The Plant Cell*. Doi: 10.1093/plcell/koab103.
- Nishimura R, Hayashi M, Wu GJ, et al. 2002. HAR1 mediates systemic regulation of symbiotic organ development. *Nature*. Doi: 10.1038/nature01231.
- Radutoiu S, Madsen LH, Madsen EB, et al. 2003. Plant recognition of symbiotic bacteria requires two LysM receptor-like kinases. *Nature*. Doi: 10.1038/nature02039.
- Roy S, Griffiths M, Torres-Jerez I, et al. 2020. Celebrating 20 years of genetic discoveries in legume nodulation and symbiotic nitrogen fixation. *The Plant Cell*. Doi: 10.1105/tpc.19.00279.
- Schauster L, Roussis A, Stiller J, Stougaard J. 1999. A plant regulator controlling development of symbiotic root nodules. *Nature*. Doi: 10.1038/46058.
- Singh J, Isidra-Arellano MC, Valdés-López O. 2023. Harnessing the potential of symbiotic associations of plants in phosphate-deficient soil for sustainable agriculture. *Plant & Cell Physiology*. Doi: 10.1093/pcp/pcad059.
- Singh S, Katzer K, Lambert J, Cerri M, Parniske, M. 2014. CYCLOPS, a DNA-binding transcriptional activator, orchestrates symbiotic root nodule development. *Cell Host & Microbe*. Doi: 10.1016/j.chom.2014.01.011.
- Singh S, Parniske, M. 2012. Activation of calcium- and calmodulin-dependent protein kinase (CCaMK), the central regulator of plant root endosymbiosis. *Current Opinion in Plant Biology*. Doi: 10.1016/j.pbi.2012.04.002.
- Soyano T, Hirakawa H, Sato S, Hayashi M, Kawaguchi M. 2014. NODULE INCEPTION creates a long-distance negative feedback loop involved in homeostasis regulation of nodule organ production. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Doi: 10.1073/pnas.1412716111.
- Stracke S, Kistner C, Yoshida S, et al. 2002. A plant receptor-like kinase required for both bacterial and fungal symbiosis. *Nature*. Doi: 10.1038/nature00841.

- Sulieman S, Tran LSP. 2015. Phosphorus homeostasis in legume nodules as an adaptative strategy to phosphorus deficiency. *Plant Sciences*. Doi: 10.1016/j.plantsci.2015.06.018.
- Tsikou D, Yan Z, Holt D, Abel N, Reid DE, Madsen LH, Bhasin H, Sexauer M, Stougaard J, Markmann K. 2018. Systemic control of legume susceptibility to rhizobial infection by a mobile microRNA. *Science*. Doi: 10.1126/science.aat6907.
- Udvardi M, and Poole PS. 2013. Transport and metabolism in legume-rhizobia symbiosis. *Annual Review in Plant Biology*.
- Vance CP, Uhde-Stone C, Allan DL. 2003. Phosphorus acquisition and use: critical adaptation by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytologist*. Doi:10.1046/j.1469-8137.2003.00695.x
- Zhong Y, Tian J, Liao H. 2023. Cooperative interactions between nitrogen fixation and phosphorus nutrition in legumes. *New Phytologist*. Doi: 10.1111/nph.18593.
- Zhou N, Li X, Zheng Z, Liu J, Downie JA, Xie F. 2024. RinRK1