

**FORMULARIO DE PRESENTACIÓN DE PROPUESTA  
PROGRAMA DE FOMENTO A LA INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO (I+D)  
CONVOCATORIA DE FOMENTO A I+D (FID) 2017**

<b>PARA USO DE SENACYT</b>
NÚMERO DE REGISTRO
CATEGORÍA

<b>1. DATOS GENERALES DEL PROYECTO</b>	
1.1 Título del proyecto: (no más de 10 o 15 palabras)	
<b>Caracterización y utilización de microorganismos rizosféricos inductores de resistencia sistemática para mejorar la nutrición férrica de plantas de importancia agrícola en suelos básicos de Panamá</b>	
1.2 Categoría de Evaluación Separada por Área Temática (solo debe marcar un casillero):	
<input type="checkbox"/> A. Ciencias Naturales (Químicas y Biológicas) y Ciencias de la Tierra	<input checked="" type="checkbox"/> D. Ciencias Agrícolas
<input type="checkbox"/> B. Ingeniería y Tecnología, Ciencias Físicas y Matemáticas	<input type="checkbox"/> E. Ciencias Sociales, Humanísticas, Administrativas y Económicas
<input type="checkbox"/> C. Ciencias Médicas y de la Salud	<input type="checkbox"/> F. Otras ramas de la Ciencia- (especifique)
<b>Nota:</b> Para facilitar su selección, ver Listado de Clasificación de las Ciencias y temáticas prioritarias, documento publicado con esta convocatoria.	
1.3 Modalidad de aplicación (solo debe marcar un casillero):	
<input type="checkbox"/> A. Modalidad de Investigadores	
<input type="checkbox"/> B. Modalidad de Grupos de Investigación	
<input checked="" type="checkbox"/> C. Modalidad de Colaboración Internacional	
1.4 Monto a financiar por la SENACYT:  B/.120,000,00	1.5 Monto a financiar por otras fuentes (inclusive aportes en especie)  B/. 3000.00
1.6 Fecha tentativa para inicio de ejecución de la propuesta (dd/mm/aaaa):  01/06/2018  <b>Nota:</b> Fecha posterior a octubre de 2017	1.7 Período de duración de la propuesta (en meses)  24 meses  <b>Nota:</b> Máximo de 24 meses
1.8 Descripción breve de la propuesta. Antecedentes. Hipótesis. Objetivos. Resultados esperados. (Máximo 150 palabras) <b>El hierro es un elemento abundante en el suelo, pero su absorción por las plantas es problemática debido a su baja solubilidad en suelos básicos, abundantes en muchas regiones áridas y semiáridas del mundo, así como en la península de Azuero. Su deficiencia provoca estrés abiótico. Su regulación no es totalmente conocida, pero en plantas dicotiledóneas se han descubierto activadores como el etileno y el óxido nítrico y represores como el hierro floemático. Las plantas también desencadenan respuestas defensivas cuando son sometidas a estreses bióticos, provocados por agentes biológicos. Algunas de ellas son localizadas, mientras que otras son sistémicas y se manifiestan en zonas alejadas de la atacada, este es el caso de la Respuesta Sistémica Inducida (ISR), está es provocada por microorganismos beneficiosos, rizobacterias y hongos, que habitan la rizosfera y que inducen respuestas defensivas en la parte aérea, las cuales protegen a las plantas de agentes biológicos perjudiciales.</b>	
1.9 Palabras clave (son palabras que orientarán a la SENACYT para el proceso de evaluación) <b>ETILENO, HIERRO, MICROORGANISMOS, ÓXIDO NÍTRICO, PLANTAS, RESISTENCIA SISTÉMICA INDUCIDA, RIZOSFERA, SUELOS BÁSICOS</b>	

<b>2. DATOS GENERALES DE LOS PROPONENTES (ASEGURARSE QUE LOS DATOS SEAN ACTUALIZADOS Y VALIDABLES)</b>	
2.1 Entidad proponente (institución de adscripción del responsable del proyecto)	
2.1.1 Nombre de la entidad: <b>Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá</b>	2.1.4 Persona de contacto: Rito Humberto Herrera Vega
2.1.2 RUC o número de identificación: <b>8NT-1-12563-DV56</b>	2.1.5 Teléfono (fijo y móvil): 9977121 (fijo) 65716521 (móvil)
2.1.3 Nombre del representante legal: <b>Axel Villalobos</b>	2.1.6 Correo electrónico: <a href="mailto:rhv76@yahoo.es">rhv76@yahoo.es</a>
2.2 Administrador de fondos de la propuesta (persona natural o jurídica que firmará el contrato) si aplica	
2.2.1 Nombre Legal (tal cual aparece en la cedula o en el registro público): <b>Axel Villalobos</b>	
2.2.2 RUC o número de identificación: <b>8-227-180</b>	2.2.5 Persona de contacto (solo para persona jurídica):
2.2.3 Nombre del representante legal: <b>Axel Villalobos</b>	2.2.6 Cédula: 8-227-180
2.2.4 Correo electrónico: <a href="mailto:Villalobos.axel@gmail.com">Villalobos.axel@gmail.com</a>	2.2.7 Teléfonos de entidad de contacto (fijo y móvil): <b>500-0519</b>

2.3 Investigadores que participan en el proyecto (si es necesario, añadir filas)	
Nombre de Colaboradores	Motivo de la alianza y actividades a desarrollar en el proyecto
Rito Humberto Herrera Vega (Investigador Principal)	Aislamiento y caracterización bioquímica y microbiológica de microorganismos rizosféricos. Estudiar el efecto de la concentración de Fe en las respuestas a deficiencia de Fe provocadas por microorganismos.
José Ramos Ruíz Co- IP1	Estudiar el papel en la nutrición férrica de cepas y especies de microorganismos. ISR relacionadas con las ya conocidas, pero aisladas de suelos básicos
Francisco Javier Romera Co-IP2	Estudiar el papel de los factores de transcripción FIT(FER) y bHLH38 en las respuestas a deficiencia de Fe provocadas por microorganismos. IS. Estudiar el efecto de la concentración de Fe en las respuestas a deficiencia de Fe provocadas por microorganismos. ISR
Esteban Alcántara Co-IP3	Estudiar el papel en la nutrición férrica de microorganismos ISR ya conocidos.
Coloque aquí el Nombre del Co-IP 4	

2.4 Programas y/o concursos en los que ha participado el proponente y los investigadores de la propuesta						
Nombre del programa o concursos Área temática	Nombre de la propuesta	País	Fue aprobado (sí o no)	Monto solicitado	% de colaboración en la propuesta	Fecha (dd/mm/aaaa)
Ingreso al Sistema Nacional de Investigación (SNI)- Rito Herrera	Investigador Nacional I	Panamá	si	21600.00	100%	10/8/2014
Innovación al sector agropecuario. Rito Herrera	Jornadas de actualización en Microbiología Agrícola y Ambiental: un enfoque sinergista	Panamá	si	13000.00	50%	21/11/2016
Inserción de talento especializado ITE 2017. Rito Herrera	Aislamiento, identificación y caracterización de microorganismos antagonistas y promotores de crecimiento en cultivos agrícolas en la Provincia de Coclé y Panamá Oeste.	Panamá	si	48000.00	100%	20/10/2017
Ingreso al Sistema Nacional de Investigación (SNI). Rito Herrera	Investigador Nacional I	Panamá	si	21600.00	100%	1/10/2017
GEN2006-27748-C2-2-E/SYS José Ramos Ruíz	Gene interaction networks and models of cation homeostasis in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	Unión Europea	si	228000.00	100%	28/02/2010
AGL2013-40822-R. Fransisco Javier Romera	Interacción del etileno con otras señales en la regulación de las respuestas a la deficiencia de hierro, fósforo y azufre en plantas dicotiledóneas	España	si	142000.00	100%	31/12/2016

2.5 Ubicación geográfica de la propuesta			
Provincia/Comarca	Distrito	Corregimiento	Lugar

Los Santos	Tonosí	Tonosí	Tonosí
<b>2.6 Área geográfica de impacto de la propuesta</b>			
Provincia/Comarca	Distrito	Corregimiento	Lugar
Coclé	Aguadulce	Aguadulce	Aguadulce
Chiriquí	Barú	Barú	Barú
Panamá	Chepo	Chepo	Chepo

<p><b>3.LISTA DE VERIFICACIÓN DE DOCUMENTOS DE PRESENTACIÓN DE LA PROPUESTA</b></p> <p><b>NOTA IMPORTANTE: Todos los documentos de la propuesta y anexos deben ser entregados consolidados en UN SOLO ARCHIVO O DOCUMENTO EN FORMATO DIGITAL (PDF) y en el orden indicado (todos los documentos de carácter obligatorio, la omisión de alguno invalida la presentación de su propuesta)</b></p>	
<p><input type="checkbox"/> Formulario de solicitud debidamente lleno</p> <p><b>Anexo 1:</b></p> <p><input type="checkbox"/> Resumen ejecutivo publicable (<b>Antecedentes. Hipótesis. Objetivos. Listado de la metodología a emplear, Resultados y Productos esperados</b>)</p> <p><input type="checkbox"/> Descripción técnica del proyecto que incluya (máximo de 10 páginas):</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Título del proyecto</li> <li>2. Antecedentes de la propuesta</li> <li>3. Justificación y problema a investigar</li> <li>4. Pertinencia en relación con el Plan Estratégico Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (PENCIYT) 2015-2019.</li> <li>5. Impacto esperado</li> <li>6. Objetivos (general, específicos)</li> <li>7. Colaboradores del proyecto</li> <li>8. Metodología (materiales, métodos y actividades)</li> <li>9. Resultados esperados (científicos, tecnológicos, entre otros.)</li> <li>10. Productos científicos esperados (Publicaciones, graduados, etc.)</li> <li>11. Estrategia de divulgación de los resultados del proyecto</li> <li>12. Consideraciones especiales (si aplica)</li> </ol> <p><input type="checkbox"/> Referencias bibliográficas</p>	<p><b>Anexo 2:</b></p> <p><input type="checkbox"/> E. Cronograma de actividades para la investigación (máximo 1 página, fuente Arial tamaño 11 pt.).</p> <p><b>Anexo 3:</b></p> <p><input type="checkbox"/> Presupuesto completo con sustentación de cada rubro (máximo de dos (2) páginas).</p> <p><b>Anexo 4:</b></p> <p><input type="checkbox"/> Versión resumida de la hoja de vida actualizada del investigador principal y demás investigadores (en el formato indicado por la SENACYT).</p> <p><b>Anexo 5:</b></p> <p><input type="checkbox"/> Dos (2) cartas de referencia académica y/o aval de la experiencia previa <i>en investigación</i></p> <p><input type="checkbox"/> Cartas en que se manifieste compromiso explícito de co-financiamiento (cuando aplica) y apoyo de cada una de la(s) institución(es) y/o empresas relacionadas con el desarrollo de la propuesta, que incluya la descripción de cómo realizarán la colaboración y cómo se fortalecerán las capacidades nacionales.</p> <p><input type="checkbox"/> Paz y Salvo de la SENACYT (formulario firmado) del Investigador Principal, Entidad Proponente y Entidad Administradora de Fondos (si aplica).</p>

CON LA ENTREGA DE ESTA PROPUESTA EL PROPONENTE ACEPTA LA OBLIGACIÓN DE CUMPLIR CON LOS TÉRMINOS Y CONDICIONES INDICADOS EN LA PRESENTE CONVOCATORIA Y EL REGLAMENTO DEL PROGRAMA (RESOLUCIÓN ADMINISTRATIVA 191 DE 31 DE JULIO DE 2017) DISPONIBLE EN LA PÁGINA WEB DE LA SENACYT.

- CERTIFICO QUE HE LEIDO Y ESTOY DE ACUERDO CON LOS TÉRMINOS Y CONDICIONES INDICADOS EN LA RESOLUCIÓN ADMINISTRATIVA 191 DE 31 DE JULIO DE 2017.

Sí     No

DECLARA Y ACEPTA EL PROPONENTE QUE LA PROPUESTA CON LA QUE PARTICIPA EN LA CONVOCATORIA ES ORIGINAL Y QUE NO HA SIDO FINANCIADA ANTERIORMENTE POR LA SENACYT, BAJO EL MISMO U OTRO NOMBRE, O POR OTRO PROPONENTE O POR OTROS ORGANISMOS NACIONALES O INTERNACIONALES, SIN HABERLO INFORMADO O PUESTO EN CONOCIMIENTO DE LA SENACYT.

- CERTIFICO QUE LAS DECLARACIONES PRESENTADAS AQUÍ (EXCLUYENDO HIPÓTESIS Y/O OPINIONES CIENTÍFICAS, TÉCNICAS Y DEMÁS) SON VERDADERAS Y ESTÁN COMPLETAS.

Sí     No

INVESTIGADOR PRINCIPAL	REPRESENTANTE LEGAL
Nombre: <u>Rito Herrera Vega</u>	Nombre: <u>Axel Villalobos</u>
Firma: <u>[Handwritten Signature]</u>	Firma: <u>[Handwritten Signature]</u>
Fecha: <u>26/11/17</u>	Fecha: <u>26/11/2017</u>



*Este formulario posee su código de verificación...*

## ANEXOS

## RESUMEN EJECUTIVO DEL PROYECTO

En el pasado siglo, y en lo que llevamos del actual, la producción agrícola mundial ha aumentado considerablemente, en base a la utilización de variedades más productivas, al monocultivo, y al empleo de fertilizantes y plaguicidas. Sin embargo, en las últimas décadas, el rendimiento asociado al empleo de fertilizantes y otros productos químicos ha ido decreciendo y, además, su uso abusivo o inadecuado ha dado lugar a la aparición de problemas ambientales, como la eutrofización de las aguas continentales (Torrent *et al.*, 2007). Es por ello, y por la creciente demanda de alimentos y productos agroforestales para una población humana en constante aumento, por lo que hay que buscar alternativas que, sin renunciar a los efectos favorables de la fertilización tradicional, permitan una producción mayor y, a la vez, más amigable con el medio ambiente. En relación con la nutrición de las plantas, dos aspectos que pueden contribuir a esa agricultura más sostenible son, por una parte, la obtención de variedades más eficientes en la adquisición de nutrientes y, por otra, un manejo más adecuado de la rizosfera (Shen *et al.*, 2012). Hay que señalar que en la rizosfera, la zona del suelo influenciada por la actividad de la raíz, conviven multitud de microorganismos. Entre ellos, hay algunos que son patógenos para las plantas, pero también existen muchos que son beneficiosos, como rizobacterias (“PGPB o PGPR: Plant Growth Promoting Bacteria or Rhizobacteria”) y hongos (“PGPF: Plant Growth-Promoting Fungi”), que pueden incrementar la adquisición de nutrientes y promover el crecimiento de las plantas (de Zelicourt *et al.*, 2011; Pii *et al.*, 2015; Verbon y Liberman 2016). A su vez, la capacidad de las plantas para adaptarse a suelos problemáticos y a condiciones estresantes depende, en gran parte, de su asociación con los microorganismos de la rizosfera (Yang *et al.*, 2008; de Zelicourt *et al.*, 2011; Hermosa *et al.*, 2012). En este sentido, conviene destacar que en humanos cada vez se está valorando y estudiando más el papel de los microorganismos asociados (microbioma humano) en la salud.

El hierro (Fe) es un elemento abundante en el suelo pero su absorción por las plantas es problemática debido a su baja solubilidad, sobre todo en suelos básicos, abundantes en muchas regiones áridas y semiáridas del Mundo. En condiciones de deficiencia de Fe, las plantas sufren un estrés abiótico y desarrollan diversas respuestas morfológicas y fisiológicas, principalmente en sus raíces, para facilitar su adquisición. Dichas respuestas cesan una vez las plantas adquieren suficiente Fe. Su regulación no es totalmente conocida pero en plantas dicotiledóneas se han descubierto sustancias que actúan como activadoras de las respuestas, caso del etileno y el óxido nítrico, y sustancias que actúan como represoras de las mismas, caso del Fe floemático. Al igual que responden a estreses abióticos, las plantas también desencadenan respuestas defensivas cuando son sometidas a estreses bióticos, provocados por ataques de agentes biológicos (patógenos, insectos, etc). Algunas de ellas son localizadas, restringidas a la zona atacada, mientras que otras son sistémicas y se manifiestan en zonas alejadas de la atacada. Dentro de estas últimas, se encuentra la Respuesta Sistémica Inducida (ISR: “Induced Systemic Resistance”). La ISR está provocada por microorganismos beneficiosos, rizobacterias y hongos, que habitan la rizosfera y que inducen respuestas defensivas en la parte aérea, las cuales protegen a las plantas de agentes biológicos perjudiciales. En los últimos años, se ha visto que algunos microorganismos que inducen ISR también inducen simultáneamente algunas de las respuestas fisiológicas a la deficiencia de Fe en plantas dicotiledóneas. Esto no debe extrañar, pues en la activación de ambos procesos se han implicado sustancias comunes, como el etileno y el óxido nítrico, y también factores de transcripción comunes, como el MYB72.

La participación de elementos comunes en la activación de la ISR y de las respuestas a la deficiencia de Fe permite explicar algunos resultados preliminares que indican que la presencia de algunos microorganismos inductores de ISR pueden mejorar la nutrición férrica de las plantas dicotiledóneas. Los objetivos principales de este Proyecto Investigador son, por una parte, profundizar en el conocimiento básico de la interrelación entre la ISR y las respuestas a la deficiencia de Fe y, por otra parte, estudiar microorganismos inductores de ISR que se puedan aplicar a suelos básicos para mejorar la nutrición férrica de plantas dicotiledóneas, evitando así el uso de quelatos sintéticos, los cuales son caros y pueden originar problemas ambientales. Este Proyecto enlaza con el papel del etileno y el óxido nítrico en la regulación de las respuestas a la deficiencia de Fe. Dado que ambas sustancias también se han implicado en la regulación de la ISR, en este Proyecto pretendemos profundizar en los elementos comunes que comparten las respuestas a deficiencia de Fe y la ISR. La mayoría de los trabajos de investigación sobre el uso de microorganismos para mejorar la nutrición férrica suelen ser, o bien muy básicos, realizados con plantas de *Arabidopsis* cultivadas en placas Petri con agar, o bien muy aplicados, sin analizar los mecanismos implicados. En este proyecto se pretenden abordar ambos aspectos, básicos y aplicados, para lo cual contamos con un equipo multidisciplinar.

## Descripción técnica del proyecto (máximo 10 páginas)

### Caracterización y utilización de microorganismos rizosféricos inductores de resistencia sistemática para mejorar la nutrición férrica de las plantas de importancia agrícola en suelos básicos de Panamá

#### 1. Antecedentes de la propuesta

Para conseguir el mayor beneficio de los microorganismos rizosféricos en la nutrición vegetal, es necesario conocer en profundidad los mecanismos utilizados por las plantas para adquirir los nutrientes del suelo y, también, los mecanismos implicados en su relación con dichos microorganismos. Hay microorganismos que pueden establecer simbiosis con las plantas y favorecer la absorción de elementos, como es el caso de las micorrizas y el fósforo (P) o las bacterias fijadoras de nitrógeno (N) del género *Rhizobium* y las leguminosas. Estos microorganismos simbiotes también pueden afectar la nutrición de otros elementos esenciales para las plantas (Jin *et al.*, 2014; González-Guerrero *et al.*, 2016). Además, hay microorganismos que, sin vivir en simbiosis, pueden afectar la nutrición de las plantas, p.ej., mediante la liberación de compuestos que contribuyen a la solubilización de nutrientes insolubles o modificando la arquitectura y las funciones de la raíz a través de cambios hormonales (Zamioudis *et al.*, 2014, 2015; Contreras-Cornejo *et al.*, 2015; Pii *et al.*, 2015, 2016; García-López *et al.*, 2016; GarnicaVergara *et al.*, 2016). En relación a la nutrición férrica, se sabe que la aplicación de algunos microorganismos al suelo puede mejorar el contenido de hierro (Fe) de las plantas (de Santiago *et al.*, 2009, 2013; Zhang *et al.*, 2009) y que la homeostasis del Fe en las plantas está estrechamente relacionada con las respuestas defensivas frente al ataque de patógenos (Aznar *et al.*, 2015). También se sabe que algunos microorganismos beneficiosos pueden inducir respuestas como las que se inducen con deficiencia de Fe y, de esta manera, favorecer su adquisición (Zhang *et al.*, 2009; Orozco-Mosqueda *et al.*, 2013; Jin *et al.*, 2014; Pieterse *et al.*, 2014; Zamioudis *et al.*, 2014, 2015; Zhao *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2016a). Dentro de este tipo de microorganismos, hay que destacar los que inducen la Resistencia Sistemática Inducida (“ISR: Induced Systemic Resistance”; Pieterse *et al.*, 2014; Zamioudis *et al.*, 2014, 2015). De los nutrientes esenciales para las plantas, algunos de los más críticos en la limitación de los rendimientos de los cultivos a nivel mundial son el N, el P y el Fe (Pii *et al.*, 2015). La deficiencia de Fe (clorosis férrica) está ampliamente distribuida en el Mundo, sobre todo en suelos básicos (aproximadamente el 30 % de los suelos cultivables; Lindsay 1995), los cuales son abundantes en zonas áridas y semiáridas. En muchos países, esta deficiencia está asociada con problemas de anemia en la población (Tsai y Schmidt 2017). Para corregir la clorosis férrica, lo más común es aplicar al suelo quelatos sintéticos de Fe, que suelen ser bastante caros. Además, al ser altamente solubles, son lixiviados fácilmente, pudiendo llegar al subsuelo y contaminar la capa freática (Arizmendi-Galicia *et al.*, 2011). Una alternativa a la utilización de quelatos es el uso de material vegetal más eficiente en la adquisición de Fe. Sin embargo, diferentes resultados obtenidos con suelos esterilizados indican que, incluso los genotipos vegetales más eficientes, necesitan la colaboración sinérgica de los microorganismos del suelo para poder adquirir el Fe adecuadamente (Jin *et al.*, 2014; Pii *et al.*, 2015). Por esta razón, y por el papel favorable que pueden tener los microorganismos del suelo en la adquisición de otros nutrientes esenciales para las plantas (Pii *et al.*, 2015; García-López *et al.*, 2016), creemos que es oportuno y de gran interés profundizar en la relación entre plantas y microorganismos rizosféricos beneficiosos.

#### 2. Justificación y problema a investigar

El Fe es un elemento esencial para las plantas, en las que participa en procesos tan importantes como la fotosíntesis, la respiración y la nutrición de N (Marschner 1995). Es muy abundante en suelos, principalmente en forma de Fe<sup>3+</sup>, aunque su disponibilidad para las plantas es pobre, sobre todo en los suelos básicos, en los que su solubilidad es baja, dado que ésta disminuye al aumentar el pH (Lindsay 1995). En Panamá, los suelos básicos se localizan principalmente en la Península de Azuero y la clorosis férrica afecta a cultivos tan importantes como el tomate. Para adquirir el Fe del suelo, las plantas han desarrollado distintas estrategias. Actualmente, se consideran dos estrategias diferentes: la Estrategia I, presente en plantas no gramíneas (incluyendo dicotiledóneas y monocotiledóneas no gramíneas), y la Estrategia II, presente en gramíneas (Römheld y Marschner 1986; Ivanov *et al.*, 2012; Kobayashi y Nishizawa 2012). Las gramíneas (Estrategia II) favorecen la solubilización del Fe mediante la liberación al suelo de fitosideróforos, que forman quelatos estables con el Fe<sup>3+</sup>, los cuales son posteriormente absorbidos por transportadores específicos (Kobayashi y Nishizawa 2012). Este Proyecto se va a centrar en plantas dicotiledóneas (Estrategia I) y, por tanto, no se van a describir más detalles de la Estrategia II. La característica principal de las plantas de Estrategia I es la necesidad de reducir el Fe<sup>3+</sup>, el más abundante en los suelos bien aireados, a Fe<sup>2+</sup>, que es el preferentemente absorbido (Römheld y Marschner 1986; Ivanov *et al.*, 2012; Kobayashi y Nishizawa 2012; Brumbarova *et al.*, 2015). La reducción del Fe<sup>3+</sup> está mediada por una reductasa férrica mientras que el transporte de Fe<sup>2+</sup> ocurre a través de un transportador específico del Fe<sup>2+</sup>, ambos localizados en la membrana plasmática de células epidérmicas de la raíz (Ivanov *et al.*, 2012; Kobayashi y Nishizawa 2012). Los genes que codifican el transportador de Fe<sup>2+</sup> (IRT1: “Iron Regulated Transporter”) y la reductasa (FRO: “Ferric Reductase Oxidase”) se identificaron primeramente en *Arabidopsis* (AtIRT1, AtFRO2) y posteriormente se han identificado en otras especies, como tomate (SlIRT1, SlFRO1), frijoles (PsRIT1, PsFRO1), pepino (CsFRO1, CslIRT1: Waters *et al.*, 2007) y melón (revisados en Lucena *et al.*, 2015 y Brumbarova *et al.*, 2015; Hsieh y Waters 2016). Cuando las plantas de Estrategia I sufren deficiencia de Fe, ponen en marcha numerosas respuestas morfológicas y fisiológicas, principalmente en sus raíces, encaminadas a favorecer la adquisición de Fe (Figura 1).



Figura 1. Pelillos radicales subapicales inducidos por deficiencia de Fe.

Entre las respuestas fisiológicas están las siguientes: incremento de la actividad de la reductasa férrica (debido, fundamentalmente, a una mayor expresión del gen FRO; Ivanov *et al.*, 2012; Kobayashi y Nishizawa 2012; Lucena *et al.*, 2015); incremento de la capacidad para absorber Fe<sup>2+</sup> (debido a una mayor expresión del gen IRT1; Ivanov *et al.*, 2012; Kobayashi y Nishizawa 2012; Lucena *et al.*, 2015); acidificación de la rizosfera (debido a una mayor expresión de genes HA:“H<sup>+</sup>-ATPase”; Santi *et al.*, 2005; Waters *et al.*, 2007); incremento de la síntesis y liberación de fenoles al medio (debido a una mayor expresión de genes como PAL, F6'H1, BGLU42 y ABCG37; Jin *et al.*, 2007; RodríguezCelma *et al.*, 2013; Fourcroy *et al.*, 2014, 2016; Schmid *et al.*, 2014; Zamioudis *et al.* 2014; Sisó-Terraza *et al.*, 2016a; Zhou *et al.*, 2016b); incremento de la síntesis y liberación de flavinas al medio (debido a una mayor expresión de genes como DMRLs; Vorwieger *et al.*, 2007; Rodríguez-Celma *et al.*, 2013; Hsieh y Waters 2016; Sisó-Terraza *et al.*, 2016b); e incremento de la síntesis de ácidos orgánicos, como citrato y malato (Landsberg 1981; Kabir *et al.* 2012). La acidificación contribuye a la solubilización del Fe (Santi *et al.* 2005; Waters *et al.* 2007) y a un mejor funcionamiento de la reductasa, que es óptimo a pH alrededor de 5 (Romera *et al.*, 1992). Los fenoles (entre ellos, las cumarinas) y las flavinas pueden actuar como agentes quelantes y reductores del Fe, favoreciendo su movilización en la rizosfera (RodríguezCelma *et al.*, 2013; Rodríguez-Celma y Schmidt 2013; Fourcroy *et al.*, 2014; Schmid *et al.*, 2014; Sisó-Terraza *et al.*, 2016a,b; Sisó-Terraza 2017; Tsai y Schmidt 2017). El gen PAL (“Phenylalanine Ammonia-Lyase”) codifica una enzima implicada en el primer paso de la ruta de síntesis de fenoles a partir de fenilalanina (Zamioudis *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2016a). El gen F6'H1 (“Feruloyl-CoA 6'Hydroxylase1”) codifica una enzima dioxigenasa implicada en la síntesis de escopoletina, una cumarina (Schmid *et al.*, 2014; Sisó-Terraza *et al.*, 2016a). El gen ABCG37 (también denominado PDR9) codifica un transportador de tipo ABC implicado en la liberación de fenoles al medio (Fourcroy *et al.*, 2014, 2016; Zamioudis *et al.*, 2014). El gen BGLU42 codifica una glucosidasa, que es una enzima que libera compuestos de los glucósidos con los que están conjugados. Se cree que podría liberar compuestos fenólicos de sus glucósidos asociados, favoreciendo así su secreción a la rizosfera (Zamioudis *et al.*, 2014). Por su parte, el gen DMRLs (“DiMethyl-8-Ribityllumazine synthase”) codifica una enzima implicada en la síntesis de flavinas (Hsieh y Waters 2016). Todos estos genes (PAL, F6'H1, ABCG37, BGLU42, DMRLs) se inducen con deficiencia de Fe (García *et al.*, 2010; Fourcroy *et al.*, 2014; Schmid *et al.*, 2014; Zamioudis *et al.*, 2014; Hsieh y Waters 2016; Zhou *et al.*, 2016a). Los ácidos orgánicos pueden actuar como agentes quelantes del Fe en el interior de la planta (Durrett *et al.*, 2007). De hecho, el Fe se mueve quelatado con citrato a través del xilema (Durrett *et al.*, 2007). La síntesis de ácidos orgánicos está asociada a una mayor actividad de la enzima fosfoenol pirúvico carboxilasa (Andaluz *et al.*, 2002), codificada por los genes PPC (“PhosphoenolPyruvate Carboxilase”; Sánchez *et al.*, 2006).

Además de los genes implicados en la adquisición de Fe del medio, existen otros genes que también se inducen con deficiencia de Fe en tallos y/o raíces, como el gen AtFRD3 (“Ferric Reductase Defective3”; Rogers y Gueriot 2002) y los genes AtNASs (“NicotianAmine Synthase”; Klatter *et al.*, 2009). Ambos son importantes para la movilización interna y la homeostasis del Fe. La proteína FRD3 se ha implicado en la carga de citrato al xilema, el cual está implicado en la translocación del Fe desde las raíces hasta las hojas (Rogers y Gueriot 2002; Durrett *et al.*, 2007). La elevada expresión del gen FRD3 bajo deficiencia de Fe suele estar asociada con la mayor síntesis de ácidos orgánicos, como citrato y malato, todo lo cual favorece la translocación de Fe de raíces a tallos (Landsberg 1981; Durrett *et al.*, 2007; Kabir *et al.*, 2012). Las proteínas NAS (“NicotianAmine Synthase”) son enzimas que participan en la síntesis de nicotianamina, un agente quelante implicado en el transporte interno de Fe y otros metales, y que facilita el transporte de Fe a través del floema (Klatter *et al.*, 2009; Schuler *et al.*, 2012).

Una vez que las plantas adquieren suficiente Fe, las respuestas se reprimen, para evitar toxicidad por exceso de Fe (Romera *et al.*, 2015; Brumbarova *et al.*, 2015) y también para ahorrar energía, pues son costosas energéticamente. Las respuestas necesitan, pues, estar perfectamente reguladas, de manera que se van induciendo o reprimiendo, dependiendo de las necesidades de la planta. Su regulación no es totalmente conocida, pero ya se han descubierto varios factores de transcripción que participan en la activación de la expresión de los genes implicados en la adquisición de Fe del medio. También se conocen algunas hormonas y sustancias señalizadoras, como el etileno o el óxido nítrico, que participan en la regulación de algunos de esos factores de transcripción.

Al igual que las plantas responden a estreses abióticos, como puede ser la deficiencia de Fe, también responden a estreses bióticos, provocados por ataques de diferentes agentes biológicos (patógenos, insectos, etc). Algunas de las respuestas al ataque de agentes biológicos son localizadas pero otras son sistémicas, lo que implica que las respuestas defensivas también se inducen en partes de la planta alejadas de la parte atacada. Entre las respuestas sistémicas, se encuentran la Respuesta Sistémica Adquirida, conocida como SAR (“Systemic Acquired Resistance”) y la Respuesta Sistémica Inducida, conocida como ISR (“Induced Systemic Resistance”; Pieterse *et al.*, 2014). La SAR ocurre cuando un patógeno ataca una parte de la planta

y se inducen respuestas defensivas en otras partes de la planta alejadas de la atacada. En este tipo de resistencia suele involucrarse al ácido salicílico (Pieterse *et al.*, 2014). En el caso de la ISR, la resistencia sistémica no la inducen patógenos sino microorganismos rizosféricos beneficiosos, como rizobacterias y hongos, que inducen respuestas defensivas en toda la planta. En este último tipo de resistencia juegan un papel importante el etileno y el ácido jasmónico (Knoester *et al.*, 1999; Van der Ent *et al.*, 2008; Hermosa *et al.*, 2012; Pieterse *et al.*, 2014). Parece que ambos tipos de resistencia sistémica (SAR e ISR) actúan a través de rutas de señalización diferentes. El descubrimiento de la ISR parte de 1991, cuando tres grupos de investigación, de manera independiente, proporcionaron evidencias de que la colonización de las raíces por determinadas cepas de bacterias del suelo promovía la salud de las plantas, mediante la estimulación de su sistema de defensa (Alström 1991; Van Peer *et al.*, 1991; Wei *et al.*, 1991). Concretamente, estos autores determinaron que la inoculación de las raíces con diferentes cepas bacterianas de los géneros *Pseudomonas* y *Serratia* repercutía posteriormente en un incremento de los niveles de resistencia contra la infección de hongos fitopatógenos, como *Fusarium oxysporum* o *Colletotrichum orbiculare*. Estos autores demostraron que las bacterias inoculadas y los patógenos permanecían espacialmente separados durante los experimentos, lo que les permitió concluir que el incremento en el nivel de resistencia a la enfermedad era causado por una respuesta sistémica, denominada ISR (Van Peer *et al.*, 1991, Wei *et al.*, 1991). Aunque los trabajos pioneros se realizaron con bacterias, trabajos posteriores han demostrado que la ISR puede ser también inducida por algunos hongos, como *Trichoderma*, *Piriformospora*, el hongo micorrízico *Rhizophagus intraradices* y razas no patogénicas de *Fusarium oxysporum* (Segarra *et al.*, 2009; Alizadeh *et al.*, 2013; Pieterse *et al.*, 2014). Tras el descubrimiento de la ISR en 1991, numerosos trabajos han profundizado en el modo de acción de la ISR y en su regulación (Lemanceau *et al.*, 2009; Pieterse *et al.*, 2014; Zamioudis *et al.*, 2014, 2015). Con respecto al modo de acción, se han propuesto diferentes sustancias promotoras (elicitors) de ISR, provenientes de los microorganismos beneficiosos, las cuales interaccionarían con receptores de la planta, desencadenando la ISR. Entre esas sustancias, se encuentran compuestos orgánicos volátiles (Zhang *et al.*, 2007, 2009; Zamioudis *et al.*, 2015) y sideróforos, que son compuestos liberados por las bacterias y que forman quelatos con el Fe, los cuales son posteriormente absorbidos (Van Loon *et al.*, 1998; Lemanceau *et al.*, 2009; Aznar *et al.*, 2015). En la regulación de la ISR también se han implicado hormonas y sustancias señalizadoras, como el ácido jasmónico, el etileno, la auxina y el NO (Pieterse *et al.*, 1998; Knoester *et al.*, 1999; Zhang *et al.*, 2007; Van der Ent *et al.*, 2008; Acharya *et al.*, 2011; Pieterse *et al.*, 2014; Nie *et al.*, 2017). Mediante el uso del mutante de *Arabidopsis eir1*, que se muestra insensible a etileno únicamente en raíz, se ha determinado que la señalización del etileno en raíz es necesaria para la expresión de la ISR en hojas (Knoester *et al.*, 1999). El NO participa en las respuestas de las plantas a microorganismos patogénicos (Yun *et al.*, 2016) y también en la regulación de la ISR (Acharya *et al.*, 2011). Hace unos años, se identificó que el gen que codifica el factor de transcripción MYB72 es uno de los de mayor inducción en raíces de *Arabidopsis* expuestas a *Pseudomonas fluorescens* (recientemente rebautizada *Pseudomonas simiae*; Zamioudis *et al.*, 2015), inductora de ISR (Verhagen *et al.*, 2004; Van der Ent *et al.*, 2008). Mutantes *myb72* de *Arabidopsis*, que no expresan el gen MYB72, se muestran incapaces de desencadenar ISR contra diferentes patógenos foliares, tras el tratamiento de las raíces con *Pseudomonas fluorescens*. Esto indica que este factor de transcripción tiene un papel relevante en la ruta de señalización de la ISR (Figura. 2; Van der Ent *et al.*, 2008; Segarra *et al.*, 2009; Zamioudis *et al.*, 2014, 2015).

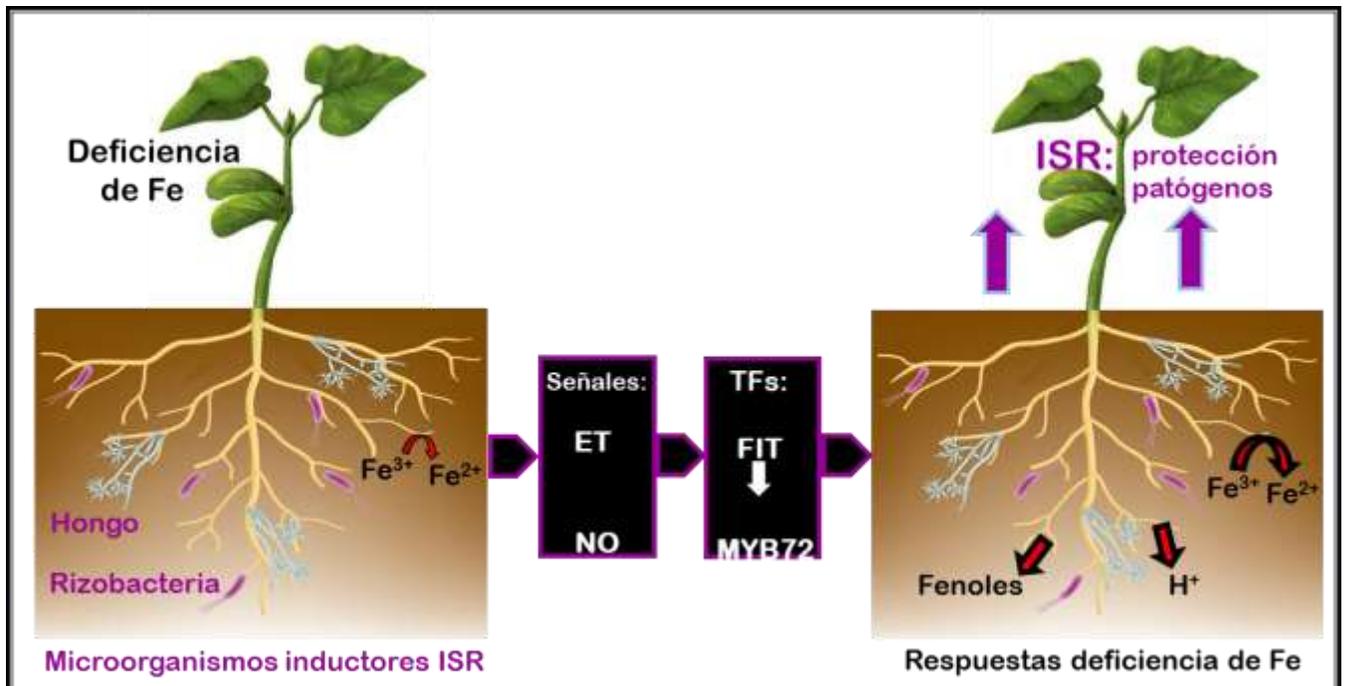


Figura 2. Interrelación entre la regulación de las respuestas a la deficiencia de Fe en plantas dicotiledóneas y la resistencia sistémica inducida (ISR) por microorganismos rizosféricos. Cuando sufren deficiencia de Fe, las plantas dicotiledóneas inducen diferentes respuestas en sus raíces, las cuales favorecen su adquisición. Algunas de esas respuestas, como el incremento de la actividad de la reductasa férrica, la acidificación y la liberación de fenoles, se ha comprobado que se inducen también en presencia de microorganismos inductores de resistencia sistémica (ISR), la cual protege contra el ataque de patógenos. Tanto en la deficiencia de Fe como en la ISR se han implicado sustancias señalizadoras comunes, como el etileno (ET) y el óxido nítrico (NO), y factores de transcripción (TFs) comunes, como el MYB72, cuya expresión depende parcialmente de FIT. Modificado de Pieterse *et al.*, (2014)

En los últimos años se han publicado numerosos trabajos que muestran un papel importante de microorganismos de la rizosfera en la nutrición vegetal en general y en la nutrición férrica en particular. Muchos de esos trabajos se recogen en algunas de las revisiones incluidas en la bibliografía (Jin *et al.*, 2014; Mimmo *et al.*, 2014; Pii *et al.*, 2015). En muchos de ellos, el papel favorable de los microorganismos en la nutrición férrica se asocia con su capacidad para liberar H<sup>+</sup> y diferentes compuestos orgánicos al suelo, como fenoles, sideróforos y ácidos orgánicos, que pueden contribuir a la solubilización del Fe; y también con su capacidad para producir diferentes hormonas y sustancias señalizadoras, como auxina, etileno y NO, que pueden modificar la arquitectura y las funciones de la raíz (Jin *et al.*, 2014; Mimmo *et al.*, 2014; Contreras-Cornejo *et al.*, 2015; Pii *et al.*, 2015, 2016; Garnica-Vergara *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2016a,b; Tsai y Schmidt 2017). En este último sentido, desde el año 2009 (Zhang *et al.*, 2009) se sabe que diversos microorganismos inductores de resistencia sistémica (a partir de ahora, “microorganismos ISR”) son también capaces de inducir respuestas a la deficiencia de Fe, como el incremento de la actividad de la reductasa férrica, la acidificación y la liberación de fenoles; y la expresión de genes asociados a esas respuestas, como FIT, bHLH38, bHLH39, FRO, IRT1, HA, PAL, F6'H1 BGLU42, ABCG37, y otros (Zamioudis *et al.*, 2014, 2015; Zhao *et al.*, 2014; Pii *et al.*, 2016, Scagliola *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2016a; Pelagio-Flores *et al.*, 2017). Curiosamente, el gen MYB72, que es clave en la activación de la ISR, también se induce en las raíces de las plantas que crecen con deficiencia de Fe (Figura. 2; Colangelo y Guerinet 2004; García *et al.*, 2010; Palmer *et al.*, 2013; Zamioudis *et al.*, 2014, 2015). En cuanto a su regulación, hay evidencias de que el etileno y el NO activan su expresión, así como la de muchos otros genes relacionados con la deficiencia de Fe (FIT, bHLH38, bHLH39, BGLU42, ABCG37, FRO2, IRT1, (García *et al.*, 2010; Lucena *et al.*, 2015), y que también se inducen en plantas expuestas a microorganismos ISR (Zamioudis *et al.*, 2014, 2015; Zhou *et al.*, 2016a). Conviene señalar que el etileno y el NO activan la expresión de FIT (García *et al.*, 2010), que la expresión de MYB72 depende parcialmente de FIT (Colangelo y Guerinet 2004; Sivitz *et al.*, 2012), y que la expresión de F6'H1, BGLU42 y ABCG37 depende de MYB72 (Schmid *et al.*, 2014; Zamioudis *et al.* 2014). Esquemáticamente, sería (Fig. 2): Etileno (NO) □ FIT □ MYB72 □ F6'H1, BGLU42 y ABCG37 (estos tres últimos implicados en la síntesis y liberación de fenoles).

Dado que muchas especies de *Pseudomonas*, inductoras de ISR, liberan sideróforos al medio (compuestos que quelatan el Fe y son posteriormente absorbidos por la bacteria), la propia bacteria podría causar deficiencia de Fe a la planta, a la cual ésta respondería induciendo respuestas (Pieterse *et al.*, 2014). Sin embargo, se ha comprobado que mutantes de *P. fluorescens* incapaces de producir sideróforos son, sin embargo, capaces de inducir MYB72 y otros genes relacionados con la absorción del Fe por las plantas. Además, los genes del Fe también se inducen en presencia de compuestos orgánicos volátiles, producidos tanto por rizobacterias como por hongos inductores de ISR (Zhang *et al.*, 2007; Zamioudis *et al.*, 2015). Estos resultados implican que las bacterias, a través de la ISR, inducen respuestas a la deficiencia de Fe sin provocar previamente una deficiencia de este elemento en las plantas.

Por todo lo antes expuesto, la importancia de estos trabajos de innovación tecnológica consiste en dar respuesta a la necesidad de la prospección, producción y mantenimiento de los aislados de microorganismos para la promoción de crecimiento vegetal como una alternativa sustentable para la sostenibilidad de los agroecosistemas en nuestro país.

### 3. Pertinencia y enlace con el Plan Estratégico Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (PENCIYT) 2015-2019

Este proyecto, intenta buscar alternativas que fomenten el desarrollo e intercambio de capacidades científicas en nuestro país por medio de la generación de nuevos conocimientos y aproximaciones metodológicas, así como la promoción y sinergia entre instituciones nacionales e internacionales de investigación. Se busca promover el desarrollo de la Microbiología Ambiental y Agrícola y su integración a la fisiología vegetal como herramienta valiosa en la resolución de problemas del sector agrícola en equilibrio con el medio ambiente y la promoción de la salud. Paralelamente se desarrollarán tesis de licenciatura y maestría, sin descuidar la divulgación, promoción y aplicación de estas alternativas biológicas a lo largo y ancho de nuestro país.

### 4. Impacto esperado (por ejemplo, económico, social, ambiental)

La capacidad de los microorganismos ISR (rizobacterias y hongos) de inducir respuestas a deficiencia de Fe y, por tanto, mejorar la nutrición férrica de las plantas, los sitúa en el centro de atención de futuras investigaciones relacionadas con esta deficiencia. Estos microorganismos podrían ser, por tanto, una alternativa sostenible y ecológica al uso de fertilizantes (fundamentalmente, quelatos). En la actualidad, la medida más frecuentemente utilizada para corregir la clorosis férrica es la aplicación de quelatos sintéticos de Fe al suelo, ya que su acción es rápida y eficaz. Sin embargo, la corrección suele ser temporal y, además, son costosos y potencialmente contaminantes. Al ser altamente solubles, son fácilmente lixiviados, pudiendo llegar al subsuelo y contaminar la capa freática. Otra medida utilizada y muy recomendable es el uso de material vegetal tolerante, pero incluso ésta presenta limitaciones en ciertos suelos. Es por ello que los microorganismos ISR podrían ser un complemento ideal al uso de material vegetal tolerante, disminuyendo así el uso de quelatos sintéticos.

Esta investigación promoverá el uso de alternativas bióticas para no sólo el desarrollo sostenible del sector agrícola, sino que disminuirá progresivamente el uso de fitosanitarios sintéticos y fertilizantes químicos que ponen en riesgo nuestro medio ambiente. A la vez concientizarán a nuestros productores y empresas agrícolas de que hay otras formas de producir que sean sostenibles en el tiempo, ya que el uso indiscriminado y no regulado de agroquímicos no es viable ni económica ni ambientalmente. Se busca también mediante esta investigación, promover desde el sector estatal los incentivos necesarios para facilitar el desarrollo de estas "bioalternativas". Paralelamente se refuerza la formación de recurso humano, de esencial papel para la continuidad de estas investigaciones, lo cual es vital para establecer un programa de trabajo a largo plazo en este tema.

### 5. Objetivos (general, específicos)

Objetivos Generales

1. Conocer mejor las similitudes entre la señalización de las respuestas a deficiencia de Fe en plantas dicotiledóneas y la ISR.
2. Estudiar microorganismos ISR (rizobacterias y hongos) que puedan ser beneficiosos para la nutrición férrica de plantas dicotiledóneas en suelos básicos.

Objetivos específicos

1. Estudiar el efecto de la concentración de Fe en las respuestas a deficiencia de Fe provocadas por microorganismos ISR.
2. Estudiar el papel de los factores de transcripción FIT(FER) y bHLH38 en las respuestas a deficiencia de Fe provocadas por microorganismos ISR.
3. Estudiar el papel en la nutrición férrica de microorganismos ISR ya conocidos.
4. Estudiar el papel en la nutrición férrica de cepas y especies de microorganismos ISR relacionadas con los ya conocidas pero aisladas de suelos básicos.

### 6. Colaboradores del proyecto

**Investigador principal (IP): Dr. Rito H. Herrera Vega, IDIAP, Panamá.** Aislamiento y caracterización bioquímica y microbiológica de microorganismos rizosféricos. Estudiar el efecto de la concentración de Fe en las respuestas a deficiencia de Fe provocadas por microorganismos. Dedicación 50%

**Co-investigador 2 (Co-IP 1): Dr. José Ramos Ruíz, Universidad de Córdoba, España.** Estudiar el papel en la nutrición férrica de cepas y especies de microorganismos. ISR relacionadas con las ya conocidas, pero aisladas de suelos básicos. Dedicación 20%

**Co-investigador 2 (Co-IP 2): Dr. Francisco Javier Romera, Universidad de Córdoba, España.** Estudiar el papel de los factores de transcripción FIT(FER) y bHLH38 en las respuestas a deficiencia de Fe provocadas por microorganismos. IS. Estudiar el efecto de la concentración de Fe en las respuestas a deficiencia de Fe provocadas por microorganismos ISR. Dedicación 15%

**Co-investigador 2 (Co-IP 3): Dr. Esteban Alcántara, Universidad de Córdoba, España.** Estudiar el papel en la nutrición férrica de microorganismos ISR ya conocidos. Dedicación 15%

## 7. Metodología (materiales, métodos y actividades)

Para el **Objetivo General 1** se utilizarán plantas de Arabidopsis, tomate y melón, y algunos de sus mutantes, que se cultivarán en solución nutritiva o en sustrato artificial (perlita, vermiculita) si los microorganismos ISR no se adaptaran bien a la solución. En algunas ocasiones, se utilizarán también plantas de pepino, por la facilidad para estudiar la respuesta de acidificación (provocada por una mayor expresión de gen CsHA1) y los pelillos radicales en esta especie. Arabidopsis y tomate liberan fenoles al medio, pero no liberan flavinas, cosa que sí ocurre en melón y pepino (Hsieh y Waters, 2016; Sisó-Terraza *et al.*, 2016a,b; Sisó-Terraza 2017). De *Arabidopsis thaliana*, se utilizará la estirpe silvestre Columbia y los mutantes fit, eil3, myb72 y gsnor1-3. De tomate, el cultivar silvestre FER y el mutante fer. De melón, el cultivar silvestre Edisto y el mutante fefe. De pepino, el cultivar Ashley. Las plantas se cultivarán en cámaras de cultivo, con condiciones controladas. La mayoría de trabajos sobre la ISR se han realizado con plantas de Arabidopsis cultivadas en placas de Petri con agar o bien con diferentes especies de plantas cultivadas en suelo. El cultivo en agar tiene el inconveniente de la incidencia de la luz en las raíces, que puede alterar su desarrollo (Silva-Navas *et al.*, 2016). Por ello, consideramos más adecuado el cultivo en solución nutritiva, también con Arabidopsis (Lucena *et al.*, 2006; García *et al.*, 2010). Por otra parte, el cultivo en suelo dificulta el estudio de las respuestas a la deficiencia de Fe. Por ello, lo primero será poner a punto una metodología en la cual los tratamientos se hagan a plantas cultivadas en solución nutritiva. Para comprobar que esta metodología funciona, se comprobará que las plantas inoculadas inducen el gen MYB72 (marcador de la ISR), y otros genes y respuestas asociadas a la deficiencia de Fe, en relación a las no inoculadas. Con esta metodología es fácil recolectar las raíces y determinar las respuestas a la deficiencia de Fe, como la actividad de la reductasa férrica, la liberación de fenoles o de flavinas, la acidificación del medio, la formación de pelillos subapicales (Figura 1), etc. Como microorganismos ISR, se utilizarán *Trichoderma asperellum*, *Trichoderma harzianum* o *Pseudomonas fluorescens* (Alizadeh *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2014; Zamioudis *et al.*, 2014, 2015). Si ninguno de ellos fuera bien en solución nutritiva, se intentarían utilizar otros microorganismos ISR, como *Azospirillum brasilense*, que ya se ha probado satisfactoriamente en solución nutritiva (Pii *et al.*, 2016). Para el **Objetivo General 2**, se utilizarán plantas de tomate y pepino, inoculadas o no, que se cultivarán en solución nutritiva y en suelos básicos en macetas. Como norma general, los hongos se cultivarán en agar patata dextrosa (PDA) (Rubio *et al.*, 2017) y las bacterias en agar nutritivo (Zhang *et al.*, 2009; Zhou *et al.*, 2016a). Para estudiar el efecto de los microorganismos, se aplicarán suspensiones de conidias de hongos (103-105 conidias/ml de solución nutritiva o gramo de suelo) o de bacterias viables (unidades formadoras de colonias; 106-108 UFC/ml de solución nutritiva o gramo de suelo) a la solución nutritiva o al suelo (de Santiago *et al.*, 2009; Alizadeh *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2014; Pii *et al.*, 2016).

A continuación, se describe la metodología que se propone para abordar las **actividades** de los diferentes objetivos específicos

- 1) **Estudiar el efecto de la concentración de Fe en las respuestas a deficiencia de Fe provocadas por microorganismos ISR (duración 16 meses-ETAPA 1).** Se conoce el efecto inductor de la ISR sobre la expresión de genes relacionados con el Fe, pero apenas se han determinado las actividades controladas por dichos genes. Sin embargo, debido a la regulación post-transcripcional, puede ocurrir que los ARNm de esos genes incrementen sin que lo hagan sus correspondientes proteínas y respuestas asociadas [p.ej., puede incrementarse el ARNm correspondiente al gen FRO2 (reductasa), pero si éste no se traduce a proteína, la actividad de la reductasa férrica será baja]. Tampoco se ha estudiado si la inducción de los genes se mantiene a lo largo del tiempo independientemente de la concentración de Fe del medio. Para estudiar el efecto de la concentración de Fe, plantas de Arabidopsis o pepino cultivadas en solución nutritiva se transferirán a tratamientos con distintas concentraciones de Fe en la solución nutritiva (10-100 µM). La mitad se inocularán y la mitad no. La inoculación se realizará con *Pseudomonas fluorescens* o *Trichoderma sp.* Dos días después de la inoculación, se empezarán a determinar respuestas a la deficiencia de Fe, como acidificación, reductasa férrica, liberación de fenoles y flavinas, formación de pelillos subapicales, etc. A partir de que se observe inducción de las respuestas, se seguirán determinando éstas y se irán recogiendo plantas sucesivamente (4, 6, 8 o 10 días) para analizar la expresión de genes asociados con dichas respuestas en raíz, por RT-PCR [FER (FIT); bHLH38; bHLH39; MYB72; MYB10; FRO; IRT1; HA; BGLU42; F6'H1, ABCG37; FRD3; NAS; PPC]. La actividad de la reductasa férrica se determinará según la metodología de Lucena *et al.* 2006 y la proteína IRT1 por "immunoblot" (Vert *et al.* 2002). Los fenoles y flavinas totales liberados a la solución nutritiva se analizarán por fluorimetría (Rodríguez-Celma *et al.*, 2013; Zamioudis *et al.*, 2014; Sisó-Terraza *et al.*, 2016a,b).
- 2) **Estudiar el papel de los factores de transcripción FIT(FER) y bHLH38 en las respuestas a deficiencia de Fe provocadas por microorganismos ISR. (duración 15 meses- ETAPA 1).** La mayoría de respuestas a la deficiencia de Fe dependen de FIT (FER), y de otros factores de transcripción que interaccionan con él, como bHLH38 (Yuan *et al.* 2008), pero hay algunas que no, con lo cual es interesante saber si los microorganismos ISR inducen sólo las que dependen de FIT-bHLH38 o inducen también otras. Para ello, se someterán los mutantes fer de tomate, fit de Arabidopsis y fefe de melón (este último, mutado

en el gen bHLH38), así como sus respectivos cultivares silvestres, a tratamiento con *Pseudomonas fluorescens* o *Trichoderma* sp. y se comparará la expresión de genes Fe y respuestas asociadas (como en Objetivo 1) de cada mutante en relación con su respectivo cultivar silvestre y su correspondiente control no tratado.

- 3) **Estudiar el papel en la nutrición férrica de microorganismos ISR ya conocidos. (duración 12 meses- ETAPA 2).** Para este objetivo, además de los microorganismos ISR utilizados en el Objetivo 1, se podrán utilizar otros, como *Bacillus subtilis*, *Piriformospora indica*, el hongo micorrízico *Rhizophagus intraradices*, y razas no patogénicas de *Fusarium oxysporum*, como la disponible en el grupo del Profesor Trapero (Segarra *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2009; Alizadeh *et al.*, 2013; Pieterse *et al.*, 2014). También se probarán preparados comerciales de microorganismos ISR. Se aplicarán microorganismos individualmente y también mezclas de microorganismos (Alizadeh *et al.*, 2013), a diferentes dosis. Previamente a su utilización, se hará una revisión bibliográfica para buscar aquellos microorganismos que puedan ser más prometedores (aquellos que ya se encuentren en nuestros suelos, para no introducir especies extrañas; que estén adaptados a suelos básicos; con facilidad de manejo; etc). Se utilizarán plantas de tomate (libera fenoles) y pepino (libera flavinas) (Sisó-Terraza 2017). Primeramente, se cultivarán en soluciones nutritivas y después en suelos básicos, en macetas. En las soluciones nutritivas, se aplicará bicarbonato y carbonato (que semejan las condiciones de suelos básicos; García *et al.*, 2014) para ver qué microorganismos se comportan mejor y así seleccionarlos para estudios posteriores en suelo. En aquellos microorganismos que mejoren la nutrición férrica de las plantas, y que no hayan sido estudiados en el Objetivo 1, se determinará la expresión del gen MYB72 (marcador de ISR) y también de genes relacionados con la adquisición del Fe (FIT, FRO, IRT1, HA,...) y sus respuestas asociadas (actividad de la reductasa férrica, acidificación,...), para tratar de conocer las razones de su eficacia. En este objetivo, además de los métodos de inoculación descritos en la metodología general, se probará también la aplicación de los microorganismos sobre las semillas (Rubio *et al.*, 2017). Con las cepas más promotoras, se realizarán ensayos en plantas cultivadas en macetas con suelo básico (estéril y no estéril), para ver su posible efecto beneficioso sobre la nutrición férrica. Para ello, se determinarán en las plantas parámetros de crecimiento, se harán lecturas SPAD (relacionadas con la clorofila) y se analizará la concentración de Fe en hojas jóvenes.
- 4) **Estudiar el papel en la nutrición férrica de cepas y especies de microorganismos ISR relacionadas con los ya conocidas pero aisladas de suelos básicos. (duración 12 meses- ETAPA 2).** De aquellos microorganismos ISR que den mejor resultado en el objetivo anterior, se intentarán aislar cepas, o especies relacionadas, de suelos calcáreos de nuestro entorno. El aislamiento de microorganismos rizosféricos se realizará de acuerdo a lo publicado en Alizadeh *et al.* (2013), tomando muestras de 1g que se suspenderán en 10 ml de solución 10 mM MgSO<sub>4</sub> y se realizarán diluciones seriadas en placas con medio Agar patata (para hongos) o caldo nutritivo (para bacterias). Para facilitar el aislamiento de hongos y bacterias, los medios de cultivo se suplementarán con sustancias antibacterianas (como el cloranfenicol) o antifúngicas (como la cicloheximida) respectivamente. La identificación de microorganismos aislados se realizará en base a diversas pruebas morfológicas (aspecto, observación al microscopio), bioquímicas (características metabólicas y enzimáticas) o moleculares (secuenciación de regiones específicas, generalmente ribosómicas) (Alizadeh *et al.*, 2013; Jin *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2014; Scagliola *et al.*, 2016)

## 8. Resultados (científicos, tecnológicos, entre otros)

### Objetivos Generales (resultados esperados por objetivo)

1. Mejorar la nutrición férrica de plantas dicotiledóneas mediante la aplicación de microorganismos ISR al suelo.
2. a) Estudiar el papel en la nutrición férrica de microorganismos ISR ya conocidos; b) Estudiar el papel en la nutrición férrica de cepas y especies de microorganismos ISR relacionadas con los ya conocidas pero aisladas de suelos básicos. Comprobar si el posible efecto beneficioso de estos últimos está relacionado con su inducción de respuestas a deficiencia de Fe.

### Objetivos Específicos (resultados por objetivo)

1. Hasta ahora, se ha visto que los microorganismos ISR inducen la expresión de genes relacionados con adquisición de Fe pero, dada la regulación post-transcripcional de muchos de esos genes, no se sabe hasta qué punto las respuestas asociadas a dichos genes llegan a materializarse y en qué medida. Existe algún trabajo en el que se estudia el efecto de la concentración de Fe, pero con plantas cultivadas en agar y analizando sólo algunas de las respuestas.
2. La mayoría de respuestas a la deficiencia de Fe dependen del factor de transcripción FIT pero hay algunas que no, con lo cual sería interesante saber si la ISR induce sólo las que dependen de FIT o también induce otras. En *Arabidopsis*, FIT necesita interactuar con otros factores de transcripción, como bHLH38 o bHLH39, que son redundantes, para activar algunas respuestas (Yuan *et al.* 2008). Esa redundancia implica que el mutante *Atbhlh38* no muestra ningún fenotipo aparente. Sin embargo, en melón, el mutante *fefe* (*Cmbhlh38*) sí presenta un fenotipo aparente puesto que no induce respuestas a la deficiencia de Fe (Ramamurthy y Waters 2017). Creemos que sería interesante saber si este mutante de melón también tiene bloqueadas las respuestas de Fe inducidas por microorganismos ISR. Todo esto contribuiría a conocer la verdadera extensión del solapamiento entre la ISR y las respuestas a la deficiencia de Fe.
3. Dentro de este objetivo, se quiere estudiar el papel sobre la nutrición férrica de plantas dicotiledóneas de diferentes rizobacterias y hongos ya reconocidos como inductores de ISR. Primeramente, se aplicarán en medios más controlados, como a plantas cultivadas en soluciones nutritivas o en sustratos artificiales (perlita) y después en suelos básicos, en macetas. Se aplicarán microorganismos individualmente y también mezclas de microorganismos (Alizadeh *et al.*, 2013). Previamente a su utilización, se hará una revisión bibliográfica para buscar aquellos microorganismos que puedan ser más prometedores (aquellos que ya se encuentren en nuestros suelos, para no introducir especies extrañas; que estén adaptados a

suelos básicos; con facilidad de manejo; etc). También se probarán preparados comerciales de microorganismos ISR.

4. De aquellas especies de microorganismos que resulten más interesantes en el objetivo anterior, se intentarán aislar cepas o especies relacionadas que estén presentes en los suelos básicos de nuestro entorno, para tratar de buscar las que proporcionen un mejor resultado. Una vez aisladas, se estudiará si dichas cepas inducen respuestas a la deficiencia de Fe y mejoran la nutrición férrica de las plantas

## 9. Productos científicos (publicaciones, graduados, entre otros)

Publicaciones: es nuestro objetivo difundir los conocimientos y experiencias obtenidos durante el proyecto a fin de más allá de un artículo científico, contribuir a concientizar a nuestros productores, empresas y sector estatal de la importancia de una producción sostenible y a la vez amigable con el ambiente. También, es fundamental la formación de nuevo talento tanto a nivel de licenciatura como de postgrado en esta área tan sensible de nuestro acontecer nacional.

## 10. Estrategia de divulgación de los resultados del proyecto

Aprovechando la experiencia obtenida con la organización de las jornadas de Microbiología Agrícola y Ambiental dentro del programa de fomento al sector agropecuario de SENACYT, será mucho más efectiva la divulgación entre productores, empresas y sector agropecuario estatal. Es clave poder comunicar a estos diferentes sectores, nuestros resultados de manera que es imperativo una estrategia divulgativa a nivel de talleres y también de publicaciones en boletines al alcance de los sectores antes mencionados.

## 11. Consideraciones especiales (si aplica)

Es de importancia fundamental que este proyecto genere una colección de microorganismos de importancia agrícola y que se establezcan las regulaciones pertinentes para el uso de este recurso biótico en nuestro país a fin de salvaguardar nuestra riqueza y diversidad biológica.

## Referencias bibliográficas

1. Acharya K, Chandra S, Chakraborty N, Acharya R (2011) Nitric oxide functions as a signal in induced systemic resistance. Arch. Phytopath. Plant Protect. 44:1335-1342.
2. Alizadeh H, Behboudi K, Ahmadzadeh M, Javan-Nikkhah M, Zamioudis C, Pieterse CMJ, Bakker PAHM (2013) Induced systemic resistance in cucumber and Arabidopsis thaliana by the combination of Trichoderma harzianum Tr6 and Pseudomonas sp. Ps14. Biol. Control 65: 14-23.
3. Alström S (1991) Induction of disease resistance in common bean susceptible to halo blight bacterial pathogen after seed bacterization with rhizosphere pseudomonas. J. Gen. Appl. Microbiol. 37: 495-501.
4. Andaluz S, López-Millán AF, Peleato ML, Abadía J, Abadía A (2002) Increases in phosphoenolpyruvate carboxylase activity in iron-deficient sugar beet roots: Analysis of spatial localization and post-translational modification. Plant Soil 241: 43-48.
5. Arizmendi-Galicia N, Rivera-Ortiz P, De la Cruz-Salazar F, Castro-Meza BI, De la Garza-Requena F (2011) Lixiviación de hierro quelatado en suelos calcáreos. Terra Latinoamericana 29: 231-237.
6. Aznar A, Chen NWG, Thomine S, Dellagi A (2015) Immunity to plant pathogens and iron homeostasis. Plant Sci. 240: 90-97.
7. Bacaicoa E, Mora V, Zamarreño AM, Fuentes M, Casanova E, García-Mina, JM (2011) Auxin: a major player in the shoot-to-root regulation of root Fe-stress physiological responses to Fe deficiency in cucumber plants. Plant Physiol. Biochem. 49: 545-556.
8. Bauer P, Ling, HQ, Guerinot ML (2007) FIT, the FER-LIKE IRON DEFICIENCY INDUCED TRANSCRIPTION FACTOR in Arabidopsis. Plant Physiol. Biochem. 45: 260-261.
9. Brumbarova T, Bauer P, Ivanov R (2015) Molecular mechanisms governing Arabidopsis iron uptake. Trends Plant. Sci. 20: 124-133.
10. Chen WW, Yang JL, Qin C, Jin CW, Mo JH, Ye T, et al (2010) Nitric oxide acts downstream of auxin to trigger root ferric-chelate reductase activity in response to iron deficiency in Arabidopsis thaliana. Plant Physiol. 154: 810-819.
11. Colangelo EP, Guerinot ML (2004) The essential basic helix-loop-helix protein FIT1 is required for the iron deficiency response. Plant Cell 16: 3400-3412.
12. Connolly EL, Campbell NH, Grotz N, Prichard CL, Guerinot ML (2003) Overexpression of the FRO2 ferric chelate reductase confers tolerance to growth on low iron and uncovers posttranscriptional control. Plant Physiol. 133: 1102-1110.

13. Contreras-Cornejo HA, López-Bucio JS, Méndez-Bravo A, Macías- Rodríguez LI, Ramos-Vega M, Guevara-García A, López-Bucio J (2015) *Trichoderma atroviride* alters *Arabidopsis* root-system architecture modulating the mitogen-activated protein kinase 6 activity through ethylene and auxin signaling pathways. *Mol. Plant Microbe Interact.* 28: 701–710.
14. Corpas FJ, Alché JD, Barroso JB (2013) Current overview of S-nitrosoglutathione (GSNO) in higher plants. *Frontiers Plant Sci.* 4: 126.
15. de Santiago A, García-López AM, Quintero JM, Avilés M, Delgado A (2013) Effect of *Trichoderma asperellum* strain T34 and glucose addition on iron nutrition in cucumber grown on calcareous soils. *Soil Biol. Biochem.* 57: 598–605.
16. de Santiago A, Quintero JM, Avilés M, Delgado A (2009) Effect of *Trichoderma asperellum* strain T34 on iron nutrition in white lupin. *Soil Biol. Biochem.* 41: 2453-2459.
17. de Zelicourt A, Al-Yousif M, Hirt H (2013) Rhizosphere microbes as essential partners for plant stress tolerance. *Mol. Plant* 6: 242–245. Durrett TP, Gassmann W, Rogers EE (2007) The FRD3-mediated efflux of citrate into the root vasculature is necessary for efficient iron translocation. *Plant Physiol.* 144: 197-205.
18. Esquivel-Cote R, Gavilanes-Ruiz M, Cruz-Ortega R, Huante P (2013) Importancia agrobiotecnológica de la enzima ACC desaminasa en rizobacterias, una revisión. *Rev. Fitotec. Mex.* 36: 251-258.
19. Fourcroy P, Sisó-Terraza P, Sudre D, Saviróon M, Reyt G, Gaymard F, et al (2014) Involvement of the ABCG37 transporter in secretion of scopoletin and derivatives by *Arabidopsis* roots in response to iron deficiency. *New Phytol.* 201: 155-167.
20. Fourcroy P, Tissot N, Reyt G, Gaymard F, Briat JF, Dubos C (2016) Facilitated Fe nutrition by phenolic compounds excreted by the *Arabidopsis* ABCG37/PDR9 transporter requires the IRT1/FRO2 highaffinity root Fe<sup>2+</sup> transport system. *Mol. Plant* 9: 485-488.
21. Gamalero E, Glick BR (2015) Bacterial modulation of plant ethylene levels. *Plant Physiol.* 169: 13-22.
22. García MJ, García-Mateo MJ, Lucena C, Romera FJ, Rojas CL, Alcántara E, et al (2014) Hypoxia and bicarbonate could block the expression of iron acquisition genes in Strategy I plants by affecting ethylene synthesis and signaling in different ways. *Physiol. Plant.* 150: 95-106.
23. García MJ, Lucena C, Romera FJ, Alcántara E, Pérez-Vicente R (2010) Ethylene and nitric oxide involvement in the up-regulation of key genes related to iron acquisition and homeostasis in *Arabidopsis*. *J. Exp. Bot.* 61: 3885-3899.
24. García MJ, Romera FJ, Lucena C, Alcántara E, Pérez-Vicente R (2015) Ethylene and the regulation of physiological and morphological responses to nutrient deficiencies. *Plant Physiol.* 169: 51-60.
25. García MJ, Romera FJ, Stacey MG, Stacey G, Villar E, Alcántara E, et al (2013) Shoot to root communication is necessary to control the expression of iron-acquisition genes in Strategy I plants. *Planta* 237: 65-75.
26. García MJ, Suárez V, Romera FJ, Alcántara E, Pérez-Vicente R (2011) A new model involving ethylene, nitric oxide and Fe to explain the regulation of Fe-acquisition genes in Strategy I plants. *Plant Physiol. Biochem.* 49: 537-544.
27. García-López AM, Avilés M, Delgado A (2016) Effect of various microorganisms on phosphorus uptake from insoluble Ca-phosphates by cucumber plants. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 179: 454-465.
28. Garnica-Vergara A, Barrera-Ortiz S, Muñoz-Parra E, Raya-González J, Méndez-Bravo A, MacíasRodríguez L, Ruiz-Herrera LF, López-Bucio J (2016) The volatile 6-pentyl-2H-pyran-2-one from *Trichoderma atroviride* regulates *Arabidopsis thaliana* root morphogenesis via auxin signaling and ETHYLENE INSENSITIVE 2 functioning. *New Phytol.* 209: 1496-1512.
29. González-Guerrero M, Escudero V, Saéz A, Tejada-Jiménez M (2016) Transition metal transport in plants and associated endosymbionts: arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia. *Front. Plant Sci.* 7: 1088.
- Graziano M, Lamattina L (2007) Nitric oxide accumulation is required for molecular and physiological responses to iron deficiency in tomato roots. *Plant J.* 52: 949-960. Hermosa R, Viterbo A, Chet I, Monte E (2012) Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiol.* 158: 17-25.
30. Hsieh EJ, Waters BM (2016) Alkaline stress and iron deficiency regulate iron uptake and riboflavin synthesis gene expression differently in root and leaf tissue: implications for iron deficiency chlorosis. *J. Exp. Bot.* 67: 5671-5685.
31. Ivanov R, Brumbarova T, Bauer P (2012) Fitting into the harsh reality: regulation of iron-deficiency responses in dicotyledonous plants. *Mol. Plant* 5: 27-42.
32. Jin CW, He XX, Zheng SJ (2007) Iron deficiency-induced secretion of phenolics facilitates the reutilization of root apoplastic iron in red clover. *Plant Physiol.* 144: 278-285. Jin CW, Ye YQ, Zheng SJ (2014) An underground tale: contribution of microbial activity to plant iron acquisition via ecological processes. *Ann. Bot.* 113: 7-18.
33. Kabir AH, Paltridge NG, Able AJ, Paull JG, Stangoulis JCR (2012) Natural variation for Fe-efficiency is associated with up-regulation of Strategy I mechanisms and enhanced citrate and ethylene synthesis in *Pisum sativum* L. *Planta* 235: 1409-1419.
34. Khatibi B, Schäfer P (2012) Ethylene in mutualistic symbioses. *Plant Signal. Behav.* 7: 1634-1638.
35. Klatte M, Schuler M, Wirtz M, Fink-Straube C, Hell R, Bauer P (2009) The analysis of *Arabidopsis* nicotianamine synthase mutants reveals functions for nicotianamine in seed iron loading and iron deficiency responses. *Plant Physiol.* 150: 257-271.
36. Knoester M, Pieterse CMJ, Bol JF, Van Loon LC (1999) Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by rhizobacteria requires ethylene-dependent signaling at the site of application. *Mol. Plant Microbe Interact.* 12: 720-727.

- 37.Kobayashi T, Nishizawa NK (2012) Iron uptake, translocation, and regulation in higher plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 63: 131-152. Kramer D, Römheld V, Landsberg E, Marschner H (1980) Induction of transfer-cell formation by iron deficiency in the root epidermis of *Helianthus annuus* (L.). *Planta* 147: 335-339.
- 38.Kwon E, Feechan A, Yun BW, Hwang BH, Pallas JA, Kang JG, Loake GJ (2012) AtGSNOR1 function is required for multiple developmental programs in *Arabidopsis*. *Planta* 236: 887-900
- 39.Landsberg EC (1981) Organic acid synthesis and release of hydrogen ions in response to Fe deficiency stress of mono- and dicotyledonous plant species. *J. Plant Nutr.* 3: 579-591.
- 40.Landsberg EC (1984) Regulation of iron-stress-response by whole plant activity. *J. Plant Nutr.* 7: 609-621.
- 41.Landsberg EC (1996) Hormonal regulation of iron-stress response in sunflower roots: a morphological and cytological investigation. *Protoplasma* 194: 69-80.
- 42.Lemanceau P, Expert D, Gaymard F, Bakker PAHM, Briat JF (2009) Role of iron in plant-microbe interactions. *Adv. Bot. Res.* 51: 491-549.
- 43.Liang G, Zhang H, Li X, Ai Q, Yu D (2017) bHLH transcription factor bHLH115 regulates iron homeostasis in *Arabidopsis thaliana*. *J. Exp. Bot.* 68: 1743-1755.
- 44.Lindsay, WL (1995) Chemical reactions in soils that affect iron availability to plants. A quantitative approach. In *Iron Nutrition in Soils and Plants*, ed. J Abadía (Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers). 7-14.
- 45.Lingam S, Mohrbacher J, Brumbarova T, Potuschak T, Fink-Straube C, Blondet E, et al (2011) Interaction between the bHLH transcription factor FIT and the ETHYLENE INSENSITIVE3/ ETHYLENE INSENSITIVE3-LIKE1 reveals molecular linkage between the regulation of iron acquisition and ethylene signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 23: 1815-1829.
- 46.Ling HQ, Bauer P, Bereczky Z, Keller B, Ganai M (2002) The tomato fer gene encoding a bHLH protein controls iron-uptake responses in roots. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 13938-13943.
- 47.Liu W, Li Q, Wang Y, Wu T, Yang Y, Zhang X, Han Z, Xu X (2017) Ethylene response factor AtERF72 negatively regulates *Arabidopsis thaliana* response to iron deficiency. *Biochem. Biophys. Research Comm.* doi: 10.1016/j.bbrc.2017.04.014
- 48.Lucena C, Romera FJ, García MJ, Alcántara E, Pérez-Vicente R (2015) Ethylene participates in the regulation of Fe deficiency responses in Strategy I plants and in the rice. *Frontiers Plant Sci.* 6:1056.
- 49.Lucena C, Waters BM, Romera FJ, García MJ, Morales M, Alcántara E, et al (2006) Ethylene could influence ferric reductase, iron transporter and H<sup>+</sup>-ATPase gene expression by affecting FER (or FER-like) gene activity. *J. Exp. Bot.* 57: 4145-4154.
- 50.Marschner H (2012) *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 3rd Edition, Academic Press. London.
- 51.Maurer F, Müller S, Bauer P (2011) Suppression of Fe deficiency gene expression by jasmonate. *Plant Physiol. Biochem.* 49: 530-536.
- 52.McDonnell L, Plett JM, Andersson-Gunneras S, Kozela C, Dugardeyn K, Van Der Straeten D, et al (2009) Ethylene levels are regulated by a plant encoded 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase. *Physiol. Plant.* 136: 94-109.
- 53.Meiser J, Lingam S, Bauer P (2011) Post-transcriptional regulation of the Fe deficiency bHLH transcription factor FIT is affected by iron and nitric oxide. *Plant Physiol.* 157: 2154-2166.
- 54.Mimmo T, Del Buono D, Terzano R, Tomasi N, Vigani G, Crecchio C, et al (2014) Rhizospheric organic compounds in the soil-microorganism-plant system: their role in iron availability. *Eur. J. Soil Sci.* 65: 629-642.
- 55.Morales I (2013) Función de los genes MYB72 y EIL3 en la regulación de las respuestas a la deficiencia de hierro en plantas de Estrategia I. TPFC, ETSIAM-Córdoba.
- 56.Nie P, Li X, Wang S, Guo J, Zhao Hand Niu D (2017) Induced Systemic Resistance against *Botrytis cinerea* by *Bacillus cereus* AR156 through a JA/ET- and NPR1-dependent signaling pathway and activates PAMP-triggered immunity in *Arabidopsis*. *Front. Plant Sci.* 8: 238.
- 57.Orozco-Mosqueda MC, Velázquez-Becerra C, Macías-Rodríguez LI, Santoyo G, Flores-Cortez I, Alfaro-58.Cuevas R, et al (2013) *Arthrobacter agilis* UMCV2 induces iron acquisition in *Medicago truncatula* (Strategy I plant) in vitro via dimethylhexadecylamine emission. *Plant Soil* 362: 51-66.
- 59.Palmer CM, Hind, MN, Schmidt H, Clemens S, Guerinot ML (2013) MYB10 and MYB72 are required for growth under iron-limiting conditions. *PLoS Genet.* 9: e1003953.
- 60.Pelagio-Flores R, Esparza-Reynoso S, Garnica-Vergara A, López-Bucio J, Herrera-Estrella A (2017) *Trichoderma*-induced acidification is an early trigger for changes in *Arabidopsis* root growth and determines fungal phytostimulation. *Front. Plant Sci.* 8: 822
- 61.Pierik R, Sasidharan R, Voeselek LACJ (2007) Growth control by ethylene: adjusting phenotypes to the environment. *J. Plant Growth Regul.* 26:188-200.
- 62.Pieterse CMJ, Van Wees SCM, Van Pelt JA, Knoester M, Laan R, Gerrits H, et al (1998) A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 10: 1571-1580.
- 63.Pieterse CMJ, Zamioudis C, Berendsen RL, Weller DM, VanWees SCM, Bakker PAHM (2014) Induced Systemic Resistance by beneficial microbes. *Annu. Rev. Phytopathol.* 52: 347-75.
- 64.Pii Y, Marastoni L, Springeth C, Fontanella MC, Beone GM, Cesco S, Mimmo T (2016) Modulation of Fe acquisition process by *Azospirillum brasilense* in cucumber plants. *Environ. Exp. Bot.* 130: 216-225.
- 65.Pii Y, Mimmo T, Tomasi N, Terzano R, Cesco S, Crecchio C (2015) Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. A review. *Biol. Fertil. Soils* 51: 403-415.
- 66.Ramamurthy RK, Waters BM (2017) Mapping and characterization of the fefe gene that controls iron uptake in melon (*Cucumis melo* L.). *Front. Plant Sci.* 8: 1003.

67. Rodríguez-Celma J, Lin WD, Fu GM, Abadía J, López-Millán AF, Schmidt W (2013) Mutually exclusive alterations in secondary metabolism are critical for the uptake of insoluble iron compounds by *Arabidopsis* and *Medicago truncatula*. *Plant Physiol.* 162: 1473-1485.
68. Rodríguez-Celma J, Schmidt W (2013) Reduction-based iron uptake revisited. On the role of secreted iron-binding compounds. *Plant Signal. Behav.* 8: e26116.
69. Rogers EE, Guerinot ML (2002) FRD3, a member of the multidrug and toxin efflux family, controls iron deficiency responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 14: 1787-1799.
70. Romera FJ, Alcántara E (1994) Iron-deficiency stress responses in cucumber (*Cucumis sativus* L.) roots. A possible role for ethylene? *Plant Physiol.* 105: 1133-1138
71. Romera FJ, Alcántara E (2004) Ethylene involvement in the regulation of Fe-deficiency stress responses by Strategy I plants. *Funct. Plant Biol.* 31: 315-328.
72. Romera FJ, Alcántara E, de la Guardia MD (1992) Effects of bicarbonate, phosphate and high pH on the reducing capacity of Fe-deficient sunflower and cucumber plants. *J. Plant Nut.* 15: 1519-1530
73. Romera FJ, Alcántara E, De la Guardia MD (1999) Ethylene production by Fe-deficient roots and its involvement in the regulation of Fe-deficiency stress responses by Strategy I plants. *Ann. Bot.* 83: 51-55.
74. Romera FJ, García MJ, Alcántara E, Pérez-Vicente R (2011) Latest findings about the interplay of auxin, ethylene and nitric oxide in the regulation of Fe deficiency responses by Strategy I plants. *Plant Signal. Behav.* 6: 167-170.
75. Romera FJ, Lucena C, García MJ, Alcántara E, Pérez-Vicente R (2015) Regulation of Fe deficiency responses in wt pea and some of its mutants (brz and dgl). In *Pisum sativum: Cultivation, Functional Properties and Health Benefits*, ed. S Becket (New York: Nova Science Publishers, Inc). 1-20.
76. Romera FJ, Lucena C, García MJ, Alcántara E, Pérez-Vicente R (2017) The role of ethylene and other signals in the regulation of Fe deficiency responses by dicot plants. In *Stress Signaling in Plants: Genomics and Proteomics Perspectives*, Vol 2, eds. Sarwat M, Ahmad A, Abdin MZ, Ibrahim MM (Cham, Switzerland: Springer). 277-300.
77. Römheld V, Marschner H (1986) Mobilization of iron in the rhizosphere of different plant species. *Adv. Plant Nutr.* 2: 155-204.
78. Rubio MB, Hermosa R, Vicente R, Gómez-Acosta FA, Morcuende R, Monte E, et al (2017) The combination of *Trichoderma harzianum* and chemical fertilization leads to the deregulation of phytohormone networking, preventing the adaptive responses of tomato plants to salt stress. *Front. Plant Sci.* 8: 294.
79. Sánchez R, Flores A, Cejudo FJ (2006) *Arabidopsis* phosphoenolpyruvate carboxylase genes encode immunologically unrelated polypeptides and are differentially expressed in response to drought and salt stress. *Planta* 223: 901-909
80. Santi S, Cesco S, Varanini Z, Pinton R (2005) Two plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase genes are differentially expressed in iron-deficient cucumber plants. *Plant Physiol. Biochem.* 43: 287-292.
81. Sauter M, Moffatt B, Saechao MC, Hell R, Wirtz M (2013) Methionine salvage and Sadenosylmethionine: essential links between sulfur, ethylene and polyamine biosynthesis. *Biochem. J.* 451: 145-154.
82. Scagliola M, Pii Y, Mimmo T, Cesco S, Ricciuti P, Crecchio C (2016) Characterization of plant growth promoting traits of bacterial isolates from the rhizosphere of barley (*Hordeum vulgare* L.) and tomato (*Solanum lycopersicon* L.) grown under Fe sufficiency and deficiency. *Plant Physiol. Biochem.* 107: 187-196.
83. Schmid NB, Giehl RFH, Döll S, Mock HP, Strehmel N, Scheel D, et al (2014) Feruloyl-CoA 6'Hydroxylase1-dependent coumarins mediate iron acquisition from alkaline substrates in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 164: 160-172.
84. Schuler M, Rellán-Álvarez R, Fink-Straube C, Abadía J, Bauer P (2012) Nicotianamine functions in the phloem-based transport of iron to sink organs, in pollen development and pollen tube growth in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 24: 2380-2400.
85. Segarra G, Van der Ent S, Trillas I, Pieterse CMJ (2009) MYB72, a node of convergence in induced systemic resistance triggered by a fungal and a bacterial beneficial microbe. *Plant Biol.* 11: 90-96.
86. Séguéla M, Briat JF, Vert G, Curie C (2008) Cytokinins negatively regulate the root iron uptake machinery in *Arabidopsis* through a growth-dependent pathway. *Plant J.* 55: 289-300.
87. Shakeel SN, Wang X, Binder BM, Schaller GE (2013) Mechanisms of signal transduction by ethylene: overlapping and non-overlapping signalling roles in a receptor family. *AoB PLANTS* 5: plt010.
88. Shanmugam V, Wang YW, Tsednee M, Karunakaran K, Yeh KC (2015) Glutathione plays an essential role in nitric oxide-mediated iron-deficiency signaling and iron-deficiency tolerance in *Arabidopsis*. *Plant J.* 84: 464-477.
89. Shen J, Li C, Mi G, Li L, Yuan L, Jiang R, Zhang F (2012) Maximizing root/rhizosphere efficiency to improve crop productivity and nutrient use efficiency in intensive agriculture of China. *J. Exp. Bot.* doi:10.1093/jxb/ers342 89.
90. Shen C, Yang Y, Liu K, Zhang L, Guo H, Sun T, Wang H (2016) Involvement of endogenous salicylic acid in iron-deficiency responses in *Arabidopsis*. *J. Exp. Bot.* doi:10.1093/jxb/erw196
91. Silva-Navas J, Moreno-Risueno MA, Manzano C, Téllez-Robledo B, Navarro-Neila S, Carrasco V, et al (2016) Flavonols mediate root phototropism and growth through regulation of proliferation-to-differentiation transition. *Plant Cell* 28: 1372-1387.
92. Sisó-Terraza P (2017) *Metabolitos Secundarios Exudados por Raíces de Plantas de Estrategia I en Respuesta a la Deficiencia de Hierro: Caracterización, Transporte y Función* (Tesis Doctoral, Universidad de Lérida, España).
92. Sisó-Terraza P, Luis-Villarroya A, Fourcroy P, Briat J-F, Abadía A, Gaymard F, Abadía J, 92. Álvarez-Fernández A (2016a) Accumulation and secretion of coumarinolignans and other coumarins in *Arabidopsis thaliana* roots in response to iron deficiency at high pH. *Front. Plant Sci.* 7: 1711.
93. Sisó-Terraza P, Ríos JJ, Abadía J, Abadía A, Álvarez-Fernández A (2016b) Flavins secreted by roots of iron-deficient *Beta vulgaris* enable mining of ferric oxide via reductive mechanisms. *New Phytol.* 209: 733-745.

- 94.Sivitz AB, Hermand V, Curie C, Vert G (2012) Arabidopsis bHLH100 and bHLH101 control iron homeostasis via a FIT-independent pathway. *PLoS ONE* 7: e44843.
- 95.Torrent J, Barberis E, Gil-Sotres F (2007) Agriculture as a source of phosphorus for eutrophication in southern Europe. *Soil Use Manage* 23: 25-35.
- 96.Tsai HH, Schmidt W (2017) Mobilization of iron by plant-borne coumarins. *Trends Plant Sci.* 22: 538548.
- 97.Van der Ent S, Verhagen BWM, Van Doorn R, Bakker D, Verlaan MG, Pel MJC, et al (2008) MYB72 is required in early signaling steps of rhizobacteria induced systemic resistance in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 146: 1293-1304.
- 98.Van Loon LC, Bakker PAHM, Pieterse CMJ (1998) Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36: 453-483.
- 99.Van Peer R, Niemann GJ, Schippers B (1991) Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of Fusarium wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r. *Phytopathology* 81:728-734.
- 100.Verbon EH, Liberman LM (2016) Beneficial microbes affect endogenous mechanisms controlling root development. *Trends Plant Sci.* 21: 3218-219.
- 101.Verhagen BWM, Glazebrook J, Zhu T, Chang H-S, Van Loon LC, Pieterse CMJ (2004) The transcriptome of rhizobacteria-induced systemic resistance in Arabidopsis. *Mol. Plant Microb. Interact.* 17: 895–908.
- 102.Vert G, Grotz N, Dédaldéchamp F, Gaymard F, Guerinot ML, Briat JF, Curie C (2002) IRT1, an Arabidopsis transporter essential for iron uptake from the soil and for plant growth. *Plant Cell* 14: 1223-1233.
- 103.Vorwieger A, Gryczka C, Czihal A, Douchkov D, Tiedemann J, Mock HP, et al (2007) Iron assimilation and transcription factor controlled synthesis of riboflavin in plants. *Planta* 226: 147-158.
- 104.Wang N, Cui Y, Liu Y, Fan H, Du J, Huang Z, et al (2013a) Requirement and functional redundancy of Ib subgroup bHLH proteins for iron deficiency responses and uptake in Arabidopsis thaliana. *Mol. Plant* 6: 503-513.
- 105.Wang F, Cui X, Sun Y, Dong CH (2013b) Ethylene signaling and regulation in plant growth and stress responses. *Plant Cell Rep.* 32: 1099-1109.
- 106.Wang HY, Klatte M, Jakoby M, Bäumllein H, Weisshaar B, Bauer P (2007) Iron deficiency-mediated stress regulation of four subgroup Ib BHLH genes in Arabidopsis thaliana. *Planta* 226: 897-908.
- 107.Wang B, Li Y, Zhang WH (2012) Brassinosteroids are involved in response of cucumber (*Cucumis sativus*) to iron deficiency. *Ann. Bot.* 110: 681-688.
- 108.Waters BM, Lucena C, Romera FJ, Jester GG, Wynn AN, Rojas CL, et al (2007) Ethylene involvement in the regulation of the H<sup>+</sup>-ATPase CsHA1 gene and of the new isolated ferric reductase CsFRO1 and iron transporter CsIRT1 genes in cucumber plants. *Plant Physiol. Biochem.* 45: 293-301.
- 109.Waters BM, McInturf SA, Amundsen K (2014) Transcriptomic and physiological characterization of the fefe mutant of melon (*Cucumis melo*) reveals new aspects of iron-copper crosstalk. *New Phytol.* 203: 1128-1145.
- 110.Wei G, Kloepper JW, Tuzun S (1991) Induction of systemic resistance of Cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by select strains of plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 81: 1508-12.
- 111.Wild M, Davière JM, Regnault T, Sakvarelidze-Achard L, Carrera E, Lopez Diaz I, et al (2016) Tissuespecific regulation of gibberellin signaling fine-tunes Arabidopsis iron-deficiency responses. *Dev.Cell* 37: 190-200.
- 112.Wu T, Zhang HT, Wang Y, Jia WS, Xu XF, Zhang XZ, et al (2012) Induction of root Fe(III) reductase activity and proton extrusion by iron deficiency is mediated by auxin-based systemic signalling in *Malus xiaojinensis*. *J. Ex. Bot.* 63: 859-870.
- 113.Yang J, Kloepper JW, Ryu CM (2008) Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends Plant Sci.* 14: 1-4.
- 114.Yang Y, Ou B, Zhang J, Si W, Gu H, Qin G, et al (2014) The Arabidopsis Mediator subunit MED16 regulates iron homeostasis by associating with EIN3/EIL1 through subunit MED25. *Plant J.* 77: 838-851.
- 115.Ye L, Li L, Wang L, Wang S, Li S, Du J, Zhang S, Shou H (2015) MPK3/MPK6 are involved in iron deficiency-induced ethylene production in Arabidopsis. *Front. Plant Sci.* 6: 953.
- 116.Yuan YX, Wu HL, Wang N, Li J, Zhao WN, Du J, et al (2008) FIT interacts with AtbHLH038 and AtbHLH039 in regulating iron uptake gene expression for iron homeostasis in Arabidopsis. *Cell Res.* 18: 85-397.
- 117.Yun BW, Skelly MJ, Yin M, Yu M, Mun BG, Spoel SH, Loake GJ, et al (2016) Nitric oxide and S-nitrosoglutathione function additively during plant immunity. *New Phytol.* 211: 516-526
- Zamioudis C (2012) Signaling in Arabidopsis Roots in Response to Beneficial Rhizobacteria (Tesis, Universidad de Utrecht, Holanda).
- 118.Zamioudis C, Hanson J, Pieterse CMJ (2014) b-Glucosidase BGLU42 is a MYB72-dependent key regulator of rhizobacteria-induced systemic resistance and modulates iron deficiency responses in Arabidopsis roots. *New Phytol.* 204: 368-379.
- 119.Zamioudis C, Korteland J, Van Pelt JA, van Hamersveld M, Dombrowski N, Bai Y, et al (2015) Rhizobacterial volatiles and photosynthesis-related signals coordinate MYB72 expression in Arabidopsis roots during onset of induced systemic resistance and iron-deficiency responses. *Plant J.* 84: 309-322.
- 120.Zhang H, Kim MS, Krishnamachari V, Payton P, Sun Y, et al (2007) Rhizobacterial volatile emissions regulate auxin homeostasis and cell expansion in Arabidopsis. *Planta* 226: 839-851.
- 121.Zhang H, Sun Y, Xie X, Kim MS, Dowd SE, Paré PW (2009) A soil bacterium regulates plant acquisition of iron via deficiency inducible mechanisms. *Plant J.* 58: 568-577.
- 122.Zhao L, Wang F, Zhang Y, Zhang J (2014) Involvement of *Trichoderma asperellum* strain T6 in regulating iron acquisition in plants. *J. Basic Microbiol.* 54: 115-124.
- 123.Zhou C, Guo J, Zhu L, Xiao X, Xie Y, Zhu J, et al (2016a) *Paenibacillus polymyxa* BFKC01 enhances plant iron absorption via improved root systems and activated iron acquisition mechanisms. *Plant Physiol. Biochem.* 105: 162-173.

124.Zhou C, Ma Z, Xiao X, Xie Y, Zhu J, Wang J (2016b) Potential enhancement of plant iron assimilation by microbial-induced root exudation of phenolic compounds. Res. & Rev. J. Bot. Sci. 5: 34-37.

**ANEXO 2**  
**CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES (Utilice fuente Arial tamaño 10 pt., máximo 1 página)**

**PRIMER AÑO DE TRABAJO**

ACTIVIDAD	Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5	Mes 6	Mes 7	Mes 8	Mes 9	Mes 10	Mes 11	Mes 12
<b>Etapa I</b>												
Estudiar el efecto de la concentración de Fe en las respuestas a deficiencia de Fe provocadas por microorganismos ISR												
Estudiar el papel de los factores de transcripción FIT(FER) y bHLH38 en las respuestas a deficiencia de Fe provocadas por microorganismos ISR.												
<b>Etapa II</b>												
Estudiar el papel en la nutrición férrica de microorganismos ISR ya conocidos												
Estudiar el papel en la nutrición férrica de cepas y especies de microorganismos ISR relacionadas con los ya conocidas pero aisladas de suelos básicos												

**SEGUNDO AÑO DE TRABAJO**

<b>ACTIVIDAD</b>	<b>Mes 1</b>	<b>Mes 2</b>	<b>Mes 3</b>	<b>Mes 4</b>	<b>Mes 5</b>	<b>Mes 6</b>	<b>Mes 7</b>	<b>Mes 8</b>	<b>Mes 9</b>	<b>Mes 10</b>	<b>Mes 11</b>	<b>Mes 12</b>
<b>Etapa I</b>												
Estudiar el efecto de la concentración de Fe en las respuestas a deficiencia de Fe provocadas por microorganismos ISR												
Estudiar el papel de los factores de transcripción FIT(FER) y bHLH38 en las respuestas a deficiencia de Fe provocadas por microorganismos ISR.												
<b>Etapa II</b>												
Estudiar el papel en la nutrición férrica de microorganismos ISR ya conocidos												
Estudiar el papel en la nutrición férrica de cepas y especies de microorganismos ISR relacionadas con los ya conocidas pero aisladas de suelos básicos												

## ANEXO 3

## PRESUPUESTO (Utilice fuente Arial tamaño 10 pt., máximo 2 páginas)

Rubro	Descripción	Etapa I	Etapa II	Contraparte
Insumos científicos	Equipo y materiales de consumo de laboratorio	53,000.00	53,000.00	0.00
Gastos de operación	Otros gastos no disponibles y que sean imprescindibles para alcanzar los objetivos de la propuesta (energía eléctrica y agua)	0.00	0.00	3000.00
Recursos humanos	Tesistas	2000.00	2000.00	0.00
Viajes	De campo, misiones tecnológicas y de presentación de resultados	3500.00	3500.00	0
Promoción y difusión de actividades	Publicaciones, participación en congresos, presentación y difusión de resultados	0.00	3000.00	0
<b>Sub total</b>		58500.00	61500.00	3000.00
<b>Monto a financiar por la SENACYT</b>		<b>120,000.00</b>		

## SUSTENTACIÓN DE RUBROS

**Insumos científicos:** para la consecución del proyecto se requieren fundamentalmente cámaras de cultivo, pipetas, platos Petri, fungibles, ultracongeladores de -80 °C (para preservación de material biológico), PCR en tiempo real y reactivos asociados, medios de cultivo, sistemas de dilución seriada, macetas, vermiculita, cepas tipo de referencia.

**Gastos de operación:** incluye la electricidad, agua, combustible de vehículo oficial.

**Recursos humanos:** incluye apoyo en transporte y alimentación a los estudiantes de tesis.

**Viajes:** giras de colecta, misiones tecnológicas, presentación de resultados.

**Promoción y difusión de actividades:** publicación de artículos, asistencia a congresos nacionales e internacionales, material de difusión a productores y técnicos.

**FORMATO SUGERIDO  
 VERSIÓN RESUMIDA DE LA HOJA DE VIDA ACTUALIZADA  
 PARA INVESTIGADOR PRINCIPAL Y DEMÁS CO-INVESTIGADORES PRINCIPALES**

**Información Personal-Investigador Principal**

Nombre Completo	Dirección Residencial	Teléfonos de contacto	Correo electrónico
Rito Herrera Vega	Miraflores Penonomé	9977121/65716521	<a href="mailto:rhv76@yahoo.es">rhv76@yahoo.es</a>

**Preparación Profesional\***

Institución de estudio	Ubicación (país, ciudad)	Carrera	Título	Año de Titulación
Universidad de Panamá	Panamá	Biología	Biología con orientación en Microbiología y Parasitología	2000
Universidad de Córdoba	España	Biología	<b>A. Datos Personales:</b> Doctor en ciencias Biológicas	2013
Universidad de Lisboa	Portugal	Biología	Postdoctorado	2014

**Experiencia Profesional (inicie con la más reciente)\***

Institución	Ubicación (país, ciudad)	Cargo(s)	Logro(s) destacado(s)	Años de afiliación
IDIAP	Panamá	Investigador agrícola	Aislamiento de microorganismos, prueba de antibiosis, establecimiento de protocolos	2
Universidad de Panamá	Panamá	Profesor	Desarrollo de actividad docente	3

**D. Productos****D.1 Lista de productos más recientes**

- Vacuolar control of subcellular cation distribution is a key parameter in the adaptation of *Debaryomyces hansenii* to high salt concentrations. Rito Herrera, Ana Salazar, Laura Ramos-Moreno, Carmen Ruiz-Roldán, José Ramos. *Fungal Genetics and Biology*. Febrero 2017.
- Expresión diferencial de proteínas por *Rhodobacter capsulatus* B10S en respuesta a la presencia de 2,4-dinitrofenol. Rito Herrera, Eva Pérez-Reinado, Víctor Luque-Almagro, Conrado Moreno-Vivián, María Dolores Roldán. *Revista Centros-Universidad de Panamá*. Marzo 2016.
- A physiological, Biochemical and Proteomic characterization and of *Saccharomyces cerevisiae* trk1,2 transport mutants grown and limiting potassium. Samuel Gelis, Raquel González, Rito Herrera, Jesús Jorrín and José Ramos. *Microbiology*. Marzo 2015.
- Homeostasis de cationes y Resistencia a estreses abióticos en levaduras. Herrera R, Álvarez MC, Gelis S, Calero F, Salazar A., Suarez L., Morales N, Michán C, Ramos J.SEM@aforo. 2014 Jun: (57) 45-46.
- Homeostasis de cationes en *Saccharomyces cerevisiae*: distribución subcelular de potasio y sodio y función de trk en la adaptación a cambios en el potasio externo. Editorial Helvia, Universidad de Córdoba, España. Rito Herrera. Diciembre de 2013.

**E. Actividades de Sinergia \*\***

Convenios de cooperación ente el IDIAP y la Universidad de Panamá

**F. Colaboradores y Otras Afiliaciones**

**Miembro del Sistema Nacional De Investigación (investigador nacional I) 2014-2019**

**F.3 Asesor de Tesis y Patrocinador de Postgrado.**

Dirección de tesis de maestría dentro del proyecto de controladores biológicos.

- Lic. Alexis Artola, Maestría en Microbiología Aplicada, Universidad Latina de Panamá.
- Ing. Agrónomo. Joel Tuñón, Maestría en Ciencias Agrícolas, Universidad de Panamá.
- Lic. Maryuri Estrada, Licenciatura en Biología, Universidad de Panamá.
- Lic. Rachel Julio, Licenciatura en Biología, Universidad de Panamá.

**Información Personal-CO-IP1**

Nombre Completo	Dirección Residencial	Teléfonos de contacto	Correo electrónico
José Ramos	Córdoba, España	34 644223491	<a href="mailto:mi1raruj@uco.es">mi1raruj@uco.es</a>

**B. Preparación Profesional\***

Institución de estudio	Ubicación (país, ciudad)	Carrera	Título	Año de Titulación
Universidad de Córdoba	España	Biología	Lic. Ciencias Biológicas	1980
Universidad de Córdoba	España	Biología	Doctor en Ciencias Biológicas	1984

**C. Experiencia Profesional (inicie con la más reciente)\***

Institución	Ubicación (país, ciudad)	Cargo(s)	Logro(s) destacado(s)	Años de afiliación
Universidad de Córdoba	España	Catedrático de Universidad	138 publicaciones	33

**Productos**

- 1.Prista C, Michán C, Miranda I, Ramos J. Título del trabajo: The halotolerant *Debaryomyces hansenii*, the Cinderella of nonconventional yeasts. *Yeast* 33, 2016, 523-533.
- 2.Molina-Hidalgo FJ, Medina-Puche L, Gelis S, Ramos J, Sabir F, Soveral G, Prista C, Caballero JL, Muñoz-Blanco J\*, Blanco-Portales R. Título del trabajo: Functional characterization of FaNIP1;1 gene, a ripening-related and receptacle-specific aquaporin in strawberry fruit. *Plant Science* 238, 2015, 198-211.
- 3.Zimmermannova O; Salazar A; Sychrova H; Ramos J. Título del trabajo: *Zygosaccharomyces rouxii* Trk1 is an efficient potassium transporter providing yeast cells with high lithium tolerance. *FEMS Yeast Research* 15, 2015, 1-11.
4. Gelis S; González-Fernández R; Herrera R; Jorrín J; Ramos J. Título del trabajo: A physiological, biochemical and proteomic characterization of *Saccharomyces cerevisiae* trk1,2 transport mutants grown at limiting potassium. *Microbiology* 161, 2015,1260-1270.
5. Serra-Cardona A, Petrežsélyová S, Canadell D, Ramos J, Ariño J Título del trabajo: Coregulated expression. Of the Na<sup>+</sup>/Phosphate Pho89 transporter and Ena1 Na<sup>+</sup>ATPase allows their functional coupling under high-pH stress. *Mol. Cel. Biol.*34. 2014.4420-4435.

**Información Personal-CO-IP2**

Nombre Completo	Dirección Residencial	Teléfonos de contacto	Correo electrónico
Francisco Romera	Córdoba, España	34 957218572	<a href="mailto:ag1roruf@uco.es">ag1roruf@uco.es</a>

**Preparación Profesional**

Institución de estudio	Ubicación (país, ciudad)	Carrera	Título	Año de Titulación
Universidad de Córdoba	España	Agronomía	Ing. Agrónomo	1986
Universidad de Córdoba	España	Agronomía	Doctor en Ciencias Agrícolas	1990

**Experiencia Profesional (inicie con la más reciente)\***

Institución	Ubicación (país, ciudad)	Cargo(s)	Logro(s) destacado(s)	Años de afiliación
Universidad de Córdoba	España	Catedrático de Universidad	11 proyectos de investigación, 50 publicaciones	25

## Productos

1. Romera FJ, Smith AP, Pérez-Vicente R. Ethylene's Role in Plant Mineral Nutrition. *Front Plant Sci.* 2016 Jun 27;7:911.

2. Lucena C, Romera FJ, García MJ, Alcántara E, Pérez-Vicente R. Ethylene Participates in the Regulation of Fe Deficiency Responses in Strategy I Plants and in Rice. *Front Plant Sci.* 2015 Nov 27;6:1056.

3. García MJ, Romera FJ, Lucena C, Alcántara E, Pérez-Vicente R. Ethylene and the Regulation of Physiological and Morphological Responses to Nutrient Deficiencies. *Plant Physiol.* 2015 Sep;169(1):51-60.

4. García MJ, García-Mateo MJ, Lucena C, Romera FJ, Rojas CL, Alcántara E, Pérez-Vicente R. Hypoxia and bicarbonate could limit the expression of iron acquisition genes in Strategy I plants by affecting ethylene synthesis and signaling in different ways. *Physiol Plant.* 2014 Jan;150(1):95-106.

5. García MJ, Romera FJ, Stacey MG, Stacey G, Villar E, Alcántara E, Pérez-Vicente R. Shoot to root communication is necessary to control the expression of iron-acquisition genes in Strategy I plants *Planta.* 2013 Jan;237(1):65-75.

## Información Personal-CO-IP3

Nombre Completo	Dirección Residencial	Teléfonos de contacto	Correo electrónico
Esteban Alcántara	Córdoba, España	34 957218572	ag1alvae@uco.es

## Preparación Profesional

Institución de estudio	Ubicación (país, ciudad)	Carrera	Título	Año de Titulación
Universidad de Córdoba	España	Agronomía	Ing. Agrónomo	1985
Universidad de Córdoba	España	Agronomía	Doctor en Ciencias Agrícolas	1988

## Experiencia Profesional (inicie con la más reciente)\*

Institución	Ubicación (país, ciudad)	Cargo(s)	Logro(s) destacado(s)	Años de afiliación
Universidad de Córdoba	España	Catedrático de Universidad	11 proyectos de investigación, 50 publicaciones	25

1. Lucena C, Romera FJ, García MJ, Alcántara E, Pérez-Vicente R. Ethylene Participates in the Regulation of Fe Deficiency Responses in Strategy I Plants and in Rice. *Front Plant Sci.* 2015 Nov 27;6:1056.

2. García MJ, Romera FJ, Lucena C, Alcántara E, Pérez-Vicente R. Ethylene and the Regulation of Physiological and Morphological Responses to Nutrient Deficiencies. *Plant Physiol.* 2015 Sep;169(1):51-60.

3. García MJ, García-Mateo MJ, Lucena C, Romera FJ, Rojas CL, Alcántara E, Pérez-Vicente R. Hypoxia and bicarbonate could limit the expression of iron acquisition genes in Strategy I plants by affecting ethylene synthesis and signaling in different ways. *Physiol Plant.* 2014 Jan;150(1):95-106.

4. García MJ, Romera FJ, Stacey MG, Stacey G, Villar E, Alcántara E, Pérez-Vicente R. Shoot to root communication is necessary to control the expression of iron-acquisition genes in Strategy I plants *Planta*. 2013 Jan;237(1):65-75.

5. Romera FJ, García MJ, Alcántara E, Pérez-Vicente R. Latest findings about the interplay of auxin, ethylene and nitric oxide in the regulation of Fe deficiency responses by Strategy I plants. *Plant Signal Behav*. 2011 Jan;6(1):167-70.



<b>ANEXO 5</b> <b>DOCUMENTACIÓN ADICIONAL</b>
--



**Universidad de Panamá**  
**CENTRO REGIONAL UNIVERSITARIO DE COCLÉ**  
**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y TECNOLOGÍA**  
**DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA**

**Penonomé, 2 de julio de 2015**

**Señores**  
**Programa de Inserción de Talento Especializado.**  
**SENACYT.**  
**E.S.D.**

**Respetados Señores:**

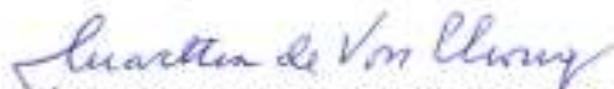
Es un grato honor para mi persona en calidad de Docente de esta prestigiosa Casa de Estudios Superiores y con mucho agrado puedo expresar que ante el transcurrir de los años he tenido el placer de conocer al **Dr. Rito Humberto Herrera Vega** por el amplio y productivo que hacer profesional, personal y formación académica.

Conozco al **Dr. Herrera** desde 1997, fecha en que se me dio la oportunidad de impartirle la Asignatura de Micología en la Casa de Méndez Pereira, contemplada en el Plan de Estudios de la Licenciatura en Biología con Orientación en Microbiología y Parasitología. Su comportamiento ejemplar, fortaleza y potencial científico demostrado hasta la fecha lo hacen merecedor de esta recomendación a nivel profesional para que pueda ser tomado en cuenta en el Programa de Inserción de Talento Especializado (ITE 2017) de SENACYT.

Aprovecho la ocasión para manifestarles que a partir del año 2016 llevamos en conjunto con el **Dr. Herrera** trabajos de investigación con opción a Tesis de Grado en el nivel superior de Maestría de los Planes de Estudio de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Panamá, Sede Los Santos.

Me permito renovarles las seguridades de mi más alta y distinguida consideración.

Atentamente,



**PROFESORA MARTHA DE VON CHONG.**  
**Regular Titular Tiempo Completo**  
**Coordinadora de Enlace**  
**Escuela de Biología**  
**CRU de Coclé.**



DEPARTAMENTO MICROBIOLOGÍA  
UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA  
CAMPUS DE RABANALES  
CTRA. N-IV, KM. 396  
14071-CÓRDOBA (ESPAÑA)  
Tlfno.: 957.21.86.50  
Fax: 957.21.86.50

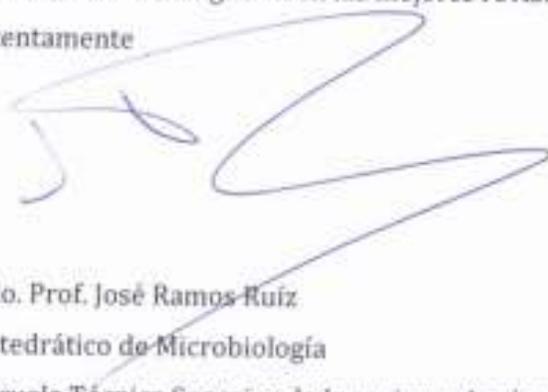
Córdoba, 27 de junio de 2017

A quien corresponda:

Como Director de la Tesis Doctoral de Rito H. Herrera Vega, emito un informe favorable a su trabajo desarrollado durante un periodo de varios años en el Departamento de Microbiología de la Universidad de Córdoba.

El mencionado investigador desarrolló una labor encomiable durante el periodo de tiempo en que estuvo en mi grupo de investigación. Fruto de este trabajo fue, no sólo la obtención del grado de Doctor, sino también la publicación de diversos artículos de investigación en las mejores revistas internacionales del ámbito.

Atentamente



Fdo. Prof. José Ramos Ruíz  
Catedrático de Microbiología  
Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y de Montes  
Universidad de Córdoba



**Dirección General**  
**DG-Nota No.1130-11-2017.**

Panamá, Ciudad del Saber, 20 de noviembre de 2017.

Al Honorable Doctor  
**Víctor Sánchez Urrutia**  
Secretario General  
**Secretaría Nacional de Ciencia Tecnología e Innovación**  
SENACYT

Estimado Dr. Sánchez Urrutia:

Por este conducto me permito indicar nuestro apoyo a la propuesta titulada: **“Caracterización y Utilización de Microorganismos Rizosféricos Inductores de Resistencia Sistemática para Mejorar la Nutrición Férrica de las Plantas de Importancia Agrícola en Suelos Básicos de Panamá”**, sometido para su consideración dentro de la “Convocatoria Programa de Fomento a la Investigación y Desarrollo (I+D), Convocatoria Pública de Fomento A I+D (FID) 2017”, cuyo investigador principal es el **Ing. Rito Herrera**, investigador agrícola, del Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP).

A la vez, el IDIAP se compromete a brindar el apoyo requerido para el buen logro de esta propuesta, tal como se detalla en el contenido técnico de la misma, presentado a la SENACYT, esperando que cumpla con su objetivo de mejorar la calidad y eficiencia de los cultivos a investigar. Es importante mencionar que la presente propuesta es congruente con los objetivos y misión del IDIAP de mejorar el agronegocio en sintonía con los productores nacionales.

De igual forma, “El Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá” adquiere el compromiso de brindar el apoyo requerido para el buen logro de esta propuesta, tal como se detalla en el contenido técnico de la misma presentado a SENACYT (esto incluye el aporte financiero y/o en especie indicado por parte de nuestra entidad).

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para reiterarle las seguridades de mi consideración.

Atentamente,

  
**Axel Villalobos**  
**Director General**





UNIVERSIDAD DE CORDOBA

Vicerrectorado de Innovación, Transferencia y Campus de Excelencia

Enrique Quesada Moraga

**CARTA DE APOYO  
DE LAS INSTITUCIONES PARTICIPANTES EN LA PROPUESTA**

España, 23 de noviembre de 2017

Señores  
Programa de Fomento a I+D  
SENACYT

Estimados Señores y Señoras:

Por este conducto me permito indicar nuestro apoyo a la propuesta titulada "CARACTERIZACIÓN Y UTILIZACIÓN DE MICROORGANISMOS RIZOSFÉRICOS INDUCTORES DE RESISTENCIA SISTÉMICA PARA MEJORAR LA NUTRICIÓN FÉRRICA DE LAS PLANTAS DE TOMATE EN SUELOS BÁSICOS DE PANAMÁ" sometido para su consideración dentro de la CONVOCATORIA PÚBLICA DE FOMENTO A I+D (FID) 2017 por el/la Investigador/a Principal "Rito Humberto Herrera".

Es importante mencionar que la presente propuesta es congruente con el interés que la Universidad de Córdoba tiene con la realización de la propuesta, y su afinidad con los objetivos y misión de nuestra universidad. Desde el punto de vista científico, permitirá estudiar interacciones planta/microorganismos autóctonos del suelo para mejorar la respuesta de la planta frente a estreses como los defectos en nutrición férrica. Adicionalmente, el proyecto serviría para estrechar la colaboración mantenida desde hace años entre los grupos de investigación panameños y españoles, favoreciendo la transferencia de conocimiento entre ambos y el desarrollo de futuros proyectos de investigación conjunta.

A la vez, "la Universidad de Córdoba" adquiere el compromiso de brindar el apoyo requerido para el buen logro de esta propuesta; tal como se detalla en el contenido técnico de la misma presentado a SENACYT.

Atentamente,

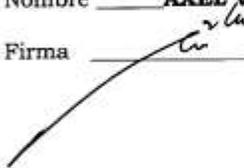
  
**Enrique Quesada Moraga,**  
Vicerrector de Innovación, Transferencia y Campus de Excelencia



**PAZ Y SALVO**  
**Para la participación de las Convocatorias Públicas**

El suscrito, varón, de nacionalidad panameña, mayor de edad, portador de la cédula de identidad personal No. 8-227-180\_\_\_\_\_, actuando en mi calidad de representante legal de INSTITUTO DE INVESTIGACION AGROPECUARIA DE PANAMA\_(IDIAP)\_\_\_\_\_, solicito, a efecto de participar en la **Convocatoria Pública De Fomento a I+D (FID) 2017**, el Paz y Salvo que certifique que no mantengo obligaciones pendientes con la SENACYT.

Nombre AXEL VILLALOBOS Ph.D

Firma 



**PARA USO EXCLUSIVO DE SENACYT**

DIRECCIÓN	PAZ Y SALVO	FIRMA DEL DIRECTOR	FECHA
Dirección de Gestión de la Ciencia			
Dirección de Investigación y Desarrollo			
Dirección de Innovación Empresarial			
Dirección de Aprendizaje			

**PAZ Y SALVO**  
**Para la participación de las Convocatorias Públicas**

El suscrito, varón, de nacionalidad panameña, mayor de edad, portador de la cédula de identidad personal No. 8-513-1199, actuando en mi nombre propio, solicito, a efecto de participar en la **Convocatoria Pública De Fomento a I+D (FID) 2017**, el Paz y Salvo que certifique que no mantengo obligaciones pendientes con la SENACYT.

Nombre **Rito Herrera Vega**



Firma

---

**PARA USO EXCLUSIVO DE SENACYT**

<b>DIRECCIÓN</b>	<b>PAZ Y SALVO</b>	<b>FIRMA DEL DIRECTOR</b>	<b>FECHA</b>
Dirección de Gestión de la Ciencia			
Dirección de Investigación y Desarrollo			
Dirección de Innovación Empresarial			
Dirección de Aprendizaje			