

Grupo de Microbiología Ambiental y Sostenibilidad del IRTA

MARC VIÑAS¹, FRANCESC X PRENAFETA-BOLDÚ¹; MIRIAM GUIVERNÀU¹, GEMMA BURÓN¹; BELÉN FERNÁNDEZ¹, AMAIA NOGALES² Y CARMEN BIEL²

Institut de Recerca i Tecnologia Agrolimentàries (IRTA). ¹Programa de Sostenibilidad en Biosistemas. Torre Marimón, 08140 Caldes de Montbui (Barcelona). ²Programa de Protección Vegetal Sostenible, 08348 Cabriels (Barcelona).

✉ marc.vinas@irta.cat

El grupo de investigación de Microbiología Ambiental y Sostenibilidad (MAS) inició su actividad en 2007, y se compone en la actualidad de un equipo multidisciplinar de investigadores del IRTA que incluye biólogos, microbiólogos, biotecnólogos, químicos, ingenieros químicos e ingenieros agrónomos. La mayoría de sus integrantes forman parte del grupo de investigación consolidado “Sostenibilidad en Biosistemas” (Generalitat de Catalunya, AGAUR, 2021 SGR 01568). Las líneas de investigación del Grupo están focalizadas principalmente en el ámbito de la biodegradación microbiana y las comunidades microbianas complejas asociadas a estos bioprocesos, y su aplicación en la biorremediación de ambientes afectados por diferentes tipologías de contaminantes. Estos ambientes contaminados incluyen las aguas superficiales y subterráneas, los suelos, y las emisiones gaseosas, tanto en el ámbito industrial como en el agrícola.



Integrantes del grupo de investigación MAS (de izquierda a derecha, y de arriba abajo): Francesc Prenafeta; Marc Viñas, Carmen Biel; Miriam Guivernau; Belén Fernández y Gemma Burón (Amaia Nogales, ausente).

Biodegradación y ecología microbiana en ambientes impactados por contaminantes de origen industrial

En este ámbito destacan los estudios de bioestimulación, bioaumentación y ecología microbiana de las poblaciones nativas (bacterias y hongos) en suelos contaminados por mezclas complejas de hidrocarburos pesados, principalmente HAPs, de baja degradabilidad y biodisponibilidad en emplazamientos de origen industrial (Lladó *et al.*, 2013; Viñas *et al.*, 2005), donde también se observó el efecto diferencial de

ciertos tensioactivos frente a la diversidad y función degradadora de comunidades microbianas con potencial degradador (Lladó *et al.*, 2015). También, se han realizado estudios de biodegradación de compuestos monoaromáticos en fase volátil para el tratamiento de emisiones gaseosas industriales de compuestos TEX y otros volátiles mediante técnicas de biofiltración (Prenafeta-Boldú *et al.*, 2012; Prenafeta-Boldú *et al.*, 2019). Los estudios más recientes se han centrado en comprender mejor la interacción sinérgica entre las poblaciones fúngicas y bacterianas en suelos contaminados, pudiendo mejorar el potencial microbiano

de degradación de hidrocarburos pesados del suelo mediante la bioaumentación de hongos nativos del suelo (Medaura *et al.*, 2021). Asimismo, en la actualidad también se está trabajando en la bioestimulación de aguas subterráneas por aditivos etoxilados de la gasolina, y en la generación de consorcios microbianos sintéticos y su estudio a nivel metagenómico. También se realiza en colaboración con otros grupos de investigación, y/o empresas, el seguimiento de procesos de bioestimulación y bioaumentación in-situ de aguas contaminadas por organoclorados e hidrocarburos y derivados (Gil-Villalba *et al.*, 2024).

Biorremediación de suelos y aguas subterráneas en el ámbito agrícola

La aplicación inadecuada de fertilizantes sintéticos y orgánicos en la agricultura, conjuntamente con el uso de pesticidas, ha resultado en el ampliamente conocido problema de la contaminación difusa de los acuíferos por nitratos, que a menudo se ve agravado por la presencia de microcontaminantes. Gracias a diferentes estudios colaborativos, hemos podido identificar a los principales microorganismos desnitrificantes heterótrofos y autótrofos en diferentes estudios en aguas subterráneas reales (Calderer *et al.*, 2014; Torrentó *et al.*, 2011). En los últimos años hemos coordinado el proyecto SPOT LIFE18 ENV/ES/000199 (<https://lifespotproject.eu/>), para la eliminación de nitratos y microcontaminantes en aguas subterráneas en zonas rurales, mediante la combinación secuencial de un fotobiorreactor de microalgas y un biofiltro anaerobio. Los resultados indican que los procesos microbianos de descomposición y fermentación de residuos lignocelulósicos de la madera, y la consiguiente desnitrificación heterótrofa en el biofiltro anaerobio, son el principal mecanismo para la eliminación de nitratos y ciertos microcontaminantes del agua subterránea, (Casas *et al.*, 2023).

Asimismo, la presencia de metales pesados en suelos agrícolas es habitual debido a su utilización como plaguicidas, o por su presencia en determinados fertilizantes orgánicos, que puede dar lugar a problemas de acumulación a largo plazo. Los investigadores del equipo de Salud del Suelo del Programa de Protección Vegetal Sostenible tienen amplia experiencia en interacciones planta-suelo y planta-microorganismo, especialmente con hongos mutualistas. Sus líneas de investigación se centran principalmente en el uso de microorganismos beneficiosos del suelo (hongos formadores de micorrizas arbusculares, hongos melanizados endófitos septados - *dark septate endophytes*) para mejorar la tolerancia de las plantas a factores de estrés biótico (patógenos) y abiótico en el suelo (déficit hídrico, salinidad, incluyendo la contaminación del suelo por metales; Nogales *et al.*, 2012, 2019, 2023; proyecto RHIZOIMPROVE-PID2023-147360OR-C31), y conseguir así una mejora en la salud del suelo y las plantas en un contexto cambio climático.

Asimismo, cuenta con amplia experiencia en el estudio de la diversidad microbiana de endófitos radiculares, suelo y rizosfera, especialmente en microorganismos beneficiosos, y en el aislamiento y caracterización de microorganismos adaptados a estrés abiótico (salinidad y metales), y la producción de inóculos para su aplicación en contextos agrícolas y en suelos degradados (Navarro-Torre *et al.*, 2023).

Mejora de la sostenibilidad en agrosistemas: secuestro de carbono, mitigación de GEI y recuperación de nutrientes

La mejora de la huella de carbono en diferentes agrosistemas mediante el estudio de diferentes bioprocesos microbianos es una línea emergente del grupo, sustanciada gracias a diferentes proyectos de investigación en curso. Destaca el proyecto MIC-RICE (PID2019-111572RB-I00) en el que se han estudiado estrategias avanzadas para la mitigación de las emisiones de metano en arrozales, mediante el uso de (bio)materiales electroconductores que incentivan el metabolismo exoelectrogénico de la microbiota del suelo. Se ha identificado que la melanina fúngica es un material de interés con potencial bioelectroquímico sinérgico con bacterias electroactivas como *Geobacter* sp. (Medina-Armijo *et al.*, 2024b), y con potencial para la mitigación de emisiones de metano (Medina-Armijo *et al.* 2024c) (accepted). Asimismo, actualmente estamos iniciando nuevas líneas de investigación para estudiar estrategias microbianas innovadoras para el secuestro del carbono en suelos agrícolas en diferentes cultivos. También se están desarrollando trabajos en la recuperación de nutrientes y de biogás en subproductos agrícolas para una mayor sostenibilidad de los cultivos y para la mejora de la calidad del suelo. En el proyecto SUSTAINOLIVE (<https://sustainolive.eu/>), se recuperó estruvita, compost enriquecido en P, y biogás, a partir de subproductos del sector olivarero-aceite de oliva. En el proyecto CIRCULAR AGRONOMICS (<https://cordis.europa.eu/project/id/773649>), se han evaluado productos fertilizantes orgánicos a partir de digeridos de deyecciones ganaderas y residuos agroindustriales (Morey L., *et al.*, 2023).

Líneas de investigación emergentes: Nuevas biotecnologías fúngicas basadas en hongos melanizados

Estos organismos, conocidos en inglés como *black yeasts* o *black fungi*, constituyen un grupo diverso de hongos (predominantes en las subclases Chaetothyriomycetidae y Dothideomycetidae) caracterizados por su capacidad para producir melanina en sus paredes celulares, lo que les otorga un color oscuro y una notable resistencia a condiciones ambientales extremas. Esta extremotolerancia les permite colonizar hábitats hostiles como suelos contaminados y participar en procesos de biodeterioro (Baron *et al.*, 2021; Prenafeta-Boldú *et al.*, 2022; Madrid *et al.*, 2023). Hemos podido observar que estos organismos son muy abundantes en entornos ricos en hidrocarburos (Isola *et al.*, 2021), y que diversas especies tienen la capacidad de utilizar determinados hidrocarburos aromáticos y alifáticos como única fuente de carbono, pero su aislamiento requiere de técnicas selectivas específicas (Prenafeta-Boldú *et al.*, 2018). También son tolerantes a concentraciones tóxicas de metales pesados (Medina-Armijo *et al.* 2024a), fenómeno en el que la capacidad de absorción de la melanina parece jugar un papel importante (Melina Armijo *et al.*, 2024b). También se ha podido verificar que ciertos hongos melanizados endófitos septados (*dark septate endophytes*) pueden establecer relaciones simbióticas con las raíces de una gran variedad de vegetales (Quan *et al.*, 2024), ofreciendo nuevas alternativas para una agricultura más resiliente y para diseñar nuevos procesos de biorremediación.

Líneas de investigación emergentes: (Bio)degradación de plásticos en agrosistemas

El polietileno es un plástico común en suelos agrícolas, cuya contaminación afecta la calidad del suelo y la productividad. Los microplásticos ingresan al suelo principalmente a través de biosólidos y compost, usados como fertilizantes y ahora identificados como fuentes de contaminación. Esto destaca la necesidad de prácticas agrícolas

responsables, dirigiendo nuestros objetivos hacia el estudio de la (bio)degradación microbiana de plásticos en distintos entornos. Para ello se optimizarán combinación de tratamientos físico-químicos con el empleo de consorcios microbianos obtenidos mediante Evolución Adaptativa en Laboratorio (ALE) para seleccionar microorganismos con alto potencial degradativo. Esta línea está siendo impulsada mediante un contrato Ramón y Cajal, en continuidad con proyectos previos [MSCA-IF 2019-2022 (No. 840038) SOLFORPLAS y Beatriu de Pinós (BP-2021-00069)].

Referencias

- Baron, N.C., Pagnocca, F.C., Otsuka, A.A., Prenafeta-Boldú, F.X., Vicente, V.A. and Attili de Angelis, D. (2021). Black fungi and hydrocarbons: an environmental survey for alkylbenzene assimilation. *Microorganisms* 9(5), 1008.
- Calderer, M., Martí, V., De Pablo, J., Guivernau, M., Prenafeta-Boldú, F. X., & Viñas, M. (2014). Effects of enhanced denitrification on hydrodynamics and microbial community structure in a soil column system. *Chemosphere*, 111, 112-119.
- Casas, M. E., Guivernau, M., Viñas, M., Fernández, B., Cáceres, R., Biel, C., & Matamoros, V. (2023). Use of wood and cork in biofilters for the simultaneous removal of nitrates and pesticides from groundwater. *Chemosphere*, 313, 137502.
- Gil-Villalba, S., Palau, J., Soder-Walz, J. M., Vallecillo, M. A., Corregidor, J., Tirado, A., ... Guivernau, M.; Viñas, M.; Soler, A., & Rosell, M. (2024). Use of isotopic (C, Cl) and molecular biology tools to assess biodegradation in a source area of chlorinated ethenes after biostimulation with Emulsified Vegetable Oil (EVO). *Science of the Total Environment*, 951, 175351.
- Isola, D., Scano, A., Orrù, G., Prenafeta-Boldú, F.X. and Zucconi, L. (2021). Hydrocarbon-contaminated sites: Is there something more than *Exophiala xenobiotica*? New insights into black fungal diversity using the long cold incubation method. *Journal of Fungi* 7(10), 817.
- Lladó, S., Covino, S., Solanas, A. M., Petruccioli, M., D'annibale, A., & Viñas, M. (2015). Pyrosequencing reveals the effect of mobilizing agents and lignocellulosic substrate amendment on microbial community composition in a real industrial PAH-polluted soil. *Journal of hazardous materials*, 283, 35-43.
- Lladó, S., Gràcia, E., Solanas, A. M., & Viñas, M. (2013). Fungal and bacterial microbial community assessment during bioremediation assays in an aged creosote-polluted soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 67, 114-123.
- Madrid, H., Gené, J., Quijada, L., Cantillo, T., Gacitúa, R., Valdés, J., Sánchez, C., Prenafeta-Boldú, F.X., Wijayawardene, N., Silva, V. and Godoy, P. (2023). *Exophiala atacamensis*, sp. nov., and *E. crusticola* from the Atacama Desert, northern Chile. *Sydowia* 75, 181-192.
- Medaura, M. C., Guivernau, M., Moreno-Ventas, X., Prenafeta-Boldú, F.X., & Viñas, M. (2021). Bioaugmentation of native fungi, an efficient strategy for the bioremediation of an aged industrially polluted soil with heavy hydrocarbons. *Frontiers in Microbiology*, 12, 626436.
- Medina-Armijo, C., Isola, D., Illa, J., Puerta, A., Viñas, M. and Prenafeta-Boldú, F.X. (2024a). The metalotolerance and biosorption of As(V) and Cr(VI) by black fungi. *Journal of Fungi* 10(1), 47.
- Medina-Armijo, C., Yousef, I., Berná, A., Puerta, A., Esteve-Núñez, A., Viñas, M. and Prenafeta-Boldú, F.X. (2024b). Characterization of melanin from *Exophiala mesophila* with the prospect of potential biotechnological applications. *Frontiers in Fungal Biology* 5.
- Medina-Armijo, C., Fernández, B., Lucas, Y., Guivernau, M., Noguerol, J., Marchesi, M., Martínez-Eixarch, M., Alcaraz, C., and Viñas, M. (accepted) Utilizing conductive materials for reducing methane emissions in postharvest paddy rice soil microcosms. *Science of the Total Environment*. Recently accepted (3 Dec 2024).
- Morey L., Fernández B., Tey L., Biel C., Robles-Aguilar A., Meers E., Soler J., Porta R., Costs M., Riau V. (2023). Acidification and solar drying of manure-based digestate to produce improved fertilizing products. *Journal of Environmental Management*, 336, 117664.
- Navarro-Torre S.; Ferrario S.; Caperta A.D.; Victorino G.; Bailly M.; Sousa V.; Viegas W.; Nogales A. (2023). Halotolerant endophytes promote grapevine regrowth after salt-induced defoliation. *Journal of Plant Interactions*. 18 - 1, pp. 2215235. DOI: <https://doi.org/10.1080/17429145.2023.2215235>
- Nogales A.; Cortés A.; Velianos K.; Camprubí A.; Estaún V.; Calvet C. (2012). Plantago lanceolata growth and Cr uptake after mycorrhizal inoculation in a Cr amended substrate. *Agricultural and Food Science*. 21 - 1, pp. 72 - 79. DOI: <https://doi.org/10.23986/afsci.5007>
- Nogales, A.; Navarro-Torre, S.; Abreu, M.M.; Santos, E.S.; Cortinhas, A.; Fors, R.; Bailly, M.; Róis, A.S.; Caperta, A.D. (2023). Unravelling the combined use of soil and microbial technologies to optimize cultivation of halophyte *Limonia algarvense* (Plumbaginaceae) using saline soils and water. *Soil Syst.* 7, 74. <https://doi.org/10.3390/soilsystems7030074>
- Nogales, A., Santos, E.S., Abreu, M.M., Arán, D., Victorino, G., Pereira, H.S., ... & Viegas, W. (2019). Mycorrhizal inoculation differentially affects grapevine's performance in copper contaminated and non-contaminated soils. *Frontiers in plant science*, 9, 1906. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01906>
- Prenafeta-Boldú, F.X., de Hoog, G.S. and Summerbell, R.C. (2018). Fungal communities in hydrocarbon degradation. In: Microbial communities utilizing hydrocarbons and lipids: Members, metagenomics and ecophysiology. McGinity, T.J. (ed), pp. 1-36, Springer International Publishing, Cham.
- Prenafeta-Boldú, F.X., Medina-Armijo, C. and Isola, D. (2022). Black fungi in the built environment—The good, the bad, and the ugly. In: Viruses, Bacteria and Fungi in the Built Environment. Pacheco-Torgal, F., Ivanov, V. and Falkinham, J.O. (eds), pp. 65-99, Woodhead Publishing.
- Quan, Y., Deng, S., Prenafeta-Boldú, F.X., Mayer, V.E., Muggia, L., Cometto, A., Vicente, V.A., da Silva, N.M., Grisolia, Y., Ahmed, S.A., Niu, X., de Souza Lima, B.J.F., Feng, P., Vitale, R.G., Teixeira, M., Sudhaham, M., de Azevedo, C.P.e.S., Bocca, A., Haase, G., Selbmann, L., Shi, D., Kang, Y. and de Hoog, S. (2024). The origin of human pathogenicity and biological interactions in Chaetothyriales. *Fungal Diversity* 125, 99-120. <https://doi.org/10.1007/s13225-023-00518-3>
- Torrentó, C., Urmeneta, J., Otero, N., Soler, A., Viñas, M., & Cama, J. (2011). Enhanced denitrification in groundwater and sediments from a nitrate-contaminated aquifer after addition of pyrite. *Chemical Geology*, 287(1-2), 90-101.
- Viñas, M., Sabaté, J., Espuny, M. J., & Solanas, A. M. (2005). Bacterial community dynamics and polycyclic aromatic hydrocarbon degradation during bioremediation of heavily creosote-contaminated soil. *Applied and environmental microbiology*, 71(11), 7008-7018.