



**Informe final  
Proyecto I+D y T**

# **Nombre del proyecto**

**Fitoestabilización asistida de  
entornos mineros contaminados con  
metales: salud del suelo y servicios  
de los ecosistemas (FITOMINA)**

**Contacto Neiker:**  
Carlos Garbisu  
cgarbisu@neiker.eus  
688601530

Ref. NEIKER: 12-00101

Ejercicio: 2015

Ref. DMAPTAP:

Fecha:

Acrónimo: FITOMINA

**Título:** Fitoestabilización asistida de entornos mineros contaminados con metales: salud del suelo y servicios de los ecosistemas

**Jefe de proyecto:** Garbisu Crespo, Carlos

**Email:** cgarbisu@neiker.eus

**Clasificación del proyecto:**

**Unidad de negocio:**

**Departamento:** Conservación de Recursos Naturales

**Campos de aplicación:** Recursos Naturales

**Área estratégica:** Agrosistemas

**Línea:** Suelos y fertilización

**Tipo de proyecto:** Estratégico

**Origen:** Conversaciones internas en NEIKER sobre el interés en pedir un proyecto de estas características

**Palabras clave:** Fitorremediación, fitoestabilización, indicadores microbianos

**Objeto:** Suelo

**Aspecto:** Ecología microbiana

**Finalidad:** Adquisición de conocimientos básicos y aplicados

**Objetivo:** El objetivo general del presente proyecto es caracterizar, durante un proceso de fitoestabilización asistida de un suelo minero contaminado con altos niveles de Cd, Pb y Zn, los mecanismos de interacción "suelo-metal-enmienda-microorganismo-planta", de cara a evaluar, con solidez científica y mediante el empleo de indicadores biológicos, la recuperación de la salud del suelo y, con carácter novedoso en el campo de la fitorremediación, de los servicios de los ecosistemas a través de su incorporación al programa de monitorización post-tratamiento.

### Objetivos específicos:

1. Identificación y caracterización, a nivel microcosmos, de los mecanismos de interacción “suelo-metal-enmienda-microorganismo-planta” y su repercusión frente a la salud del suelo en procesos de fitoestabilización asistida de vertederos mineros contaminados con metales.
2. Evaluación de la fitoestabilización asistida, a escala microcosmos, para su posterior aplicación en condiciones de campo, en términos de disminución de biodisponibilidad de metales, aporte nutricional para microorganismos y plantas, mejora de las condiciones ecotoxicológicas del suelo, y recuperación de la salud del ecosistema edáfico.
3. Evaluación y monitorización de la eficacia de la fitoestabilización asistida en vertedero minero (Lanestosa, Vizcaya) sobre zonas vegetadas con *Festuca rubra* L. y otras desprovistas de vegetación. La monitorización estará relacionada con la disminución de la biodisponibilidad de metales, el aumento en el contenido en nutrientes y elementos esenciales, la evolución de biomarcadores ecotoxicológicos-biológicos (microorganismos y plantas) y, finalmente, el impacto en la biodiversidad estructural y funcional de las comunidades microbianas edáficas y en la vegetación (diversidad, biomasa).
4. Diseño y validación de pautas de aplicación del concepto de los “servicios de los ecosistemas” al programa post-tratamiento de monitorización de la salud de los suelos fitoestabilizados, al objeto de aportar valor añadido a dicho programa y, en general, al proceso fitorremediador en su conjunto.

-----

**Duración:** 3 años

**Fecha de inicio:** 01/01/2013

**Fecha final:** 31/12/2015

-----

### 1. Equipo participante de NEIKER - Tecnalia

Participantes de NEIKER – Tecnalia:

- + Jefe de Proyecto: Carlos Garbisu
- + Otros participantes: Lur Epelde, Fernando Blanco, Iker Martín, Mikel Anza, Aritz Burgues

Otras entidades participantes o colaboradoras: UPV/EHU

### 2. Informe sobre las actividades más destacadas de la investigación en el proyecto y resultados obtenidos

A continuación, se incluye el informe final presentado a la entidad que, junto con el Gobierno Vasco, financia este proyecto FITOMINA (i.e., Ministerio de Economía y Competitividad):

## Resumen del proyecto para difusión pública

Resuma los principales avances y logros obtenidos del proyecto con una **extensión máxima de 30 líneas**, teniendo en cuenta su posible difusión pública (páginas webs institucionales)

En este proyecto, se ha investigado la aplicación de tecnologías de fitoestabilización asistida mediante la utilización de *F. rubra*, a escala microcosmos y en campo, considerando 3 áreas prioritarias de interés para la recuperación de estos entornos: (i) el conocimiento de las interacciones “suelo-enmienda-microorganismo-planta” en suelos contaminados; (ii) el estudio de la inmovilización de elementos tóxicos mediante el empleo de enmiendas procedentes de residuos; (iii) el impacto de los contaminantes en la salud del suelo y la evaluación de su recuperación tras la fitoestabilización. Los resultados del proyecto han contribuido al avance del conocimiento para el empleo de las tecnologías de fitorremediación. De forma resumida, los principales resultados han sido:

-. La adición de enmiendas orgánicas es esencial para mejorar la eficacia de la fitoestabilización. La enmienda reduce la biodisponibilidad de metales por la interacción de los metales con sus componentes y mediante el aumento del pH del suelo. Además, la presencia de enmiendas proporciona nutrientes que mejoran: (i) las propiedades microbianas del suelo en términos de actividad, biomasa y diversidad; (ii) el crecimiento, desarrollo y fisiología de las plantas; (iii) la disminución de la ecotoxicidad del suelo; y (iv) los servicios ecosistémicos suministrados por el suelo.

-. La elección de la enmienda es un aspecto clave para la fitogestión eficaz de un emplazamiento contaminado (la efectividad de las enmiendas es superior a la de las bacterias endófitas). La enmienda más estable y eficaz para reducir la biodisponibilidad de metales fue una mezcla de lodo de papelera y gallinaza; no obstante, esta enmienda causó un efecto limitado sobre los procesos biológicos (microorganismos y planta). La aplicación de gallinaza estimuló la actividad y diversidad microbiana, y los procesos y el crecimiento de la especie fitoestabilizadora, a pesar de su efecto transitorio sobre la reducción de la biodisponibilidad de metales.

-. Los suelos desnudos que no habían podido ser revegetados de forma espontánea durante décadas fueron los más beneficiados por la fitoestabilización asistida. Así, se consiguió estimular la colonización vegetal y mejorar la salud de esos suelos en condiciones naturales, indicando que el conocimiento de las interacciones “suelo-enmienda-microorganismo-planta” contribuye a la aplicación “ad hoc” de tecnologías para la fitogestión eficaz de emplazamientos mineros abandonados.

-. La aplicación del concepto de los “servicios de los ecosistemas” al programa de monitorización ha demostrado su gran utilidad para aportar valor añadido a dicho programa.

## Informe de progreso y resultados del proyecto

### 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) señalando la participación de los subproyectos en su desarrollo.

**Objetivo 1:** Identificación y caracterización, a nivel microcosmos, de los mecanismos de interacción “suelo-metal-enmienda microorganismo-planta” y

El Objetivo 1 fue completado en su totalidad en el primer año de desarrollo del proyecto.

**Subproyecto 2 (SP2)**  
(NEIKER)

*Otros subproyectos*

|  |   |   |
|--|---|---|
| <p>su repercusión frente a la salud del suelo en procesos de fitoestabilización asistida de vertederos mineros contaminados con metales.</p>   | <p>Tarea 1.SP2: Determinación de propiedades microbianas con potencial bioindicador de la salud del suelo en los ensayos a escala microcosmos indicados en el estudio de quimioestabilización temporal.</p> <p>Realizado 2013: 100%<br/>Total: 100%<br/>Ver informe 1º año</p>  | <p><i>implicados:</i><br/>Subproyecto 1 (SP1)<br/>Subproyecto 3 (SP3)</p>   |
| <p><b>Objetivo 2:</b> Evaluación de la fitoestabilización asistida, a escala microcosmos, para su posterior aplicación en condiciones de campo, en términos de disminución de biodisponibilidad de metales, aporte nutricional para microorganismos y plantas, mejora de las condiciones ecotoxicológicas del suelo, y recuperación de la salud del ecosistema edáfico.</p>  | <p>El Objetivo 2 fue completado en su totalidad entre el primero y segundo año de desarrollo del proyecto.</p> <p>Tarea 2.SP2: Determinación de las condiciones óptimas con potencial bioindicador de la salud del suelo en el ensayo anterior.</p> <p>Realizado 2013: 70%<br/>Realizado 2014: 30%<br/>Total: 100%<br/>Ver informes 1º y 2º año</p>                 | <p><b>Subproyecto 2 (SP2) (NEIKER)</b></p> <p><i>Otros subproyectos implicados:</i><br/>Subproyecto 1 (SP1)<br/>Subproyecto 3 (SP3)</p> |
| <p><b>Objetivo 3:</b> Evaluación y monitorización de la eficacia de la fitoestabilización asistida en vertedero minero (Lanestosa, Vizcaya) sobre zonas vegetadas con <i>Festuca rubra</i> L. y otras desprovistas de vegetación. La monitorización estará relacionada con la disminución de la biodisponibilidad de metales, el aumento en el contenido en nutrientes y elementos esenciales, la evolución de biomarcadores ecotoxicológicos-biológicos (microorganismos y plantas) y, finalmente, el impacto en la biodiversidad estructural y funcional de las comunidades microbianas edáficas y en la vegetación (diversidad, biomasa).</p> | <p>El Objetivo 3 ha sido completado en su totalidad entre el segundo y tercer año de desarrollo del proyecto.</p> <p>Tarea 3.SP2: Evaluación del efecto del proceso de fitoestabilización asistida sobre las propiedades microbianas del suelo en el ensayo de campo.</p> <p>Realizado 2014: 80%<br/>Realizado 2015: 20%<br/>Total: 100%<br/>Ver informe 2º año</p> | <p><b>Subproyecto 2 (SP2) (NEIKER)</b></p> <p><i>Otros subproyectos implicados:</i><br/>Subproyecto 1 (SP1)<br/>Subproyecto 3 (SP3)</p> |
| <p><b>Objetivo 4:</b> Diseño y validación de pautas de aplicación del concepto de los “servicios de los ecosistemas” al programa post-tratamiento de monitorización de la salud de los suelos fitoestabilizados, al objeto</p>   | <p>El Objetivo 4 ha sido completado en su totalidad entre el segundo y tercer año de desarrollo del proyecto.</p> <p>Tarea 4.SP1/SP2/SP3: Aplicación</p>  | <p><b>Subproyecto 2 (SP2) (NEIKER)</b></p> <p><i>Otros subproyectos implicados:</i><br/>Subproyecto 1 (SP1)<br/>Subproyecto 3 (SP3)</p> |

|   |   |  |
|---|---|--|
| de aportar valor añadido a dicho programa y, en general, al proceso fitorremediador en su conjunto. | del concepto de los servicios de los ecosistemas al suelo fitoestabilizado del vertedero minero de Lanestosa. |  |
|   | Realizado 2014: 25%<br>Realizado 2015: 75%<br>Total: 100%<br>Ver informe 2º año                               |  |

### Actividades realizadas y resultados alcanzados

Describe las actividades científico-técnicas realizadas para alcanzar los objetivos planteados en el proyecto. Indique para cada actividad los subproyectos y los miembros del equipo que han participado. **Extensión máxima 4 páginas**

En este apartado, se presenta un resumen de las actividades realizadas por NEIKER (SP2) durante el desarrollo del proyecto FITOMINA:

**Objetivo 1 - Tarea 1.SP2 (ver informe 1º año):** se realizó un experimento, a escala microcosmos, de quimioestabilización con suelo minero contaminado con elementos traza (Cd, Pb y Zn) y suplementado con las siguientes enmiendas orgánicas: estiércol ovino, gallinaza, purín vacuno y lodo de papelería mezclado con gallinaza. Durante el experimento, se determinaron una serie de parámetros microbianos con potencial bioindicador de la salud del suelo (respiración basal, respiración inducida por sustrato, cociente metabólico, y perfiles metabólicos-fisiológicos a nivel de comunidad bacteriana cultivable mediante el empleo de Biolog EcoPlates™), teniendo en consideración la posible influencia de las poblaciones microbianas presentes inicialmente en las enmiendas utilizadas.

Los suelos enmendados mostraron valores superiores de actividad y biomasa microbiana. La naturaleza de las enmiendas (principalmente, la cantidad de materia orgánica fácilmente disponible) demostró tener un papel clave sobre esta estimulación de las comunidades microbianas edáficas. Por otra parte, la aplicación de gallinaza condujo a los valores más altos de diversidad funcional bacteriana. En cualquier caso, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre suelos tratados con enmiendas esterilizadas y suelos tratados con enmiendas no-esterilizadas, lo cual indica que las poblaciones microbianas inicialmente presentes en las enmiendas aquí empleadas no parecen tener un efecto significativo sobre los parámetros microbianos estudiados en las matrices suelo-enmienda.

**Objetivo 2 - Tarea 2.SP2 (ver informe 2º año):** en un ensayo, a escala microcosmos, de fitoestabilización asistida con *Festuca rubra* y diferentes enmiendas (ver arriba) en suelo minero contaminado con elementos traza (Cd, Pb y Zn), NEIKER estudió el impacto de los diferentes tratamientos fitorremediadores sobre la calidad del suelo, estimada ésta a partir de las respuestas de las comunidades microbianas edáficas (i.e., se estudió la evolución de parámetros de actividad, biomasa y diversidad de las comunidades microbianas del suelo). La razón última que justifica este estudio es el hecho de que el objetivo de un proceso remediador de suelos contaminados no debe ser exclusivamente reducir la concentración del contaminante o contaminantes, sino recuperar la calidad del suelo, entendida ésta como la capacidad de un suelo para realizar sus funciones y, por ende, suministrar servicios ecosistémicos (ver Objetivo 4



abajo). Lógicamente, las respuestas observadas en las comunidades microbianas edáficas son resultado de (i) el crecimiento de las plantas fitorremediadoras, (ii) la adición de nutrientes presentes en las enmiendas, y (iii) el efecto de las citadas plantas y enmiendas sobre la biodisponibilidad y movilidad de los elementos traza presentes en la matriz edáfica. En este sentido, la aplicación de las enmiendas aquí empleadas condujo a un aumento de los valores de pH del suelo, y de forma concomitante una disminución de la biodisponibilidad de los elementos traza y, por consiguiente, de su impacto adverso sobre las comunidades microbianas edáficas.

La enmienda con lodos de papelera fue la más efectiva para reducir la biodisponibilidad de los elementos traza en el suelo (éste es el objetivo prioritario de los procesos de fitoestabilización asistida) pero, por el contrario, su efecto sobre la calidad del suelo, cuantificada por el incremento en los parámetros microbianos edáficos con potencial bioindicador, fue menor que el de las otras enmiendas (e.g., gallinaza y purín vacuno). Finalmente, se observó que el “factor planta” (i.e., crecimiento de la especie tolerante *F. rubra* en el suelo minero) por sí solo conducía a una estimulación de las comunidades microbianas del suelo, responsables en gran parte de la funcionalidad del recurso edáfico.

**Objetivo 3 - Tarea 3.SP2 (ver informe 2º año):** para este objetivo, se realizó un ensayo, a escala de campo, de fitoestabilización asistida con *Festuca rubra* y las enmiendas arriba mencionadas en suelo minero real (mina de Lanestosa ubicada en Vizcaya) contaminado con elementos traza (Cd, Pb y Zn). Una vez más, NEIKER estudió el impacto de los diferentes tratamientos fitorremediadores sobre la calidad del suelo, estimada ésta a partir de las respuestas de las comunidades microbianas edáficas. El diseño experimental de este estudio de campo incluyó tanto parcelas vegetadas como no-vegetadas.

En este estudio, aunque no se observó un cambio en los valores de pH del suelo, la aplicación de enmiendas consiguió el efecto deseado, léase, la reducción en los niveles de elementos traza disponibles, de cara a reducir su impacto tóxico (i.e., su impacto medioambiental adverso). Tanto el crecimiento de la vegetación como la aplicación de las enmiendas orgánicas se reflejó en una mejora de la calidad del suelo (i.e., valores superiores de los parámetros microbianos estudiados). No obstante, el efecto estimulador de las enmiendas sobre las comunidades microbianas edáficas fue probablemente un efecto indirecto a través del aporte de nutrientes que favorecieron el crecimiento vegetal (es bien conocido el efecto estimulador de las plantas sobre las comunidades microbianas rizosféricas).

**Objetivo 4 (ver informes 1º y 2º año):** inicialmente, para desarrollar este último objetivo se definió teóricamente la forma de aplicar el concepto de los “servicios de los ecosistemas” al necesario programa post-tratamiento de monitorización de la salud de los suelos sometidos a procesos de fitorremediación (e.g., fitoestabilización asistida).

De forma resumida, para este objetivo, se propuso agrupar los parámetros microbianos edáficos en una serie de servicios ecosistémicos que puede suministrar un suelo contaminado sometido a fitorremediación, entre los que se prestó especial interés a la biodiversidad microbiana edáfica como componente clave de la infraestructura ecológica de la que depende el suministro de dichos servicios ecosistémicos (e.g., sumidero de carbono, reciclaje de nutrientes, diversidad genética incluyendo plásmidos

conjugativos que alberguen genes de resistencia a elementos traza y/o antibióticos, etc.). Esta decisión fue clave para el éxito en el desarrollo de este objetivo que ha supuesto, por su carácter innovador, un avance considerable en el conocimiento del Grupo de Ecología Microbiana de Suelos de NEIKER.

Entre otros desarrollos pioneros para nuestro grupo, esta decisión nos animó a caracterizar la biodiversidad genética microbiana en suelos de la mina de Lanestosa con diferentes niveles de contaminación por elementos traza mediante técnicas de secuenciación masiva a nivel estructural-taxonómico (RNA ribosómico) y funcional (RNA mensajero). En concreto, utilizamos una aproximación metatranscriptómica para estudiar la biodiversidad genética en un gradiente de concentración de elementos traza. El pH del suelo y el contenido en arcilla demostraron ser los factores determinantes más importantes que explicaban la estructura de las comunidades microbianas edáficas. Asimismo, la uniformidad de las citadas comunidades microbianas aumentó de forma concomitante con los niveles de contaminación metálica. Por otra parte, encontramos que algunos taxones con reconocida plasticidad metabólica (i.e., *Ktedonobacteria* y *Chloroflexi*) mostraban una mayor abundancia relativa en las muestras con niveles más altos de contaminación. Otros grupos taxonómicos pertenecientes a los filos *Actinobacteria* y *Acidobacteria* mostraron el patrón opuesto (menores abundancias relativas a niveles más altos de contaminación). Un resultado muy interesante fueron los valores más altos de expresión genética (a nivel de RNAm) de transcritos funcionales relacionados con la transposición, transferencia de material genético y transporte de membrana implicados en mecanismos diversos de resistencia a elementos traza, en los suelos con niveles más altos de contaminación metálica. Esta caracterización detallada de las comunidades microbianas edáficas en la mina de Lanestosa (Vizcaya) proporcionó un conocimiento profundo del impacto de los elementos traza aquí estudiados sobre la biodiversidad estructural y funcional genética de las comunidades microbianas edáficas, responsables en gran parte de los procesos, funciones y servicios ecosistémicos del suelo.

Es importante enfatizar que la biodiversidad genética se presenta como uno de los servicios ecosistémicos más prometedores en entornos mineros contaminados con altos niveles de metales (como se deriva de la fuerte presión selectiva presente en dichos entornos).

Una vez definida la forma de aplicación del citado concepto, se realizaron ensayos de fitoestabilización asistida con *Festuca rubra* y de fitoextracción con *Nocca caerulescens* y *Rumex acetosa* con suelo minero de Lanestosa (Vizcaya) contaminado con elementos trazas. En estos ensayos de fitorremediación (fitoestabilización y fitoextracción) se utilizaron cepas bacterianas endófitas que habían sido aisladas de plantas presentes en la mina de Lanestosa (plantas exclusoras y plantas acumuladoras/hiperacumuladoras) y que fueron caracterizadas desde el punto de vista de su potencial como bacterias promotoras del crecimiento vegetal en aplicaciones de fitorremediación de suelos contaminados con elementos traza (i.e., tolerancia a metales, actividad ACC deaminasa, producción de indolacético (auxina), producción de sideróforos, solubilización de fosfato, capacidad de utilizar fuentes de carbono, etc.).

A continuación, se realizó un estudio sobre la mejora de los servicios de los ecosistemas en un ensayo de fitoestabilización asistida por (i) enmiendas orgánicas y (ii) cepas endófitas bacterianas con potencial promotor del crecimiento vegetal en suelos mineros



contaminados con niveles elevados de elementos traza (Cd, Pb y Zn). Este ensayo de aplicación del concepto de los servicios de los ecosistemas a los estudios de fitorremediación-fitoestabilización asistida sirvió para enfatizar el enorme potencial que aportan las comunidades biológicas (e.g., plantas, microorganismos) que habitan en entornos metalíferos para aplicaciones biotecnológicas con fines medioambientales.

La primera parte de este estudio se realizó en condiciones controladas de cámara de crecimiento, con cepas bacterianas endófitas aisladas de una variedad de plantas metalofitas presentes en la mina de Lanestosa. Para el estudio en condiciones controladas se utilizaron dos variedades de *Festuca rubra* (planta exclusora de metales pesados, idónea para procesos de fitoestabilización): una variedad nativa de la mina de Lanestosa (metalofita) y una variedad comercial (no metalofita). Ambas variedades fueron inoculadas con una cepa bacteriana de *Pseudomonas* sp. que había mostrado tener unas características promotoras del crecimiento vegetal óptimas para este estudio (incluida una alta tolerancia a Cd, Pb y Zn). Por otra parte, se utilizó purín de vacuno como enmienda orgánica, al objeto de disminuir la biodisponibilidad-movilidad de los contaminantes metálicos, favorecer el crecimiento de las plantas fitorremediadoras-fitoestabilizadoras a través del aporte de nutrientes, y finalmente estimular las propiedades microbianas edáficas (i.e., mejorar la calidad y salud del suelo). Además de estudiar el efecto del tratamiento fitorremediador sobre las propiedades microbianas edáficas, se evaluó asimismo su influencia sobre parámetros físico-químicos de suelo, parámetros fisiológicos de las plantas y, por último, sobre los niveles de elementos traza en material vegetal y en la matriz edáfica.

La aplicación de la enmienda “purín de vacuno” fue el tratamiento que tuvo un mayor efecto sobre las propiedades del suelo y, por ende, sobre su calidad. No obstante, el crecimiento de la variedad nativa tolerante de *F. rubra* produjo una disminución significativa de la fracción biodisponible de Cd y Zn (19 y 22%, respectivamente), y tuvo asimismo una influencia positiva (estimulación) sobre diferentes parámetros microbianos edáficos. Por su parte, la inoculación con la cepa endófitas de *Pseudomonas* sp. no condujo a una estimulación en el crecimiento de las plantas de *F. rubra*; en este sentido, sí observamos una mejora en el estado fisiológico de estas plantas, que se reflejó en valores más altos del contenido en carotenoides, clorofilas y ratio Fv/Fm de un 69, 65 y 37%, respectivamente. Análogamente, la inoculación con la cepa endófitas de *Pseudomonas* sp. incrementó los valores de algunos parámetros microbianos edáficos.

Una vez concluido el experimento de fitoestabilización asistida por enmiendas orgánicas y cepas endófitas bacterianas en condiciones controladas de cámara de crecimiento, se procedió a realizar un ensayo similar en condiciones de campo en la mina de Lanestosa (Vizcaya). En este caso, en vez de inocular la cepa de *Pseudomonas* sp. arriba mencionada, se empleó un consorcio de cinco cepas bacterianas endófitas que habían destacado en diversas pruebas de laboratorio por sus características como bacterias promotoras del crecimiento vegetal en suelos contaminados con elementos traza. Por desgracia, la inoculación de este consorcio en condiciones reales de campo no condujo a un aumento en la biomasa de las plantas nativas presentes en la mina. En cualquier caso, la inoculación del consorcio de cepas endófitas sí produjo una reducción en el contenido en elementos traza (Cd, Pb y Zn) en plantas nativas de carácter exclusor, con el consiguiente beneficio desde el punto de vista de la reducción de la incorporación de elementos metálicos tóxicos a la cadena trófica.

De la misma forma, al objeto de poder establecer comparaciones, realizamos un estudio sobre la mejora de los servicios de los ecosistemas en un ensayo de fitoextracción asistida por cepas endófitas bacterianas con potencial promotor del crecimiento vegetal en suelos mineros contaminados con niveles elevados de elementos traza. En concreto, inicialmente, aislamos cepas bacterianas endófitas de dos especies de plantas con capacidad para acumular/hiperacumular elementos traza que estaban presentes de forma natural en la mina de Lanestosa (Vizcaya): *Noccaea caerulescens* (especie hiperacumuladora de Cd y Zn) y *Rumex acetosa* (especie acumuladora de Zn). Estas dos especies de plantas fitoextractoras se estudiaron, bajo condiciones controladas de cámara de crecimiento, en forma individual *versus* combinadas. Al igual que en el estudio de fitoestabilización asistida llevado a cabo para el mismo fin (ver arriba), se determinó el efecto del tratamiento fitoextractor sobre las propiedades microbianas edáficas, y se evaluó su influencia sobre parámetros físico-químicos de suelo, parámetros fisiológicos de las plantas y, por último, sobre los niveles de elementos traza en material vegetal y en la matriz edáfica. Análogamente, se agruparon los parámetros edáficos en una serie de servicios ecosistémicos que puede suministrar un suelo contaminado sometido a fitorremediación.

Cuando ambas especies de plantas fitoextractoras fueron crecidas conjuntamente, se obtuvo un aumento en el crecimiento de *N. caerulescens* y *R. acetosa* de 41 y 16%, respectivamente; por otra parte, se observaron niveles más elevados de fitoextracción de elementos traza (especialmente, Zn), junto con valores más altos de biomasa y biodiversidad funcional (perfiles fisiológicos a nivel de comunidad bacteriana) microbiana edáfica.

No obstante, la inoculación del consorcio de cepas bacterianas endófitas no condujo a valores más elevados de toma de metal por parte de las plantas (hiper)acumuladoras. Una vez más, la inoculación con las cepas bacterianas endófitas condujo a una mejora en el estado fisiológico de las plantas (que se reflejó en valores más altos del contenido en clorofilas y carotenoides de un 28 y 36%, respectivamente) y a una estimulación de las comunidades microbianas edáficas. Finalmente, el efecto beneficioso combinado del crecimiento de las plantas y la inoculación de cepas bacterianas endófitas supuso un incremento en los niveles de servicios ecosistémicos proporcionados por el suelo fitorremediado.

La aplicación del concepto de los “servicios de los ecosistemas” al programa post-tratamiento de monitorización de la salud de los suelos fitorremediados (fitoestabilizados y fitoextraídos) ha demostrado su gran utilidad para aportar valor añadido a dicho programa y, en general, al proceso fitorremediador en su conjunto.

*MIEMBROS DEL SP2 QUE HAN PARTICIPADO EN ESTAS TAREAS: C. Garbisu, L. Epelde, M. Anza, I. Martín*

#### **Actividades realizadas relacionadas con la coordinación del proyecto (a rellenar por el coordinador)**

Describe las actividades de coordinación realizadas para alcanzar los objetivos planteados en el proyecto. **Extensión máxima 1 página.**

El presente proyecto es un Proyecto Coordinado formado por 3 subproyectos: SP1-Universidad del País Vasco (UPV/EHU), SP2-NEIKER y SP3-Universidad Autónoma

de Madrid (UAM).

Siguiendo el plan previsto en la memoria inicial del proyecto, se han realizado reuniones periódicas entre los miembros de cada uno de los subproyectos para acometer las tareas previstas en la citada memoria. Como a cada tarea se le asignó un responsable (ver cronograma), éste ha sido el encargado de coordinar estas reuniones internas dentro de cada subproyecto, así como determinar la planificación y asignación de trabajos específicos del resto de los componentes de cada subproyecto. Estas reuniones se han realizado bajo la supervisión del IP de cada institución que coordina las actividades de todos los responsables de las tareas correspondientes.

De acuerdo con lo planteado en la memoria inicial del proyecto, durante el año 2015 y aprovechando la proximidad física hemos celebrado mensualmente reuniones de coordinación entre los componentes de los Subproyectos SP1 y SP2, ya que estos subproyectos se han encargado de realizar la toma de muestras y la monitorización temporal *in situ* del proceso fitorremediador y su impacto ecotoxicológico sobre las parcelas de la mina de Lanestosa. Las muestras del seguimiento indicado en el Objetivo 3 también se han enviado al SP3-UAM para la analítica correspondiente por este grupo de investigación. Con el grupo de la UAM, ha habido una continua comunicación vía correo electrónico y teléfono para solventar aspectos relacionados con el desarrollo del proyecto, el análisis de muestras, el tratamiento de los resultados y, en general, la coordinación de actividades.

El 3 de marzo de 2015 nos reunimos los IP y otros miembros de los tres subproyectos en Lerma (Burgos) como un lugar intermedio entre Bilbao y Madrid. El objetivo de esta reunión de coordinación fue discutir los resultados, coordinar las tareas en curso, y hacer una previsión de las tareas pendientes para el tercer año del proyecto.

#### **Problemas y cambios en el plan de trabajo**

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

EN RELACIÓN CON LAS TAREAS INICIALMENTE CONTEMPLADAS PARA EL SUBPROYECTO 2 (NEIKER), NO HA SURGIDO NINGÚN PROBLEMA DURANTE EL DESARROLLO DEL PROYECTO.

Durante el primer año de desarrollo del proyecto, además de las Tareas 1.SP2 y 2.SP2 contempladas en el cronograma de la memoria del proyecto para su primer año de desarrollo, se pudo empezar antes de tiempo con el Objetivo 4 mediante la escritura de un artículo teórico sobre la aplicación del concepto de los “servicios de los ecosistemas” al programa post-tratamiento de monitorización de la salud de los suelos sometidos a fitoestabilización asistida.

Análogamente, en ese primer año, se aislaron y seleccionaron cepas de bacterias endófitas obtenidas a partir de especies de plantas presentes en la mina de Lanestosa (e.g., *Nocaea caerulea*, *Rumex acetosa*, *Festuca rubra*, etc.), de cara a su posterior aplicación en procesos de fitorremediación de suelos contaminados con elementos traza. Esta tarea no estaba incluida en la memoria del proyecto, pero dada su relevancia en los estudios actuales de fitorremediación, se decidió trabajar en ella durante el desarrollo

del proyecto, de cara a enriquecerlo. Las cepas bacterianas endófitas han sido seleccionadas a partir de la determinación de caracteres que reflejan su potencial para favorecer el crecimiento de plantas fitorremediadoras de metales y la acumulación de metales en dichas plantas. Entre otros, los siguientes caracteres han sido estudiados en las cepas bacterianas endófitas aisladas de plantas de la mina de Lanestosa que presentan diferentes estrategias de tolerancia y respuesta a la presencia de metales (hiperacumuladoras, acumuladoras, exclusoras): producción de sideróforos, actividad 1-aminociclopropano-1-carboxilato deaminasa, síntesis de indolacético, solubilización de fosfato, concentración mínima inhibitoria (frente a diferentes metales), y tolerancia a la sal.

Durante el 2º año de desarrollo del proyecto, además de las Tareas 2.SP2 y 3.SP2 contempladas en el cronograma de la memoria del proyecto para su 2º año de desarrollo, se pudo continuar con el Objetivo 4. En el segundo año, se iniciaron unos ensayos a escala microcosmos de fitoestabilización con *Festuca rubra* L. (y, al objeto de comparar, también de fitoextracción con *Noccaea caerulea* y *Rumex acetosa*) con suelo de la mina de Lanestosa para determinar el efecto de los tratamientos de fitorremediación sobre los servicios suministrados por el ecosistema edáfico. Asimismo, se utilizaron las cepas bacterianas endófitas, aisladas de plantas de la mina durante el 1º año de desarrollo del proyecto (ver informe 1º año), como bacterias promotoras del crecimiento vegetal en estos ensayos sobre el efecto de los tratamientos de fitorremediación (fitoestabilización, fitoextracción) en los servicios suministrados por el ecosistema edáfico. Los resultados de estos ensayos se obtuvieron en el 3º año de desarrollo del proyecto.

**Colaboraciones con otros grupos de investigación directamente relacionadas con el proyecto** señalando la participación de los subproyectos en su desarrollo.

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

- **Consorcio BERRILUR:** el Consorcio BERRILUR está constituido por un conjunto de equipos de investigación, ubicados en la Comunidad Autónoma del País Vasco y pertenecientes a diferentes instituciones (NEIKER, UPV/EHU, GAIKER, TECNALIA), que colaboramos desde hace más de 10 años en proyectos relacionados con la caracterización, el diagnóstico y la terapia de suelos contaminados. En concreto, durante el desarrollo de este proyecto, NEIKER ha solicitado varios proyectos relacionados con la temática de los suelos contaminados con diferentes integrantes del Consorcio BERRILUR. En este sentido, en 2014, a algunos de los integrantes de BERRILUR (GAIKER, NEIKER) nos concedieron un proyecto de remediación de suelos contaminados dentro de la convocatoria GAITEK del Gobierno Vasco.

- Gracias al apoyo de la Fundación Euskampus– Campus of International Excellence, durante los primeros meses de 2014, pudimos fortalecer nuestra colaboración con el Dr. Michel Mench (Universidad de Burdeos, Francia) a través de la estancia postdoctoral del Dr. Celestino Quintela.

- En relación con nuestra colaboración con el Rothamsted Research-Reino Unido, cabe destacar que la estancia postdoctoral llevada a cabo en 2013 por el Dr. Javier Hernández Allica (financiada por la Fundación Euskampus– Campus of International Excellence; ver informe 1º año) ha conducido a la contratación indefinida del citado Dr. Hernández

Allica en el grupo del Dr. Steve McGrath, lo que facilita sobremanera nuestra colaboración con dicho grupo a largo plazo.

- Asimismo, durante el desarrollo del proyecto FITOMINA, NEIKER ha colaborado con el grupo de la Dra. Pilar Bernal del CEBAS, a través de la estancia que realizó la Dra. Tania Pardo en NEIKER para, entre otros aspectos, aprender técnicas de ecología microbiana de suelos. Ambos grupos trabajamos en la temática de la fitoestabilización de suelos contaminados con elementos traza. Esta colaboración se ha materializado en la publicación del siguiente artículo: “Evaluation of the phytostabilisation efficiency in a trace elements contaminated soil using soil health indicators”; Journal of Hazardous Materials 2014, 268: 68-76 (ver abajo C4).

- Durante el desarrollo del proyecto, NEIKER ha participado en dos propuestas de fitorremediación a nivel europeo: la propuesta PHYTOSERVE – Convocatoria Biodiversa (establecimiento de una red de emplazamientos sometidos a fitorremediación/fitogestión a lo largo del territorio europeo) y la propuesta PHYTOSUDOE – Convocatoria Interreg Sudoe (establecimiento de ensayos de fitorremediación en España, Francia y Portugal). Ambas propuestas han superado la primera fase de evaluación, y estamos a la espera de la resolución final. Asimismo, NEIKER ha participado en una propuesta Biodiversa (BIOTOOLS) relacionada con la evaluación de la ecotoxicidad de contaminantes (esta propuesta también ha superado la primera fase de evaluación y estamos a la espera de la resolución final).

#### **Colaboraciones con empresas o sectores socioeconómicos**

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

Junto con la Universidad del País Vasco, NEIKER ha participado en el estudio titulado “Assessment of metal mobility and impact on native vegetation: implications for phytoextraction of metals” para la empresa DOW CHEMICAL IBERICA S.A. Este estudio nos ha permitido aplicar a un caso real los conocimientos adquiridos en éste y anteriores proyectos de I+D sobre fitorremediación de suelos contaminados con metales tóxicos.

Junto con la Universidad del País Vasco (UPV/EHU) y las empresas DINAM y EKOTEK, NEIKER ha participado en la propuesta LIFE2014-Environment and Resource Efficiency titulada “Rehabilitación de zonas mineras degradadas mediante una gestión basada en la mejora de los servicios de los ecosistemas”. Esta propuesta está alineada con el Objetivo 4 de este proyecto FITOMINA y tiene como objetivo principal validar una metodología, basada en la cuantificación de la mejora de los servicios de los ecosistemas, que sirva de apoyo para la toma de decisiones en la gestión de emplazamientos mineros degradados en los que se precisan actuaciones orientadas a su rehabilitación.

Como se ha mencionado anteriormente, NEIKER, junto con GAIKER, está actualmente desarrollando un proyecto de remediación de suelos contaminados, financiado por la convocatoria GAITEK del Gobierno Vasco, en la que participan las empresas DINAM y EKOTEK.

NEIKER está actualmente redactando una propuesta de proyecto para la convocatoria



HAZITEK del Gobierno Vasco, junto con el Centro Tecnológico GAIKER y la empresa AFESA, sobre remediación biológica de emplazamientos contaminados.

Finalmente, durante el desarrollo del proyecto FITOMINA, hemos iniciado una colaboración con la empresa BASOINSA, acreditada en la aplicación de tecnologías de fitorremediación, y el Ayuntamiento de Vitoria (Centro de Estudios Ambientales) con el que estamos colaborando actualmente en la restauración de entornos degradados mediante el empleo de fitotecnologías.

#### Actividades de formación y movilidad de personal

Indique las actividades de formación y movilidad de personal relacionadas con el desarrollo del proyecto o subproyecto. 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 | María Galende           | Estancia postdoctoral   | Universidad de Burdeos: fitorremediación de suelos contaminados con metales |
| 2 | Celestino Quintela      | Estancia postdoctoral   | Universidad de Burdeos: fitorremediación de suelos contaminados con metales |
| 3 | Javier Hernández-Allica | Estancia postdoctoral   | Rothamsted Research (UK): ecología microbiana de suelos                     |

Cree tantas filas como necesite

#### Actividades de internacionalización y otras colaboraciones relacionadas con el proyecto o subproyecto

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.

- Gracias al apoyo de la Fundación Euskampus– Campus of International Excellence, hemos colaborado, a través de las estancias postdoctorales de la Dra. María Galende y el Dr. Celestino Quintela, con el grupo del **Dr. Michel Mench (Universidad de Burdeos, Francia)** experto en fitorremediación de suelos contaminados con metales.

- Gracias al apoyo de la Fundación Euskampus– Campus of International Excellence, hemos colaborado con el centro **Rothamsted Research (Reino Unido)**, a través de la estancia postdoctoral del Dr. Javier Hernández Allica en los grupos de investigación de la Dr. Penny Hirsch (ecología microbiana de suelos) y del Dr. Steve McGrath (fitorremediación de suelos contaminados) de dicho centro.

- Durante el año 2013, miembros del Consorcio BERRILUR solicitamos dos proyectos a la convocatoria LIFE + Environment Policy and Governance: “Landfill monitoring networks based on innovative methodology for the assessment of their environmental impact and risks” y “Demonstration of advanced nano-based technologies combined with bioremediation for *in situ* reclamation of polluted sites”. Ambas solicitudes fueron

denegadas.

Como se ha mencionado anteriormente, junto con la Universidad del País Vasco (UPV/EHU) y las empresas DINAM y EKOTEK, NEIKER ha participado en la propuesta LIFE2014-Environment and Resource Efficiency titulada “Rehabilitación de zonas mineras degradadas mediante una gestión basada en la mejora de los servicios de los ecosistemas”. Esta propuesta está alineada con el Objetivo 4 de este proyecto FITOMINA y tiene como objetivo principal validar una metodología, basada en la cuantificación de la mejora de los servicios de los ecosistemas, que sirva de apoyo para la toma de decisiones en la gestión de emplazamientos mineros degradados en los que se precisan actuaciones orientadas a su rehabilitación. Esta solicitud fue denegada.

Asimismo, en 2014, el Dr. Carlos Garbisu de NEIKER coordinó una propuesta H2020 dentro del área “SFS-4-2014: Soil Quality and Function”, en la que participaron las siguientes instituciones: NEIKER, Rothamsted Research (United Kingdom), Netherlands Institute of Ecology (The Netherlands), University of Bergen (Norway), University of Vienna (Austria), Nanjing Agricultural University (China), Ernst-Moritz-Arndt University Greifswald (Germany), Research Centre for the Soil-Plant System (Italy), mBIOINFORM (SME-Denmark), BLUE AGRO (SME-Spain), BioDetection Systems (SME-The Netherlands), Basque Council of Ecological Agriculture and Food (Spain), Italian Agricultural Confederation (Italy) y Organic Banana Growers' Association of Lingao (China). La temática de esta propuesta versa sobre el empleo del microbioma para evaluar la calidad de los suelos (“Exploiting the soil microbiome for agricultural sustainability”), en este caso, suelos agrícolas en vez de los suelos mineros que se estudian en el proyecto FITOMINA, por lo que se comparten muchas herramientas metodológicas en ambos proyectos. En cualquier caso, se ha incluido aquí esta propuesta porque surgió a través de nuestra colaboración con el Rothamsted Research a raíz de la estancia postdoctoral del Dr. Hernández Allica (ver arriba B4). En esta línea de los indicadores microbianos de la calidad de los suelos agrícolas, en 2014, el grupo del Dr. Garbisu de NEIKER ha participado en otra propuesta LIFE2014-Environment and Resource Efficiency, titulada “Maintenance and improvement of the quality of agricultural soils through organic farming practices” junto con el Instituto Navarro de Tecnologías e Infraestructuras Agroalimentarias y la Universidad Pública de Navarra.

Finalmente, como también se ha mencionado anteriormente, durante el desarrollo del proyecto, NEIKER ha participado en tres propuestas relacionadas con la temática de este proyecto a nivel europeo: PHYTOSEVE – Convocatoria Biodiversa, BIOTOOLS – Convocatoria Biodiversa, y PHYTOSUDOE – Convocatoria Interreg Sudoe. Estamos a la espera de la resolución de estas propuestas.

## Difusión de los resultados del proyecto o subproyecto

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

Autores, título, referencia de la publicación...

#### ARTÍCULOS CIENTÍFICOS DERIVADOS DEL PROYECTO:

1. Autores: Epelde L, Becerril JM, Alkorta I, Garbisu C

Título: Adaptive long-term monitoring of soil health in metal phytostabilization: ecological attributes and ecosystem services based on soil microbial parameters

Ref. revista: *International Journal of Phytoremediation*

Clave: A      Volumen: 16 Páginas, inicial: 971      Final: 981      Fecha: 2014

2. Autores: Galende MA, Becerril JM, Gómez-Sagasti M, Barrutia O, Epelde L, Garbisu C, Hernández A

Título: Chemical stabilization of metal contaminated mine soil: early soil-amendment interactions and their effects on biological and chemical parameters

Ref. revista: *Water, Air and Soil Pollution*

Clave: A      Volumen: 225 Páginas, inicial: 1863      Final:      Fecha: 2014

3. Autores: Galende MA, Becerril JM, Gómez-Sagasti M, Barrutia O, Garbisu C, Hernández A

Título: Agro-industrial wastes as effective amendments for ecotoxicity reduction and soil health improvement in aided phytostabilization

Ref. revista: *Environmental Science and Pollution Research*

Clave: A      Volumen: 21      Páginas, inicial: 10036      Final: 10041      Fecha: 2014

4. Autores: Galende MA, Becerril JM, Barrutia O, Artetxe U, Garbisu C, Hernández A

Título: Field assessment of the effectiveness of organic amendments for aided phytostabilization of a Pb-Zn contaminated mine soil

Ref. revista: *Journal of Geochemical Exploration*

Clave: A      Volumen: 145      Páginas, inicial: 181      Final: 189      Fecha: 2014

5. Autores: Epelde L, Lanzén A, Urich T, Blanco F, Garbisu C

Título: Adaptation of soil microbial community structure and function to chronic metal contamination at an abandoned Pb-Zn mine

Ref. revista: *FEMS Microbiology Ecology*

Clave: A      Volumen: 91      Páginas, inicial: 1      Final: 11      Fecha: 2015

### **CAPÍTULOS DE LIBRO DERIVADOS DEL PROYECTO:**

1. Autores: Galende MA, Epelde L, Gómez-Sagasti MT, Barrutia O, Hernández A, Becerril JM, Kowalchuk GA, Garbisu C

Título: Stimulation of rhizosphere microbial communities during chemophytostabilization of a Pb-Zn mine soil

Libro: *Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere* (Editor: Frans J. de Bruijn), Wiley Blackwell,

Clave: CL      Volumen: 2      Páginas, inicial: 1013      Final: 1022      Fecha: 2013

Editorial: John Wiley & Sons, Inc.      Lugar de publicación: Hoboken, New Jersey

### **Asistencia a congresos, conferencias o workshops relacionados con el proyecto**

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

### **COMUNICACIONES A CONGRESOS DERIVADAS DEL PROYECTO:**

1. Autores: Garbisu C, Epelde L, Barrutia O, Becerril JM

Título: Biodiversidad microbiana como bioindicador de la recuperación de suelos contaminados

Tipo de participación: Ponencia oral y póster

Congreso: IV Congreso de Biodiversidad

Publicación: Libro de Resúmenes

Lugar de celebración: Bilbao

Fecha: 6-8 Febrero 2013

- 2. Autores:** Burges A, Pinedo L, Benito G, Blanco F, Epelde L, Becerril JM, Garbisu C  
**Título:** Characterization of plant growth-promoting bacteria isolated from the rhizosphere of metal tolerant plant species from Pb/Zn mine tailings  
**Tipo de participación:** Póster  
**Congreso:** V International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology (BioMicroWorld 2013)  
**Publicación:** Libro de Resúmenes  
**Lugar de celebración:** Madrid  
**Fecha:** 2-4 Octubre 2013
- 3. Autores:** Epelde L, Lanzén A, Urich T, Garbisu C  
**Título:** Adaptation of soil microbial community function and structure to chronic metal pollution  
**Tipo de participación:** Póster  
**Congreso:** 2nd Thünen Symposium on Soil Metagenomics. Mining and Learning from Metagenomes  
**Publicación:** Libro de Resúmenes  
**Lugar de celebración:** Braunschweig (Alemania)  
**Fecha:** 11-13 Diciembre 2013
- 4. Autores:** Artetxe U, Barrutia O, Galende MA, Garbisu C, Hernández A, Becerril JM  
**Título:** Metal(oid)s in plants growing on a landfill: implications for phytoremediation  
**Tipo de participación:** Póster  
**Congreso:** International Congress of Phytoremediation of Polluted Soils (PPS)  
**Publicación:** Libro de resúmenes  
**Lugar de celebración:** Vigo  
**Fecha:** 29-30 Julio 2014
- 5. Autores:** Burges A, Benito G, Blanco F, Artetxe U, Epelde L, Becerril JM, Garbisu C  
**Título:** Isolation and characterization of plant growth-promoting endophytic bacteria from pseudometallophytes  
**Tipo de participación:** Póster  
**Congreso:** International Congress of Phytoremediation of Polluted Soils (PPS)  
**Publicación:** Libro de resúmenes  
**Lugar de celebración:** Vigo  
**Fecha:** 29-30 Julio 2014
- 6. Autores:** Burges A, Benito G, Blanco F, Artetxe U, Becerril JM, Epelde L, Garbisu C  
**Título:** Soil ecosystem services for the evaluation of a metal phytostabilization process assisted with PGPBs  
**Tipo de participación:** Oral  
**Congreso:** 11th International Phytotechnologies Conference  
**Publicación:** Libro de resúmenes  
**Lugar de celebración:** Heraklion, Creta (Grecia)  
**Fecha:** 30 Septiembre - 3 Octubre 2014
- 7. Autores:** Artetxe U, Burgues A, Barrutia O, Epelde L, Garbisu C, Becerril JM  
**Título:** Efecto de enmiendas orgánicas y/o bacterias promotoras del crecimiento en plantas (PGPB)

en poblaciones metalícolas y no metalícolas de *Festuca rubra* creciendo en suelos mineros  
Tipo de participación: Póster  
Congreso: NutriPLANTA, XV Simpósio Luso-Espanhol de Nutrição Mineral das Plantas  
Publicación: Libro de resúmenes  
Lugar de celebración: Lisboa (Portugal)  
Fecha: 6-8 Diciembre 2014

**8.** Autores: Garaiurrebaso O, Grohmann E, Goñi FM, Blanco F, Epelde L, Garbisu C, Alkorta I  
Título: Acquired plasmids have a role in the fitness and phenotypic characteristics of bacteria  
Tipo de participación: Póster  
Congreso: FEMS 2015 – 6th Congress of European Microbiologists  
Publicación: Libro de resúmenes  
Lugar de celebración: Maastricht (The Netherlands)  
Fecha: 7-11 Junio 2015

**9.** Autores: Epelde L, Burges A, Benito G, Artetxe U, Becerril JM, Garbisu C,  
Título: Plant growth-promoting bacteria in metal phytoremediation with *Festuca rubra*, *Noccaea caerulea* and *Rumex acetosa*  
Tipo de participación: Póster  
Congreso: 10th International PGPR Workshop - From Omics to the Field  
Publicación: Libro de resúmenes  
Lugar de celebración: Liege (Belgium)  
Fecha: 16-19 June 2015

**10.** Autores: Burges A, Epelde L, Benito G, Artetxe U, Becerril JM, Garbisu C  
Título: Servicios de los ecosistemas para la evaluación de procesos fitorremediadores de metales  
Tipo de participación: Oral  
Congreso: CONDEGRES – VII Simposio Nacional sobre el Control de la Degradación y Restauración de Suelos  
Publicación: Libro de actas  
Lugar de celebración: Bilbao  
Fecha: 23-26 Junio 2015

**11.** Autores: Garbisu C  
Título: Parámetros microbianos como indicadores de la calidad de suelos contaminados por metales pesados  
Tipo de participación: Oral  
Congreso: CONDEGRES – VII Simposio Nacional sobre el Control de la Degradación y Restauración de Suelos  
Publicación: Libro de actas  
Lugar de celebración: Bilbao  
Fecha: 23-26 Junio 2015

**12.** Autores: Artetxe U, Burges A, Epelde L, Garbisu C, Becerril JM  
Título: Inoculación de plantas metalícolas con bacterias endofitas: implicaciones en la revegetación y fitorremediación de suelos mineros  
Tipo de participación: Oral y Póster  
Congreso: CONDEGRES – VII Simposio Nacional sobre el Control de la Degradación y Restauración de Suelos



Publicación: Libro de actas  
Lugar de celebración: Bilbao  
Fecha: 23-26 Junio 2015

**13.** Autores: Becerril JM, Artetxe U, Burges A, Epelde L, Garbisu C  
Título: Effect of amendments and plant growth-promoting bacteria on the growth of metallicolous and non-metallicolous *Festuca rubra*  
Tipo de participación: Póster  
Congreso: 13th ICOBTE – International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements

Publicación: Libro de resúmenes  
Lugar de celebración: Fukuoka (Japan)  
Fecha: 12-16 Julio 2015

**14.** Autores: Garbisu C, Burges A, Benito G, Artetxe U, Becerril JM, Epelde L  
Título: Soil ecosystem services for the evaluation of a metal phytoextraction process assisted with PGPB  
Tipo de participación: Póster  
Congreso: 13th ICOBTE – International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements  
Publicación: Libro de resúmenes  
Lugar de celebración: Fukuoka (Japan)  
Fecha: 12-16 Julio 2015

**15.** Autores: Garbisu C, Garaiurrebaso O, Martín I, Blanco F, Epelde L, Grohmann E, Alkorta I  
Título: Ecological fitness of *Escherichia coli* transconjugants obtained via horizontal gene transfer from bacterial communities in a phytoremediated mine soil  
Tipo de participación: Presentación oral  
Congreso: 3rd International Conference on Environment Pollution and Prevention (ICEPP 2015)  
Lugar de celebración: Dubai (UAE)  
Fecha: 5-6 Diciembre 2015

#### **Tesis doctorales finalizadas relacionadas con el proyecto**

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

#### **TESIS DOCTORALES RELACIONADAS CON EL PROYECTO:**

- Nombre del doctor: Dra. Maite Gómez Sagasti

Título: Identificación y selección de biomarcadores de exposición temprana a metales en *Arabidopsis thaliana*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas fluorescens* mediante técnicas de expresión génicas

Directores: José M. Becerril y Carlos Garbisu

Universidad: Universidad del País Vasco

Facultad / Escuela: Ciencia y Tecnología

Fecha: Abril 2014 (cum laude)

Esta tesis doctoral está muy relacionada con el proyecto FITOMINA pues su objetivo principal era identificar biomarcadores de exposición temprana a metales pesados en plantas y microorganismos. En relación con el SP2-NEIKER, durante el desarrollo de esta tesis doctoral, se ha diseñado un microarray de *Pseudomonas fluorescens* (y utilizado un

microarray de *Escherichia coli* comercial) para la determinación de la toxicidad temprana causada por metales pesados en bacterias Gram-negativas. En este contexto, es importante mencionar que la disminución de la disponibilidad y, por ende, toxicidad de los metales pesados es uno de los principales servicios ecosistémicos que se persiguen durante los procesos de fitoestabilización. De hecho, es uno de los servicios ecosistémicos (“disminución de la movilidad, biodisponibilidad y toxicidad”) que se pretende evaluar durante el desarrollo del Objetivo 4 en el último año del proyecto FITOMINA.

- Nombre del doctor: Aritz Burges

Título tentativo: Fitorremediación asistida por enmiendas orgánicas y bacterias endófitas de suelos mineros contaminados con elementos traza

Directores: Carlos Garbisu y Lur Epelde

Universidad: Universidad del País Vasco

Facultad / Escuela: Ciencia y Tecnología

Fecha: lectura prevista en 2016

Esta tesis doctoral ha sido desarrollada gracias al proyecto FITOMINA.

#### **TESIS DE MÁSTER RELACIONADAS CON EL PROYECTO:**

Título: Empleo de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB) para la fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados (Tesis Máster Agrobiología Ambiental)

Alumno: M<sup>a</sup> Luz del Pino de Elías

Universidad: Universidad del País Vasco

Facultad / Escuela: Ciencia y Tecnología

Fecha: Septiembre 2013

Título: Empleo de cepas bacterianas promotoras del crecimiento vegetal en fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados (Tesis Máster Microbiología y Salud)

Alumno: Garazi Benito Carnero

Universidad: Universidad del País Vasco

Facultad / Escuela: Ciencia y Tecnología

Fecha: Septiembre 2014

#### **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...

#### **OTROS ARTÍCULOS CIENTÍFICOS RELEVANTES PARA EL PROYECTO:**

1. Autores: Epelde L, Burges A, Mijangos I, Garbisu C

Título: Microbial properties and attributes of ecological relevance for soil quality monitoring during a chemical stabilization field study

Ref. revista: *Applied Soil Ecology*

Clave: A      Volumen: 75      Páginas, inicial: 1      Final: 12      Fecha: 2014

2. Autores: Gómez-Sagasti MT, Becerril JM, Martín I, Epelde L, Garbisu C

Título: cDNA microarray assessment of early gene expression profiles in *Escherichia coli* cells exposed to a mixture of heavy metals

Ref. revista: *Cell Biology and Toxicology*

Clave: A      Volumen: 30      Páginas, inicial: 207      Final: 232      Fecha: 2014

**3. Autores:** Pardo T, Clemente R, Epelde L, Garbisu C, Bernal MP

**Título:** Evaluation of the phytostabilisation efficiency in a trace elements contaminated soil using soil health indicators

**Ref. revista:** *Journal of Hazardous Materials*

Clave: A      Volumen: 268      Páginas, inicial: 68      Final: 76      Fecha: 2014

**4. Autores:** Burges A, Epelde L, Garbisu C

**Título:** Impact of repeated single-metal and multi-metal pollution events on soil quality

**Ref. revista:** *Chemosphere*

Clave: A      Volumen: 120      Páginas, inicial: 8      Final: 15      Fecha: 2015

**5. Autores:** Gutiérrez L, Garbisu C, Ciprian E, Becerril JM, Soto M, Etxebarria J, Madariaga JM, Antigüedad I, Epelde L

**Título:** Application of ecological risk assessment based on a novel TRIAD-tiered approach to contaminated soil surrounding a closed non-sealed landfill

**Ref. revista:** *Science of the Total Environment*

Clave: A      Volumen: 514      Páginas, inicial: 49      Final: 59      Fecha: 2015

**6. Autores:** Gómez-Sagasti MT, Becerril JM, Epelde L, Alkorta I, Garbisu C

**Título:** Early gene expression in *Pseudomonas fluorescens* exposed to a polymetallic solution

**Ref. revista:** *Cell Biology and Toxicology*

Clave: A      Volumen: 31      Páginas, inicial: 39      Final: 81      Fecha: 2015

**7. Autores:** Epelde L, Muñiz O, Garbisu C

**Título:** Microbial properties for the derivation of critical risk limits in cadmium contaminated soil

**Ref. revista:** *Applied Soil Ecology*

Clave: A      Volumen: 99      Páginas, inicial: 19      Final: 28      Fecha: 2016

## **OTRAS COMUNICACIONES A CONGRESOS RELEVANTES PARA EL PROYECTO:**

**1. Autores:** Anza M, Epelde L, Martín-Sánchez I, Gallastegi M, Garbisu C

**Título:** Adverse impact of technical-grade hexachlorocyclohexane on soil microbial properties as biological indicators of soil quality

**Tipo de participación:** Póster

**Congreso:** 12th International UFZ-Deltares Conference on Groundwater-Soil-Systems and Water Resource Management (AQUACONSOIL 2013)

**Publicación:** Libro de resúmenes

**Lugar de celebración:** Barcelona

**Fecha:** 16-19 Abril 2013

**2. Autores:** Soto M, Rodríguez E, Garbisu C, Epelde L, Artetxe U, Gorostiza I, Peché R, Irizar A, Becerril JM, Etxebarria J

**Título:** Biological quality index for agricultural soils based on fuzzy logic

**Tipo de participación:** Resumen y Póster

**Congreso:** 9º Congreso Ibérico y 6º Iberoamericano de Contaminación y Toxicología Ambiental

Publicación: Libro de Resúmenes  
Lugar de celebración: Valencia  
Fecha: 1-4 Julio 2013

**3. Autores:** Gómez-Sagasti MT, Becerril JM, Martín I, Epelde L, Garbisu C  
**Título:** Metal-induced gene expression in *Escherichia coli* cells  
**Tipo de participación:** Póster  
**Congreso:** V International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology (BioMicroWorld 2013)  
**Publicación:** Libro de Resúmenes  
**Lugar de celebración:** Madrid  
**Fecha:** 2-4 Octubre 2013

**4. Autores:** Peche R, Irizar A, Artetxe U, Fernández S, Rodríguez E, Soto M, Madariaga JM, Becerril JM, Epelde L, Garbisu C, Etxebarria J, Gorostiza I  
**Título:** Physicochemical quality index for agricultural soils based on fuzzy logic  
**Tipo de participación:** Póster  
**Congreso:** 3rd International Conference on Biodiversity & Sustainable Energy Development  
**Publicación:** Resúmenes en Journal of Ecosystem & Ecography (2014) June, Volume 4, Issue 3, page 60  
**Lugar de celebración:** Valencia  
**Fecha:** 24-26 Junio 2014

**5. Autores:** Gómez-Sagasti MT, Becerril JM, Martín I, Epelde L, Garbisu C  
**Título:** cDNA microarray analysis of gene expression profiles in *Pseudomonas fluorescens* exposed to a mixture of metals  
**Tipo de participación:** Póster  
**Congreso:** BIOTEC 2014 – Science, the key for a better life  
**Publicación:** Libro de resúmenes  
**Lugar de celebración:** Madrid  
**Fecha:** 1-4 Julio 2014

**6. Autores:** Gómez-Sagasti MT, Barrutia O, Garbisu C, Becerril JM  
**Título:** A transcriptomic approach reveals novel biomarkers of early metal exposure in *Arabidopsis thaliana*  
**Tipo de participación:** Póster  
**Congreso:** BIOTEC 2014 – Science, the key for a better life  
**Publicación:** Libro de resúmenes  
**Lugar de celebración:** Madrid  
**Fecha:** 1-4 Julio 2014

**7. Autores:** Garbisu C, Mijangos I, Epelde L, Blanco F, Lanzén A, Anza M, Martín I, Virgel S, Besga G  
**Título:** Evolución de las comunidades microbianas en tecnosuelos elaborados para la rehabilitación de una cantera  
**Tipo de participación:** Oral y Póster  
**Congreso:** CONDEGRES – VII Simposio Nacional sobre el Control de la Degradación y Restauración de Suelos  
**Publicación:** Libro de actas  
**Lugar de celebración:** Bilbao

Fecha: 23-26 Junio 2015

**8. Autores:** Artetxe U, Vadillo A, Otaola B, Vilela J, Blanco F, Garbisu C, Becerril JM  
**Título:** Indicadores biológicos de la salud del suelo en tecnosuelos vegetados con diferentes especies

**Tipo de participación:** Oral y Póster

**Congreso:** CONDEGRES – VII Simposio Nacional sobre el Control de la Degradación y Restauración de Suelos

**Publicación:** Libro de actas

**Lugar de celebración:** Bilbao

**Fecha:** 23-26 Junio 2015

**9. Autores:** Anza M, Martín I, Blanco F, Epelde L, Alkorta I, Garbisu C

**Título:** Ecotoxicity of zero-valent iron nanoparticles to microbial communities growing in PCB-contaminated soils

**Tipo de participación:** Presentación oral (premio a la mejor presentación oral)

**Congreso:** 3rd International Conference on Environment Pollution and Prevention (ICEPP 2015)

**Lugar de celebración:** Dubai (UAE)

**Fecha:** 5-6 Diciembre 2015

#### **CONFERENCIAS RELACIONADAS CON EL PROYECTO:**

1. Microbial properties as indicators of soil health, Red Sea Research Centre, King Abdullah University of Science and Technology (KAUST), Thuwal, Arabia Saudi. 25 Septiembre 2013.

2. Phytoremediation of metal polluted soils, College of Environmental Science and Engineering, Yangzhou University, China. 17 Diciembre 2014.