



INFORME ANUAL DE PROYECTOS DE I+D+i

Como paso previo a la realización del informe, se ruega lean detenidamente las **instrucciones de elaboración de los informes de seguimiento científico-técnico de proyectos** disponible en la página web del ministerio.

A. Datos del proyecto

Relacione los datos del proyecto. En caso de que haya algún cambio, indíquelo cambiando de color el texto

Referencia	AGL2012-31988
Investigador principal	Anunciación Abadía
Título	Innovative strategies for improving Fe nutrition in fruit tree crops
Entidad	Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)
Centro	Estación Experimental de Aula Dei
Fecha de inicio	1 de enero 2013
Fecha final	31 de diciembre de 2015
Duración	3 años
Total concedido	145.000 euros (costes directos)

B. Informe de progreso y resultados del proyecto

B1. Desarrollo de los objetivos planteados

Describe los objetivos y el grado de cumplimiento de los mismos (en porcentaje respecto al objetivo planteado y, en su caso, con indicación de lo que queda por realizar en cada uno de ellos)

Objetivo 1. Estudiar las respuestas de adquisición de hierro específicas de la raíz en especies y genotipos de plantas altamente eficientes	Progreso y consecución del objetivo 1 En progreso: 75 % del total.
Objetivo 2. Explorar nuevos enfoques para optimizar el aporte de hierro, tanto en las raíces como en las hojas	Progreso y consecución del objetivo 2 En progreso: 60 % del total.



B2. Actividades realizadas y resultados alcanzados

Describe las actividades científico-técnicas realizadas para alcanzar los objetivos planteados en el proyecto. Indique para cada actividad los miembros del equipo que han participado. **Extensión máxima 2 páginas**

Se presentan datos consolidados de los dos años de proyecto.

Objetivo 1 (participantes AA, AA-F, MP, PS, EG, LC y Tc).

Tareas 1, 2 y 3. Identificación de los compuestos sintetizados y / o acumulados en las raíces y liberados a la rizosfera en respuesta a la deficiencia de Fe, y estudio de las funciones de los compuestos exudados y/o acumulados en la absorción de nutrientes.

Se sigue trabajando en la identificación de compuestos sintetizados por las raíces de distintas especies y en el estudio de las condiciones para la liberación de estos compuestos a la rizosfera, tema sobre el que se han presentado dos ponencias invitadas (C2.6 y C2.16). En esta parte del objetivo se han utilizado algunos mutantes de Arabidopsis, y distintos genotipos de tomate, remolacha y patrones de *Prunus* con diferentes niveles de tolerancia. Se han identificado flavinas en remolacha y compuestos fenólicos de la familia de las cumarinas en Arabidopsis (C1.7; trabajo realizado en colaboración con investigadores del INRA-Universidad de Montpellier, Francia), tomate (C2.4; se están estudiando los genotipos de tomate FER y fer, eficiente y totalmente ineficiente en la toma de Fe, respectivamente), patrones de *Prunus* (C2.10; GF677-eficiente y Cadaman-no eficiente), tabaco (colaboración con Universidad Católica de Lovaina, Bélgica) y altramuz blanco (colaboración con la Universidad de Udine, Italia). Las cumarinas encontradas derivan de escopoletina, pero el tipo de cumarina depende de la especie: cumarinas mas hidroxiladas como fraxetina, hidroxifraxetina y isofraxidina se identifican en tomate y Arabidopsis, mientras que en *Prunus* se encuentran compuestos derivados como cumarolignoles. El papel de los compuestos sintetizados y excretados por las raíces está siendo estudiado en un sistema que retira de la solución dichos compuestos mediante una columna de C_{18} y en ensayos de interacción entre los compuestos e hidróxidos férricos solos o en presencia de raíces (C1.11, C2.10). Se ha hecho un análisis filogenético para identificar posibles genes candidatos implicados en la adquisición de Fe en *Prunus* (C2.9). Por último, se han estudiado los cambios en la concentración de ácidos orgánicos en respuesta a la deficiencia en otra especie arborea (algarrobo; C1.5, C2.12) y en fresa (C2.19), en colaboración con un grupo de investigación de la Universidad de Faro (Portugal).

Tarea 4. Identificación de proteínas implicadas en los mecanismos de captación de Fe en la raíz, incluyendo extractos de raíz de enteros y preparaciones de membrana plasmática.

Se ha identificado una proteína (ABCG37) involucrada en la exudación de compuestos fenólicos identificados en la tarea anterior (C1.7). Esta proteína se induce como respuesta a la deficiencia de Fe y confiere tolerancia a dicho estrés. El trabajo se ha realizado en colaboración con investigadores del INRA-Universidad de Montpellier (Francia) que han aportado las líneas mutantes del gen y su caracterización molecular. En esta misma línea se ha identificado el ortólogo de este gen en tomate (*SIPDR3*), cuya expresión en raíz se ha encontrado también inducida en respuesta a deficiencia de Fe de acuerdo con lo descrito por otros colaboradores (Universidad Católica de Lovaina) para el ortólogo en tabaco (*NtPDR3*), cuya función se está estudiando con plantas silenciadas. En cuanto a trabajos sobre membrana plasmática, se ha aislado en raíces de remolacha y se ha caracterizado su perfil proteico por técnicas de electroforesis bidimensional seguida por identificación de proteínas por MS. Se han separado los dominios de membrana por técnicas de ultracentrifugación. Además, se han obtenido los perfiles proteicos de membrana plasmática entera y de los dominios con la técnica de "shotgun proteomics". Este último trabajo se ha hecho en Morioka (Japón) con la ayuda del Dr. Uemura (C1.13, C2.14 y C2.15). Por otra parte, se ha recogido material para la caracterización proteica de raíces de algunos genotipos eficientes y no eficientes de *Prunus*, que será analizada por las técnicas de 2D y shotgun durante 2015. Se ha estudiado el perfil proteico de raíces de plantas afectadas por toxicidad de otros metales (Zn) y su relación con Fe (C1.2, y C2.2) y por deficiencia de Fe y Mn (C1.15). Los resultados de estos trabajos señalan que la competición de este catión con Fe puede influir en muchos síntomas de toxicidad. Dentro de este objetivo se ha realizado una revisión sobre los efectos de la deficiencia de Fe en el proteoma de materiales vegetales, incidiendo especialmente en raíz (C1.4).

Objetivo 2 (participantes AA, AA-F, MP, PS, EG y Tc).

Tarea 5. Efectos de algunos de los compuestos de la raíz identificados en el Objetivo 1 sobre el crecimiento de las plantas.

Se ha comprobado que las flavinas (incluyendo las identificadas en remolacha) son capaces de solubilizar oxihidróxido férrico (forma de Fe mayoritaria en suelos) mediante reducción y/o



quelación del metal sólo cuando un donador de electrones (NADH) o raíces de plantas deficientes en Fe, están presentes en el medio (C1.11). También se ha comprobado que la retirada de compuestos exudados por las raíces del medio de cultivo provoca una aceleración de la aparición de la clorosis inducida de Fe en remolacha (flavinas, C1.11), Arabidopsis (cumarinas, C1.7) y patrones de *Prunus* (cumarinas, C2.10). Por último, se ha efectuado una prueba de adición de riboflavina en una plantación comercial de melocotonero en campo, pero en las condiciones usadas en 2014 los resultados no han sido positivos.

Tarea 6. Movilidad y distribución (a nivel de raíz, fluidos y hoja) del Fe aplicado foliarmente. Uso de isótopos estables de Fe.

Durante el primer año de proyecto se realizó un estudio (*Prunus* y remolacha) sobre los efectos de la fertilización foliar en los pigmentos fotosintéticos (incluyendo clorofila), nutrientes minerales, fluorescencia de clorofila en imagen, LT SEM-EDX, STIM- μ PIXE y tinción de Fe-Perls (C1.1 y C2.3). En este trabajo se ha visto que la movilidad del Fe en la hoja es una limitación importante para la eficacia del fertilizante. También se está trabajando en la identificación de las vías de entrada del Fe en la hoja y mediante una optimización de la tinción de Perls se ha visto que las células guarda de los estomas están implicadas en la toma de Fe aplicado foliarmente (C2.17). Se está estudiando la localización y el camino del Fe aplicado sobre hojas de tomate y *Prunus* mediante Ablación Láser (LA) acoplada a un IPC-MS en colaboración con el grupo del Dr JI García-Alonso de la Universidad de Oviedo (C2.7 y C4.2). Se ha estudiado el efecto de la fertilización foliar combinada con Fe y Mn en plantas de tomate, estudiando biomasa, concentración de pigmentos fotosintéticos, y toma y transporte de metales (C1.14 y C2.18). Se ha comenzado el trabajo con los isótopos estables de Fe aplicados a *Prunus* de forma foliar y a la solución, estando los materiales enviados para su análisis. Además, como ya se expuso en el primer informe, se ha publicado un trabajo de divulgación sobre las necesidades de nutrientes en melocotonero (C4.1). Se ha hecho un estudio sobre los perfiles proteicos de las membranas interna y externa de la envoltura cloroplástica (C2.1 y C4.3), que ayudará a establecer las bases para estudios sobre las deficiencias y cambios en las membranas con la fertilización. Asimismo se ha hecho un estudio sobre el efecto de la deficiencia de Fe en tallo de *Medicago truncatula* (C1.10). En colaboración con la Universidad de Algarve se ha estudiado la movilidad del Fe aplicado foliarmente en fresa (C2.11), y de la respuesta de la misma especie ante la deficiencia de Fe y posterior reaprovisionamiento de este elemento (C2.12). Se ha hecho una revisión sobre el uso de la espectroscopía de masas en el estudio de la nutrición férrica (C2.6).

Tarea 7. Caracterización de los cambios en los perfiles de proteínas y metabolitos de savia y fluido apoplástico en las plantas fertilizadas.

Se ha hecho un estudio (publicación todavía en preparación) sobre los cambios en perfiles metabólicos y proteicos en xilema de melocotonero. Se ha estudiado tanto la evolución a lo largo de las estaciones como las diferencias entre árboles controles y árboles afectados por deficiencia de Fe (C1.12) y se ha visto que las mayores diferencias vienen definidas por la evolución en las distintas fechas de toma de muestra. Se ha efectuado una revisión sobre el transporte de metales a larga distancia (metales y especies metálicas en floema y xilema; C1.6). También se han estudiado los cambios en los perfiles proteicos del apoplasto de hoja de remolacha con la deficiencia y después de un aporte de Fe (C1.8, C2.5 y C2.13). Se está caracterizando la savia de xilema de tomate en condiciones de deficiencia de Fe y de Mn (C1.15). Se ha caracterizado el perfil de proteínas de floema en *Brassica napus* afectado por deficiencia de Fe (C1.9 y C2.8) y de savia de floema en *Lupinus texensis*, y se han buscado proteínas conteniendo Fe y Zn (C1.3).

Tarea 8. Caracterización de complejos derivados de compuestos naturales (tarea modificada de acuerdo con el primer informe).

El primer año de proyecto se caracterizaron por MS/MS los quelatos de Cu y Zn con dos de los agentes quelatantes sintéticos más comercializados como fertilizantes, EDDHA y EDDHMA. La Tarea 8 se modificó a partir del primer año debido al interés en conocer las capacidades de complejación y reducción de Fe(III) de los compuestos naturales identificados en las otras investigaciones iniciadas, aproximación enmarcada perfectamente en el estudio de la posibilidad de identificar compuestos naturales que puedan ser utilizados para la corrección de la clorosis, uno de los objetivos prioritarios del proyecto. Esta tarea se ha retrasado debido a la gran complejidad de compuestos encontrados en el primer objetivo.



B3. Problemas y cambios en el plan de trabajo

Describe las dificultades y/o problemas que hayan podido surgir durante el desarrollo del proyecto, así como cualquier cambio que se haya producido respecto a los objetivos o el plan de trabajo inicialmente planteados. **Extensión máxima 1 página**

Como ya se comentó en el primer informe, debido a la diferencia entre la financiación concedida y la solicitada, y conservando el porcentaje de financiación dedicado a personal, se adecuaron las condiciones del contrato del personal técnico solicitado. Se habían solicitado 96.000 euros (88+6) para un contrato G2 para tres años y se concedieron 70.000 euros, cantidad suficiente para un contrato G3 para el mismo periodo. Se consideró preferible tener el contrato el máximo tiempo posible. En principio, no se va a hacer uso de toda la cantidad concedida para personal (el contrato se comenzó a tramitar en enero de 2013 pero no se firmó hasta mayo), por lo que el remanente se podría utilizar en costes de ejecución. Este cambio no afecta al plan de trabajo planteado en la solicitud.

Como ya se comentó también en el primer informe, no se dispuso de liquidez en el CSIC para llevar a cabo los gastos normales del proyecto en el primer año. Se había comprado parte del material inventariable solicitado (bomba peristáltica y manifold-Waters = 3.714€). La bomba peristáltica costó más de lo previsto, y se descartó comprar el resto del inventariable, para mantener el porcentaje dedicado a este concepto. Durante el segundo año los gastos han sido los previstos, obviamente quedando todavía un remanente mayor del que tendría que quedar por los problemas de liquidez durante el primer año.

En cuanto a los cambios en el plan de trabajo, ya se había indicado que la Tarea 8 se reorientó hacia la caracterización de los complejos férricos con compuestos naturales, considerando de gran interés esta línea por las posibles repercusiones prácticas que conllevan las investigaciones en curso. Como se ha indicado en el apartado anterior, esta tarea sigue con retraso debido al gran número de compuestos (fenólicos y flavinas) que se están identificando.

B4. Colaboraciones con otros grupos de investigación directamente relacionadas con el proyecto

Relacione las colaboraciones con otros grupos de investigación y el valor añadido para el proyecto. Describe, si procede, el acceso a equipamientos o infraestructuras de otros grupos o instituciones.

Además de trabajar con el resto de los integrantes del grupo de investigación, en particular con AF López-Millán, se mantienen colaboraciones estables con grupos nacionales e internacionales, en casi todos los casos refrendados por resultados en publicaciones o congresos. Todas las colaboraciones suponen un valor añadido para el proyecto, ya que permiten el uso de técnicas o equipamientos y material vegetal de los que no disponemos en nuestro equipo de investigación.

Colaboraciones reflejadas en publicaciones o comunicaciones:

- para estudios de fluorescencia de Imagen se ha efectuado una colaboración con la Dra. A. Calatayud del IVIA de Valencia. Actividad C1.1.
- en Eslovenia para estudios de microscopía (LT SEM-EDX, STIM- μ PIXE) se ha colaborado con K. Vogel-Mikuš (Universidad de Ljubljana), P. Vavpetič y P. Pelicon (Jožef Stefan Institute). Actividad C1.1.
- con A. Matros, del Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Gatersleben (Alemania) en estudios de proteómica. Actividad C1.2.
- con el Dr. J.J. Calvete del Instituto de Biomedicina de Valencia, C.S.I.C., Valencia, para la interpretación de resultados de proteómica. Actividad C1.3.
- con el Dr. B. Contreras-Moreira del grupo de Biología Computacional y Estructural de la EEAD-CSIC, Zaragoza, para el estudio de los datos de proteómica. Actividades C1.8 y C1.13.
- con el grupo de la Dra. Y. Gogorcena del Departamento de Pomología de la EEAD-CSIC, Zaragoza, para el trabajo con patrones de Prunus. Actividades C2.7, C2.9 y C2.10.
- con el grupo del Dr. J-F Briat (Biochimie et Physiologie Moléculaire des Plantes-CNRS, Institut National de la Recherche Agronomique, Université Montpellier, Francia) la caracterización de mutantes de Arabidopsis y tomate con alteraciones en la adquisición de hierro. Actividad C1.7.



- con el grupo de la Dra. M. Pestana (Universidad del Algarve, Portugal) se continúa colaborando en el estudio de balances nutricionales y respuestas de plantas ante la deficiencia de Fe. En este momento la IP del proyecto (A. Abadía) participa en un proyecto financiado en 2012 por la FCT-Portugal (ref PTDC/AGR-PRO/3861/2012, 2013-2015). Actividades C1.5, C2.11, C2.12 y C2.19.
- para los análisis relacionados con Proteómica y Biología Molecular que no se podían llevar a cabo en la EEAD se ha contado con la colaboración M. Grusak (USDA-ARS Houston, USA). C1.4, C1.9, C1.10 y C2.8.
- con la Dra. S. Lütge (Biozentrum Klein Flottbek und Botanischer Garten, Hamburg University, Alemania) se colabora en el estudio de la caracterización de la membrana plasmática en raíces de plantas afectadas por deficiencias y toxicidades. Actividades C2.14 y C2.15.
- con el grupo del Dr. M. Uemura (Universidad de Iwate, Morioka, Japón) para técnicas de "shotgun proteomics" y separación de dominios en membrana plasmática. Actividades C1.13, C2.1, C2.6, C2.14, C2.15 y C4.3.
- con el Dr. García-Mina de TimacAgro (grupo Rouiller) en tratamiento foliares multielementales. Actividades C1.14 y C2.18.
- con el Dr. J.A. González-Reyes de la Universidad de Córdoba en membrana plasmática. Actividad C2.14.
- con el grupo de J.I. García Alonso y con B. Fernández (Universidad de Oviedo) en la utilización de isótopos estables en metrología química y análisis de metales por ICP-MS así como en la aplicación de la ablación laser acoplada a ICPMS para el estudio de la localización de metales en hoja. Actividades C2.7 y C2.18.
- con la Dra K. Philippar de la Ludwig-Maximilians-Universität de Munich (Alemania) en los trabajos de envoltura cloroplástica. Actividades C2.1, C2.9 y C4.3.

Otras colaboraciones:

- para análisis de metabolitos trabajamos en colaboración con el Laboratorio de Metabolómica en el Genome Center (Dr. O. Fiehn), UC Davis, USA.
- para estudios de ESI-MS/MS (Q-TOF) se continúa la colaboración con el ICMA-CSIC (Dr. J. Orduna, Zaragoza, España).
- para la caracterización de la proteína involucrada con la exudación radicular de fenólicos en tabaco con la Universidad Católica de Lovaina (Dr. M. Boutry, Lovaina, Bélgica)
- para la caracterización de los compuestos exudados por altramuz blanco con la Universidad de Udine (Dr. Pinton, Udine, Italia)

B5. Colaboraciones con empresas o sectores socioeconómicos

Relacione las colaboraciones con empresas o sectores socioeconómicos y el valor añadido para el proyecto, la transferencia de conocimientos o resultados del mismo.

En este apartado la información es similar a la aportada en el informe anterior.

En la petición del proyecto se contó con el apoyo de una EPO (TimacAgro, grupo Rouiller, Dr. JM. García-Mina). La colaboración con este equipo es habitual y comenzó en 2009 con un proyecto KBBE finalizado el año 2012. A finales del año 2012 fue financiado un nuevo proyecto liderado por la empresa dentro de la convocatoria INNPACTO, para los años 2013-2015.

Entre los años 2012 y 2014 se ha mantenido una colaboración activa con la empresa Fertiberia, mediante un pequeño contrato. Además, uno de los contratados perteneciente al departamento de I+D de la empresa trabaja integrado en nuestro grupo de investigación realizando investigaciones sobre nutrición mineral y fertilización.

Por otra parte, nuestro grupo trabaja habitualmente en colaboración con otras empresas del sector, en general para el estudio de la eficacia de fertilizantes y bajo términos de confidencialidad. Estos trabajos permiten hacer transferencia de conocimiento y, al mismo tiempo, mantienen el contacto de los proyectos con la actividad del sector.



B6. Actividades de formación y movilidad de personal

Indique las actividades de formación y movilidad de personal relacionadas con el desarrollo del proyecto. Además, si procede, las actividades realizadas en colaboración con otros grupos o con actividades de formación en medianas o grandes instalaciones.

	Nombre	Tipo (becario, técnico, contratado con cargo al proyecto, posdoctoral, otros)	Descripción de las actividades de formación
1	Patricia Sisó	Contratado predoctoral	2013-INRA-Universidad de Montpellier (Francia). Estudio de la síntesis, acumulación y exudación radicular de compuestos fenólicos inducida por deficiencia de hierro en plantas de Estrategia I
2	Elain Gutierrez	Contratado predoctoral	2013-Universidad de Iwate, Morioka (Japón). "Shotgun proteomics" y separación de dominios en membrana plasmática de raíces
3	Elain Gutierrez	Contratado predoctoral	2014-Universidad de Iwate, Morioka (Japón). "Shotgun proteomics" aplicado a proteínas de apoplasto y xilema
4	Laura Ceballos	Contratado predoctoral	2014-Universidad de Iwate, Morioka (Japón). "Shotgun proteomics" aplicado a proteínas de apoplasto, xilema y semillas
5	Brenda Pérez	Prácticas FP Ciclo formativo grado medio	2014-Prácticas Formativas en Centros de Trabajo (FCT)
6	Nuria Raedo	Prácticas FP Ciclo formativo grado superior	2014-Prácticas Formativas en Centros de Trabajo (FCT)

B7. Actividades de internacionalización y otras colaboraciones relacionadas con el proyecto

Indique si ha colaborado con otros grupos o si ha concurrido, y con qué resultado, a alguna de las convocatorias de ayudas (proyectos, formación, infraestructuras, otros) del Programa Marco de I+D de la UE y/o a otros programas internacionales, en temáticas relacionadas con la de este proyecto. Indique el programa, socios, países y temática y, en su caso, financiación recibida.

Las colaboraciones internacionales han sido descritas brevemente en el apartado B4.

En este periodo no se ha concurrido a ayudas del Programa Marco de la UE.

C. Difusión de los resultados del proyecto

Relacione únicamente los resultados derivados de este proyecto

En todas las actividades de difusión reseñadas se ha especificado la financiación de este proyecto

C1. Publicaciones científico-técnicas (con peer-review) derivadas del proyecto y patentes

Autores, título, referencia de la publicación...

Publicados (en gris las detalladas en el primer informe)

Todas las publicaciones se encuentran en el primer cuartil.

2013

1. El-Jendoubi H, Vázquez S, Calatayud A, Vavpetic P, Vogel-Mikuš K, Pelicon P, Abadía J, Abadía A, Morales F (2014) The effects of foliar fertilization with iron sulfate in chlorotic leaves are



limited to the treated area. A study with peach trees (*Prunus persica* L. Batsch) grown in the field and sugar beet (*Beta vulgaris* L.) grown in hydroponics. *Front Plant Sci* 5, 2. (doi: 10.3389/fpls.2014.00002).

2. Gutierrez-Carbonell E, Lattanzio G, Sagardoy R, Rodríguez-Celma J, Ríos JJ, Matros A, Abadía A, Abadía J, López-Millán AF (2013) Changes induced by zinc toxicity in the 2-DE protein profile of sugar beet roots. *Journal of Proteomics* 94, 149-161. (doi: 10.1016/j.jprot.2013.09.002).

3. Lattanzio G, Andaluz S, Matros A, Calvete JJ, Kehr J, Abadía A, Abadía J, López-Millán AF (2013) Protein profile of *Lupinus texensis* phloem sap exudates: searching for Fe and Zn containing proteins. *Proteomics* 13, 2283-2296. (doi: 10.1002/pmic.201200515).

4. López-Millán A-F, Grusak MA, Abadía A, Abadía J (2013) Iron deficiency in plants: an insight from proteomic approaches. *Frontiers in Plant Science* 4, 254. (doi: 10.3389/fpls.2013.00254).

2014

5. Correia PJ, Gama F, Saavedra T, Miguel MG, da Silva JP, Abadía A, de Varennes A, Pestana M (2014) Changes in the concentration of organic acids in roots and leaves of carob-tree under Fe depletion. *Funct Plant Biol*, 496-504 (doi: 10.1071/FP13204)

6. Álvarez-Fernández A, Díaz-Benito P, Abadía A, Lopez-Millán AF, Abadía J (2014) Metal species involved in long distance metal transport in plants. *Frontiers in Plant Science*, 5, 105. (doi: 10.3389/fpls.2014.00105).

7. Fourcroy P, Sisó-Terraza P, Sudre D, Savirón M, Reyt G, Gaymard F, Abadía A, Abadía J, Álvarez-Fernández A, Briat JF (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. (doi: 10.1111/nph.12471).

2015

8. Ceballos L, Gutierrez-Carbonell E, Lattanzio G, Vázquez S, Contreras-Moreira B, Abadía A, Abadía J, López-Millán AF. Changes in the protein profiles of *Beta vulgaris* leaf apoplastic fluid with Fe deficiency and Fe resupply. *Frontiers Plant Sci* 6, 145. (doi: 10.3389/fpls.2015.00145).

En evaluación

9. Gutierrez-Carbonell E, Lattanzio G, Kehr J, Abadía A, Grusak MA, Abadía J, López-Millán AF. Effects of Fe deficiency on the protein profile of *Brassica napus* phloem sap.

10. Rodríguez-Celma J, Lattanzio G, Villarroya D, Gutierrez-Carbonell E, Rencoret J, Gutiérrez A, del Río JC, Grusak MA, Abadía A, Abadía J, López-Millán AF. Effects of Fe deficiency on the protein profiles and lignin composition of stem tissues from *Medicago truncatula*.

11. Sisó-Terraza P, Ríos J, Abadía J, Abadía A, Álvarez-Fernández A. Flavins secreted by roots of iron-deficient *Beta vulgaris* enable mining of ferric oxide *via* reductive mechanisms.

En preparación

12. El-Jendoubi H, E Gutierrez-Carbonell, Abadía J, Abadía A, Álvarez-Fernández A, López-Millán AF. Changes in the proteomic and metabolomic profiles of *Prunus persica* xylem with Fe deficiency.

13. Gutierrez-Carbonell E, Takahashi D, González-Reyes JA, Lüthje S, Contreras B, Uemura M, Abadía J, López-Millán AF. Changes in the protein profile of plasma membrane preparations of *Beta vulgaris* roots with Fe deficiency.

14. Carrasco-Gil S, Álvarez-Fernández A, Abadía A, García-Mina JM, Abadía J. Effects of individual and combined Fe and Mn foliar treatments on metal-deficient tomato plants.

15. Ceballos L, Abadía A, Abadía J, López-Millán AF. Changes induced by Fe and Mn deficiency in the root protein and xylem sap profiles of *Solanum lycopersicum*.

C2. Asistencia a congresos, conferencias o workshops relacionados con el proyecto

Nombre del congreso, tipo de comunicación (invitada, oral, póster), autores



2013

International Workshop on Plant Membrane Biology (IWPMB2013). Kurashiki, Japón, 26-31 marzo. Asistencia E. Gutierrez-Carbonell.

1. Gutierrez-Carbonell E, Takahashi D, Lattanzio G, Rodríguez-Celma J, Duy D, Philippar K, Kehr J, Uemura M, Abadía J, López-Millán AF. Proteomic profiles of *Pisum sativum* inner and outer chloroplast envelope membranes (*Comunicación/poster*).

XVII International Plant Nutrition Colloquium. Nutrition for nutrient and food security. Estambul, Turquía, agosto 19-22. Asistencia A. Álvarez-Fernández.

2. Gutierrez-Carbonell E, Lattanzio G, Sagardoy R, Rodríguez-Celma J, Rios JJ, Abadía A, Abadía J, López-Millán AF. Changes induced by Zn toxicity in the 2-DE protein profile of *Beta vulgaris* roots (*Comunicación/poster*).
3. El-Jendoubi H, Vázquez S, Abadía A, Morales F, Abadía J. Multi-criteria assessment of foliar Fe fertilization (*Comunicación/poster*).
4. Sisó P, Abadía A, Abadía J, Álvarez-Fernández A. Root secretion and accumulation of phenolic compounds in response to Fe deficiency in tomato (*Comunicación/poster*).

XII HUPO World Congress. Yokohama, Japón, sep 14-18. Asistencia E. Gutierrez-Carbonell.

5. Gutierrez-Carbonell E, Abadía A, Abadía J, López-Millán AF. Changes in the protein profiles of *Beta vulgaris* leaf apoplastic fluid with iron deficiency and iron resupply (*Comunicación/poster*).

2014

International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants. Gatersleben, Germany, 6-10 July. Asistencia A. Álvarez-Fernández.

6. Abadía J, Sisó-Terraza P, Pablo Díaz-Benito, Gutierrez-Carbonell E, Takahashi D, Abadía A, Uemura M, López-Millán AF, Álvarez-Fernández A. Advances in iron nutrition based on mass spectrometry approaches. (*Ponencia invitada*).
7. Carrasco-Gil S, Fernández B, Pereiro R, Gogorcena Y, Abadía A, Abadía J, Álvarez-Fernández A. Spatial distribution of Fe in leaf sections of Fe-treated peach trees using imaging laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS). (*Comunicación/poster*).
8. Gutierrez-Carbonell E, Lattanzio G, Abadía A, Grusak MA, Abadía J, López-Millán AF. Changes in the protein profile of the phloem sap from *Brassica napus* as affected by iron deficiency. (*Comunicación/poster*).
9. Jiménez S, López-Millán AF, Duy D, Philippar K, Abadía J, Abadía A, Gogorcena Y. Phylogenetic analysis on gene families related to iron homeostasis in peach. (*Comunicación/poster*).
10. Sisó-Terraza P, Abadía J, Abadía A, Gogorcena Y, Álvarez-Fernández A. Iron deficiency-induced root secretion of phenolics plays a significant role in Fe acquisition at high pH in *Prunus* rootstock. (*Comunicación/poster*).
11. Gama F, Correia PJ, da Silva JP, Saavedra T, El-Jendoubi H, Abadía A, de Varennes A, Pestana M. Iron mobility in chlorotic leaves of strawberry plants grown in nutrient solution. (*Comunicación/poster*).
12. Gama F, Saavedra T, da Silva JP, Miguel MdG, de Varennes A, Abadía A, Correia P, Pestana M. Organic acids and nutrient profile in response to iron deficiency and resupply. (*Comunicación/poster*).

1st INPPO World Congress 2014. Hamburg, Germany, August 31-September 4. Asistencia L. Ceballos y E. Gutierrez-Carbonell

13. Ceballos L, Gutierrez-Carbonell E, Lattanzio G, Abadía A, Abadía J, López-Millán AF. Changes in the protein profiles of *Beta vulgaris* leaf apoplastic fluid with iron deficiency and iron resupply. (*Comunicación/poster*).
14. Gutierrez-Carbonell E, Takahashi D, Lüthje S, González-Reyes JA, Uemura M, Abadía J, López-Millán AF. Changes in the protein profiles of plasma membrane and detergent resistant microdomain preparations from *Beta vulgaris* roots as affected by Fe deficiency.



(Comunicación/poster).

13th Human Proteome Organization World Congress (HUPO), Madrid, Spain, 5-8 October. Asistencia E. Gutierrez-Carbonell.

15. Gutierrez-Carbonell E, Takahashi D, Lüthje S, Uemura M, Abadía J, López-Millán AF. Changes in the protein profiles of plasma membrane preparations from *Beta vulgaris* roots as affected by Fe deficiency. (Comunicación/poster).

XV Simposio Luso-Español de Nutrición Mineral de las Plantas NutriPLANTA. Lisboa, Portugal, 6-8 December. Asistencia A. Álvarez-Fernández.

16. Sisó-Terraza P, Gogorcena Y, Abadía J, Abadía A, Álvarez-Fernández A. Plant root release of phenolics and flavins upon Fe deficiency. (Ponencia invitada).

17. Ríos JJ, Abadía A, Abadía J. Stomatal guard cells are involved in Fe uptake from foliar fertilizers in Prunus rootstock leaves. (Comunicación/oral).

18. Carrasco-Gil S, Álvarez-Fernández A, Abadía A, García-Mina JM, Abadía J. Effect of individual and combined Fe and Mn foliar treatments on metal-deficient tomato plants. (Comunicación/oral).

19. Saavedra T, Gama F, da Silva JP, da Graça Miguel M, de Varennes A, Abadía A, Correia PJ, Pestana M. Partição da biomassa, composição mineral e variação de ácidos orgânicos em morangueiros deficientes em ferro. (Comunicación/poster).

C3. Tesis doctorales finalizadas relacionadas con el proyecto

Nombre del doctor, director de tesis, título, calificación, organismo...

Actualmente hay tres tesis financiadas total o parcialmente por el proyecto: P. Sisó y E. Gutierrez-Carbonell, ambos con contratos finalizados en 2014, con fecha prevista de lectura en 2015; y L. Ceballos que empezó su trabajo en enero de 2014.

C4. Otras publicaciones derivadas de colaboraciones mantenidas durante la ejecución del proyecto y que pudieran ser relevantes para el mismo, así como artículos de divulgación libros, conferencias

Autores, título, referencia de la publicación...

Divulgación

1. El-Jendoubi H, Abadía J, Abadía A (2013) Estimación de las necesidades de nutrientes en frutales de hoja caduca: el caso del melocotonero. Vida Rural, 357, 32-36.

2. Carrasco-Gil S, El-Jendoubi H, Ríos JJ, Fernández B, Abadía J, Abadía A (2015) Fertilización foliar de Fe, un mismo objetivo tanto en estudios de campo como en laboratorio. Vida Rural, 391, 46-54.

Publicaciones SCI relacionadas con el proyecto

3. Gutierrez-Carbonell E, Takahashi D, Lattanzio G, Rodríguez-Celma J, Soll J, Philippar K, Kehr J, Uemura M, Abadía J, López-Millán AF (2013) The distinct functional roles of the inner and outer chloroplast envelope are revealed by proteomic approaches. J Proteom Res 13, 2941-2953 (doi: 10.1021/pr500106s).



D. Personal activo en el proyecto

Relacione la situación de todo el personal de las entidades participantes que haya prestado servicio en el proyecto en la anualidad que se justifica, o **que no haya sido declarado anteriormente**, y cuyos costes (salariales, dietas, desplazamientos, etc.) se imputen al mismo.

Si no incluido en solicitud original:							
	Nombre	NIF/NIE	Catg. ^a profesional	Incluido solicitud original (S/N)	Función en el proyecto	Fecha de alta	Observaciones
1	Abadía, Anunciación	17854929Y	Prof Investigación	S			
2	Álvarez, Ana	09392534R	Científico Titular	S			
3	Pestana, Maribela	7761742	Prof. Tit. Portugal	S			
4	Sisó, Patricia	Z411218	Contratado predoctoral	S			Contrato finalizado en 2014
5	Gutierrez-Carbonell, Elain	Y1534875F	Contratado predoctoral	S			Contrato finalizado en 2014
6	Ceballos, Laura	76923883S	Contratado predoctoral	N	Realización Tesis	16-01-14	Concedido al proyecto
7	Marco, Gema	13931192T	Temporal		Apoyo laboratorio y cultivo plantas	01-05-13	Contratado a cargo de proyecto

Cree tantas filas como necesite

-En este capítulo solo debe incluir al personal vinculado de las entidades participantes en el proyecto. Los gastos de personal externo (colaboradores científicos, autónomos...) que haya realizado tareas para el proyecto deben ser incluidos en el capítulo de "Varios".

-Las "Altas" y "Bajas" deben tramitarse de acuerdo con las instrucciones para el desarrollo de los proyectos de I+D+i expuestas en la página web del ministerio.



E. Gastos realizados durante la anualidad

E1. Gastos de personal (indique número de personas, situación laboral y función desempeñada)				
	Nombre	Situación laboral	Función desempeñada	Importe
1	Gema Marco	Contratada G3	Apoyo técnico proyecto	23.343,62
Total gastos de personal				23.343,62

E2. Material inventariable (describa el material adquirido)				
	Identificación del equipo	Descripción del equipo	Importe	Previsto en la sol. original (S/N)
1				
Total gastos material inventariable				

E3. Material fungible (describa el tipo de material por concepto o partida, p. ej., reactivos, material de laboratorio, consumibles informáticos, etc.)				
	Concepto	Importe	Previsto en la sol. original (S/N)	
1	Reactivos, fungible de laboratorio, gases, columnas, filtros, etc	21.993,87	S	
Total gastos material fungible		21.993,87		

E4. Viajes y dietas (describa la actividad del gasto realizado y las personas que han realizado la actividad). Debe incluir aquí los gastos derivados de la asistencia a congresos, conferencias, colaboraciones, reuniones de preparación de propuestas relacionados con este proyecto, etc.)				
	Concepto	Importe	Nombre del participante	Previsto en la sol. original (S/N)
1	Asistencia Congreso NUTRIPLANTA	210,05	Ana Álvarez-Fernández	S
2	Asistencia Simposio ISINIP (IPK)	1.040,90	Ana Álvarez-Fernández	S
3	Asistencia Congreso INPPO	747,03	Elain Gutierrez-Carbonell	N
4	Estancia Morioka, Japón	1.350,00	Elain Gutierrez-Carbonell	N
5	Asistencia Congreso HUPO	524,75	Elain Gutierrez-Carbonell	N
Total viajes y dietas		3.872,73		

E5. Otros gastos (describa por concepto; debe incluir aquí, entre otros, los gastos derivados de personal no incluido en el equipo de trabajo indicando la actividad a la que corresponde dicho gasto, así como el gasto derivado de la inscripción a congresos o conferencias)				
	Concepto	Importe	Nombre del participante	Previsto en la sol. original (S/N)
1	Análisis Universidad de Barcelona	3.706,67		S
2	IACS (microscopía y proteómica)	1.014,94		N
3	Inscripción INPPO	250,00	Laura Ceballos	N
4	Inscripción ISINIP (IPK)	350,00	Ana Álvarez-Fernández	S



5	Inscripción HUPO	275,00	Elain Gutierrez-Carbonell	N
6	Publicación Frontiers Plant Sci.	1.600,00		S
7	Gastos derivados publicación y presentaciones	841,37		S
Total otros gastos		8.037,98		

E6. Total ejecutado (costes directos únicamente)**Importe total ejecutado durante la anualidad****57.248,20****E7. Descripción de gastos no contemplados en la solicitud original (si ha realizado algún gasto no contemplado en la solicitud original, justifique la necesidad de su adquisición en este apartado)**

Como se ha venido comentando tanto en el informe anterior como en otro apartado de este mismo informe (B3), el hecho de no haber podido ejecutar gastos en el CSIC durante el primer año de proyecto (circunstancia ajena a los investigadores) hace que se conserve un remanente superior al previsto al final del segundo año.

En el apartado de viajes, como ocurrió el año anterior, se ha financiado una parte del viaje de E. Gutierrez-Carbonell a Morioka (Japón) para realizar trabajos enmarcados en la Tarea 4, descritos en el apartado B2. Además, se ha financiado la asistencia de E. Gutierrez-Carbonell al Congreso de la INPPO (International Plant Proteomics Organization) y de la HUPO (Human Proteome Organization, Non-human and Food Proteomics Section), habiendo presentado en ambos casos comunicaciones.

En el apartado de varios, además de los análisis en la Universidad de Barcelona que ya estaban previstos, se han incluido dos trabajos realizados en el IACS (DGA) referidos a microscopía y proteómica y que no podían ser realizados en la EEAD-CSIC. También se ha financiado la inscripción de E. Gutierrez-Carbonell al congreso HUPO2014 y de L. Ceballos al Congreso de la INPPO. Como se ha comentado, en todos los casos se han presentado comunicaciones.

Hay alguna variación, en cantidades estimadas no en conceptos, en el apartado de material fungible según las necesidades de proyecto.

F. Gastos realizados desde el inicio del proyecto**Importe total ejecutado (costes directos únicamente)****78.121,15**