



INFORME TÉCNICO FINAL:

“Bioproceso reductor de la solubilidad del cadmio (Cd) rizosférico” (ATN/RF-18951-RG)

Autores: Adalgisa Scotti, Roxana Colombo, Vanesa Silvani, Gisela Perez, Mauricio Visciglia, Andrea Juarez, Gabriela Coria, Sofía Utge Perri, Pablo Calzada, Ana Castaño Gañán, Luz Cecilia García Cruzatty, Mario Paniagua Lopez, Mónica Torrejón, Lizardo Mauricio Reyna Bowen, Inmaculada García-Romera, Alicia Godeas, María Luisa Izaguirre Lessmann

Año: 2025



Códigos JEL: Q16

FONTAGRO (Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria) es un mecanismo único de cooperación técnica entre países de América Latina, el Caribe y España, que promueve la competitividad y la seguridad alimentaria. Las opiniones expresadas en esta publicación son de los autores y no necesariamente reflejan el punto de vista del Banco Interamericano de Desarrollo (BID), del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), FONTAGRO, de sus Directorios Ejecutivos ni de los países que representan.

El presente documento ha sido preparado por Autores: Adalgisa Scotti, Roxana Colombo, Vanesa Silvani, Gisela Perez, Mauricio Visciglia, Andrea Juarez, Gabriela Coria, Sofía Utge Perri, Pablo Calzada, Luz Cecilia García Cruzatty, Mario Paniagua Lopez, Mónica Torrejón, Lizardo Mauricio Reyna Bowen, Inmaculada García-Romera, Alicia Godeas, María Luisa Izaguirre Lessmann.

Copyright © 2025 Banco Interamericano de Desarrollo. Esta obra se encuentra sujeta a una licencia Creative Commons IGO 3.0 Reconocimiento-NoComercial- SinObrasDerivadas (CC-IGO 3.0 BY-NC-ND) (HYPERLINK

"<http://creativecommons.org/licenses/>"<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/igo/legalcode>) y puede ser reproducida para cualquier uso no comercial otorgando el reconocimiento respectivo al BID. No se permiten obras derivadas. Cualquier disputa relacionada con el uso de las obras del BID que no pueda resolverse amistosamente se someterá a arbitraje de conformidad con las reglas de la CNUDMI (UNCITRAL). El uso del nombre del BID para cualquier fin distinto al reconocimiento respectivo y el uso del logotipo del BID no están autorizados por esta licencia CC-IGO y requieren de un acuerdo de licencia adicional. Note que el enlace URL incluye términos y condiciones adicionales de esta licencia.

Esta publicación puede solicitarse a:

FONTAGRO

Correo electrónico: fontagro@fontagro.org

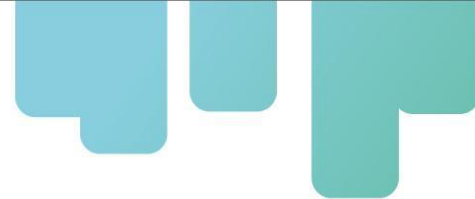
www.fontagro.org



Tabla de Contenidos

Tabla de contenido

Índice de figuras:	5
Índice de Cuadros:	7
Glosario de abreviaturas	8
Abstract	9
Resumen	10
Antecedentes	11
Objetivos	12
Metodología	13
COMPONENTE 1. CREAR UN LABORATORIO DE EMPRENDEDORES.	13
Actividad 1.1: Ciclo de capacitaciones.	14
COMPONENTE 2: FORMULAR EL BIOPROCESO EN BIORREACTORES (TRL 3-4).	14
Actividad 2.2: Armado de biorreactores TRL 3-4.	15
Actividad 2.3: Análisis físico-químico-biológicos.	15
Resultados y Discusión (por componentes)	18
RESULTADOS COMPONENTE 1. PRODUCTO 1.	18
ACTIVIDAD 1.1 - Ciclo de capacitaciones	18
RESULTADOS COMPONENTE 1. PRODUCTO 2.	19
ACTIVIDAD 1.2 - Pruebas de campo (en invernadero).	19
RESULTADOS COMPONENTE 2. PRODUCTO 3.	20
Actividad 2.1: Selección de suelos y aislamiento de HA y HS.	20
CONCLUSIONES	31
RESULTADOS COMPONENTE 2. PRODUCTO 4.	31
Actividad 2.2: Armado de biorreactores TRL 3-4.	31
CONCLUSIONES	43
RESULTADOS COMPONENTE 2. PRODUCTO 5.	43
Actividad 2.3: Análisis físico-químico-biológicos	43
CONCLUSIONES	47
RESULTADOS COMPONENTE 3. PRODUCTO 6.	48



Actividad 3.1: Escalamiento a TRL 6.	48
Conclusiones	¡Error! Marcador no definido.
RESULTADOS COMPONENTE 3. PRODUCTO 7.	59
Actividad 3.2: Alianzas para lograr el escalamiento en territorio.....	59
• Universidad Técnica de Manabí	62
• Universidad Técnica de Manabí, Facultad de Ingeniería Agrícola	62
• Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (Portoviejo)	62
• Asociación de Producción Agropecuaria Carrizal Cristalino, ASOCCRISTAL	62
• Instituto de Investigaciones Agropecuarias	62
CONCLUSIONES	68
RESULTADOS COMPONENTE 3. PRODUCTO 8.	68
Actividad 3.3: Análisis no experimental de impacto socio-económico, ambiental, tecnológico y género	68
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	93
RESULTADOS COMPONENTE 4. PRODUCTO 9.	93
Actividad 4.1: Plan de gestión del conocimiento.....	93
RESULTADOS COMPONENTE 4. PRODUCTO 10.	105
Actividad 4.2: Elaboración de una estrategia de comunicación y transferencia.	105
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	106
Indicadores Técnicos	106
Hallazgos Destacados.....	106
Historias en el campo.....	109
Conclusiones.....	111
Recomendaciones.....	112
Referencias bibliográficas	113
Instituciones participantes.....	121

Índice de figuras:

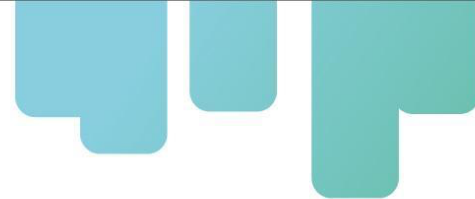


Figura 1	Altura de las plántulas de cacao nacional crecidas en suelos colectados en plantaciones orgánicas de (A) plátano (S1), y (B) limón (S2), sometidas a los tratamientos con P, melaza, y citoquininas.	21
Figura 2	Contenido de clorofila en unidades SPAD en plántulas de cacao nacional crecidas en suelos colectados en plantaciones orgánicas de plátano (S1) (A) y limón (S2) (B), y sometidas a los tratamientos con P, melaza, y citoquininas.	22
Figura 3	Diversidad de hongos arbusculares de los suelos S3 (sin Cd) y S4 (con Cd).	23
Figura 4	Sistema de incubación para la germinación de esporas y fragmentos de raíces de cacao colonizados por HA	24
Figura 5	Contenido de glomalina (fracción fácilmente extractable) presente en los suelos S3 (sin Cd) y S4 (con Cd).	25
Figura 6	Fotografías de distintos hongos saprobios aislados de los suelos S3 (sin Cd) y S4 (con Cd).	26
Figura 7	Imagen de la diversidad fúngica de hongos saprobios de los suelos S3 (sin Cd) y S4 (con Cd).	27
Figura 8	Comportamiento de los hongos saprobios aislados de los suelos S3 (sin Cd) y S4 (con Cd) frente a distintas concentraciones de Cd (0, 10, 50 y 100 ppm).	28
Figura 9	Crecimiento de los hongos saprobios (cm) aislados de los suelos S3 (sin Cd) y S4 (con Cd) frente a distintas concentraciones de Cd (0, 10, 50 y 100 ppm).	29
Figura 10	Biorreactor de doble celda.	32
Figura 11	Biorreactor de celda simple	33
Figura 12	Biorreactor de doble celda, estructura metálica con protección de malla antigranizo y base del biorreactor con pendiente al 6 %.	34
Figura 13	Coeficientes de bioacumulación (ABC- RBC) y factores de translocación (TF) para <i>B. salicifolia</i> inoculado (M+) y sin inocular (M-) en presencia de concentraciones de Cd, Ni, Cu contaminantes y P	41
Figura 14	Sistema fito-mico-remediador en Biorreactores (BR) y Módulos de Depuración Vegetal (MDV) usando plantas de <i>Baccharis salicifolia</i> y hongos formadores de micorriza arbuscular	52
Figura 15	Porcentaje de frecuencia e intensidad de raíces colonizadas de micorrizas arbusculares	55
Figura 16	Concentración de glomalina fácilmente extraíble (EE-GRSP) y proteínas del suelo relacionadas con la glomalina total (T-GRSP) desde la rizosfera de las plantas micorrizadas y no micorrizadas	55

Figura 17	Esquema de interacciones entre las redes descritas como estrategia de sustentabilidad	66
Figura 18	Cantidad de plantas por productor	70
Figura 19	Cantidad de hectáreas de cada productor	71
Figura 20	Total de ventas realizadas por cada productor encuestado	72
Figura 21	Interés en la capacitación para las buenas prácticas en la producción de cacao	73
Figura 22	Distribución de familias que recibieron asistencia técnica	73
Figura 23	Distribución de la importancia del cultivo de cacao en los ingresos familiares.	74
Figura 24	Importancia del cacao en los ingresos familiares	74
Figura 25	Distribución por sexo de los productores registrados en la actividad cacaotera y en las capacitaciones	75
Figura 26	Distribución por asociados a organizaciones no gubernamentales	75
Figura 27	Distribución de integrantes por familia	76
Figura 28	Dificultades planteadas por las familias acorde a los ingresos	77
Figura 29	Distribución de cantidad de hombres y mujeres involucrados en el proyecto	91
Figura 30	Distribución de capacitados en nivel 2 (tesistas, emprendedores, productores, alumnos)	92
Figura 31	Ciclos de charlas y visitas a técnicos de campo y mujeres campesinas en Rio Caribe	109
Figura 32	Ensayos en invernadero con estudiantes de la Universidad Técnica de Manabí	109

Índice de Cuadros:

Cuadro 1	Tabla de Integración de participantes en los distintos niveles de las capacitaciones y beneficiarios durante toda la CT	18
Cuadro 2	Lista de morfotipos de hongos arbusculares de las muestras analizadas en los suelos sin Cd (S3) y con Cd (S4).	22
Cuadro 3	Recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) de hongos por gramo de los suelos sin Cd (S3) y con Cd (S4).	25
Cuadro 4	Tasa de crecimiento (cm) de los hongos saprobios de la colección de la Estación Experimental del Zaidín (EEZ) en presencia de distintas concentraciones de Cd.	30
Cuadro 5	Valores de parámetros hidráulicos para diversos rellenos de BR	37
Cuadro 6	Partición de elementos en estudio en <i>B. salicifolia</i> inoculada y sin inocular con hongos micorrícicos. (Scotti et al. 2024)	41
Cuadro 7	Registro de biomasa (g) en suelo contaminado y sin contaminar en presencia (M+) y ausencia (M-) de inoculación fúngica. Tomado de Scotti et al. 2024	42
Cuadro 8	Potencial de bioextracción de Ni, Cd, Cu y P en los BRs cuando <i>B. salicifolia</i> fue inoculada con hongos micorrícicos. Tomado de Scotti et al. 2024.	42
Cuadro 9	Concentración de proteínas del suelo relacionadas con la glomalina fácilmente extraíbles (EE-GRSP) y total (T-GRSP) (mg por gr suelo seco) en el módulo de depuración vegetal (MDV) bajo el tratamiento de suelo contaminado y la inoculación de HA en <i>Baccharis salicifolia</i> .	56
Cuadro 10	Constantes hidráulicas, parámetros fisicoquímicos y cantidad de proteínas del suelo relacionadas con la glomalina fácilmente extraíbles (EE-GRSP) y proteínas del suelo relacionadas con la glomalina total (T-GRSP), medidos en los biorreactores (BR) y extrapolados al módulo de depuración vegetal (MDV) bajo el tratamiento de suelo contaminado y la inoculación de hongos micorrícico arbusculares. MDVt es el valor calculado teórico y MDVe es el valor experimental.	56
Cuadro 11	Regression Summary for Dependent Variable: Y_i $R = 0,99985525$ $R^2 = ,99971052$ Adjusted $R^2 = 0,99970960$ - $F(3,950) = 1094E3$ $p < 0,0000$ Std.Error of estimate: 0,12110	81
Cuadro 12	Regression Summary for Dependent Variable: Y_f $R = 0,99727225$ $R^2 = ,99455194$ Adjusted $R^2 = 0,99454297$ - $F(1,607) = 1108E2$ $p < 0,0000$ Std.Error of estimate: 0,71488	82
Cuadro 13	Matriz de análisis de impacto	89
Cuadro 14	Agenda de eventos	95



Cuadro 15	Artículos científicos publicados en revistas indexadas con referato de alto impacto	96
Cuadro 16	Artículos científicos, Full text - Chapter Book	99
Cuadro 17	Trabajos publicados en eventos de CIENCIA Y TÉCNICA (Congresos, encuentros, Simposios, etc.)	102
Cuadro 18	Recomendaciones surgidas a lo largo del desarrollo del proyecto	112

Glosario de abreviaturas

AAS → Atomic Absorption Spectroscopy (Espectrometría de Absorción Atómica).

GFAAS → Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy (Espectrometría de Absorción Atómica con horno de grafito).

ABC → Coeficiente de Bioacumulación aéreo.

RBC → Coeficiente de Bioacumulación radicular.

TF → Translocation Factor (Factor de Translocación).

AF → Agricultores Familiares

CT → Cooperación Técnica

NT → Nota Técnica

BR → Biorreactor.

Cd → Cadmio.

CN → Cacao Nacional (variedad fina de aroma).

EEZ → Estación Experimental del Zaidín (España).

FAO → Food and Agriculture Organization (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura).

HS → Hongos Saprobios.

HA → Hongos Arbusculares.

MAP → Fitoextracción Asistida por Micorrizas (del inglés Mycorrhiza Assisted Phytoextraction).

ODS → Objetivos de Desarrollo Sostenible.

TRL → Technology Readiness Level (Nivel de Madurez Tecnológica).

UFC → Unidades Formadoras de Colonias.

UE → Unión Europea.

MDV → Módulo de Depuración Vegetal

P → Fósforo

Zn → Cinc

IEET → Interesados, emprendedores, estudiantes y tesistas

IE → Agricultores familiares interesados denominados emprendedores

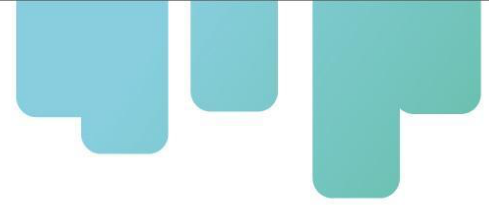
N1, N2 → Nivel de capacitación 1 y 2 respectivamente

CF_H QB → Condiciones físico (hidráulico)-químico-biológicas

FV → Flujo vertical

FH → Flujo horizontal

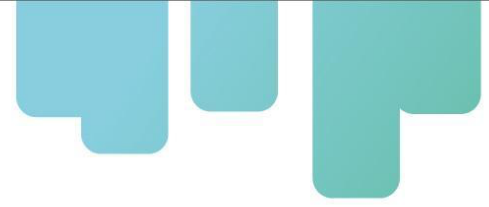
Q → Caudal



Abstract

The empowerment of the Latin American market for National cacao has been limited by the high cadmium (Cd) content in the almonds. We proposed an innovative, efficient, and climate-smart bioprocess to reduce Cd bioaccumulation, accompanied by a field application protocol. The bioprocess involved: (a) the isolation of a consortium of native fungi from cocoa plantation soils, capable of reducing root and aerial bioaccumulation coefficients (CBr,a) of Cd in cocoa through mycorrhizal symbiosis. These fungi also form a symbiosis with a *Baccharis salicifolia* species that hyperaccumulates Cd in its biomass, acting as a Cd extractor; (b) the validation of the bioprocess in bioreactors and its upscaling to Technological Mature Level (TRL) 6, and the application protocol to TRL 7 on family farms (FF) of cocoa producers. All of this was carried out through Technical Cooperation (TC) between scientists, FF, and the business and government sectors in Ecuador, Argentina, Spain and Venezuela. In parallel, the knowledge generated was managed and transferred through publications, training and activities to a total of 3,452 beneficiaries, 1,646 of whom were women. The total number of trainees was 931, of whom 205 were women. Gender parity was maintained at Level 2, which includes students, thesis students, entrepreneurs, professionals in general, and family farmers who showed a willingness to deepen their knowledge. Level 1, which is comprised solely of family farmers, had a much lower percentage of women. A total of 10 products were delivered during this project. These included training databases and a monograph with isolates of microorganisms found in the Glomeromycota Banks of FCEN UBA IBBEA and the El Zaidín Experimental Station (CSIC). Other products presented were technical notes. One of the technical notes detailed the standardization of the methodology used to measure cadmium, zinc, and phosphorus, and another detailed the methodology for the scaling-up strategy using bioreactors, moving from TRL 3 to TRL 6 under physical-hydraulic-chemical-biological conditions. The scaling-up protocols for the region were included in another technical note. A monograph with the project's impact analysis was also presented. This monograph concluded that the project had a significant impact on environmental, organizational-institutional, communication, and transfer criteria, and generated structural changes in the scientific environmental criteria. However, it had a moderate social impact and a low economic impact. A database of the networks generated and the way they interacted was also provided as a sustainability strategy upon completion of the project. More than 20 events were held (seminars, courses, talks, conferences, E-ICES Meetings, press releases, meetings, blogs), 8 undergraduate and graduate theses completed and in progress, 10 publications in high-impact indexed journals, 10 book chapters, 21 conference presentations, a monograph was delivered with the alliances of various public and private sectors, academic and non-academic, the agreements generated and the organizations that deepened their ties such as the organization of women cocoa growers of Ecuador.

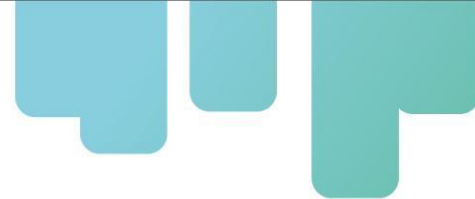
Key words: Cocoa, mycorrhizal symbiosis, bioaccumulation coefficient, translocation factor, bioreactors, scale-up, TRL 4, TRL 6, cadmium, trainings, associations



Resumen

El empoderamiento del mercado latinoamericano de cacao Nacional fino de aroma se ha visto limitado por los altos contenidos de cadmio (Cd) en las almendras. Propusimos un bioproceso innovador, eficiente y climáticamente inteligente para reducir la bioacumulación del Cd, acompañado por un protocolo de aplicación en territorio. El bioproceso implicó: (a) el aislamiento de un consorcio de hongos nativos de suelos en plantaciones de cacao, capaces de disminuir los coeficientes de bioacumulación radicular y aéreo (CBr,a) del Cd en cacao mediante una simbiosis micorrícica, que además hacen simbiosis con una especie de *Baccharis salicifolia* que hiperacumula cadmio en su biomasa a modo de extractora de cadmio; (b) la validación del bioproceso en biorreactores y el escalamiento a Niveles de Maduración Tecnológica (TRL) 6, el protocolo de aplicación a TRL 7 a fincas de cacao de agricultores familiares (AF). Todo esto se realizó mediante la Cooperación Técnica (CT) entre científicos, AF y el sector empresarial, así como gubernamental en Ecuador, Argentina, España y Venezuela. En paralelo, el conocimiento generado fue gestionado y transferido a través de publicaciones, capacitaciones y actividades, a un total de 3.452 beneficiarios, de las cuales 1646 son mujeres, los capacitados fueron 931 personas de las cuales 205 son mujeres, la paridad de género se mantuvo en el Nivel 2 de capacitados, los cuales incluyen estudiantes, tesistas, emprendedores, profesionales en general y agricultores familiares que mostraron voluntad en profundizar conocimientos, mientras que en Nivel 1, conformado solo por agricultores familiares, el porcentaje de mujeres fue mucho menor. Durante el proyecto se entregaron 10 productos. Entre estos se encontraron las bases de datos de las capacitaciones y una monografía con los aislamientos de los microorganismos que se encuentran en los Bancos de Glomeromycota de FCEN UBA IBBEA y la Estación Experimental El Zaidín CSIC. Otros productos fueron notas técnicas, una de ellas detallando la estandarización de la metodología utilizada para medición de cadmio, zinc y fósforo y otra la estrategia de escalamiento utilizada mediante biorreactores, el pasaje de TRL 3 a TRL 6 bajo condiciones físico-hidráulico-químico-biológico. Los protocolos de escalamiento a territorio formaron parte de otra nota técnica. También se presentó una monografía con el análisis de impacto del proyecto. Como resultado de esta monografía se desprende que el proyecto tuvo un alto impacto en el criterio ambiental, organizacional-institucional, en la comunicación y transferencia y generó cambios estructurales en el criterio ambiental científico. Sin embargo, tuvo un impacto moderado en lo social y bajo en lo económico. Se entregó también una base de datos de las redes generadas y la forma en que interaccionaron las mismas como una estrategia de sustentabilidad a la culminación del proyecto. Se realizaron más de 20 eventos (seminarios, cursos, charlas, conferencias, Encuentros E-ICES, notas de prensa, reuniones, blogs), 8 tesis de grado y postgrado finalizadas y en curso, 10 publicaciones en revistas de alto impacto indexadas, 10 capítulos de libro, 21 presentaciones a congresos, se entregó una monografía con las alianzas de diversos sectores públicos y privados, académicos y no académicos, los convenios generados y las organizaciones que profundizaron sus vínculos como por ejemplo la organización de mujeres cacaoteras de Ecuador.

Palabras Clave: Cacao, simbiosis micorrícica, coeficiente de bioacumulación, factor de translocación, biorreactores, escalamiento, TRL 4, TRL 6, cadmio, capacitaciones, alianzas



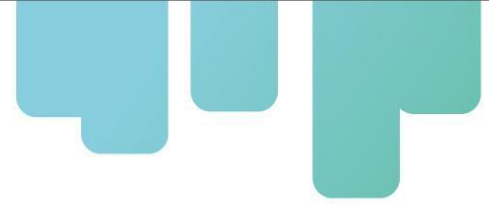
Antecedentes

A partir del 2019, la Unión Europea (UE) redujo el límite permitido de Cd ($0,8 \text{ mg kg}^{-1}$) en las almendras de cacao (Reglamento UE N°488: <https://www.boe.es/doue/2014/138/L00075-00079.pdf>). Sin embargo, este contenido en los granos provenientes de Ecuador mostró valores entre $1,2 \text{ mg kg}^{-1}$ y $2,7 \text{ mg kg}^{-1}$, mientras que en Venezuela oscilan entre $0,95$ y $2,09 \text{ mg kg}^{-1}$ dependiendo de la zona (Arguello et al. 2019; Lanza et al. 2016). Actualmente, el manejo de microorganismos beneficiosos en la agricultura juega un papel importante para la gestión de recursos naturales, el desarrollo de la agricultura sostenible y la resiliencia al cambio climático (Rilling et al. 2003). La microbiota asociada a los cultivos regula el balance de carbono, la captación de nutrientes y metales pesados (MP), la tolerancia a situaciones de estrés y la estabilidad de los agregados del suelo. Estudios previos han descrito una estrategia a nivel de invernadero que permite reducir la absorción de Cd en plantas de cacao con hongos micorrícicos arbusculares (HA) en Colombia (Pérez Moncada et al. 2019). La gran biodiversidad de estos organismos en Sudamérica da múltiples opciones para su utilización.

Las investigaciones del equipo de ésta CT muestran que la simbiosis micorrícica actúa regulando la absorción de metales pesados, entre ellos el Cd (Colombo et al 2020; Silvani et al. 2017; García-Sánchez et al. 2019), debido en parte a la producción de glomalina. Por otro lado, los hongos saprobios (HS) rizosféricos, a través de sus metabolitos, inmovilizan cationes de este metal impidiendo su ingreso a la raíz. Ambos grupos de hongos actuarían sinérgicamente regulando la biodisponibilidad/absorción catiónica del sistema suelo/planta (Arriaga et al. 2004). Como valor agregado de estas asociaciones encontramos facilitada la solubilización y transporte de fósforo (P) que permite un mejor crecimiento de las plantas (Izaguirre-Mayoral et al. 2011). Nuestro grupo avanzó en el patentamiento de un sistema biorremediador (Scotti et al. 2013) y el escalamiento a nivel de biorreactores y Módulos de Depuración Vegetal (MDV) que nos permitieron llevar a territorio este proyecto (Scotti, Godeas 2013). El sistema biorremediador también incluye el ajuste en pH y Eh y el agregado de zinc (Zn) como regulador de actividad enzimática.

En Ecuador el 80% de las unidades productivas (aprox. 100.000 unidades) corresponden a pequeñas fincas familiares, de éstas el 60% son trabajadas por mujeres, mientras que el total de las familias comprendidas en la cadena de valor del sector alcanzan a 230.225 familias (<https://www.ecb.europa.eu/pub/pdf/annrep/ar2011es.pdf>). En Venezuela, se estima en un máximo de 50 fincas cacaoteras menores a 2 ha, las que aún se mantiene activas, mayormente bajo la gerencia de mujeres (FAO 2011). Entre los agricultores familiares (AF) existe una brecha tecnológica para acceder a mejores prácticas de cultivo. En este sentido hay modelos de capacitación y transferencia que utilizan herramientas digitales (TIC y de Agricultura 4.0) muy apropiadas en cuanto a motivación neurolingüística, aprendizaje e innovación, que en el marco del COVID 19 reemplazaron a algunas actividades presenciales. Es importante entonces realizar la planificación de alianzas gubernamentales y privadas para que los AF accedan a estas herramientas TIC.

Como solución tecnológica: presentamos en esta CT un bioproceso compuesto por un consorcio de hongos que reduce la cantidad de Cd presente en las almendras. Seleccionamos los hongos saprobios (HS) y los hongos micorrícicos arbusculares (HA) que regulan la absorción del mismo. Se procuró que los HA y HS seleccionados fuesen especies autóctonas de las plantaciones de cacao para que no exista



el peligro de introducir microorganismos foráneos al ecosistema suelo, pero fue aislado y puesto a punto un sistema simbiótico de HA aislado de Argentina muy eficiente en la extracción de cadmio. Además, los HA y HS contribuyen a mejorar el estado de agregación del suelo aumentando su eficiencia hídrica y la captación de carbono atmosférico ya que aumentan el crecimiento de las plantas y, en consecuencia, la cantidad de materia orgánica del suelo, respondiendo inteligentemente a las consecuencias del cambio climático. En todos estos aspectos las autoras de esta CT tienen experiencia evidenciable.

Se proyectó un Impacto en ciencia y técnica, transferencia ex ante fundamentado por los productores que reciben asistencia técnica, generación de innovación adoptada por agricultores y acopiadores, producción de documentos de investigación, tesis de posgrado y pregrado. Todos estos efectos fueron cuantificados utilizando la metodología de Índice Multicriterio (IM), se ponderaron los criterios económicos, sociales, ambientales, organizacionales y de transferencia. Se estimó el cambio desde la línea de base hasta la finalización de la CT mediante prueba estadística de Chow F que permite medir cambios estructurales (Enders 2010). Nuestra jerarquización de criterios para el análisis de IM (antes del proyecto) resultó en 0.22 social, 0.21 económico, 0.20 ambiental, 0.18 organizacional-institucional y 0.19 comunicación y transferencia. Esto significa, que en el análisis de los cambios que nosotros consideramos que se producirían, el proyecto tendría mayor impacto en lo social-económico (43%) que en lo organizacional-institucional (18%), pero esto no resultó así, veremos más adelante los motivos detallados, pero en términos generales faltó tiempo y se sumaron trabas climáticas, políticas y sanitarias que impidieron realizar este aspecto de transferencia en territorio abarcando lo social-económico.

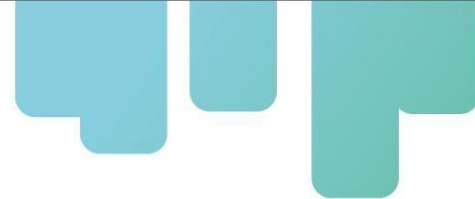
En cuanto al Modelo de negocio este proyecto contempló el escalado del *know how* a nivel de biorreactores (TRL 3-4) y a nivel de mayor escala (MDV) (TRL 6-7). El plan de negocio apuntó a los clientes del primer segmento meta y al marketing mix. Por lo tanto, a la finalización obtendríamos “Productos Tecnológicos comerciales”, a saber: 1) Biorreactores con el bioproceso conteniendo el consorcio de HA y HS y, 2) Plantas de cacao producidas en viveros inoculadas con el consorcio HA y HS seleccionado. Ambos productos bajo parámetros establecidos de calidad orgánica y trazabilidad, los cuales llegarían a los Segmentos meta de mercado propuestos (<https://www.gestiopolis.com/segmentacion-de-mercados-y-estrategias-del-mercado-meta/>). Esta transferencia no pudo realizarse.

Esta CT colabora en fomentar soluciones que apoyan a los siguientes ODS: 1- Disminución de la pobreza; 5- Igualdad de género; 12- Producción y consumo responsable; 17- Alianzas para lograr objetivos.

Objetivos

El **Objetivo Principal** del proyecto es disminuir la concentración de Cd a valores menores de 0,8 mg kg⁻¹ en las almendras de cacao mediante la formulación de un bioproceso innovador climáticamente inteligente, acompañado por un protocolo de aplicación en territorio que será transferido por el personal debidamente capacitado y certificado.

Los **Objetivos Específicos coincidentes con los Componentes** son:



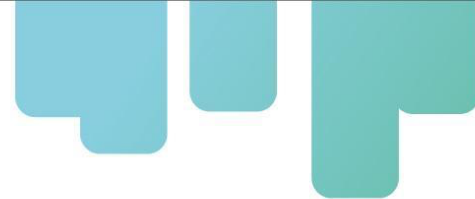
- 1) Crear un Laboratorio de Emprendedores.
- 2) Formular el bioproceso en biorreactores (TRL3-4),
- 3) Implementar y Escalar a nivel TRL 6 -7 y
- 4) Gestionar conocimiento, comunicación y transferencia.

Metodología

La metodología empleada diseña cuatro componentes vinculados directamente a los objetivos específicos de esta CT. Cada componente tiene sus propias metodologías, las cuales se describen a continuación.

COMPONENTE 1. CREAR UN LABORATORIO DE EMPRENDEDORES.

El objetivo de este componente fue capacitar, para la aplicación del bioproceso, a agricultores familiares y a tesistas, alumnos y agricultores familiares interesados, en el escalamiento de biotecnología con una visión emprendedora. **La metodología de trabajo** fue la preparación de clases, seminarios, charlas, workshop, cursos, material pedagógico y comunicacional adaptado a dos niveles de capacitaciones para la transferencia: el primer nivel dirigido a los AF y el segundo a emprendedores, empresarios, tesistas, profesionales, alumnos de pre y posgrado. Se inició con la inscripción de agricultores y tesistas de esta CT y el llenado de encuestas que permitieron diagnosticar el nivel cognitivo y la adecuada preparación de las estrategias de educación rural. Ambos niveles contemplaron los llamados “ciclo de capacitaciones” y “pruebas de campo en invernadero”, que corresponde a las llamadas clases teóricas y prácticas. Hemos decidido llamarlas así en el marco de la pandemia Covid 19, ajustando las pruebas de campo a las mínimas posibles y con la menor cantidad de personal, utilizando material audiovisual. Esto se describe más adelante como actividad 1.1 y 1.2. Para la organización del material del Nivel 1 se realizaron redes y encuestas a agricultores desde el inicio de la CT donde se pudo obtener el perfil socioeconómico cognitivo para la elaboración del material pedagógico. Las clases/charlas/ilustraciones fueron orientadas a detectar posibles emprendedores dentro de los AF, que podrían llevar a cabo ejes de la transferencia de tecnología. A medida que se fue avanzando en el emprendedorismo se abrió un canal de clases enfocadas a las habilidades comunicacionales para que el emprendedor que transferirá la tecnología pueda abrirse camino. Se aplicó el modelo utilizado en el Laboratorio de Transferencia de Tecnología al sector caprino premiado por el PNUD y el *modelo pedagógico cognitivista (MPC)* del material del Programa Social Agropecuario ([http://www.ieralpyme.org/noticias/programa-magyp-programa-social-agropecuario-\(psa\)-257.html](http://www.ieralpyme.org/noticias/programa-magyp-programa-social-agropecuario-(psa)-257.html)) para la transferencia de tecnología innovadora al sector productivo agropecuario de Argentina. El MPC tiene como meta educativa que cada individuo acceda, progresiva y secuencialmente, a la etapa de desarrollo intelectual, de acuerdo con las necesidades y condiciones de cada uno. Con el nivel 2 también se comenzó desde el inicio del proyecto, para dar las clases/material mensual a tesistas y alumnos ya participantes del proyecto. Las actividades del componente se implementaron en la/os siguientes



instituciones y países UTM (Ecuador), LBA-UTN (Argentina), CSIC (España), IBBEA-UBA (Argentina).

Actividad 1.1: Ciclo de capacitaciones.

El objetivo es la capacitación certificada a distintos niveles pedagógicos, ubicados en el tiempo estratégicamente, para la incorporación de las innovaciones y nuevas tecnologías. La **metodología** fue primero el registro de los agricultores, alumnos, tesis para el llenado de encuestas de diagnóstico cognitivo para la adecuada impartición de clases y/o talleres y/o ilustraciones-material de aprendizaje repartidos en 2 niveles. Nivel 1: para los productores (AF), Nivel 2: para los tesis, estudiantes, emprendedores.

Producto 1: 4 Bases de datos (1 por año) de los individuos registrados en Nivel 1 y Nivel 2 para cada clase/taller/ilustración-material entregado, para llegar a 895 Individuos Capacitados, certificados, desglosados por sexo, nivel y país. Producto AgTech (gestión educacional rural).

Actividad 1.2: Pruebas de campo (en invernadero).

El objetivo fue realizar las pruebas de campo de las capacitaciones, referentes al desarrollo y manejo del bioproceso. La **metodología** para la consecución del objetivo fue preparar clases virtuales, manuales, videos explicativos y fotos como material de estudio para los talleres y el seguimiento de la experimentación en invernadero con un número mínimo de operarios y con las disposiciones de seguridad en el marco COVID 19. Las instituciones y países implicados fueron la UTM, GAD (Ecuador).

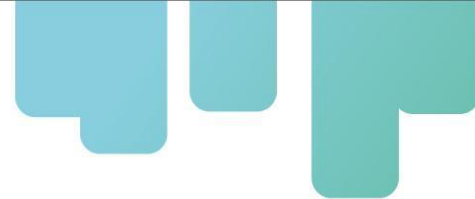
Producto 2: 3 Notas Técnicas indicando los Productos de Capacitación Desarrollados, desglosados en clases, manuales, videos, talleres

COMPONENTE 2: FORMULAR EL BIOPROCESO EN BIORREACTORES (TRL 3-4).

El objetivo de este componente fue formular un bioproceso innovador llevado a cabo en biorreactores para reducir el Cd soluble en la rizosfera de las plantas mediante la utilización de un consorcio de HA y HS autóctonos para disminuir la cantidad de Cd en la almendra de cacao a valores $<0,8 \text{ mg kg}^{-1}$ disminuyendo los coeficientes de bioacumulación radicular y aéreo a valores menores que 1 ($\text{CBr}, a < 1$). La **metodología** de trabajo consistió en realizar el muestreo de suelo en fincas seleccionadas socias de la corporación FdV y ETD por parte de la UTM (Ecuador). En esos suelos se procedió a: 1) Aislar, identificar y propagar los HS (EEZ-CSIC/España) y HA (IBBEA (UBA-CONICET/Argentina) presentes en las muestras, 2) ensayar la retención de Cd en glomalina, y enmendantes reductores “*in vitro*” en laboratorio y a nivel de biorreactores (LBA-UTN/Argentina). La UTM realizó la propagación de los miembros de los consorcios autóctonos seleccionados: en invernaderos los HA aislados y en laboratorio las cepas de HS. Los análisis físico-químicos se hicieron en Ecuador y Argentina. Las muestras fueron enviadas desde Ecuador a Argentina y España mediante sistemas de transporte autorizados y gestionados por la UTM. Las actividades se llevaron a cabo en las instituciones y países, UTM (Ecuador), IBBEA (UBA-CONICET) (Argentina), LBA-UTN (Argentina), EEZ-CSIC (España). Responsable componente 2: IBBEA (UBA-CONICET) Argentina.

Actividad 2.1: Selección de suelos y aislamiento de HA y HS.

El objetivo de la actividad fue la selección de suelos para el aislamiento de HA (hongos micorrízicos



arbusculares) y HS (hongos saprobios) autóctonos para utilizar en el bioproceso. La **metodología** utilizada fue: Se recogieron muestras del horizonte superior (30 cm) de suelos con alta concentración de Cd y cobertura vegetal y suelo control de zonas sin cobertura en una finca de cacao nacional cultivada bajo el sistema orgánico. El aislamiento e identificación morfológica y molecular de HS autóctonos se realizó según Siles et al. (2014). El grado de tolerancia y adsorción *in vitro* de Cd se analizó mediante concentración mínima inhibitoria según Xu et al. (2012, 2015) y la determinación de las enzimas de estrés oxidativo según García-Sánchez et al. (2014). Para el aislamiento de HA autóctonos, se prepararon cultivos trampa con los suelos muestreados y luego se realizaron cultivos puros *in vivo* e *in vitro* a partir de esporas y segmentos de raíces micorrizadas (Silvani et al. 2008). Todas las cepas de HA obtenidas se conservaron en la colección Banco de Glomeromycota In Vitro y fueron evaluadas en cuanto a su tolerancia y adsorción de Cd, producción de glomalina y los efectos de su inoculación en plantas de cacao (% de colonización > 40%, 300 esporas /kg suelo) cuando se crecieron en suelos adicionados con concentraciones crecientes de Cd bajo condiciones controladas. Las instituciones y países involucradas fueron UTM (Ecuador), IBBEA (UBA-CONICET) (Argentina), EEZ-CSIC (España).

Producto 3: 1 *Monografía* del aislamiento, propagación y evaluación de especies fúngicas para la formulación del bioproceso.

Actividad 2.2: Armado de biorreactores TRL 3-4.

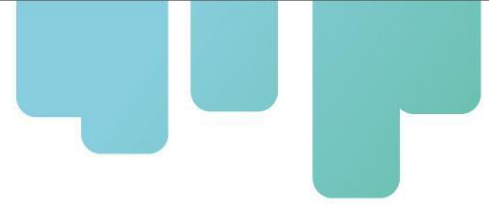
El objetivo fue el armado de biorreactores demostrativos de la reducción de la solubilidad del Cd rizosférico a nivel TRL (Technology Readiness Level) 3-4, y la validación de su funcionamiento. La **metodología** utilizada fue el uso de 8 biorreactores construidos según Scotti et al. (2019) en invernadero, 4 biorreactores para tratamiento rellenos de suelo con Cd y con el agregado de HA, HS y 4 biorreactores para control. Las determinaciones de pH y Eh se realizaron bajo la norma británica de modo tal de medir el gradiente reductor acidificante en profundidad como se especifica en Husson (2013). El trabajo en biorreactores se realizó en invernadero con mínimos operarios y con las disposiciones de seguridad en el marco COVID 19. La instituciones y países implicados son LBA-UTN (Argentina).

Producto 4: 2 *Notas Técnicas* conteniendo la descripción de la construcción y los resultados de su funcionamiento de los 8 *Modelos Técnicos Construidos* a TRL 3-4 llamados biorreactores. Producto AgTech (soluciones biotecnológicas).

Actividad 2.3: Análisis físico-químico-biológicos.

El objetivo fue la normalización y estandarización de análisis de metales en matriz vegetal con especificación de métodos de digestión, análisis QA/QC. En la metodología de esta actividad las determinaciones físico-químico-biológicas se realizarán bajo normas y con estándares específicos. Las instituciones y países involucrados son IBBEA (UBA-CONICET), LBA-UTN (Argentina). Los resultados involucran la normalización y estandarización de técnicas analíticas de elementos P, Cd y Zn en matriz vegetal y suelo con especificación de métodos de digestión, EPA²⁷ y análisis de QA/QC.

Producto 5: 6 *Notas Técnicas* conteniendo 6 *Metodologías diseñadas* para la estandarización y normatización de los resultados de Laboratorio de P, Cd y Zn en suelo y matriz vegetal.



COMPONENTE 3: IMPLEMENTAR Y ESCALAR A TRL 6-7.

El objetivo de este componente fue escalar a nivel TRL 6 y territorio TRL 7 el bioproceso reductor de solubilidad de Cd rizosférico. En la **metodología** utilizada se replicaron las 10 variables seleccionadas: constante hidráulica (Kh), Eh, Caudales (Qi, Qe), pendiente, metales, pH, materia orgánica, concentraciones de HS y HA, tiempo de salida a cámara colectora, permeabilidad, porosidad, capacidad de campo, según los protocolos obtenidos en TRL 3-4 para llevarse a cabo en MDV (4 metros cúbicos de sustrato-suelo) según Scotti et al (2019). Para transferir el protocolo obtenido desde TRL 6 a territorio se procedió previamente a realizar los acuerdos institucionales y organizacionales que permitirán la concreción en territorio y la sostenibilidad del bioproceso en el tiempo sin la presente CT. Se analizó el impacto. Las instituciones y países que lo llevaron a cabo fueron UTM (Ecuador), IBBEA (UBA-CONICET), LBA-UTN (Argentina), EEZ (CSIC), Corporación FdV (Ecuador), ETD (Venezuela), GAD (Ecuador). Responsable componente 3: UTM (Ecuador).

Actividad 3.1: Escalamiento a TRL 6.

El objetivo alcanzado fue el escalamiento del protocolo validado en los biorreactores (escala TRL 3-4) a TRL 6 el cual corresponde a pruebas ingenieriles en medio relevante. La **metodología** seguida para lograr el objetivo en los MDV del LBA-UTN/Argentina implicó la réplica de las 10 variables seleccionadas en los biorreactores que se rellenaron de la misma manera y donde se colocaron los mismos insumos. Los HA fueron aportados por la IBBEA (UBA-CONICET) (Argentina). Las determinaciones físico-químicas-biológicas se realizaron según metodología utilizada en los MDV según Scotti et al (2019). Las instituciones y países implicados fueron la UTM (Ecuador), IBBEA (UBA-CONICET), LBA-UTN (Argentina), EEZ (CSIC).

Producto 6: 1 *Nota Técnica* con las 10 herramientas y metodologías diseñadas para escalamiento ingenieril TRL 6 en MDV. Producto AgTech (automatizaciones, calibraciones).

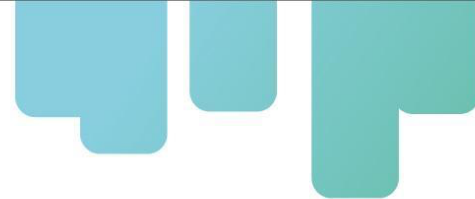
Actividad 3.2: Alianzas para lograr el escalamiento en territorio.

El objetivo fue el escalamiento del bioproceso en forma gradual en territorio ecuatoriano y venezolano. La transferencia será gradual desde las fincas modelo ecuatorianas y venezolanas hacia toda la población beneficiaria proyectada. Las instituciones y los países involucrados van a ser la UTM, FdV, GAD (Ecuador), ETD (Venezuela).

Producto 7: 1 *Monografía* a consideración técnica.

Actividad 3.3: Análisis no experimental de impacto socio-económico, ambiental, tecnológico y género.

El objetivo de esta actividad fue cuantificar el impacto de la CT en la población beneficiaria. En la **metodología** seguida se tuvo en cuenta los indicadores socio-económico, ambientales y de género descritos en el análisis ex ante y ex post en concordancia con la teoría del cambio analizada y el marco lógico. Se realizaron encuestas estratégicas en los diversos hitos de la CT para completar los Indicadores Objetivamente Identificables (IOV) utilizados en el análisis de impacto. Indicadores principales: **Tecnológicos ambientales:** soluciones biotecnológicas *eco friendly*; **Socio-económicos:** a) personas capacitadas/empoderadas, b) tesis recibidos; **Económicos:** a) ingreso/familia, b) capacitados realizando tareas remuneradas directa o indirectamente; **Género:** cantidad de mujeres involucradas



(rurales, técnicas, profesionales, emprendedoras); **Organizacionales**: cantidad de organizaciones civiles formadas/empoderadas. **Institucionales**: cantidad de propuestas de marcos legales para la sustentabilidad de la CT; **Gestión del conocimiento**: cantidad de documentos generados y redes. Los indicadores fueron clasificados y ponderados para hacer una cuantificación mediante Índices Multicriterios y cuantificación no experimental del impacto. La línea de base fue completada en el primer trimestre. La institución y el país involucrado será la LBA-UTN (Argentina).

Producto 8: 1 *Monografía* con el detalle del *análisis no experimental de impacto* socio-económico, ambiental, tecnológico y de género ex ante y ex post.

COMPONENTE 4: GESTIONAR CONOCIMIENTO, COMUNICACIÓN Y TRANSFERENCIA.

El objetivo fue incrementar el conocimiento de los productores para la disminución de la absorción de Cd en el cacao mediante el bioproceso. Para ello la metodología empleada fueron las herramientas TIC y se contrató una agencia de eventos virtuales para la producción de materiales. Las instituciones y países implicados son la UTM (Ecuador), EEZ-CSIC (España). Responsable del componente 4: EEZ-CSIC (España).

Actividad 4.1: Plan de gestión del conocimiento.

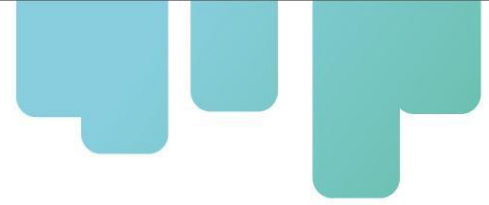
El objetivo fue incrementar el conocimiento en la reducción del cadmio extraído por la planta de cacao. La metodología fue la presentación de trabajos a congresos, presentación de publicaciones científicas en revistas indexadas (1 publicación) y participación en tesis (3 tesis de grado y postgrado). La institución y país involucrado fue la UTM (Ecuador)

Producto 9: 7 *Documentos de discusión desarrollados* desglosados en 1 publicación en revista científica, 4 presentaciones a congresos con la temática de reducción de cadmio rizosférico, 1 tesis doctoral y 1 tesis de grado.

4.2: Elaboración de una estrategia de comunicación y transferencia.

El objetivo de la actividad fue promocionar la comunicación entre los productores y los científicos para incrementar la tasa de adopción de la tecnología propuesta a mediano y largo plazo. La metodología usada implicó crear redes entre los actores de este proyecto y otros semejantes para favorecer la comunicación y permitir la continuidad y sostenibilidad a la terminación de la CT. Se aplicaron estrategias comunicacionales, motivaciones neurolingüísticas, encuestas y estrategias organizacionales. Se utilizaron herramientas como boletines, audiovisuales, notas de prensa, página web de FONTAGRO y las entradas de blog, webstory, FONTAGRO Tech, calendario de eventos, registros fotográficos e informes según el MCyGC 2020. La institución y país involucrado fue la EEZ-CSIC (España).

Producto 10: 6 *Bases de datos de*: emprendedores, agricultores, redes de agricultores, redes científicas, nucleación de entidades trabajadoras en la temática, redes científico-privadas-gubernamentales.



Resultados y Discusión (por componentes)

RESULTADOS COMPONENTE 1. PRODUCTO 1.

ACTIVIDAD 1.1 - Ciclo de capacitaciones

Producto 1: 4 Bases de datos (1 por año) de los individuos registrados en Nivel 1 y Nivel 2 para cada clase/taller/ilustración-material entregado, para llegar a 895 *Individuos Capacitados*, certificados, desglosados por sexo, nivel y país. Producto AgTech (gestión educacional rural).

Las capacitaciones, a lo largo de 4 años de proyecto, fueron dirigidas a individuos diferenciados en 2 niveles: Nivel 1 (N1) compuesto por cacaoteros de Ecuador y Venezuela y Nivel 2 (N2) compuesto por estudiantes universitarios, tesistas, profesionales, y emprendedores. Para representar los resultados de esta actividad se seleccionaron los resultados integradores de los 4 años de trabajo. Estos resultados finales, como las restantes Notas Técnicas y bases de datos entregadas, correspondientes a los resultados parciales de cada año, se encuentran publicadas en la página del FONTAGRO (<https://fontagro.minimalart.info/new/proyectos/bioproseso-cd/es>).

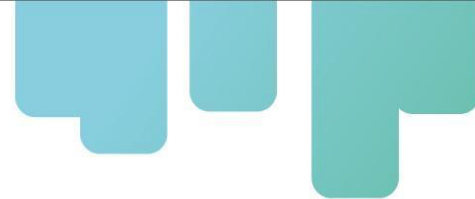
A continuación se presentan los resultados del análisis integrador de los 4 años (Cuadro 1).

Cuadro 1. *Tabla de Integración de participantes en los distintos niveles de las capacitaciones y beneficiarios durante toda la CT*

	AF	IEET	Integrantes grupo familiar (AF)	Mujeres IEET y % género	Mujeres AF y % género	TOTALES AF + IEET	AF N2 Grupo IE
Inicio (primer año)	113	25	439	13 (52%)	189 (39%)	138	0
Intermedio (segundo y tercer año)	173	69	753	38 (55%)	367 (49%)	242	41
Final (cuarto año)	528	78	2026	40 (51%)	975 (48%)	606	62
TOTALES	814	172	3218	91 (53%)	1531 (47%)	986	103

Referencias: AF: Agricultores familiares; IEET: Interesados, emprendedores, estudiantes, tesistas; AF N2 Grupo IE: Grupo de agricultores familiares capacitados en nivel 2, denominados Interesados Emprendedores (IE)

Al inicio, en el primer año, la cantidad de AF fue de 113 que componían hogares con 439 personas beneficiarias, de las cuales 189 eran mujeres (niñas y adultas). Todos los AF se ubicaron en N 1 y fueron de Ecuador. En el segundo y tercer año, los AF fueron 173, de los cuales 41 fueron ubicados en N2,



constituían hogares con 753 personas, de las cuales 367 fueron mujeres (niñas y adultas). Participaron AF de Venezuela y Ecuador. El grupo de AF que recibieron capacitación en N2 se lo llamó “interesados emprendedores” (IE).

En el último año la Corporación Fortaleza del Valle de Ecuador incentivó a sus socios a participar en la capacitación, aumentando los participantes a 528, de los cuales 62 pertenecieron a N2 (grupo IE). Los beneficiarios totales del último año, es decir, todo el grupo familiar de los AF, ascendieron a 2026 personas, de las cuales 975 fueron mujeres (niñas y adultas).

En cuanto a los emprendedores, interesados, estudiantes y tesistas (IEET), se observó que en el primer año fueron 25 argentinos, de los cuales 13 eran mujeres. En el segundo y tercer año, los participantes fueron 69 de los cuales 38 son mujeres. Los países participantes fueron: Bolivia, Perú, Costa Rica, Brasil, Ecuador, Argentina, España, Venezuela, Colombia y Líbano. La dispersión de los países participantes fue debido a la promoción desde los distintos cursos de grado y posgrado generados por las instituciones involucradas en nuestra red, entre ellas la Universidad de Naciones Unidas.

La cantidad de beneficiarios relacionados a los AF durante todo el proyecto fue de 3.218, mientras que el grupo IEET sumó 172 participantes. La cantidad total de mujeres beneficiadas fue de 1.531 vinculadas a AF, mientras que en el grupo de IEET fue de 91. El número total de individuos capacitados durante los 4 años fue de 814 AF y 172 interesados, emprendedores y tesistas (IEET) haciendo un total de 986, superando las expectativas de 895 proyectado inicialmente.

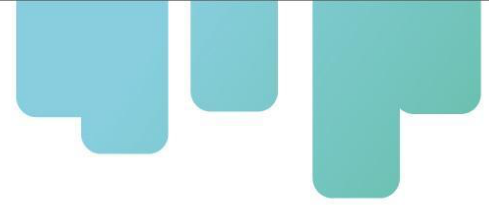
En cuanto al grupo IE estuvo compuesto por los 41 AF que recibieron capacitación en N2 en el período intermedio (segundo y tercer año) y los 62 AF en el período final (último año), totalizando 103 AF con potencialidad emprendedora para la puesta en marcha del bioproceso en territorio.

RESULTADOS COMPONENTE 1. PRODUCTO 2.

ACTIVIDAD 1.2 - Pruebas de campo (en invernadero).

Producto 2: 3 *Notas Técnicas* indicando los *Productos de Capacitación Desarrollados*, desglosados en clases, manuales, videos, talleres

Se realizaron cartillas explicativas, compendios de técnicas, manuales, charlas, videos, trabajos de campo, clases en power point, clases grabadas en youtube, publicaciones, galería fotográfica de los trabajos de campo, eventos de participación presencial/virtual, workshop entre otras técnicas docentes, las cuales están en la página de FONTAGRO. Se realizó una diferenciación entre el material utilizado en el Nivel 1 y el utilizado en el Nivel 2. En el Nivel 1 se incorporó a modo de historieta en formato cartillas adaptadas para los modismos lingüísticos de Ecuador y Venezuela, la problemática del cadmio en el cacao y la inducción en la solución biotecnológica utilizando terminología adaptada según la región. El material didáctico trabajado fue ampliamente aceptado y cumplió con las expectativas generadas al inicio del proyecto, prueba de ello es el aumento de participantes a medida que transcurría el proyecto. Se presentó el material a Jornadas de educación innovadora con una gran aceptación por parte de la comunidad educativa (registro de la publicación en resultados del componente 4).



La motivación resultó muy positiva y conllevó al interés de los cacaoteros. A medida que transcurrió el proceso de capacitación aumentaron los agricultores familiares comprometidos, aumentó el número de participantes en el Nivel 2 de emprendedurismo y aumentó la participación de mujeres. La paridad de género no pudo mantenerse en Nivel 1 de agricultores familiares, sí se pudo mejorar en Nivel 2.

La cantidad de capacitados se distribuyó de la siguiente manera: al inicio: agricultores familiares (AF) Nivel 1: 113 de los cuales 36 son mujeres, los alumnos provenientes de universidades, tesis, emprendedores que conformaron el Nivel 2 fue de 33 participantes de los cuales 17 eran mujeres; en el 2° y 3° año hubieron 133 agricultores familiares de Nivel 1 y 41 agricultores familiares en Nivel 2, se agregaron a Nivel 2, 77 estudiantes provenientes de universidades y emprendedores; en el último año se alcanzó a 361 agricultores familiares de Nivel 1 y 164 agricultores de Nivel 2, además se sumaron al Nivel 2 79 estudiantes y emprendedores provenientes de universidades. Total de capacitados 931 con paridad de género en Nivel 2 y marcada diferencia en Nivel 1 (79 % hombres, 21 % mujeres), 205 mujeres capacitadas.

En el primer año se alcanzó a 439 beneficiarios en Nivel 1 de los cuales 189 eran mujeres, mientras que en Nivel 2 se alcanzó a 33 personas de las cuales 17 eran mujeres; en el 2° y 3° año los beneficiarios en Nivel 1 fueron 753 de los cuales 369 eran mujeres mientras que en Nivel 2 los beneficiarios fueron 118 de los cuales 60 eran mujeres; en el último año los beneficiarios de Nivel 1 y Nivel 2 fueron 2026 personas de las cuales 975 eran mujeres y los estudiantes provenientes de universidades fueron 79 de los cuales 39 fueron mujeres. Totales beneficiarios: 3452 personas de las cuales 1646 fueron mujeres, haciendo un porcentaje de 48 % de mujeres beneficiadas.

Se generaron nuevas líneas de innovación educativa para poder desarrollarse como por ejemplo la posibilidad de realizar un aprendizaje mediante video juegos y dibujos animados cortos tipo videos. Si bien esta metodología no fue aplicada en el proyecto se dejó abierto el canal para futuras intervenciones de este tipo continuando la motivación hacia el emprendedurismo.

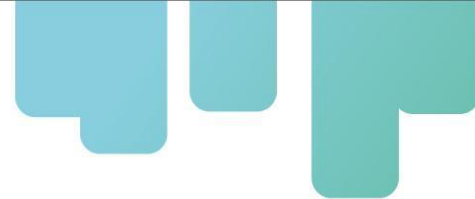
RESULTADOS COMPONENTE 2. PRODUCTO 3.

Actividad 2.1: Selección de suelos y aislamiento de HA y HS.

Producto 3: *1 Monografía* del aislamiento, propagación y evaluación de especies fúngicas para la formulación del bioproceso.

Los objetivos de esta fase del proyecto, en el marco del producto 3, fueron la identificación de un suelo que, bajo manejo orgánico, contenga una microbiota capaz de promover el desarrollo de plantas de cacao nacional fino y de aroma (CN) sin necesidad de fertilización sintética, principalmente fósforo (P) y aislar y caracter taxonómicamente hongos micorrícicos arbusculares (HA) y hongos saprobios (HS) nativos de suelos con y sin Cd en plantaciones de CN (Provincia de Manabí, Ecuador). Estos hongos serán luego empleados en el bioproceso para reducir el Cd soluble en la rizosfera de plantas de cacao mediante biorreactores.

Para cumplir el primer objetivo, plántulas de CN, fueron crecidas en suelos colectados de plantaciones orgánicas de plátano (S1) y de limón (S2) de Ecuador. Estas plántulas fueron tratadas con: (a) P, esencial para el desarrollo de las plántulas al estar involucrado en los procesos metabólicos de mitocondrias y



cloroplastos (Lambers, 2022); (b) melaza, enriquecedora del C orgánico del suelo (Pyakurel et al., 2019); y (c) citoquininas, promotoras de la división y expansión celular en primordios radicales, foliares y caulinares (Li et al., 2021). La mayor biomasa aérea y radicular en plántulas crecidas en los suelos correspondientes a las plantaciones de limón, en comparación con los de plátano. Las mediciones de altura (Figura 1) permitieron la categorización de las plántulas S1 en tres grupos: (i) grupo 1 con las mayores alturas, constituido por las plántulas S1+melaza y S1+P; (ii) grupo 2 con alturas medias, constituido por las plántulas S1+citoquininas; y (iii) grupo 3, constituido por las plántulas S1 control. Por el contrario, en S2 (Figura 1), las plántulas fueron catalogadas en 2 grupos: (i) grupo 1 constituido por las plántulas S2 control, S2+P, y S2+citoquinina, con las mayores alturas; y (ii) grupo 2 representado por las plántulas S2+melaza, con las alturas más bajas.

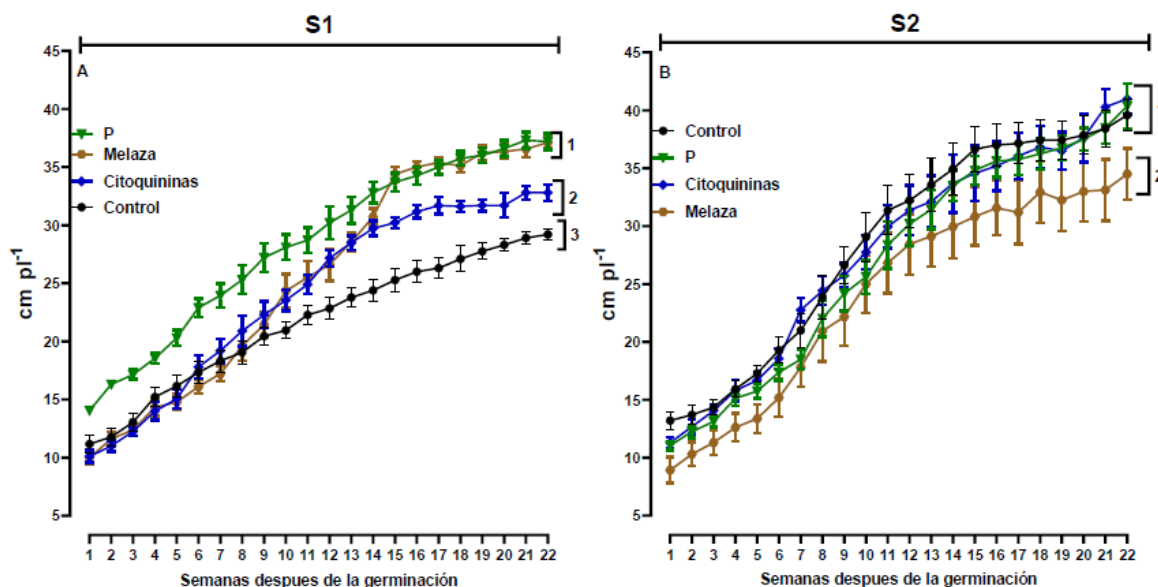


Figura 1- Altura de las plántulas de cacao nacional crecidas en suelos colectados en plantaciones orgánicas de (A) plátano (S1), y (B) limón (S2), sometidas a los tratamientos con P, melaza, y citoquininas.

Los contenidos de clorofila en las plántulas S1 fueron, de mayor a menor, en el orden de: S1+P y S1+melaza $\geq$ S1+citoquininas > control (Figura 2). Por el contrario, los contenidos de clorofila en plántulas S2 nos mostraron diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 1), siendo los valores absolutos 1,75 veces más altos que en las plántulas S1.

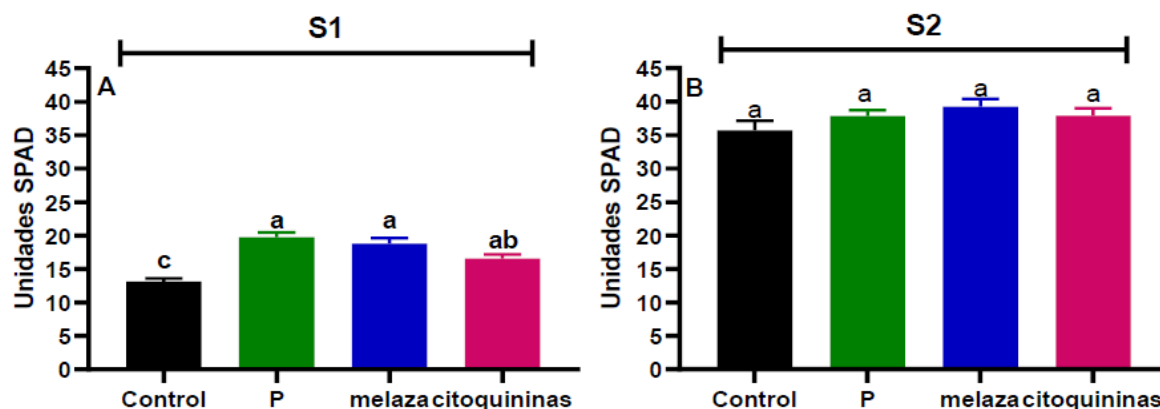


Figura 2. Contenido de clorofila en unidades SPAD en plántulas de cacao nacional crecidas en suelos colectados en plantaciones orgánicas de plátano (S1) (A) y limón (S2) (B), y sometidas a los tratamientos con P, melaza, y citoquininas.

En paralelo y a partir de suelo sin Cd (S3) y en presencia de Cd (S4) se realizó el aislamiento de hongos arbusculares (HA) y se determinó la presencia de 1.5 veces más esporas de HA en S3 comparado con los valores en S4. Los análisis de morfotipos de las esporas permitieron identificar morfológicamente seis especies distintas de HA en el suelo S3 y cuatro en el S4 (Cuadro 2 y Figura 3). Se destaca la presencia de *Acaulospora cf. Papillosa*, *Funneliformis geosporus* y *A. excavata* únicamente en S3, mientras que Morfotipo 1, *A. scrobiculata* y *Glomus brohultii* fueron detectadas tanto en S3 como en S4. Hay que destacar la aparición de *A. mellea* solo en suelos en presencia de Cd.

Cuadro 2. Lista de morfotipos de hongos arbusculares de las muestras analizadas en los suelos sin Cd (S3) y con Cd (S4).

S3 (sin Cd)	S4 (+Cd)
Morfotipo 1	
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	
<i>Glomus brohultii</i>	
<i>Acaulospora cf. Papillosa</i>	<i>Acaulospora mellea</i>
<i>Funneliformis geosporus</i>	
<i>Acaulospora excavata</i>	

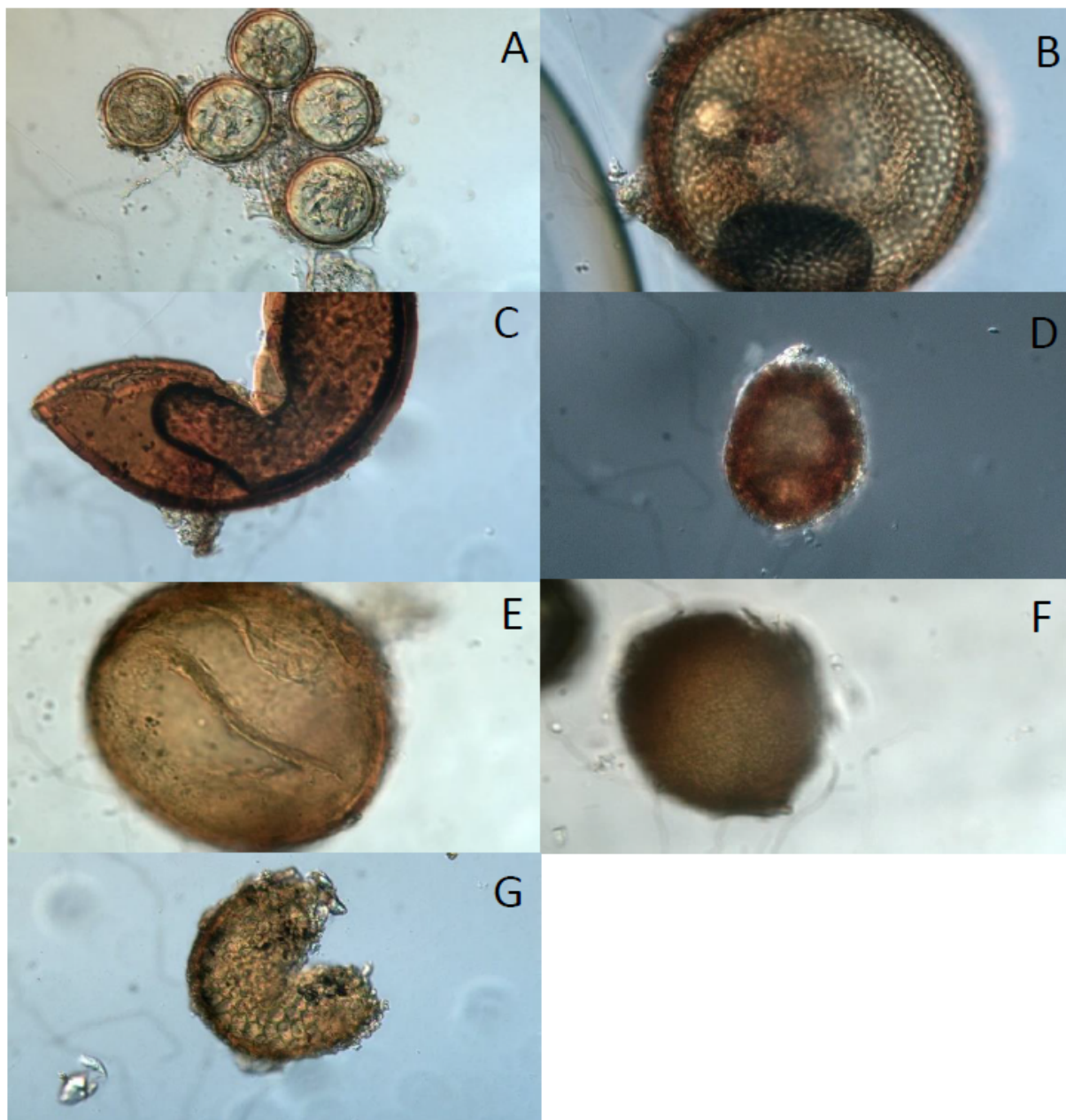
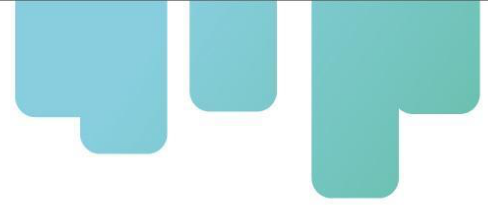


Figura 3- Diversidad de hongos arbusculares de los suelos S3 (sin Cd) y S4 (con Cd). A: Morfotipo 1a. *Glomus* sp. nov.; B: *Acaulospora scrobiculata*; C: *Funneliformis geosporus*; D: *Glomus brohultii*; E: *Acaulospora mellea*; F: *Acaulospora* cf. *Papillosa*; G: *Acaulospora excavata*. Observaciones taxonómicas por Dra. Gisela Cuenca.

Asimismo, se propagaron los HA de ambos suelos mediante la confección de cultivos trampa, los cuales son mantenidos en condiciones controladas de invernadero para eventualmente aislar y cultivar in vitro algunas de las cepas en asociación a raíces transformadas. Las esporas de HA recolectadas directamente de las muestras de ambos suelos y raíces de plantas de cacao se desinfectaron superficialmente y se



incubaron a 25°C en oscuridad para su germinación (Figura 4). Se logró la puesta a punto del método, lo que permitió aislar HA a partir de los propágulos obtenidos de los cultivos trampa.

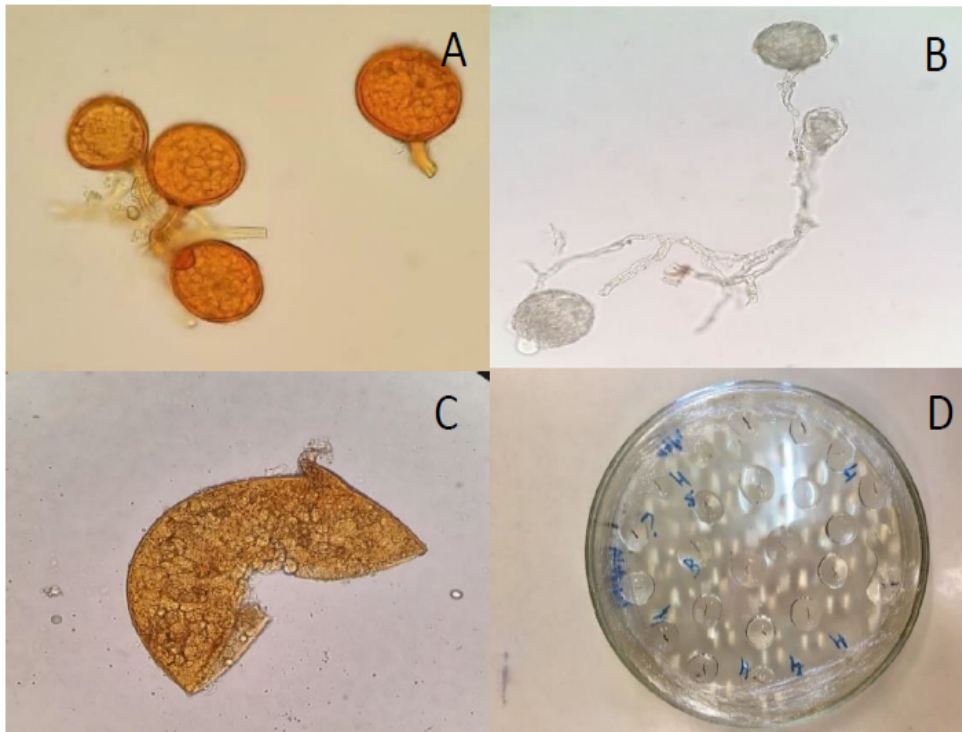


Figura 4. Propágulos de los HA aislados de los suelos S3 (sin Cd) y S4 (con Cd), desinfectados superficialmente e incubados para su germinación y cultivo in vitro. A-C: Esporas de HA desinfectadas y puestas a germinar; D: Sistema de incubación para la germinación de esporas y fragmentos de raíces de cacao colonizados por HA.

La abundancia de micorrizas arbusculares se correspondió con los resultados obtenidos en el análisis de glomalina de estos suelos (Figura 5), en donde en suelos sin Cd se registraron altos valores de glomalina más altos ($1,48 \pm 0,23$ mg/g suelo) en comparación con aquellos con Cd ($0,71 \pm 0,10$ mg glomalina/g suelo).

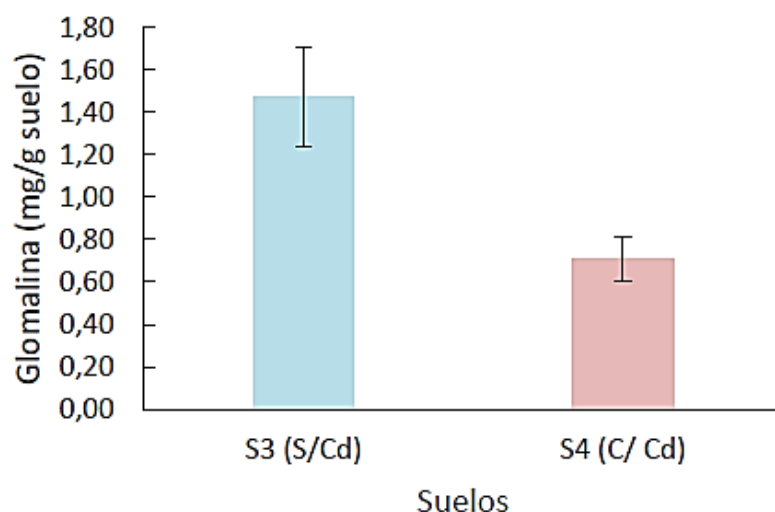
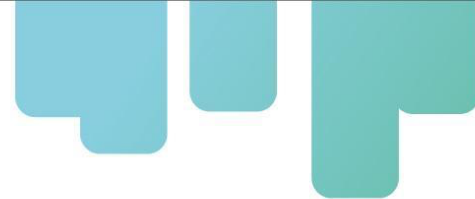


Figura 5-. Contenido de glomalina fácilmente extractable presente en los suelos S3 (sin Cd) y S4 (con Cd).

Además, a partir de suelos sin Cd (S3) y en presencia de Cd (S4) se realizó el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) de hongos saprobios (HS). Después de cinco días de incubación, en dos medios distintos (MEA y PDA) se observó un mayor número de UFC/g de suelo en los sitios sin Cd (Cuadro 3), destacando el medio PDA como el más favorable para el crecimiento de las colonias de HS.

Cuadro 3. Recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) de hongos por gramo de los suelos sin Cd (S3) y con Cd (S4).

Suelos	MEA (UFC/g de suelo)				
	-1	-2	-3	-4	-5
S3	Incontable	16	1	0	0
	Incontable	18	5	0	0
S4	Incontable	12	3	0	0
	Incontable	10	1	0	0
Suelos	PDA (UFC/g de suelo)				
	-1	-2	-3	-4	-5
S3	Incontable	40	4	2	0
	Incontable	33	4	1	0
S4	Incontable	45	4	0	0
	Incontable	31	7	0	0



A continuación, se muestran imágenes de las distintas colonias aisladas según el método de dilución seriada de los suelos sin y con Cd (S3 y S4, respectivamente) en los dos medios de crecimiento MEA y PDA (Figura 6). Cada una de las colonias se separó individualmente para obtener cultivos puros y se consiguieron aislar 46 cepas diferentes de ambos suelos (Figura 7).

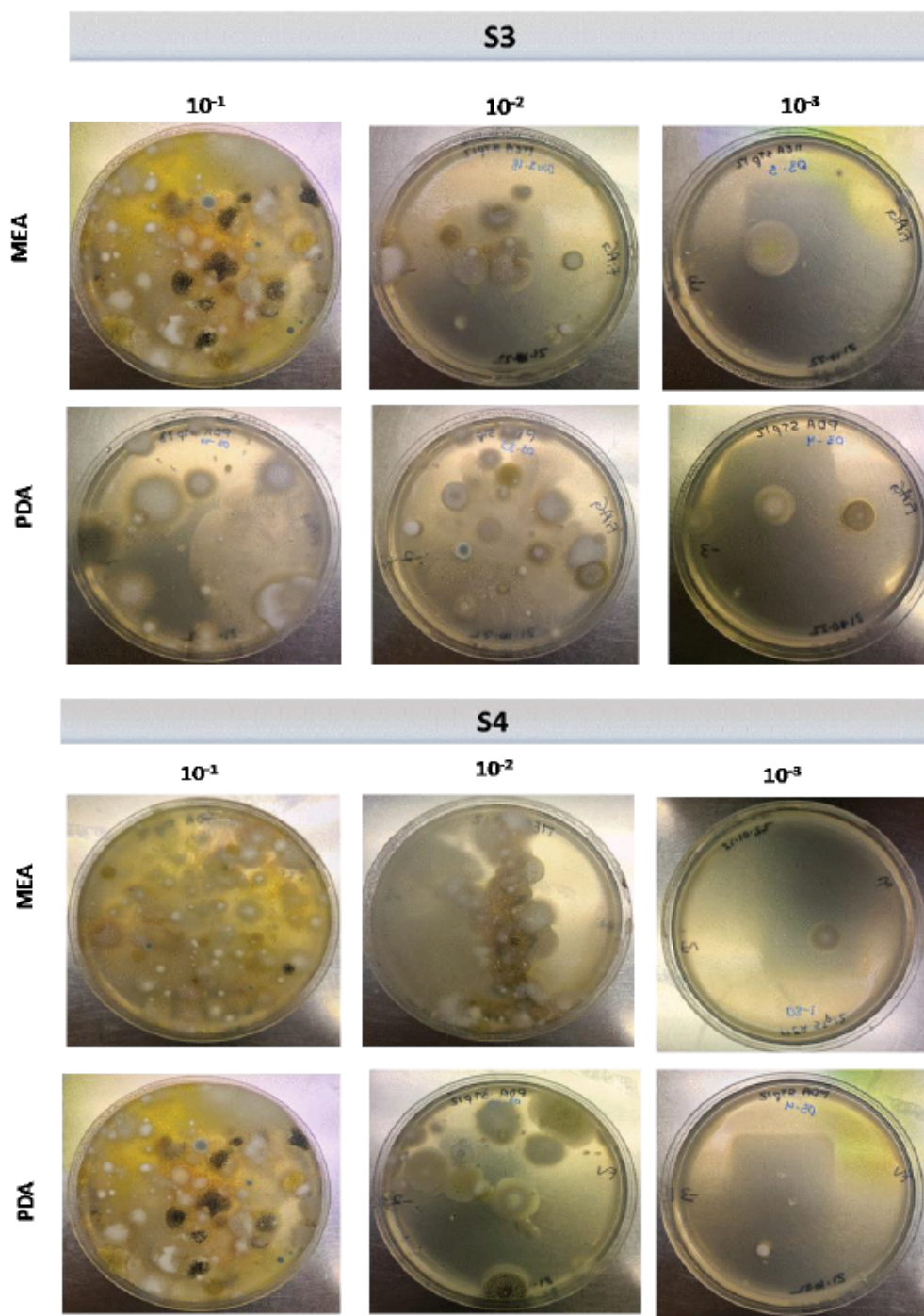


Figura 6-. Fotografías de distintos hongos saprobios aislados de los suelos S3 (sin Cd) y S4 (con Cd).

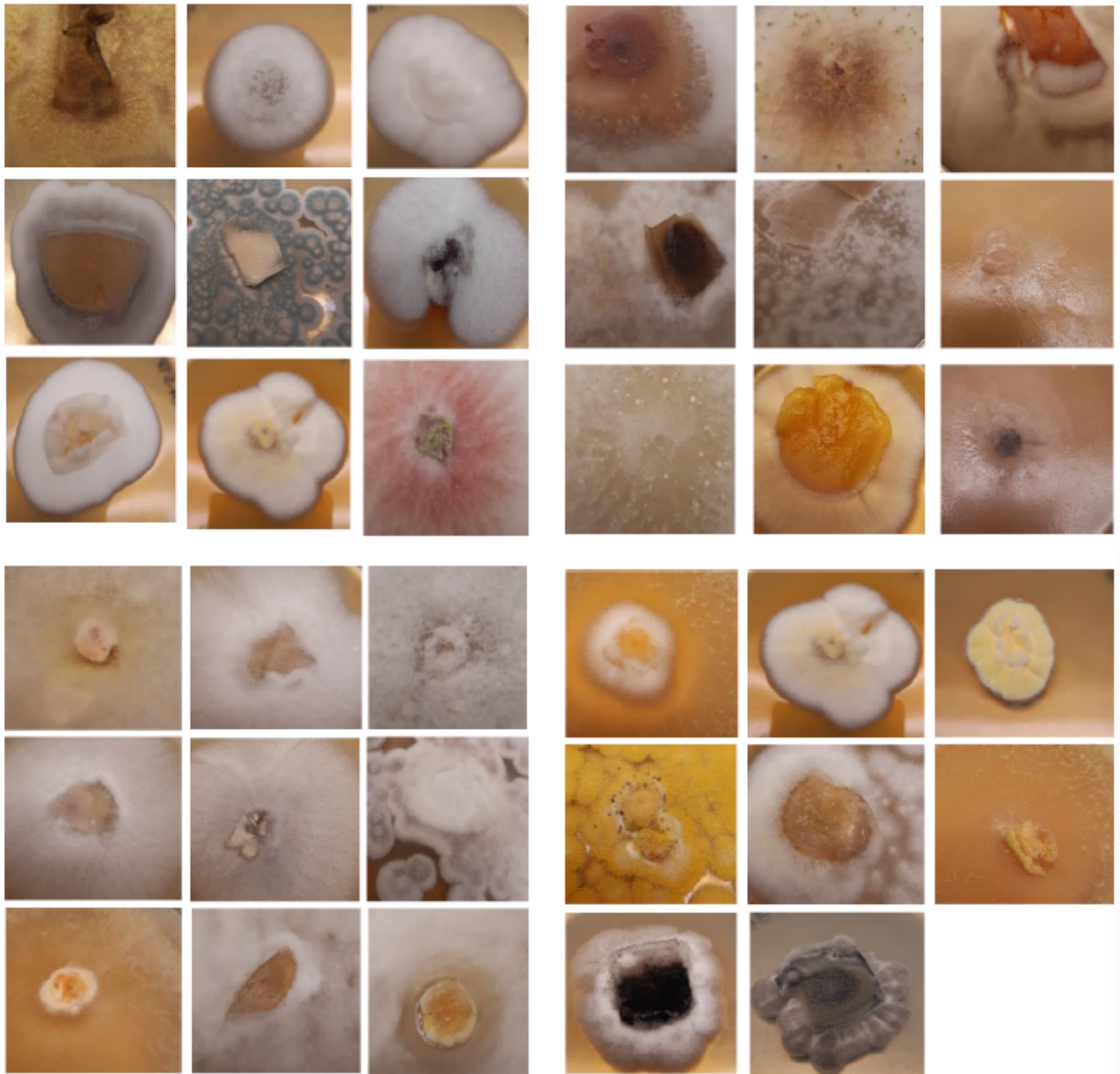
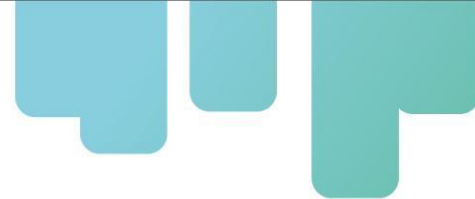


Figura 7. Imagen de la diversidad fúngica de hongos saprobios de los suelos S3 (sin Cd) y S4 (con Cd).



De estas 46 colonias, 20 se aislaron del suelo sin Cd y las restantes del suelo con Cd. Estas colonias se crecieron en presencia de distintas concentraciones de Cd (0, 10, 50 y 100 ppm) para determinar su capacidad de tolerar este metal pesado y se obtuvieron distintos comportamientos tal y como se observa en la Figura 8. Se observó que un 25% de las 46 colonias fúngicas no crecieron, en un 29% no se observaron cambios ni en la morfología ni en el color de la colonia y del medio; sin embargo, se observaron modificaciones del color del micelio ante la exposición a distintas concentraciones de Cd en un 13% de las colonias aisladas y en un 24% de las cepas fúngicas se observaron cambios en el color del medio. Hay que destacar que solo un 9% de las cepas aisladas cambiaron tanto el color del medio como del micelio fúngico ante las distintas concentraciones de Cd.

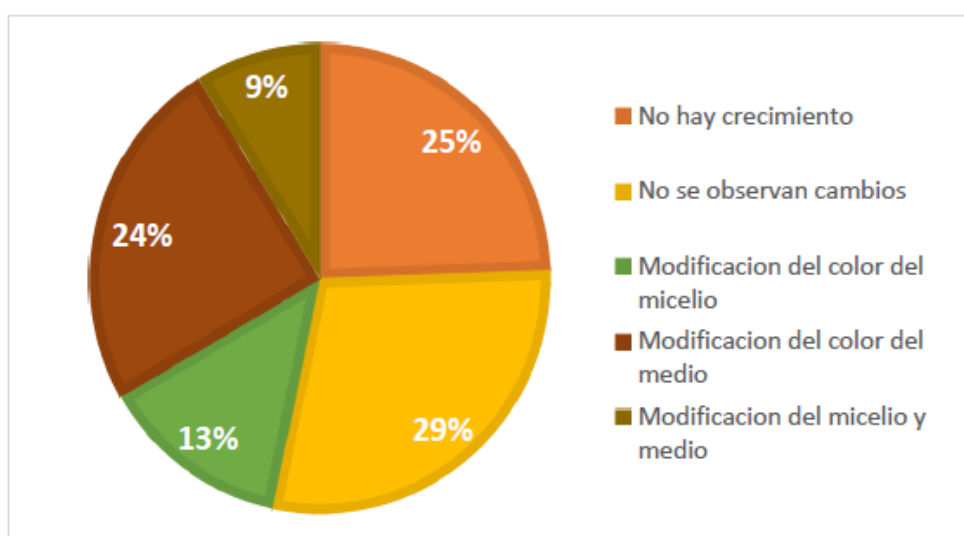


Figura 8. Comportamiento de los hongos saprobios aislados de los suelos S3 (sin Cd) y S4 (con Cd) frente a distintas concentraciones de Cd (0, 10, 50 y 100 ppm).

En este experimento también se determinó el crecimiento de los distintos aislados mediante la medición del diámetro de la colonia y los resultados obtenidos se detallan en la Figura 9.

nº de aislado	No se observan cambios				nº de aislado	Modifica color medio			
	Concentración ppm de Cd					Concentración ppm de Cd			
	0	10	50	100		0	10	50	100
3	5,44	4,51	4,29	2,86	1	4,71	4,49	4,61	3,29
4	5,32	4,32	4,30	4,36	5	4,19	4,06	3,65	3,11
6	4,60	4,27	3,14	1,87	7	5,44	5,44	5,44	4,23
10	5,44	5,44	3,88	0,00	8	4,82	4,33	3,27	2,38
12	5,44	5,44	4,02	3,49	14	5,44	5,44	5,44	3,74
24	5,44	5,44	0,00	0,00	16	5,44	5,44	3,66	1,82
25	5,44	3,00	1,61	2,22	29	5,44	4,35	3,80	2,15
30	5,44	5,44	4,22	0,00	41	4,05	1,81	0,00	0,00
32	5,44	5,44	4,72	2,90	42	4,36	3,14	0,00	0,00
34	4,44	2,64	1,70	0,00	43	4,15	2,00	0,00	0,00
35	5,44	5,44	4,80	4,38	44	3,95	5,44	2,05	1,90
45	3,70	3,10	2,60	2,00	nº de aislado	Modifica color micelio			
46	2,50	1,95	1,75	1,30		Concentración ppm de Cd			
nº de aislado	Modifica color micelio y medio				2	0	10	50	100
	Concentración ppm de Cd					0	10	50	100
	0	10	50	100	15	5,44	4,64	4,07	2,98
22	5,44	5,44	5,44	4,45	21	5,44	4,75	3,70	2,55
26	5,44	3,85	3,85	2,20	23	5,44	5,44	2,25	0,00
33	5,44	4,56	2,84	1,57	31	5,44	4,10	4,00	2,15
39	5,44	5,44	2,99	2,23	40	5,44	4,23	0,00	0,00

Figura 9. Crecimiento de los hongos saprobios (cm) aislados de los suelos S3 (sin Cd) y S4 (con Cd) frente a distintas concentraciones de Cd (0, 10, 50 y 100 ppm).

En base a este crecimiento se seleccionaron 10 cepas fúngicas, 4 (nº 4, 12, 32 y 35) entre las cepas que no mostraron cambios con las distintas concentraciones de Cd, 2 (nº 7 y 14) entre las que modificaron el color del medio, 3 (nº 2, 15, 21) del grupo que transformó el color del micelio y una cepa fúngica (nº 22) entre las que cambió tanto el color del micelio como el del medio. Estas 10 cepas se utilizaron como inóculo de los biorreactores que junto con los hongos arbusculares disminuyeron la concentración de Cd en las plantas de cacao.

Además de estos hongos nativos nos planteamos seleccionar algún hongo de la colección de la EEZ aislado de suelos contaminados con metales pesados como control. Se escogieron 8 cepas de hongos de la colección y se crecieron en concentraciones de 10 a 5000 ppm de CdCl₂ en medio MEA tal y como se muestran en el Cuadro 4. De las cepas ensayadas destacó *Phanerochaete chrysosporium* por su tolerancia a concentraciones de Cd de hasta 5000 ppm.

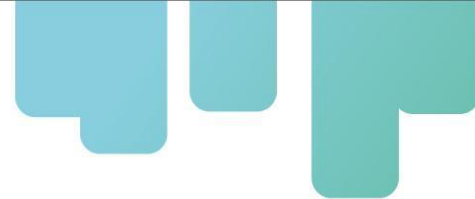
Cuadro 4. Tasa de crecimiento (cm) de los hongos saprobios de la colección de la Estación Experimental del Zaidín (EEZ) en presencia de distintas concentraciones de Cd.

Cepa	Concentración CdCl ₂ [ppm]							
	10	50	100	250	500	1000	2500	5000
<i>Trametes versicolor</i>	+++	+++	++	+	----	----	----	----
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+
<i>Fusarium oxysporum</i>	++	++	++	----	----	----	----	----
<i>Pleurotus ostreatus</i>	+++	++	+++	----	----	----	----	----
<i>Coprinellus radians</i>	+++	++	----	----	----	----	----	----
<i>Coriolopsis rigida</i>	----	----	----	----	----	----	----	----
<i>Aspergillus niger</i>	----	----	----	----	----	----	----	----
<i>Bjerkandera adusta</i>	+++	+++	++	++	----	----	----	----

El mayor crecimiento, biomasa aérea y contenido de clorofila foliar de plántulas de CN en S2 se consideran indicadores de la presencia en este suelo de una microbiota capaz de promover el desarrollo de plántulas de CN a niveles iguales o superiores a los inducidos por la aplicación de fertilizantes sintéticos. Estas observaciones pueden ser adscritas a una mayor masa microbiana, altamente diversa taxonómicamente en S2, probablemente compuesta por: (a) HA efectivos en la solubilización del P del suelo, y HS capaces de contrarrestar los estreses abióticos estacionales que afectan los cultivos agrícolas en la Provincia de Manabí, y (b) *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Acidobacteria* y *Bacteroidetes* que usualmente colonizan la rizósfera de árboles cítricos (Ngullie et al., 2015) y utilizan para su crecimiento las fitohormonas, ácido salicílico, índol acético y jasmónico exudados al suelo por cítricos como el limón (Vives-Peris et al., 2017). La revisión de la bibliografía no reveló ninguna información sobre la presencia de HA y HS en estos suelos de la costa de Ecuador.

Muy relevante es el descubrimiento de esporas de *Acaulospora mellea* exclusivamente en S4 con Cd. Esta HA tiene la capacidad de disminuir la fitoextracción de metales pesados como el cobre en suelos contaminados con ese elemento (Wang et al., 2007), por lo cual se considera como una excelente candidata para ser incluida en el consorcio de HA que serán probados en plantas de CN crecidas en altas concentraciones de Cd. También importante es la presencia en S3 y S4 de las especies generalistas: (i) *Acaulospora scrobiculata*, capaz de atenuar la toxicidad causada en plantas por altos contenidos de cromo (Akhtar et al., 2019) y manganeso (García et al., 2020) en los suelos, y (b) *Glomus brohultii* que actúa como biorremediador en suelos contaminados con arsénico (Wu et al., 2009). El morfotipo 1 puede ser una especie nueva debido a que no pudo ser identificado que presentó el mayor número de esporas aisladas de S3 y S4, lo cual facilitaría su uso como inóculo de HA en suelos con Cd y sin Cd. La abundancia y/o diversidad de especies de HA fue superior en S3, lo que se corrobora con una mayor producción de glomalina que en S4. Se ha reportado en varios trabajos que la abundancia de la glomalina se relaciona con un buen estado de salud de los suelos (Liu et al., 2022).

Los resultados obtenidos durante esta investigación demostraron que se aislaron 46 cepas fúngicas en los suelos nativos S3 sin Cd y S4 con Cd. De estas, 10 cepas de HS seleccionadas tras un proceso de evaluación por sus habilidades de crecimiento en presencia de Cd, se consideran unos excelentes



candidatos para ser probados en plantas de CN con altas concentraciones de este metal. De hecho, se ha descrito que la inoculación fúngica es fundamental en la protección de las plantas frente a la toxicidad de metales pesados (Gramss & Hans, 2014; Fazli et al., 2015) y, en concreto, para la protección de plantas de cacao frente a Cd (Guerra Sierra et al., 2022). Por otra parte, la capacidad de crecimiento del hongo de la colección de la EEZ aislado de suelo, *Phanerochaete chrysosporium*, en medios de cultivo enriquecidos con hasta 5000 ppm de Cd, lo convierte en un hongo interesante para ser incluido en el consorcio de HS que serán evaluados en biorreactores y en plantaciones de CN en Ecuador. Se ha descrito que la inoculación con esta especie permite la neutralización de ciertos metales pesados y entre ellos el Cd a través de la quelación y su gran capacidad de biosorción (Chen et al., 2019; Huang et al., 2019).

CONCLUSIONES

La alta actividad biológica de la microbiota nativa de S2, equivalente a la aplicación de P, eliminará la necesidad de aplicar fertilizantes fosforados, considerados como una fuente externa de Cd a las plantaciones de CN.

Los hongos arbusculares *Acaulospora mellea*, *Acaulospora scrobiculata*, *Glomus brohultii* y el morfotipo 1 son buenos candidatos para la inmovilización de Cd en la rizosfera de plantas de cacao nacional.

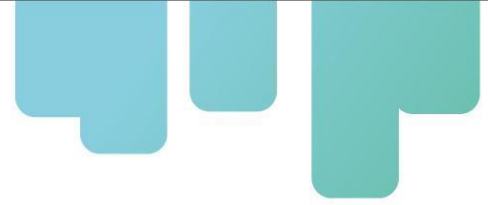
La presencia de 10 cepas nativas de hongos saprobios aisladas de S3 sin Cd y S4 en presencia de Cd y la alta tolerancia al Cd del hongo de la colección de la Estación Experimental del Zaidín, *P. chrysosporium*, incrementa la posibilidad de conseguir hongos saprobios altamente eficientes en la inmovilización de Cd en la rizósfera de cacao nacional.

RESULTADOS COMPONENTE 2. PRODUCTO 4.

Actividad 2.2: Armado de biorreactores TRL 3-4.

Producto 4: 2 *Notas Técnicas* conteniendo la descripción de la construcción y los resultados de su funcionamiento de los 8 *Modelos Técnicos Construidos* a TRL 3-4 llamados biorreactores. Producto AgTech (soluciones biotecnológicas).

En la Nota Técnica 1 que se encuentra en la página web de Fontagro, se describió el paso a paso de la construcción de biorreactores a TRL 3-4 los cuales se utilizaron para realizar ensayos de bioacumulación y exclusión de metales pesados y se definieron las variables que fueron importantes para la replicabilidad a escalas mayores. Se construyeron 8 biorreactores, 6 fueron utilizados para ensayos de biogeoquímica testeando especies vegetales, simbiosis micorrícica, hongos saprobios, con suelo control y suelo con suplementación de metales pesados (incluyendo Cadmio) y 2 fueron utilizados para calibrar las variables físico-químicas establecidas, principalmente caudal de ingreso egreso, permeabilidad, modelo de Darcy y pH – Eh. En cuanto a las variables biológicas se determinó especie vegetal, simbiosis micorrícica y cofactores metálicos enzimáticos. Se concluye que el protocolo de calibración de las variables seleccionadas en los experimentos realizados en biorreactores permite la replicabilidad y el escalamiento a TRL 6. Se encontró una simbiosis micorrícica con *Baccharis salicifolia* muy conveniente para ser aplicada en territorio con un muy alto factor de bioacumulación y simbiosis en girasol con mix de hongos saprobios y micorrícicos excluyentes de flor y fitoestabilizadores. Todas estas se consideran



soluciones tecnológicas posibles de ser aplicadas en territorio. Se publicaron dos trabajos en revistas de alto impacto con esta temática en el marco de una tesis de doctorado, y se está en vías de preparación de otro trabajo.

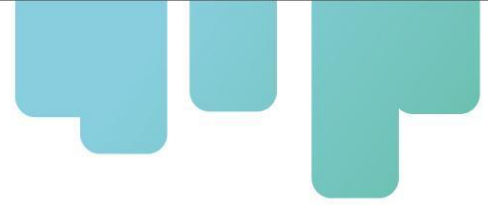
Los biorreactores TRL 3-4 (BR) tienen una dimensión de 60 cm de largo, 30 cm de ancho y entre 80 cm de profundidad. Además, en el largo, presentan un tabique con el cual se separa el cubículo generando dos espacios de diferentes dimensiones: el primero, más grande donde se coloca el lecho filtrante y el suelo de interés y el segundo más pequeño denominado cámara colectora para medición de volumen/caudal del lixiviado generado por el riego del sustrato.

Para la materialización de los BR, se utilizó el material llamado policarbonato alveolar y policarbonato compacto. La elección de este material se debió a su relativa transparencia, bajo peso y excelente resistencia mecánica y química (para los rangos probables de trabajo que rondan entre 5 y 9 unidades de pH), además de resistencia a las condiciones ambientales como bajas y altas temperaturas y rayos UV.

Los primeros 4 BR construidos se hicieron de doble celda a fin de optimizar el uso de materiales, ya que compartían la placa divisoria, Figura 10.



Figura 10. Biorreactor de doble celda.



Luego se construyeron 4 BR de cámara simple, tal como se observa en la Figura 11. El cambio de un modelo a otro se derivó principalmente en que el primer diseño es difícil de manipular y transportar y, además si el sellado no está bien realizado, hay filtrado de una celda a otra.

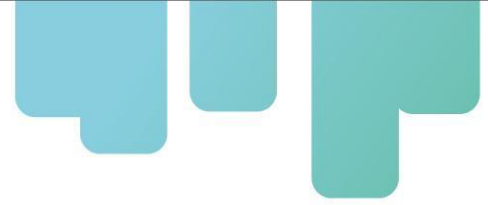


Figura 11. Biorreactor de celda simple

Un detalle exhaustivo de los materiales y el paso a paso de la construcción se encuentra en las notas técnicas de este producto en la página de Fontagro.

Es necesario evaluar el clima del lugar donde será emplazado y las temperaturas a la cuál estarán expuestas las plantas durante el experimento para determinar la necesidad de una estructura que permita regular la temperatura, evitar inclemencias climáticas, vientos fuertes, granizo, nevadas etc.

Antes de ser rellenado, los BR fueron instalados dentro de una estructura invernadero protegida con tela antigranizo. En esta estructura, se puede colocar, en caso de ser necesario, una cubierta de PVC (policloruro de vinilo) transparente, que deja pasar el 100 % de luz solar en el invierno o una cubierta PE (polietileno) la cual es transparente con mallado plástico color verde que disminuye la cantidad de luz solar evitando el exceso de rayos UV en el verano. De esta manera, durante el experimento las plantas se encuentran protegidas del granizo, calor excesivo, nevadas y heladas evitando la exposición directa de las mismas durante el periodo de estudio



Como los BR deben tener una pendiente del 6%, quedando la cámara colectora en el punto más bajo, se colocó una base de madera a la cual se la suplementó para lograr la pendiente requerida (Fig. 12).



Figura 12. Biorreactor de doble celda, estructura metálica con protección de malla antigranizo y base del biorreactor con pendiente al 6 %.

Relleno de los BR: Lecho filtrante

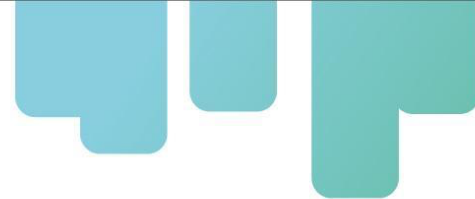
El lecho filtrante está compuesto por 3 capas:

- Inferior: 10 cm de grava gruesa de 10 cm de diámetro
- Media: 15 cm de grava mediana de 5 cm de diámetro
- Superior: 20 cm de grava fina de 1 cm de diámetro.

Cabe destacar, que cada uno de los materiales para la construcción del lecho, deben ser lavados a fin de retirar arenas, arcillas y suciedad.

Relleno de los BR: Sustrato

Se denomina sustrato a la mezcla de suelo contaminado que se desea tratar más ceniza volcánica en una proporción en volumen de 50/50.



Tanto el suelo contaminado como la ceniza deben estar secos para la preparación de la mezcla. Además, se debe asegurar un correcto mezclado para que el resultante sea lo más homogéneo posible. En este sustrato se colocan los catalizadores enzimáticos, los microorganismos y las especies vegetales a estudiar.

Selección de variables para la calibración de BR y su posterior escalamiento a TRL 6.

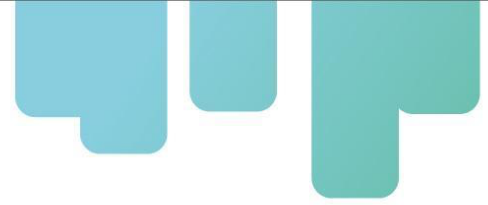
Las variables elegidas para tener en cuenta en el momento del escalamiento se clasifican en a) biológicas, b) físicas y c) químicas. Las variables biológicas comprenden: la cantidad de microorganismos, específicamente, la cantidad de esporas por m³ de suelo, la cantidad de unidades formadoras de colonias por m³, la cantidad de plantas por m³, el porcentaje de colonización radicular, la longitud del micelio y la observación semicuantitativa microscópica de vesículas y arbusculos radiculares. Las variables químicas comprenden: la cantidad de elementos químicos relacionados con la bioacumulación de metales pesados, específicamente Zn, S, P, glomalina, como además Cu, Cd y el pH. Las variables físicas comprenden: el modo de riego, es decir, si es por flujo vertical (produce mayor oxigenación) o si es por flujo horizontal, el caudal de ingreso y el caudal de egreso (efluente a cámara colectora), el tiempo de retención hidráulica, la constante de permeabilidad o constante hidráulica (Ks), la modelización elegida, sea para flujo laminar o flujo turbulento, la velocidad de salida, la capacidad de retención de agua, el tiempo de salida antes de vasos comunicantes y el potencial redox Eh. (Ibañez de Aldecoa Quintana, 2014; Scotti et al. 2019, 2020a, 2020b, 2020d, 2021)

Las distintas variables se analizan antes de la siembra del MAP (fitoextracción asistida por micorrizas) y a la finalización del proceso extractivo, para de esta forma obtener el protocolo de aplicación y realizar un estudio costo-beneficio del sistema (Scotti et al- 2020c)

Un resumen de las variables que se miden y controlan en TRL4, para luego ser replicadas en TRL6 son:

- Parámetros mecánicos: altura de cada estrato y dimensión de las piedras de cada estrato.
- Parámetros hidráulicos: constante hidráulica (Kh), flujo (tipo), caudales de ingreso y egreso, pendiente, tiempo de retención hidráulica (th).
- Parámetros físico-químicos a regular: pH, Eh a distintas profundidades del suelo.
- Parámetros químico-biológicos: determinación de fitoquelatina*, metalotioneínas* glomalina exudados micorrícicos orgánicos como ácido cítrico*, cofactores enzimáticos (Luthfiana et al. 2021; Ferrol et al. 2016) (*en proceso de puesta a punto)
- Parámetros químicos puros: partición de metales en matriz suelo/barro (sustrato), biomasa y líquido percolado a cámara colectora.
- Parámetros biológicos puros: especie vegetal y cepa micorrícica, porcentaje de colonización radicular, densidad de plántulas, cantidad de esporas y longitud de micelio.

En estos ensayos la modelización del comportamiento del fluido la consideramos siguiendo la Ley de Darcy, si bien la ley contempla flujo laminar y continuo, entre otros requisitos, en el momento de la calibración de BR se realizan procedimientos que permiten considerar que la aplicación de Darcy es correcta.



A los fines de este informe, solo se explicará la obtención experimental de la constante de permeabilidad y tiempo de retención hidráulico, parámetros necesarios para el escalamiento de TRL4 a TRL6 (Scotti et al. 2019 a, 2019b, 2020a, 2020d).

Cálculo de conductividad hidráulica o constante de permeabilidad (Ks)

Para realizar el cálculo de la conductividad hidráulica (Lara-Borrero 1999) se debe realizar lo siguiente:

- Definir el tipo de flujo con el que se va a trabajar: flujo vertical (FV) o flujo horizontal (FH)
- Definir un caudal de riego. Este caudal se denomina Q_i .
- Se comienza a regar el suelo + lecho totalmente seco a t_0 . Se comienza a medir el tiempo.
- Tomar el tiempo preciso en el que aparece líquido en cámara colectora. A este tiempo lo denominamos tiempo de retención hidráulica (t_h) el cual está relacionado con la capacidad de retención de agua del relleno.
- Dejamos transcurrir un tiempo en minutos que llamamos t_c y medimos el volumen colectado en cámara colectora. El t_c debe ser menor al tiempo en donde se produce el fenómeno de vaso comunicante entre la cámara colectora y el lecho filtrante por efecto de la pendiente. Calculamos el caudal de salida Q_s . Q_s será menor que Q_i

Aplicación de la Ley de Darcy

La ley de Darcy (Mena et al. 2008) asume condiciones de flujo laminar, que el sistema es constante y uniforme, aplicable en humedales de flujo subsuperficial (HFSS) pero se puede utilizar como una aproximación razonable (Lara-Borrero 1999).

$$V = k_s * s \quad (1)$$

v = velocidad de Darcy, distancia/tiempo

La velocidad también es el caudal (Q volumen/tiempo) respecto ancho de la celda ($W=m$) y la profundidad del agua en el humedal ($y=m$)

$$V = Q/Wy \quad (2)$$

combinando 1 y 2, tenemos

$$Q = k_s * A_c * s \quad (3)$$

Q = es el caudal promedio en el que ingresa y el que egresa (volumen/tiempo) = $(Q_i + Q_s) / 2$

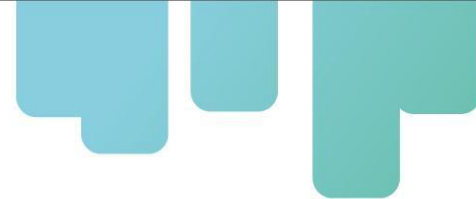
k_s = conductividad hidráulica de una unidad de área del humedal perpendicular a la dirección de flujo $L/m^2/día$.

A_c = área de la sección transversal perpendicular al flujo (m^2). $A_c = Wy$

s = Gradiente hidráulico o "pendiente de la superficie del agua en el sistema m/m . $s = m_y/L$

Cálculo del tiempo de retención hidráulica

La retención hidráulica está relacionada con la capacidad de campo. Para nuestro sistema es el tiempo que tarda el sustrato en liberar efluente a la cámara colectora. La metodología empleada fue la de



ingresar agua en flujo vertical y registrar el tiempo que tarda en aparecer el agua en la cámara colectora. El tipo de ingreso del flujo en los BR fue a manto con inundación del sustrato a 2 cm de agua superficial.

Funcionamiento de los BR. Breve descripción del experimento

Se realizó la puesta en marcha de un experimento en el marco de una tesis doctoral, donde se utilizaron 4 BR, 2 BR control y 2 BR tratamiento. Los BR control estaban rellenos con suelo blanco con y sin micorrizas mientras que los BR tratamiento estaban rellenos con suelo contaminado con metales pesados con y sin micorrizas. Las especies vegetales fueron especies nativas crecidas en un suelo minero impactado con metales pesados. Se determinaron las variables biológicas-físico-químicas descriptas anteriormente al inicio y al final del experimento

Variables hidráulicas en la validación de los resultados de su funcionamiento:

Se realizó el cálculo de la constante hidráulica (K_s) en BR (Cuadro 5) cuando no se pone sustrato y cuando se pone sustrato con y sin micorrizas; al final del experimento, luego de 4 meses, se obtuvo que la K_s es 812.000 L/m²/día mientras $Q_i = 10 \text{ L/min} = 14400 \text{ L/d}$, cuando el ingreso fue flujo vertical a manto superficial de 2 cm de altura de agua a presión atmosférica y $Q_s 0,15 \text{ L/min} = 216 \text{ L/d}$ para solo el lecho filtrante, mientras que cuando se coloca sustrato la permeabilidad disminuye pero la agregación y el efecto restaurador que generan las micorrizas provocan un aumento de la permeabilidad, en este sentido se observa el aumento de la K_s de 178811 sin micorrizas a 19291 L/m²/d con micorrizas.

Cuadro 5. Valores de parámetros hidráulicos para diversos rellenos de BR

	Q_i (L/d)	Q_s (L/d)	$Q_{8L/d}$	K_s (L/m ² /d)
BR sin sustrato	14400 (537)	216 (46)	7308 (206)	812000 (5826)
BR con sustrato sin micorrizas	2507 (128)	711 (29)	1690 (152)	178811 (1475)
BR con sustrato con micorrizas	2641 (103)	832 (33)	1736 (126)	192918 (1160)

Variables físico-químicas-biológicas

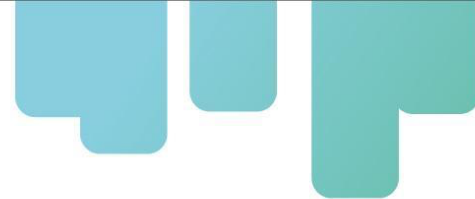
Se registraron al inicio y al final del experimento el pH, Eh, elementos químicos en biomasa y en suelo, fósforo, glomalina, cantidad de esporas, longitud de micelio, peso de biomasa radicular y aérea, se obtuvo salida a cámara colectora para determinar las particiones de los elementos químicos en suelo biomasa y colectora. Se determinó Cd, P y Zn.

Resultados de la validación de los biorreactores

Los BR funcionaron perfectamente y sirvieron para demostrar la partición de los elementos en las diferentes matrices, medir las variables descriptas y analizar los resultados de un modo integral. El protocolo de calibración será llevado a mayor escala permitiendo replicar el experimento en los MDV.

Divulgación de resultados

Se realizó un video del experimento llevado a cabo por la tesista de Doctorado Ing. Forestal Ana Rosa Castaño Gañán, el cual está subido al blog y al webstory y fue presentado en el XVIII taller anual de



seguimiento del FONTAGRO. Está en preparación un paper con los resultados del funcionamiento y el descubrimiento de una simbiosis hiperacumuladora de cadmio factible de ser utilizada en las plantaciones de cacao. Se publicó el uso de los biorreactores, haciendo referencia al financiamiento de FONTAGRO en Minerals (<https://doi.org/10.3390/min13060765> , <https://youtu.be/r8kMH0DG9OA>).

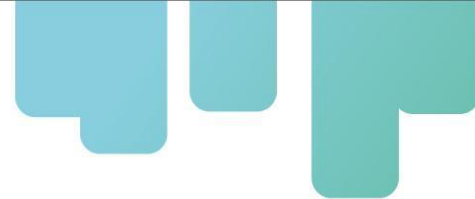
Descubrimiento de solución tecnológica

Se encontró una simbiosis micorrícica testada en los biorreactores que tiene un factor de bioacumulación en parte aérea del orden de 70 eso significa que hiperacumula 70 veces más cadmio que la que encuentra en suelo. En intercambios realizados con investigadores de Ecuador, la simbiosis encontrada puede ser reproducida a modo de intercalarse entre las especies de cacao. En la próxima nota técnica se transferirá la información post publicación de paper. La micorriza utilizada proviene de una zona impactada con altas cantidades de Zn lo cual es coherente con los efectos del Zn en la competencia por el ingreso a la planta con el Cd. Por otra parte, hay varios cofactores enzimáticos que se utilizaron aplicando cenizas volcánicas. Esto es de gran importancia ya que no es necesario incorporar elementos químicos, sino que se aprovechan las cenizas volcánicas presentes en el suelo. Esta metodología es compatible con las certificaciones orgánicas de muchas fincas cacaoteras que componen los socios de este proyecto.

Funcionamiento de BR

En los BR se puede obtener el índice de partición de los metales estudiados entre las distintas fases: suelo, glomalina, raíces, esporas y micelio, tallos, hojas, flor y lixiviado. Es posible estudiar la movilidad hacia cámara colectora, medir pH, Eh y cambiar condiciones para provocar diversas respuestas. En los resultados presentados en esta NT se transcriben los experimentos realizados en las publicaciones de Metals y Minerals, ambas revistas indexadas con los siguientes rankings: Metals H-69 Q1 y Minerals H-58 Q2. Los BR permitieron estudiar el comportamiento de los sistemas mico-fitorremediadores y generaron las bases de calibración para extrapolar en los MDV, los cuales son 100 veces mayores en volumen a los BR. La baja escala de los BR permite “jugar” con las variables, diseñar experimentos y comparar con los blancos para determinar las hipótesis planteadas, este nivel de maduración tecnológica corresponde a un TRL 4. Por otra parte, los MDV, son desarrolladores a TRL 6 y no se incorporan blancos. En este producto sólo se presentarán los BR y su funcionamiento, de modo de obtener las variables calibradas que posteriormente se extrapolarán a los MDV.

El nivel de maduración tecnológica, TRL, por sus siglas en inglés permite identificar el nivel que tiene una innovación para poder ser llevada a territorio. El TRL 1 está indicando que la innovación está en sus primeros pasos en las pruebas de concepto y a baja escala. Luego TRL 2 nos indica que está avanzada la prueba de concepto, pero tiene el agregado de condiciones externas en las cuales puede ser reproducible la nueva tecnología, el TRL 3-4 obedece a los experimentos con las condiciones controladas, contiene todos los insumos para ser llevada la tecnología a campo, la calibración de variables fundamentales para la reproductividad de los experimentos, las pruebas a este nivel contienen blancos. Los ensayos a TRL 5 ya son desarrollos a los cuales solo les falta la reproductibilidad, se realizan en medios simulados al real. El TRL 6 tiene un cambio en la escala, perteneciendo a una escala real con medio simulado. Es un nivel anterior al paso a territorio, no debe incorporar blanco ya que el desarrollo está probado y el foco está puesto en el paso al territorio, el cual será realizado en el TRL 7. Por otra parte, los investigadores (Ibañez 2014) recomiendan los experimentos a nivel TRL 6



antes de pasar a territorio para evitar falta de reproducibilidad en el momento de transferir tecnología innovadora, en ese sentido el protocolo de salida a TRL 4 en BR es el que será aplicado a TRL 6 en MDV.

La única diferencia entre el TRL 6 y el TRL 7 es que el primero es en medio simulado y el segundo es en medio real. En nuestro caso los módulos de depuración vegetal (MDV) actúan a TRL 6 mientras que los biorreactores (BR) actúan a TRL 4. Se deben utilizar tantos BR como tratamientos, mientras que el MDV es uno solo para la prueba piloto del tratamiento optimizado elegido. En esta NT se transcriben los ensayos realizados con BR publicados en las revistas indexadas internacionales Metals Q1 y Minerals Q2 ambas de libre acceso. En estos papers se obtuvieron resultados en los BR y se extrapolaron al MDV, obteniendo protocolos de aplicación salidos en TRL 4 para aplicar a TRL 6 y también protocolos de TRL 6 para aplicar en territorio.

La propuesta del proyecto mencionado tiene como objetivo utilizar un bioproceso que impida la bioacumulación de cadmio en la almendra del cacao principalmente de la zona ecuatoriana de Manabí. El bioproceso se basa principalmente en la utilización de hongos saprobios y micorrícicos que al interactuar con raíces-suelo-plantas conduzcan al objetivo final de la disminución de cadmio en el fruto del cacao. Los ensayos que permiten evaluar las interacciones entre estas fases, el tipo de riego, la lixiviación de estos elementos, el consorcio de hongos y plantas de complemento como el pH y Eh del sistema son estudiados en los BR. Los BR permiten cambiar y/o adaptar condiciones según resultados parciales y ajustar las variables hasta lograr los efectos deseados. En este sentido debemos mencionar que la solubilidad de los elementos químicos depende del pH, Eh, arrastre de riego, oxigenación/aireación, sustancias atrapantes, inmovilizantes, quelantes etc. del suelo y/o producidas por los hongos y/o raíces. El tiempo de retención hidráulica también es importante ya que se debe producir el intercambio entre cationes y el ingreso a la planta o la fitoestabilización/exclusión por parte de raíces y hongos, focalizando que la biodisponibilidad de los elementos será proporcional a su solubilidad.

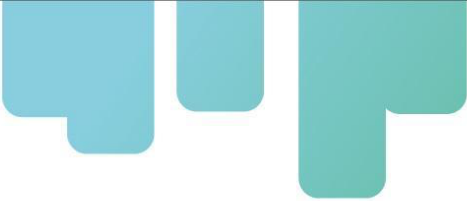
En este sentido se analizaron en los BR estas variables y se estableció un protocolo para luego ser transpolado al MDV (mayor escala) siendo 100 BR:1 MDV.

Síntesis de los diseños experimentales realizados en los BR

Se contaminaron los BR con Cd y se colocaron especies vegetales micorrizadas con hongos seleccionados de diversas zonas de Argentina y Ecuador. Se fijaron las variables físico-químico-biológicas de modo tal que la cantidad/tipo de especies vegetales, esporas, glomalina, tiempo de retención hidráulica, constante de permeabilidad (Ks), tipo de hongos, caudales de ingreso/egreso, pH, Eh, materia orgánica, tipo de riego (aereación) entre otras variables sea registrada para luego ver si era necesario ajustarlas. Los BR contenían el tratamiento propuesto y blancos (con replicas) para luego aplicar estadística y poder evaluar el comportamiento del Cd según los tratamientos.

Los BR respondieron perfectamente a las exigencias de los experimentos, pudiéndose establecer las siguientes variables para el análisis de la movilidad del Cd y constituyéndose el siguiente protocolo para ser ajustado/extrapolado al MDV.

- 1- 12 plantas por biorreactor
- 2- pH en rango de 6 – 7,4

- 
- 3- Eh 220 mv
 - 4- Ingreso de agua en forma de flujo vertical
 - 5- Llenado de BR con lecho filtrante de piedra de distinta granulometría (Castaño et al. 2023) primer estrato profundo de 10 cm con piedra de diámetro promedio 10cm, segundo estrato de 15 cm con piedra de diámetro promedio de 5 cm y último estrato de 20 cm con piedra de diámetro promedio de 1 cm.
 - 6- Constitución de sustrato (Castaño et al. 2023) 20 cm de sustrato constituido según A.R. Patente No. 090183B1
 - 7- Constante de permeabilidad (K_s) calculada según Castaño et al. 2023 y Scotti et al. 2024, (siguiendo Ley de Darcy, Q_i como el tiempo de escurrimiento de 1 cm de agua sobre el sustrato del BR), obteniendo valores de 163 m³ /d m² y 193 m³ /d m² respectivamente.
 - 8- Variación de caudales de ingreso del 10 % registraron una relación de aproximadamente el 30 % para el caudal de egreso.
 - 9- Los tiempos de escurrimiento en la medición de caudal de ingreso estuvieron cercanos al minuto.
 - 10- La humedad de suelo durante todo el experimento es menor a capacidad de campo con mínima salida a cámara colectora.
 - 11- Al final del experimento se fuerza la salida a cámara colectora aumentando el caudal de ingreso de modo de medir la salida de elementos químicos a la cámara colectora para registrar lixiviación.
 - 12- Se inocularon las raíces con hongos micorrícicos arbusculares seleccionados como favorecedores de la translocación y excluyentes de flor/fruto, los plantines fueron desarrollados previamente y luego colocados en el BR junto con las esporas fúngicas.
 - 13- Se midió la concentración de glomalina producida por el hongo con características captadoras de metales y se calculó la cantidad total en suelo.

Las especies vegetales estudiadas son modelos de la bibliografía en el caso del *Helianthus annuus*, el cual se utiliza en diversos ensayos ya que es un hiperacumulador con registro bibliográfico abundante en el cual podemos probar diferentes esquemas metodológicos propuestos. En el caso del *Baccharis salicifolia* nuestro objetivo era testear en BR una planta nativa que se desarrolla en Ecuador para ver su influencia en la presencia de exudados radiculares que modifiquen la movilidad del Cd rizosférico.

Cuadro 6. Partición de elementos en estudio en *B. salicifolia* inoculada y sin inocular con hongos micorrícicos. (Scotti et al. 2024)

Description	Ni	Cd	Cu	P
BS M+ shoot	BDL	BDL	10.45 ^{ab} (1.42)	2750.07 ^c (284.63)
BS M+ roots	BDL	BDL	16.08 ^b (1.60)	1717.71 ^b (200.15)
BS M- shoot	2.06 ^a (0.63)	BLD	1.09 ^a (0.15)	34.86 ^a (9.41)
BS M- roots	BDL	BLD	BDL	153.95 ^a (10.79)
CS M+ shoot	16.32 ^b (1.32)	153.69 ^c (16.71)	37.27 ^c (4.61)	3358.52 ^c (297.3)
CS M+ roots	BDL	5.21 ^a (0.3)	5.46 ^a (1.04)	103.91 ^a (13.72)
CS M- shoot	1.93 ^a (0.20)	31.14 ^b (2.5)	BDL	38.57 ^a (10.79)
CS M- roots	BDL	13.55 ^{ab} (1.9)	6.84 ^{ab} (1.43)	19.54 ^a (1.82)
BS initial	3.00 ^c (0.35)	BDL	11.75 ^d (1.75)	1000.58 ^e (100.42)
BS M+ final	3.13 ^c (0.81)	BDL	15.38 ^d (4.48)	1129.99 ^e (137.29)
BS M- final	3.00 ^c (1.04)	BDL	25.50 ^d (6.31)	1047.57 ^e (105.31)
CS initial	7.13 ^d (1.22)	2.62 ^d (0.09)	245.38 ^g (1.65)	585.07 ^d (107.20)
CS M+ final	6.50 ^d (1.04)	2.24 ^e (0.05)	175.25 ^f (5.81)	1123.82 ^e (83.10)
CS M- final	6.25 ^d (1.00)	2.08 ^e (0.03)	229.0 ^g (11.05)	1231.02 ^e (61.50)
Leached M-	0.26 ^f (0.02)	BDL	1.18 ^h (0.05)	1.27 ^f (0.01)
Leached M+	0.44 ^g (0.02)	BDL	1.39 ^h (0.08)	1.59 ^g (0.03)

BS (Suelo blanco), CS (suelo contaminado), M+ (micorrizado), M- (no micorrizado), BDL (debajo del límite de detección). Letras diferentes significa diferencias significativas (Test de Tukey, $p < 0.05$).

En la Figura 13 vemos los coeficientes de acumulación aéreo y radicular de los elementos Cd, Cu, P y Ni en *B. salicifolia* inoculada y sin inocular y los factores de translocación de cada elemento en las distintas condiciones del experimento. Se puede ver el salto correspondiente a la bioacumulación aérea de cadmio cuando *B. salicifolia* estuvo micorrizado alcanzando un valor de 70, es decir que hiperacumula cadmio en su parte aérea 70 veces más que lo que encuentra en el suelo.

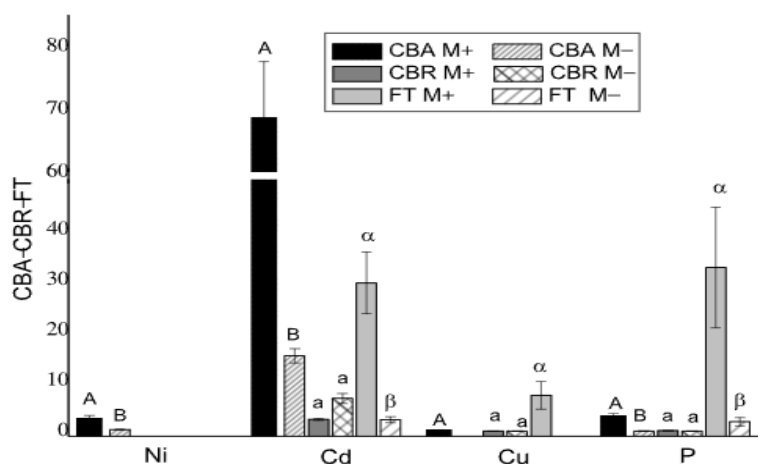
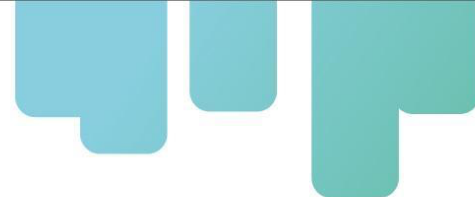


Figura 13. Coeficientes de bioacumulación (ABC- RBC) y factores de translocación (TF) para *B. salicifolia* inoculado (M+) y sin inocular (M-) en presencia de concentraciones de Cd, Ni, Cu



contaminantes y P proveniente del suelo en estudio. Letras diferentes representan diferencias significativas para cada elemento (Tukey test $p < 0,05$). Tomado de Scotti et al. 2024.

En el Cuadro 7 observamos el próximo paso en los cálculos el cual se refiere a la masa obtenida en hojas, raíces y total de planta cuando se colocan en suelo comercial y en suelo contaminado con y sin inoculación. Podemos observar que la micorrización aumenta la biomasa en suelo contaminado. (Scotti et al. 2024)

Cuadro 7. Registro de biomasa (g) en suelo contaminado y sin contaminar en presencia (M+) y ausencia (M-) de inoculación fúngica. Tomado de Scotti et al. 2024

Treatment	Shoot Biomass (g)	Root Biomass (g)	Total Plant Biomass (g)
CS M+	52.67 (33.53)	6.75 (5.91)	59.42 (34.04)
CS M-	37.67 (28.31)	9 (7.21)	46.66 (29.21)
BS M+	30.00 (22.72)	5.50 (4.20)	35.50 (23.10)
BS M-	35.75 (24.06)	7.25 (2.87)	43.00 (24.23)

Los valores están expresados como: media (desviación estándar). CS: suelo contaminado, BS: Suelo blanco, M+: inoculado con micorizaslaras; M-: no-inoculado con micorizas arbusculares.

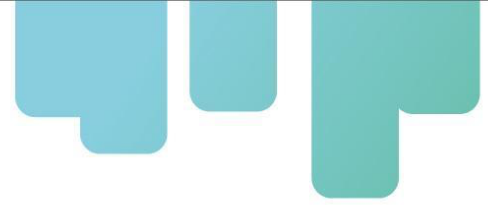
Con los valores de biomasa y bioacumulación se realizan los cálculos para saber la cantidad de los elementos en estudio que encontramos en las distintas partes de la planta. Estos valores representan el potencial de extracción como se observa en Cuadro 8.

Cuadro 8. Potencial de bioextracción de Ni, Cd, Cu y P en los BRs cuando *B. salicifolia* fue inoculada con hongos micorrícicos. Tomado de Scotti et al. 2024.

CRM and SRM	Shoots * -Roots (ppm)	Mass/Plant (mg)	Total/BR (mg)
Ni	16.32 *	16.32	11.63
Cd	153.69 * -5.21	8.12	97.5
Cu	37.27 * -5.46	2.00	24.00
P	3358.52 * -103.9	177.6	2131

CRMs: Materias Primas Críticas; SRMs: Materias Primas Críticas secundarias; * indica concentración.

Vemos como se obtuvieron diferentes potenciales de extracción para los diferentes elementos en estudio. Además, la solubilidad de los elementos depende o es modificada con los cambios de pH, Eh, Materia orgánica, tipo de sustrato, tipo de contaminantes, tipo de especies vegetales y tipo de hongos introducidos en el BR (Husson 2013). El modelo físico del flujo encontrado fue el de la Ley de Darcy para



flujo continuo laminar (Mena 2008). Los ensayos a TRL 4 en BR permitieron la salida de un protocolo que debe aplicarse para la extrapolación a TRL 6.

CONCLUSIONES

Se pudieron construir 8 biorreactores y se detalla minuciosamente la metodología a modo de poder ser replicados. Se seleccionaron las variables a ser controladas para la replicación y el escalamiento. Se testeó exitosamente el funcionamiento mediante una experimentación en el marco de una tesis doctoral.

Los BR se comportaron como se tenía proyectado y permitieron estudiar la partición del Cd y otros elementos en distintas fases.

Se pudieron cambiar las condiciones y las variables de los BR cuando fue necesario.

Los BR proporcionaron las calibraciones de las variables de modo tal de poder realizar el escalamiento en MDV.

El Cd y otros elementos pudieron ser identificados en la fase aérea de modo de plantear la recuperación en contexto de economía circular y/o seguridad alimentaria.

Las calibraciones fueron realizadas teniendo en cuenta un movimiento de flujo laminar para poder aplicar Ley de Darcy. Se recomienda tener en cuenta que si el flujo es turbulento las consideraciones deben ser diferentes. Para mantener un flujo constante y laminar, mientras se calibra el sistema, el ingreso de agua de riego debe ser a bajo caudal.

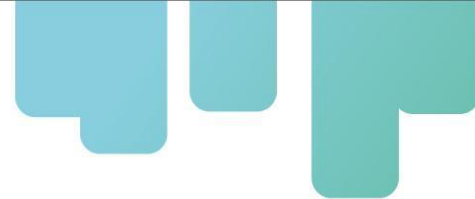
Se obtuvo un protocolo de salida a TRL 4 para aplicar a TRL 6, se validó a TRL 6 y se ajustó el protocolo para ser llevado a TRL 7.

RESULTADOS COMPONENTE 2. PRODUCTO 5.

Actividad 2.3: Análisis físico-químico-biológicos

Producto 5: 6 *Notas Técnicas* conteniendo 6 *Metodologías diseñadas* para la estandarización y normatización de los resultados de Laboratorio de P, Cd y Zn en suelo y matriz vegetal.

Se realizó una compilación de diversas metodologías para la medición de fósforo, cadmio y zinc tanto en suelo como en la matriz vegetal. Se abordaron metodologías normalizadas y modificaciones documentadas en la bibliografía para establecer los parámetros metodológicos para cada laboratorio, desde la toma de muestra hasta los cálculos finales. Un aspecto muy importante es saber cuáles estándares serán utilizados y cuál es el rango de concentración con el que se estima trabajar. Por último, es necesario saber si hay interferentes o riesgos de pérdida de elementos, como también si las mediciones están realizadas a la longitud de onda correcta teniendo en cuenta la sensibilidad, la calidad de la medición y los factores críticos que enfrenta la metodología elegida al momento de analizar los resultados obtenidos en las mediciones analíticas. En este trabajo se documentaron las metodologías y se determinaron los parámetros de calidad para los principales elementos que fueron utilizados en el proyecto.



Se abordó una recopilación de metodologías para la medición de fósforo, cadmio y Zinc en suelo y biomasa (tejido vegetal) que puede encontrarse en la página de FONTAGRO. Existen diversas metodologías que comprenden los denominados métodos de screening y métodos de referencia. En este trabajo consideramos solo los métodos normalizados y modificados existentes en la bibliografía.

Se comienza con una exhaustiva descripción de la toma de muestra tanto desde aspectos técnicos como estadísticos con el fin de que la muestra sea representativa del total y no sufra cambios en su traslado y almacenamiento hasta llegar al laboratorio. El paso siguiente es la caracterización de la muestra aportando parámetros que permitan la elección de la metodología para el suelo y para biomasa. Un aspecto muy importante a considerar es tener en cuenta la cantidad de muestra antes de elegir la metodología. Un modo de independizarse de este factor es la digestión mediante diversos métodos, en los cuales obtenemos un lixiviado. En este punto es importante tener en cuenta las concentraciones sobre las que estimamos estando trabajando para que el lixiviado no ingrese bajo los límites de detección del método. Además, es importante tener de referencia patrones o estándares apropiados a la matriz con la cual se trabaja y que sean acordes con las concentraciones que queremos medir. Tras estas consideraciones que deben ser tenidas en cuenta previamente, luego se determina el equipamiento a utilizar y si se realizan las determinaciones por duplicado, triplicado o cuadruplicado según la variabilidad de la muestra.

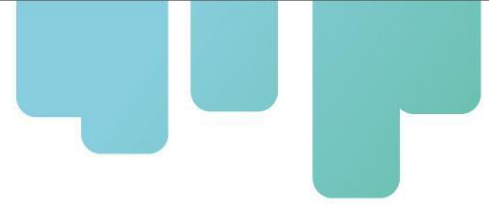
Los elementos a medir en este trabajo son P, Zn y Cd ya que ellos son los principales analitos que nos permiten ajustar parámetros en el procedimiento aplicado en el proyecto Fontagro. Para el caso del P y Zn se refirieron métodos conocidos y sus alternativas en cuanto a digestiones, equipamiento y estándares para control de calidad interno y externo. En el caso del cadmio, por la relevancia de la determinación para el proyecto se recopiló no solo la metodología de referencia sino la experiencia de especialistas en la problemática del cadmio en el cacao. Esta recopilación permite tener una guía para las metodologías a emplear desde el muestreo hasta la interpretación de los resultados para cada una de las matrices señaladas.

Algunas consideraciones

Existen muchas metodologías para las determinaciones de P, Zn y Cd. En esta recopilación se pone en valor las metodologías normatizadas y de referencia para poder ser utilizadas en el tratamiento previo de las muestras para las mediciones, teniendo en cuenta el tipo de matriz, en este caso: suelo y biomasa. Otros aspectos importantes a tener en cuenta son la cantidad de material, los estándares utilizados, la sensibilidad del método, los interferentes y los rangos de concentración sobre los cuales se trabajará para elegir la metodología.

En ese sentido se recopilaron metodologías de análisis que tenían una base bibliográfica y descripciones normatizadas como también las utilizadas por los laboratorios de referencia participantes en el proyecto. En el bioproceso empleando hongos micorrícicos y saprobios que interfieren en la bioacumulación de cadmio en la almendra del cacao, los elementos P, Zn, y Cd son los principales que se necesitan determinar para ajustar la metodología del bioproceso.

Para identificar los efectos del bioproceso, se realizó una compilación de metodologías, enfatizando para cada elemento los puntos críticos. Dado que no existe una norma metodológica establecida, la elección del método y los procedimientos a ejecutar (desde el muestreo hasta los cálculos finales) es



determinante para una interpretación correcta de los análisis de laboratorio.

El proceso comienza con la preparación de la muestra. En los tejidos vegetales la preparación es crítica para obtener resultados analíticos confiables, por lo tanto, deben seguirse procedimientos estrictos en su limpieza, secado, molienda y almacenaje. En el caso de las muestras de suelo, además de la preparación de las muestras, hay que prestar especial atención al muestreo, ya que un muestreo deficiente (pocas muestras o no representativas) puede conducir a interpretaciones de resultados erróneos.

Los métodos de USEPA para suelos y biomasa, como también los métodos de Olsen (Olsen, 1954), fueron transcritos incorporando modificaciones de diversos autores, lo que brinda la posibilidad de elegir la metodología a aplicar según distintos métodos de digestión (mineralización), equipos existentes, cantidad de muestra disponible y rango de concentraciones esperadas. Adicionalmente, se recogió la información brindada por especialistas de la Plataforma Multiagencia Cacao 2030-2050 y otras experiencias de analistas de la región LAC.

Por último, se destaca la importancia de los distintos niveles de control de calidad, tanto internos como externos, en suelo y biomasa, en la determinación analítica y en la mineralización, de modo tal que se pueda detectar si el problema está ocurriendo en la determinación analítica o en el procedimiento de digestión. Asimismo, se hace referencia a los estándares empleados, tanto comerciales como preparados en laboratorio, y a los cálculos de recuperabilidad para las matrices descritas: suelo, hojas, raíces, almendras etc.

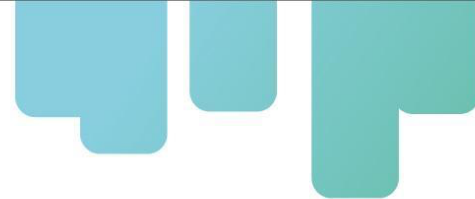
Las técnicas utilizadas para la cuantificación analítica son: Espectrometría de Absorción Atómica (AAS, por sus siglas en inglés), AAS con horno de grafito (GFAAS), Espectrometría de Emisión Óptica por Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES), Espectrometría de Masas por Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS) y, muy recientemente, Fluorescencia de Rayos X (XRF) (Förste et al., 2023).

AAS e ICP-OES han sido empleados para la medición de macro y micronutrientes, mientras que GF-AAS e ICP-MS se utilizan para la detección de metales pesados y elementos trazas. Sin embargo, dado que la problemática de Cd en almendras de cacao se presenta en concentraciones superiores a los 0,10 mg/kg, el ICP-OES puede ser empleado de forma precisa para la detección de valores superiores al mencionado anteriormente (Martínez et al., 2022). La pureza de los reactivos es fundamental; el agua ultrapura debe tener una conductividad no mayor a los 0,056 $\mu\text{S}/\text{cm}$ para evitar interferencias.

Con respecto a la solución de Cd para calibración, es necesario utilizar un estándar de Cd con concentración conocida, suministrado por proveedores acreditados en ISO/IEC 17034, lo que permitirá el uso de un material de referencia trazable metrológicamente a nivel internacional (Martínez et al., 2022). Barraza (2020) compara distintos estándares, marcando que son muy importantes tanto los estándares de medición del proceso de digestión (mineralización) como de análisis.

Con respecto al secado, puede realizarse por varios métodos o una combinación de ellos, como estufa de secado o campana de flujo laminar. El material debe conservarse sellada y protegido de la luz y luego refrigerarse o congelarse hasta su análisis.

Para el cadmio, Martínez et al (2022) indican que si el laboratorio cuenta con equipamiento de alta sensibilidad como ICP-MS, la cantidad de muestra puede ser de 100 mg (Argüello et al., 2019) o 300 mg (Rodríguez-Giraldo et al., 2022). Mientras que, si el laboratorio posee equipos menos sensibles como



ICP-OES o AAS, se debe de incluir una mayor masa inicial, entre 350 y 500 mg para material vegetal y hasta 2 g para suelo (Chávez et al., 2015). El método más común de digestión es el HNO_3 : HCl (3:1, v:v), también conocido como agua regia (Lo Dico et al., 2018). En otros casos, también se utiliza H_2O_2 en alguna de las etapas de la mineralización, sobre todo cuando se trabaja con almendras para solubilizar las grasas (Barraza et al., 2017). Algunos investigadores han utilizado solamente HNO_3 para mineralizar hojas, ya que es una matriz muy simple de digerir (Argüello et al., 2020).

En muestras de suelo, es común que los laboratorios realicen métodos de extracciones simples, que son menos laboriosos y peligrosos, y que pueden ser implementados a un mayor número de muestras por día (Chavez et al., 2015). Algunos de los más comunes son 0,01 M CaCl_2 , 1 M DTPA y Mehlich III. Sin embargo, existe discrepancia entre investigadores acerca del cual es el método más apropiado para cacao (ver: Ramtahal et al., 2015; Chavez et al., 2016; Gramlich et al., 2018).

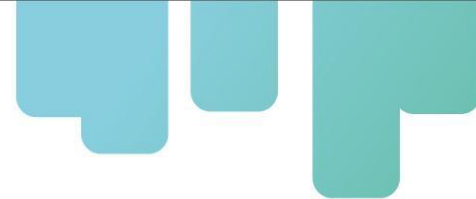
En general, el rango puede ir desde 1:20 a 1:60 (m:v) para ICP-OES y ICP-MS, respectivamente. Adicionalmente, la temperatura de digestión afectará el tiempo para evaporar el ácido adicionado a las muestras. En este sentido, usando temperaturas entre 80 – 100 °C se necesitarán entre 6 y 8 h para mineralizar las muestras, mientras que a temperaturas >120°C requerirán menos tiempo para evaporar los ácidos, lo que se considera un indicador de la digestión de las muestras. Esto ocurrirá solo si las muestras son mineralizadas en un digestor abierto o en una plancha de calentamiento.

Es recomendable realizar la evaporación de los ácidos después de la digestión en microondas, destapar los tubos de teflón y el contenido trasvasarlo a los tubos de borosilicato, lavar el primer tubo con agua tipo 1 y trasvasarlo al segundo tubo. Luego, hacer la digestión en bloque abierto o en una placa de calentamiento hasta evaporación (volumen 1 mL), y así evitar acarrear un alto porcentaje de ácido a la cámara de nebulización del ICP-OES o ICP-MS. En algunas ocasiones, los investigadores proponen usar rampas de temperatura para la digestión de suelo; esto es muy común en las configuraciones de los digestores de microondas. Sin embargo, el uso de rampas no es obligatorio y se debe de considerar solo si no existiera una digestión correcta de las muestras.

Rodríguez Giraldo et al. (2022) validan metodologías aplicando ICP-MS y ICP-OES, encontrando que los límites de cuantificación de Cd mediante ICP-MS e ICP-OES fueron 0,005 mg/kg y 0,043 mg/kg-, respectivamente. Los porcentajes de recuperación de Cd con material de referencia certificado (chocolate para hornear NIST® SRM® 2384) para ICP-MS e ICP-OES fueron del 95% y 92%, respectivamente. Las incertidumbres estándar combinadas obtenidas para determinar el Cd utilizando ICP-MS e ICP-OES no superaron el 8%. Estos investigadores realizaron controles internos y externos con laboratorios de referencia y pudieron cuantificar Cd con valores inferiores y superiores a la cantidad mínima permitida por la regulación europea para productos derivados del cacao (0,1 mg/kg de Cd).

La digestión de material vegetal (raíz, tallos, hojas, mazorca, hojarasca, almendras o cascarilla) es mucho más homogénea que la digestión de los suelos. Las condiciones de digestión varían entre laboratorios, pero se recomienda el uso de temperaturas > 90 °C por un tiempo mínimo de 4 h. Como agente oxidante se recomienda el uso de HNO_3 en una ratio de 10-25:1 (ácido:muestra, v:m). Además, se puede emplear un único ciclo de digestión y una sola rampa de temperatura.

En cuanto a los controles analíticos y de calidad, es recomendable estandarizar la utilización de sistemas de controles analíticos y de calidad (QA/QC) que permitan asegurar la calidad y fiabilidad de los



resultados reportados. Los controles de calidad son aquellos pasos que se implementan en la etapa de procesamiento de la muestra, mientras que los controles analíticos están orientados a asegurar la cuantificación correcta del analito en la solución. Resumiendo, los controles analíticos son muestras que forman parte del proceso de pesaje, digestión y disolución (Martínez et al, 2022).

CONCLUSIONES

Estos resultados demuestran que el uso de un método universal para determinar la concentración de Zn y P está disponible, quizás por sus concentraciones relativamente altas o su inocuidad sanitaria. Sin embargo, para el Cd (al menos el fitodisponible) hasta la fecha no ocurre lo mismo, ya que no ha sido reportado un método universal, y tal vez no sea posible tener uno, ya que probablemente el Cd fitodisponible varíe entre tipos de suelo y/o en el tipo de matriz a analizar.

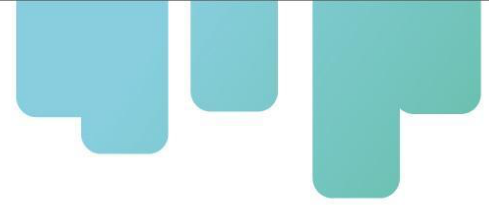
En cuanto al equipamiento las determinaciones de P y Zn no presentan diferencias al momento de elegir el equipo, mientras que para el Cd, las concentraciones son tan bajas que utilizar un ICP-MS proporciona gran sensibilidad, aunque no están tan disponibles en la región.

En el caso del Cd hay que poner especial cuidado en el almacenamiento de la biomasa para evitar el desarrollo fúngico-microbiano en el momento de las determinaciones. La forma de expresión de los resultados también es diferente en el caso del cadmio, siendo necesario tener en cuenta la humedad. Por último, la determinación de los parámetros de QA/QC es crucial para una correcta evaluación de los resultados. Algunos aspectos a mencionar son la adecuada elección de los estándares de proceso y de análisis, la determinación del límite de detección, los interferentes, los controles externos e internos y el límite de cuantificación.

Las muestras de cacao son complejas y difíciles de analizar debido a su alto contenido de ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos, fitoesteres, tocoferoles, azúcares, polifenoles, teobromina y cafeína (Mohamed et al., 2020). Es por ello que en la bibliografía se encuentran diversos métodos para la cuantificación del cadmio y otros elementos traza, sin embargo, en muchos casos se omite información sobre la validación de dichos métodos, tales como los límites de detección, cuantificación, rendimiento del material de referencia, precisión y reproducibilidad. Es importante notar que, aunque la Unión Europea haya fijado un valor máximo para el contenido de Cd en el chocolate, aún no existe un protocolo a seguir para la determinación de este elemento.

En el caso de los certificados del material de referencia (SRM, standard reference material) como el NIST 2384 Baking chocolate, encontramos información sobre cuáles fueron las diferentes técnicas de espectrofotometría utilizadas para el análisis de cada elemento: ICP-OES para elementos como el Ca, Cu, Fe, Zn e ICP-MS para el Pb y Cd, así como el tipo de digestión, en este caso, en microondas con HNO_3 . En Perú, existe una norma técnica del Instituto Nacional de Calidad (INACAL) para la determinación de Cd, Cu, Fe y Zn en chocolate y cacao (NTP 208.030 2015), donde primero se calcina la muestra antes de adicionar los ácidos (HNO_3 y HCl), y finalmente se procede a la lectura por AAS o GF-AAS.

En cuanto a las muestras, el rango de concentración del analito es sumamente importante porque la masa de la muestra y la dilución final de la solución mineralizada afectarán los límites de detección de la técnica utilizada (LD). La mayoría de los elementos son solubles o estables en HNO_3 . En el caso del



HCl, que es el segundo ácido más utilizado en las digestiones debido a que es corrosivo y volátil, puede dañar el sistema eléctrico de equipos como el ICP-MS, por ello, se recomienda reducir la exposición y preferiblemente no preparar diluciones con este ácido. La correcta elección de reactivos también es una etapa clave. Por ejemplo, en algunos casos el uso de H_2SO_4 puede formar sulfatos con algunos elementos, lo que interfiere cuando se usa el ICP-MS o el GF-AAS. Del mismo modo, una digestión ineficiente o incompleta genera interferencias (efecto matriz).

RESULTADOS COMPONENTE 3. PRODUCTO 6.

Actividad 3.1: Escalamiento a TRL 6.

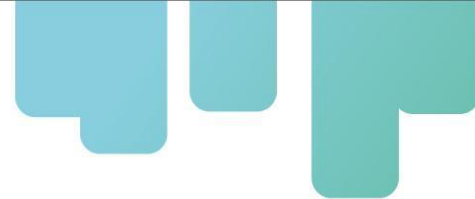
Producto 6: 1 *Nota Técnica* con las 10 herramientas y metodologías diseñadas para escalamiento ingenieril TRL 6 en MDV. Producto AgTech (automatizaciones, calibraciones).

Se presentaron las variables que deben ajustarse durante el proceso de escalamiento de los biorreactores (BR), que cuentan con un nivel de maduración tecnológica (TRL) 4, hacia el Módulo de Depuración Vegetal (MDV), con un TRL 6. Un BR tiene un volumen 100 veces menor que un MDV. Las variables y sus rangos de valores fueron definidas como parámetros, mientras que aquellos parámetros validados a TRL 4 y escalados a TRL 6 fueron llamados herramientas y metodologías diseñadas para el escalamiento ingenieril.

El escalamiento progresivo facilita la experimentación a baja escala, permitiendo registrar las variables y sus respectivos rangos de valores. Esto garantiza que, al momento de escalar la innovación tecnológica, en este caso el bioproceso, se utilicen los parámetros generados del protocolo a TRL 4, y se apliquen en TRL 6 como herramientas de escalamiento.

Para que este escalamiento sea comparable, es necesario determinar las variables y fijar los parámetros que deben mantenerse constantes durante el proceso. Alcanzar un TRL 6 antes de avanzar la implementación a territorio (TRL 7) es necesario para evitar errores habituales que han surgido en otras transferencias tecnológicas, donde se ha pasado directamente de pruebas de concepto (TRL 1-2) al territorio (TRL 7), sin un escalamiento progresivo que permita ajustar adecuadamente los parámetros. Desde el punto de vista ingenieril, un MDV es un módulo de humedal artificial modificado que permite obtener un resultado a partir de la innovación testeada en escalas menores durante la puesta en marcha a TRL 6. A partir de este módulo, se obtiene un protocolo de salida que permite su aplicación a territorio. En este sentido, el MDV puede considerarse un desarrollador tecnológico en un entorno simulado, pero a gran escala.

Los pasos previos del ajuste en el MDV resultan complejos. Por esta razón, se trabaja con BR que representan una sección longitudinal del MDV, y con la misma profundidad y nivel de pendiente. El movimiento de fluidos a través de los BR y el MDV se rige por la Ley de Darcy. Las variables a escalar incluyen: 1- tipo de irrigación, 2- caudal de ingreso y egreso, 3- tiempo de retención de salida a cámara colectora, 4- constante de permeabilidad, 5- volumen de sustrato y filtro de piedras, 6- capacidad de retención de agua, 7- porosidad, 8- velocidad de Darcy y promedio de velocidad lineal, 9- sistema simbiótico (verificado por la estimación de la colonización radicular: intensidad y frecuencia),



producción de glomalina (fracción total y fácilmente extraíble), 10-oligo y macroelementos esenciales y contaminantes, pH, Eh, sustancias químicas exudadas y materia orgánica. Estas variables fueron fijadas en distintos experimentos, verificándose la similitud y/o proporcionalidad entre los BR y el MDV. Se concluyó que el valor de partición de los elementos químicos en las distintas fases fue predecible al pasar de BR a MDV cuando se respetaron los parámetros físicos-(hidráulicos)-químico-biológicos (CF_{HQB}), previamente señalados como herramientas y metodologías para el escalamiento ingenieril.

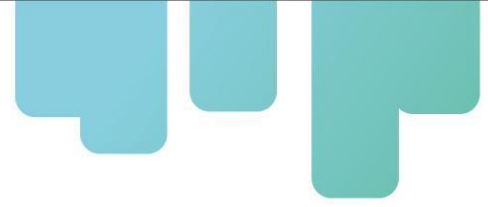
La maduración tecnológica (TRL por sus siglas en inglés) de una innovación biotecnológica puede ser clasificada en nueve niveles. TRL 1-2 se refiere a los primeros experimentos realizados para demostrar una prueba de concepto, TRL 3-4-5 se refiere a desarrollos que están siendo probados a baja escala con las condiciones e insumos controlados, en presencia de blancos y con pruebas de hipótesis, pero con la presencia de factores ingenieriles de transferencia. El TRL 6 se refiere a pruebas piloto o prototipos puestos en entornos simulados, ya sin blancos y a mayor escala o en sistemas modulables capaces de ser escalables a territorio, mientras que los TRL 7-9 son los desarrollos puestos en territorio, reproducibles y ajustados. El escalamiento ingenieril es un aspecto fundamental para el éxito de la transferencia de los desarrollos a territorio.

En el proyecto *Bioproceso reductor de la solubilidad de cadmio rizosférico* se calibró una biotecnología de fito-mico-remediación que fue probada inicialmente a TRL 1-3, y luego se avanzó a TRL 4 utilizando biorreactores (BR). El pasaje de los BR (TRL 4) a un módulo de depuración vegetal (MDV) a TRL 6, se llevó a cabo teniendo en cuenta los parámetros CF_{HQB}, que deben mantenerse constantes o proporcionales para garantizar la reproducibilidad de los resultados. En este trabajo se detallan las diez herramientas y metodologías diseñadas para un escalamiento ingenieril a TRL 6 en MDV, a saber: 1- tipo de irrigación, 2- caudal de ingreso y egreso, 3- tiempo de retención de salida a cámara colectora, 4- constante de permeabilidad, 5- volumen de sustrato, y filtro de piedras, 6- capacidad de retención de agua, 7- porosidad, 8- velocidad de Darcy y promedio de velocidad linear, 9- sistema simbiótico: colonización radicular (intensidad y frecuencia), producción de glomalina (total y fácilmente extraíble), 10-oligo y macroelementos presentes, esenciales y contaminantes, pH, Eh, sustancias químicas exudadas y materia orgánica. Para el correcto escalamiento desde TRL 4 a TRL 6 se mantuvieron en valores similares los parámetros 1, 3, 4, 6, 7, 9 y 10, mientras que los parámetros 2, 5, y 8 fueron proporcionales teniendo en cuenta que 100 BR: 1 MDV en volumen, siendo la altura y la pendiente la misma tanto de BR como de MDV, de modo tal que 1 BR es un corte transversal del MDV. La aplicación de estas diez herramientas metodológicas en la fase de escalamiento permite inferir que la partición de metal(oid)es en suelo/biomasa/lixiviado, entre ellos el Cd, será reproducible al cambiar de TRL 4 a TRL 6. Sin embargo, cualquier alteración de alguno de estos parámetros mostrará resultados diferentes, ya que podría cambiar la biodisponibilidad de los elementos químicos frente al bioproceso reductor de la solubilidad de Cd rizosférico propuesto en este proyecto.

El ingreso de líquido a los BR y MDV fue mediante flujo vertical a baja velocidad para mantener el flujo laminar de ingreso. A mayor velocidad, predomina el flujo turbulento, lo que impide que se cumple la Ley de Darcy (ecuación 1 y ecuación 2):

$$K_s = Q / (A_c \times s) \quad V_D = Q / A_c \quad (\text{ecuación 1 y ecuación 2})$$

Donde K_s es la constante de permeabilidad hidráulica, Q es el promedio del caudal de ingreso y egreso



a cámara colectora, A_c es el área perpendicular al flujo del líquido, s es la pendiente y V_D es la velocidad de Darcy.

Además, se registró el tiempo de retención hidráulico (t_c) en BR y el MDV, como el tiempo que tardó el efluente en atravesar las diferentes capas del lecho filtrante más sustrato (cenizas + suelo) y salir hacia la cámara colectora cuando una película de 1 cm cubría la última capa superficial de sustrato, tanto en el BR como en el MDV al inicio del experimento, antes que se formen los canales y microcanales de riego en el sustrato.

La *Velocidad de Darcy* (V_D) es la calculada a partir del caudal y la sección transversal, aunque conocida, no representa la velocidad real del flujo. Esto se debe a que el agua no circula por toda la sección del permeámetro, sino solo por una parte de ella. Esta velocidad teórica, que correspondería al flujo si el agua atravesara toda la sección del medio poroso y se expresa mediante la ecuación 2

La parte porosa de la sección total por la que puede circular el agua en el suelo o sustrato es la porosidad eficaz (ϕ). Si un sustrato arenoso presenta una porosidad del 10% (0,10), el agua estaría circulando por el 10% de la sección que atraviesa el agua. Para que el mismo caudal circule por una sección 10 veces menor, su velocidad será 10 veces mayor. Por tanto, se cumplirá que:

$$\text{Velocidad lineal media (Va)} = \text{Velocidad Darcy (V}_D\text{)} / \phi \text{ (ecuación 3)}$$

Es importante señalar que el flujo de Darcy no es igual a la velocidad del fluido, aunque se exprese en unidades de velocidad. La velocidad del fluido se alcanza a través de la velocidad lineal promedio (V_a), que es el promedio de la velocidad de todos los caminos posibles del fluido a través del medio poroso (ecuación 4).

$$\phi = V_{\text{void}} / V_{\text{tot}} \text{ (ecuación 4)}$$

donde ϕ es la porosidad eficaz y V_D es la velocidad del fluido. La porosidad(ϕ) se calcula como la relación entre el volumen del espacio vacío y el volumen total de un material.

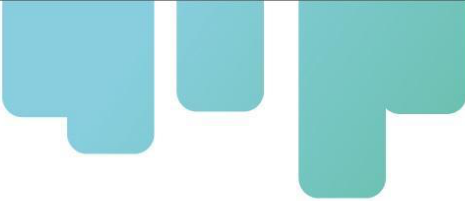
La porosidad eficaz (ϕ) fue calculada como el volumen recuperado en la cámara colectora (V_{void}) dividido por el volumen total ingresado al BR (V_{tot}), y generalmente es expresado como una fracción entre 0 y 1 o porcentaje.

La capacidad de retención de agua (WHC) es el porcentaje (o fracción) de agua que queda retenido en el suelo luego de ser saturado. Para registrarla se agrega un volumen de agua al BR y se espera la salida a la cámara colectora bajo presión atmosférica. Cuando ya no hay más drenaje, se determina el peso húmedo del suelo, el volumen total (V_t) de suelo en el contenedor (BR y MDV), la densidad aparente de suelo seco (sin compactar) y suelo húmedo (post drenaje), y se lleva a secado el suelo húmedo hasta peso constante. Con los valores obtenidos se aplican las siguientes fórmulas:

$$M_{H_2O} = M_t - M_s$$

$$M_{H_2O} \text{ (Kg)} = V_{H_2O} \text{ (L)}$$

$$\text{WHC \%} = V_{H_2O} / V_t * 100 \text{ (ecuación 5 expresado como porcentaje)}$$


$$WHC = V_{H_2O} / V_t \text{ (expresado como fracción)}$$

Donde, M_{H_2O} es la masa de agua en kilogramos (Kg), M_t es la masa total del suelo húmedo en el contenedor en Kg, y M_s es la masa total de suelo seco en el contenedor en Kg.

La densidad aparente del suelo es el peso de un determinado volumen de suelo seco sin compactar:

Densidad aparente= Masa de suelo seco/ volumen de suelo sin compactar

La porosidad y la WHC son inversamente proporcionales.

Otra forma de determinar la capacidad de retención de agua que hemos calculado fue utilizando la M_s en lugar de V_t , es decir:

$$WHC \% = (M_t - M_s / M_s) * 100 \text{ (ecuación 6 expresado como porcentaje)}$$

Ambas ecuaciones 5 y 6 expresan el mismo significado.

El BR y el MDV se comportan como un humedal artificial subsuperficial modificado con un flujo vertical de entrada y un flujo de salida recogido en una cámara colectora (Figura 14). Durante el experimento de fito-mico-remediación, el volumen de efluente obtenido en la cámara colectora no fue significativo, ya que el riego se realizó considerando la humedad del sustrato registrada con sensores sumergidos en la capa superior.

En cuanto a las variables biológicas del sistema, la efectividad del sistema simbiótico puede evaluarse midiendo la colonización por hongos micorrícicos arbusculares (HA), mediante los parámetros de intensidad y frecuencia de colonización en las raíces, y la cuantificación de glomalina (fracción total y fácilmente extraíble) del suelo rizosférico. La colonización micorrícica arbuscular en una planta fitorremediadora sugiere una mayor eficiencia en la recuperación de suelos contaminados, ya que optimiza la absorción de nutrientes y la resistencia al estrés en la planta micorrizada. A su vez, puede actuar inmovilizando los contaminantes en las estructuras fúngicas, o bien incrementando su translocación a la biomasa aérea de las plantas, dependiendo de las especies o cepas involucradas. En el presente caso, se usan HA con capacidades altas de captación y translocación de metal(oides).

La glomalina, glicoproteína producida por los HA en el suelo, mejora las condiciones edáficas al promover el microbioma rizosférico y la agregación del suelo, lo que contribuye al desarrollo radicular y a la recuperación de los suelos degradados. Además, la glomalina cumple un rol importante en el secuestro de metales pesados, ya que los inmoviliza en el suelo y disminuye su lixiviación. Según el método de extracción, se pueden diferenciar dos tipos de glomalina: fácilmente extractable (EE-GRSP) y total (T-GRSP). Debido a su naturaleza recalcitrante, la separación de la glomalina del resto de las glicoproteínas del suelo se lleva a cabo mediante autoclavado en soluciones de pH neutro y básico, dependiendo de la fracción a extraer. Su cuantificación se realiza por espectrofotometría, utilizando una curva de calibración preparada con una proteína patrón.

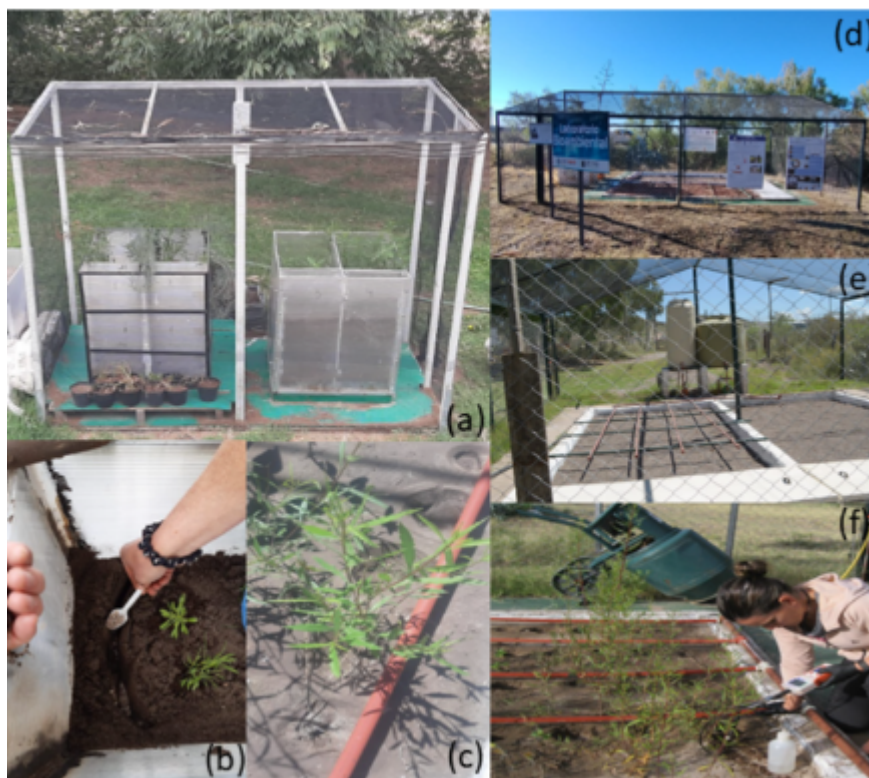


Figura 14. El Sistema fito-mico-remediador en Biorreactores (BR) (a-c) y Módulos de Depuración Vegetal (MDV) (d-f) usando plantas de *Baccharis salicifolia* y hongos formadores de la simbiosis micorriza arbuscular (a) en BR, con suelo blanco y suelo contaminado; (b) transplante en BR; (c) *B. salicifolia* en BR luego de 4 meses; (d) vista general de un MDV; (e) vista del sistema hidráulico del MDV; (f) sistema fito-mico-remediador en MDV en marcha.

Parámetro físicos-hidráulicos

Todos los cálculos fueron ajustados a la expresión teórica de la Ley de Darcy.

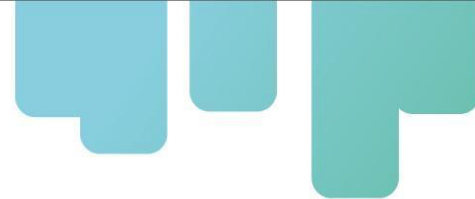
Los parámetros que se definen y pueden ser modificados son= Caudal de ingreso (Q_i); Caudal de egreso (Q_e); la porosidad (Φ). Por otro lado, existen parámetros que se definen en función de los previamente nombrados: Caudal promedio (Q); constante de permeabilidad (K_s); tiempo de retención (T_c); Capacidad de campo (WHC), Velocidad de Darcy (V_D) y Velocidad lineal promedio (V_a).

- Caudal de ingreso y egreso

Para la calibración del sistema en BR y MDV se mide la constante de permeabilidad tomando el caudal de ingreso (Q_i) como la cantidad de agua necesaria para cubrir 1 cm la capa superficial de sustrato y se registra el tiempo en que desaparece el agua en superficie. El caudal de egreso (Q_e) se registra como la cantidad de agua que sale a cámara colectora en la unidad de tiempo.

- Constante de permeabilidad

Para el cálculo de la constante de permeabilidad (k_s) aplicaremos la Ley de Darcy con la ecuación 1. El área perpendicular al flujo (A_c) en los MDV es 3×5 m mientras que en BR es de $0,3 \times 0,5$ m, y la



pendiente (s) es de 0,06 (6%).

- *Porosidad*

La porosidad (Φ) se mide al iniciar el experimento (luego de formarse los canales y microcanales de riego) como la relación entre el volumen registrado en la cámara colectora respecto del volumen ingresado en BR y MDV. Se realiza al inicio para que las raíces y los exudados producidos por las plantas y el bioma rizosférico no intervengan.

La porosidad (Φ) se calcula como el volumen recuperado en la cámara colectora dividido por el volumen total ingresado al BR y MDV.

La constante (K_s) y la porosidad (Φ) son parámetros físicos hidráulicos importantes que definen la escalabilidad entre BR y MDV. Para que el sistema se comporte a escala es necesario que sus K_s y Φ sean iguales.

- *Tiempo de retención*

Se registra el tiempo que tarda el líquido en salir a cámara colectora al inicio del experimento antes de la formación de canales de riego. Este parámetro está influenciado por la porosidad (Φ), la permeabilidad (K_s) y la capacidad de retención de agua (WHC).

- *WHC Capacidad de retención de agua*

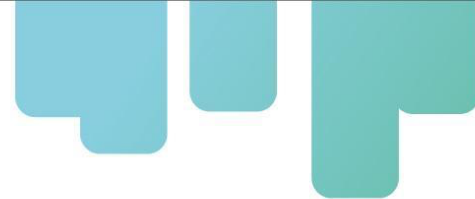
Este parámetro se registra como el peso de una cantidad de sustrato saturado menos el peso de esa misma porción de sustrato seco (luego de secarse en estufa a 100°C durante 48 hs y comprobar peso constante) dividido el peso de la porción seca.

Parámetros químicos-biológicos

- *Colonización micorrícica arbuscular*

Las plantas de *B. salicifolia* fueron inoculadas con hongos MA (llamadas M+) tal como se describe en Scotti *et al.* 2024, mientras que las plantas no inoculadas (llamadas M-) fueron el control. Las plantas crecieron en suelo contaminado con metal(oides) y en un suelo sin contaminación (tratamiento blanco).

Para determinar la colonización de las raíces por los hongos MA, se toma una submuestra de raíces de cada planta, previamente lavadas con agua corriente, y se sumergen en una solución de KOH (10%, p/v) durante 15 min a 90 °C. Tras descartar el KOH, las raíces se enjuagan con agua corriente, y se sumergen en HCl al 1% durante 5 min. Posteriormente, se tiñen con una solución de azul Tripán en ácido láctico (0,02%) durante 10 min a 90 °C. Por último, se descarta el colorante y las raíces se almacenan en solución ácido láctico:agua (1:1, VV) en oscuridad hasta su procesamiento. Para la determinación de la colonización micorrícica, se seleccionan al azar raíces teñidas y se colocan en portaobjetos 30 segmentos de 1 cm de longitud, los cuales se examinan bajo microscopio óptico con un aumento de 400x. El porcentaje de frecuencia de colonización (% F) se calcula como el porcentaje de segmentos de raíz que contienen alguna estructura MA (hifas, arbuscúlos, enrollamientos hifales o vesículas). El porcentaje de intensidad de colonización (% I) se estima clasificando los segmentos de raíz en diferentes clases de intensidad (1–20%, 21–40%, 41–60%, 61–80% y 81–100%), y el resultado se expresa como un



porcentaje de la siguiente manera: $10v + 30w + 50x + 70y + 90z / (v + w + x + y + z)$, donde v, w, x, y y z son el número de raíces en cada clase.

- Producción de glomalina

Para la determinación de glomalina, se toman muestras de suelo rizosférico de las plantas crecidas en el BR (o MDV) al final de la experiencia, y se almacenan a 4°C hasta su procesamiento. Para la extracción de glomalina fácilmente extractable (EE-GRSP), se autoclava (1,2 atm, 30 min) 1 gr de suelo seco en 8 mL de buffer citrato de citrato de sodio (pH 7,0), mientras que para la extracción de glomalina total (T-GRSP), se autoclava repetidamente 1 gr suelo seco en 8ml de buffer citrato 50mM (pH 8), centrifugando después de cada ciclo (3000 rpm, 15 min). Se recolectan los sobrenadantes tras cada autoclave hasta que la extracción adquiera una coloración rojiza. Las muestras se almacenan a 4 °C hasta su medición.

Las concentraciones de EE-GRSP y T-GRSP (mg por g de suelo seco) se determinan mediante el método de Bradford, utilizando un espectrofotómetro UV-Vis SP-2000 (Metertech Inc. Taipei. Taiwán) a 595 nm, y utilizando albúmina de suero bovino como estándar (Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MI, EE. UU.). Para los cálculos de la Tabla 2 se registró la cantidad de EE-GRSP y T-GRSP en BR y su extrapolación al MDV teniendo en cuenta el volumen total de sustrato en el MDV (2.25 m³) y la densidad del sustrato seco ($\delta_s = 1.2924 \cdot 10^6 \text{ g/m}^3$). Cabe destacar que el método de extracción y cuantificación es inespecífico, ya que aún no se ha desarrollado un procedimiento que permita obtener glomalina pura. Por ello, se estima un conjunto de proteínas del suelo relacionadas con la glomalina (*Glomalin Related Soil Proteins*, GRSP).

pH y ORP

Son parámetros que se miden con el instrumental requerido y es posible registrarlo al inicio, durante y final del experimento.

Con el fin de que sean extrapolables los resultados de escalas inferiores a superiores, los parámetros deben mantener la relación entre BR y MDV, con una relación de volumen de 100:1 y una relación de superficie de 10:1, garantizando al mismo tiempo que la constante de permeabilidad (Ks) se mantenga similar en ambos niveles de escalamiento. En particular, el parámetro de micorrización en los BR (Figura 15), es decir, medidos en el tratamiento inoculado (M+) o sin inocular (M-), fue comparado con valores obtenidos en un ensayo en MDV. Se esperaría que los valores de %F y %I se mantengan en el escalamiento, dado que las condiciones de crecimiento y ambientales son las mismas. En la Figura 15, se muestran los resultados de ambos parámetros en BR, observando que las plantas inoculadas (M+) en suelo contaminado poseen mayor % F y % I que las plantas no inoculadas (M-). El tratamiento blanco permite constatar la efectividad del inóculo, siendo mayor la colonización en aquellas plantas inoculadas. En cuanto a la micorrización de las plantas de *B. salicifolia* inoculadas en el MDV creciendo en suelo contaminado, alcanzaron una frecuencia de $33.33 \pm 12 \%$ y una intensidad del $32.7 \pm 2.7 \%$ (media $\pm$ el error estándar). Siendo levemente menor en el MDV.

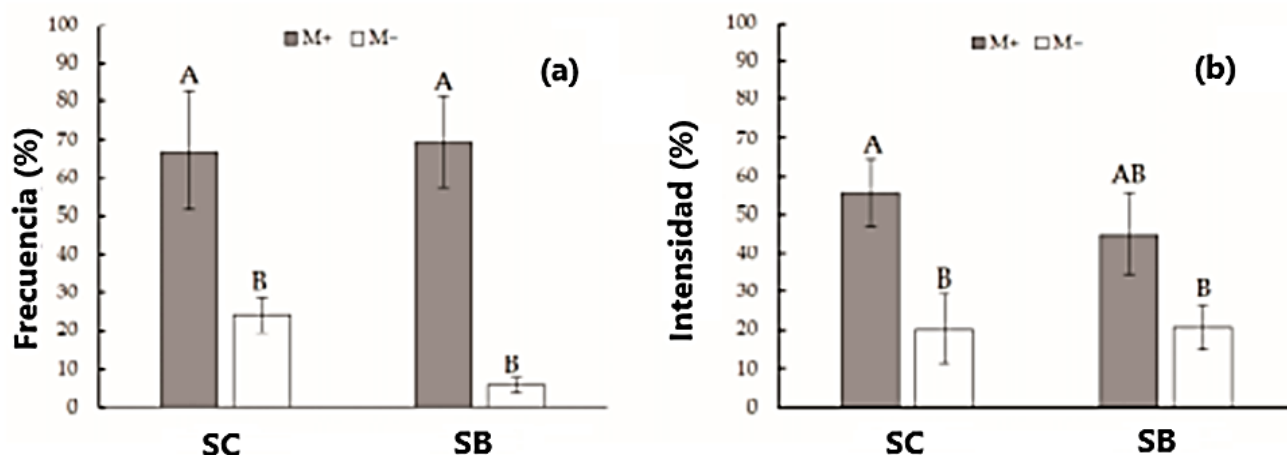


Figura 15. Porcentaje de frecuencia (a) e intensidad (b) de raíces colonizadas de micorrizas arbusculares en plantas inoculadas (M+) y no inoculadas (m-), con una mezcla de especies de HA cuando crecieron en suelo contaminada (SC) y suelo blanco (SB) en BR. Los valores corresponden a la media $\pm$ el error estándar. Las letras indican diferencias significativas (Test de Tukey, $p < 0,05$)

En cuanto a la producción de glomalina en los BR, se observó una tendencia a una mayor producción de EE-GRSP en los suelos contaminados de los tratamientos inoculados (M+) que los no inoculados (M-). Asimismo, la producción de T-GRSP fue significativamente mayor en tratamientos M+ que en los M-, siendo estadísticamente significativo en suelos contaminados (Figura 16). Tal resultado es esperable, dado la eficiencia del inóculo de HA utilizado y del sistema aplicado. La alta producción de glomalina en BR, y su extrapolación al MDV, estaría indicando una mejora en las propiedades edáficas, y posible interacción con los metal(oid)es. En el ensayo realizado en el MDV con plantas de *B. salicifolia* inoculadas crecidas en suelo contaminado, se obtuvieron valores equivalentes de EE-GRSP y TG-GRSP que en los BR, corroborando las extrapolaciones realizadas en esta NT (Cuadro 8).

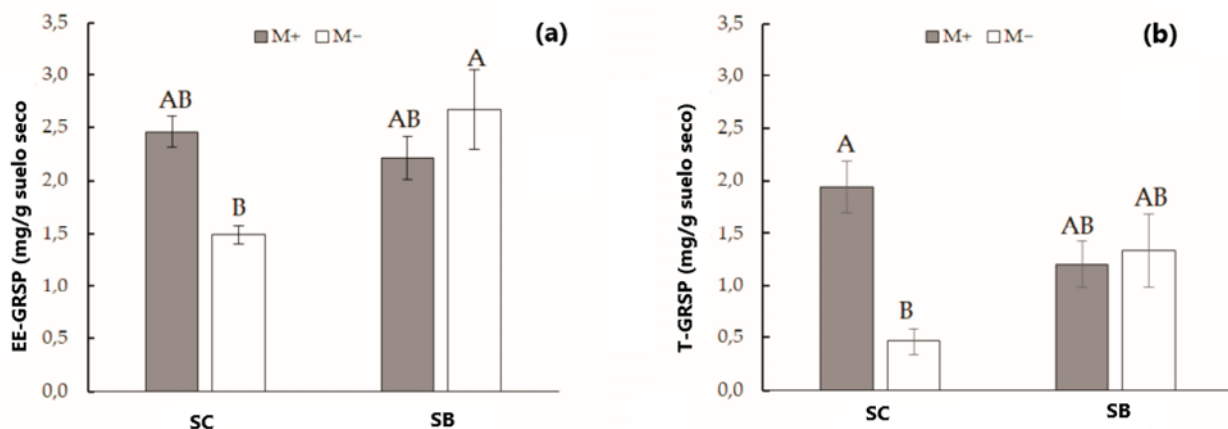
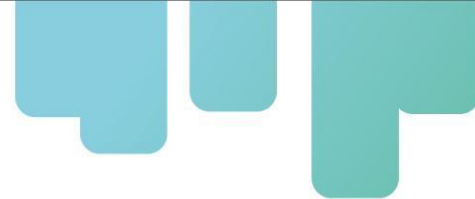


Figura 16. Concentración de glomalina fácilmente extraíble (EE-GRSP) (mg EE-GRSP por g de suelo seco) (a) y proteínas del suelo relacionadas con la glomalina total (T-GRSP) (mg de T-GRSP por g de suelo seco) (b) desde la rizosfera de las plantas inoculadas (M+) y no inoculadas (M-), con una mezcla de especies



de HA cuando crecieron en suelo contaminada (SC) y suelo blanco (SB) en BR. Los valores corresponden a la media $\pm$ el error estándar. Las letras indican diferencias significativas (Test de Tukey, $p < 0,05$).

En el Cuadro 9 puede observarse el aumento de la concentración de glomalina desde el tiempo inicial al tiempo final del experimento.

Cuadro 9. Concentración de proteínas del suelo relacionadas con la glomalina fácilmente extraíbles (EE-GRSP) y total (T-GRSP) (mg por gr suelo seco) en el módulo de depuración vegetal (MDV) bajo el tratamiento de suelo contaminado y la inoculación de HA en *Baccharis salicifolia*.

GRSP en MDV		
	T (mg g ⁻¹ suelo)	EE (mg g ⁻¹ suelo)
Suelo T0	1.38 $\pm$ 0.03	0.01 $\pm$ 0.01
<i>B. salicifolia</i> TF	1.54 $\pm$ 0.06	0.39 $\pm$ 0.02
Suelo TF cerca colectora	1.69 $\pm$ 0.10	0.39 $\pm$ 0.02

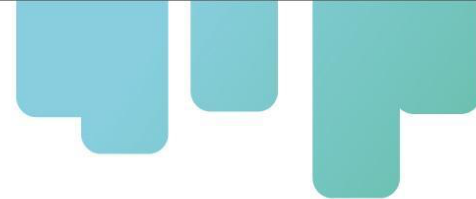
Los valores corresponden a la media $\pm$ el error estándar. Suelo T0: concentración de GRSP al inicio del experimento; TF: Final de la experiencia; Suelo TF: GRSP en suelo recolectado cercano a la cámara colectora.

En el cuadro 10 se encuentran los datos calculados en BR para suelo contaminado, y en MDV los resultados esperados cuando ambos sistemas se encuentran escalados.

Cuadro 10. Constantes hidráulicas, parámetros fisicoquímicos y cantidad de proteínas del suelo relacionadas con la glomalina fácilmente extraíbles (EE-GRSP) y proteínas del suelo relacionadas con la glomalina total (T-GRSP), medidos en los biorreactores (BR) y extrapolados al módulo de depuración vegetal (MDV) bajo el tratamiento de suelo contaminado y la inoculación de hongos micorrízico arbusculares. MDVt es el valor calculado teórico y MDVe es el valor experimental.

	Qi (m ³ /d)	Qe (m ³ /d)	Q (m ³ /d)	Ks (m ³ /d*m ²)	Tc (min)	V _D (m/d)	Va (m/d)	Φ	WHC	pH	Eh	GRSP	
												T (g)	EE (g)
BR	2.64	0.83	1.74	192.9	32	11.57	28.94	0.40	0.14	7.1	256	0.054	0.071
MDV t	264	83	174	193	32	11.57	28.94	0.40	0.14	7.1	256	5641	7150
MDV e	280	112	196	218	45	13,06	32.28	0.36	0.15	6.8	225	4914	1134

Qi: flujo de ingreso; Qe: flujo de egreso, Q: promedio Qi - Qe; Ks: constante de permeabilidad; Tc: tiempo de retención de líquido antes de salida a cámara colectora; V_D: velocidad de Darcy; Va: velocidad lineal promedio; ϕ : porosidad; WHC: capacidad de agua del sustrato; pH: medición de acidez; Eh: potencial redox; T-GRSP: proteínas del suelo relacionadas con la glomalina total; EE-GRSP: proteínas del suelo relacionadas con la glomalina fácilmente extraíbles.

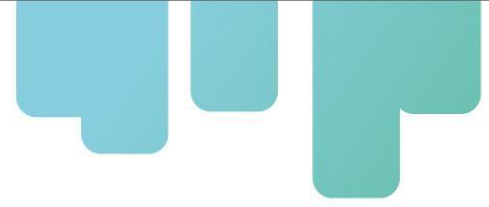


Como se mencionó con anterioridad caudal y porosidad deben mantenerse en ambos sistemas para que los parámetros físico-químicos, biológicos e hidráulicos no varíen al cambiar de BR a MDV.

En esta NT se determinó que las herramientas y metodologías planteadas, bajo los parámetros CF_{HQB} , fueron importantes para el escalamiento del sistema fito-mico-remediador desde TRL 4 a TRL 6. En este sentido, de Aldecoa Quintana (2014) señaló la importancia de realizar evaluaciones a escalas piloto (TRL 6), remarcando su importancia para no fracasar a mayor escalamiento en territorio (TRL 7). La vinculación entre el tiempo de retención hidráulico y la lixiviación fue discutido por Xu y colaboradores (2022), en donde simulaban un humedal artificial con ingreso de agua en forma de flujo vertical para analizar la salida de metal(oid)es utilizando BR con plantas micorrizadas. Los autores también destacaron la importancia del sistema de llenado, la permeabilidad y porosidad del sustrato usado. En este sentido, consideramos importante mantener los parámetros elegidos (CF_{HQB}) dentro de las condiciones exigidas por la ley aplicable, en este caso la Ley de Darcy. En este escalamiento consideramos el flujo vertical laminar con aireación en el momento de la entrada de agua, aplicando ley de Darcy en el VDM, tal como se describe en Scotti y colaboradores (2019).

El comportamiento de un humedal artificial depende principalmente de la hidráulica, la química y la permeabilidad del sustrato (Guittonny-Philippe *et al.* 2014). Un obstáculo frecuente que aparece en los humedales artificiales es el suministro inadecuado de oxígeno. Las condiciones de anoxia pueden ser condiciones estresantes para determinadas especies de plantas y los microorganismos implicados en el proceso remediador, y puede disminuir la eficiencia de la reducción del metal(oid)es (Akratos & Tsihrintzis 2007, Mena *et al.* 2008). Las CF_{HQB} propuestas para el funcionamiento del MDV, que favorecen un ambiente aeróbico y la eliminación de metal(oid)es, incluyen: el flujo de irrigación vertical (Mena *et al.* 2008), valores potenciales de redox y pH apropiados (Husson 2013), una alta densidad de biomasa de raíces, y el desarrollo efectivo de los HA en raíces y en el sustrato (Göhre & Paszkowski 2006). Todas herramientas y metodologías planteadas aquí fueron apropiadas para el escalamiento y la reproducibilidad del sistema fito-mico-remediador.

En esta NT se demuestra que la inoculación con cepas efectivas de hongos MA en plantas de la especie *B. salicifolia* crecidas en BR y MDV mantiene su funcionalidad durante el escalamiento. Además, contar con un tratamiento blanco en escalas menores (TRL4) resulta importante, ya que se ha comprobado que la inoculación de plantas con cepas resistentes a metal(oid)es representa una estrategia superadora en comparación con la micorrización por hongos ya presentes en el suelo (Scotti *et al.* 2024). En cuanto al parámetro de la concentración de glomalina, los resultados obtenidos en ambos sistemas (BR y MDV) fueron semejantes, lo que evidencia la efectividad del sistema en el escalamiento. Esta medición es importante de estimar ya que la glomalina está involucrada en el secuestro de metal(oid)es, al inmovilizarlos en el suelo, y reducir su biodisponibilidad, y por lo tanto menor toxicidad en la planta. Identificar el consorcio adecuado de planta hospedante y hongo MA es clave para optimizar la eficiencia en la fito-mico-remediación (Colombo *et al.* 2024). En este sentido, el consorcio de *B. salicifolia* y HA resistentes a metales pesados, resulta ser un candidato prometedor para la aplicación de nuestra tecnología. Por lo general, una alta tasa de colonización micorrícica se correlaciona positivamente con la producción de glomalina en el suelo (Zhang *et al.* 2022). En nuestro caso, los tratamientos con plantas inoculadas presentaron más contenido de glomalina en suelos

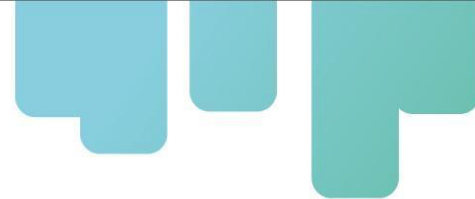


contaminados. Otro de los principales mecanismos de los hongos MA que limita la biodisponibilidad de metal(oid)es, es la acumulación de estos elementos en sus propias estructuras (esporas y micelio) (Benavidez *et al.* 2024). Los mecanismos mencionados pueden impactar en la disminución de la concentración de estos elementos en el suelo y en su lixiviación. La biomasa del sistema fito-mico-remediador es un importante factor para tener en cuenta en futuras experimentaciones, y en el estudio de la lixiviación de ciertos elementos.

En nuestros experimentos se tomaron muestras de líquido recolectas en la cámara colectora al final y a la mitad del experimento para evaluar la lixiviación y estimar el impacto ambiental en la contaminación de suelo y la cuenca hídrica. Hemos observado que la concentración de determinados elementos varió tanto en condiciones de inoculado y sin inocular, dependiendo también del elemento en cuestión. En este trabajo, hemos observado que algunos elementos pueden ser recuperados (extraídos en biomasa) desde el MDV bajo condiciones controladas de CF_HQB (Scotti *et al.* 2019). Por otra parte, al cambiar las CF_HQB, esos mismos elementos pueden ser estabilizados en el suelo (Colombo *et al.* 2024) debido a los mecanismos involucrados en el ingreso de estos elementos dentro de los microorganismos y las raíces, entre ellos la biodisponibilidad en el suelo, impactando en su lixiviación. Durante nuestros experimentos, tomamos muestras de líquidos recolectados en una cámara colectora al final y a la mitad del experimento para evaluar la lixiviación y estimar el impacto ambiental en la contaminación del suelo y la cuenca hídrica. En este trabajo, se encontró que algunos elementos pueden ser recuperados (extraídos en la biomasa) del MDV bajo condiciones controladas de CFHQB (Scotti *et al.*, 2019). Sin embargo, al modificar las CFHQB, esos mismos elementos pueden estabilizarse en el suelo (Colombo *et al.*, 2024), debido a los mecanismos que permiten su entrada en los microorganismos y las raíces, entre los que se incluyen la biodisponibilidad en el suelo, lo que influye en su lixiviación. En trabajos anteriores encontramos diferencias significativas en el lixiviado de Ni y P a cámara colectora en BR cuando *B. salicifolia* estaba inoculada con una mezcla de cepas de hongos micorrízicos provenientes de una mina argentina (Paramillos de Uspallata), mientras que el Cd no lixivió, disminuyó en el suelo, y aumentó significativamente en biomasa aérea (Scotti *et al.* 2024). Estos resultados podrían estar relacionados con la actividad microbiana que podría incrementarse en la micorrizósfera (zona del suelo bajo influencia de las raíces de las plantas y los hongos MA) debido a los cambios en la abundancia de microorganismos asociados con las hifas, tales como bacterias solubilizadoras de P y solubilizadoras de Ni (Becerra *et al.* 2011).

CONCLUSIONES

Las variables que han de ser tenidas en cuenta para el escalamiento son: 1- tipo de irrigación, 2- caudal de ingreso y egreso, 3- tiempo de retención de salida a cámara colectora, 4- constante de permeabilidad, 5-volumen de sustrato, y filtro de piedras, 6- capacidad de retención de agua, 7- porosidad, 8- velocidad de Darcy y promedio de velocidad lineal, 9- sistema simbiótico, registro de colonización radicular (intensidad y frecuencia), producción de glomalina (total y fácilmente extraíble), 10-oligo y macroelementos presentes, esenciales y contaminantes, pH, Eh, sustancias químicas exudadas y materia orgánica. Para el correcto escalamiento desde TRL 4 a TRL 6 se deben mantener en valores similares los parámetros 1, 3, 4, 6, 7, 9 y 10, mientras que los parámetros 2, 5, y 8 deben ajustarse de manera proporcional, teniendo en cuenta que 100 BR: 1 MDV en volumen.



La calibración de estas variables en TRL 4 utilizando BR permitió extrapolar las CF_{HQB} en MDV y el escalamiento del sistema fito-mico-remediador a TRL 6, siendo este nivel el paso previo para llevar la tecnología a territorio.

Al aplicar estas 10 herramientas metodológicas (CF_{HQB}) en la fase de escalamiento podemos inferir que la partición de metal(oid)es en suelo/biomasa/lixiviado, entre ellos el Cd, será reproducible al cambiar de TRL 4 a TRL 6. Sin embargo, con cualquier modificación en alguno de estos parámetros se obtendrán posiblemente resultados diferentes al cambiar la biodisponibilidad de los elementos químicos frente al bioproceso reductor de la solubilidad de Cd rizosférico propuesto en el proyecto.

RESULTADOS COMPONENTE 3. PRODUCTO 7.

Actividad 3.2: Alianzas para lograr el escalamiento en territorio.

Producto 7: 1 Monografía: Alianzas para lograr el escalamiento en territorio

La transferencia de conocimiento durante el proyecto fue gradual, desde las fincas modelo ecuatorianas y venezolanas hacia toda la población beneficiaria proyectada. Las instituciones y los países involucrados en este proceso son la UTM, FdV, GAD (Ecuador), ETD (Venezuela) y la agrupación de cacaoteros de Rio Caribe en Venezuela, conformando entre las instituciones, países y personas las redes de conocimiento adquirido, promocionando la comunicación entre productores y comunidad científica para incrementar la tasa de adopción de la metodología propuesta.

Par a elaboración de la monografía La metodología usada implicó la creación de redes entre los actores de este proyecto y otros semejantes, para favorecer la comunicación y permitir la continuidad y sostenibilidad a la terminación de la CT. Para ello, se han aplicado estrategias comunicacionales, técnicas de motivación neurolingüística, encuestas y estrategias organizacionales, con la participación de agentes capacitados certificados en el componente 1 de la transferencia.

Además, se han usado diversas herramientas para la divulgación efectiva de los resultados, tales como boletines, materiales audiovisuales, notas de prensa, la página web de FONTAGRO, publicaciones en blogs, webstories, FONTAGRO Tech, calendarios de eventos, registros fotográficos e informes según el MCyGC 2020 para la efectiva divulgación de los resultados. La institución y el país involucrado en esta fase es la EEZ-CSIC (España).

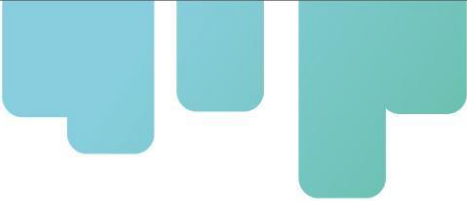
REDES FORMADAS

REDES participantes activas del proyecto

Los responsables de cada ente citado se encuentran especificados en el **Producto 10**.

Ecuador

- 1- Universidad Técnica de Manabí.
- 2- Gobierno Autónomo Descentralizado (GAD) Municipal, Cantón Portoviejo.
- 3- Asociación de Producción Agropecuaria Carrizal Cristalino (ASOCCRISTAL).
- 4- Fincas cacaoteras asociadas a la Corporación Fortaleza del Valle.

- 
- 5- Mesa Provincial del cacao
 - 6- Cooperación científica internacional entre la Facultad de Ingeniería Agrícola UTM y el Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Granada, España.
 - 7- Corporación Fortaleza del Valle.
 - 8- Universidad Tecnológica Nacional – Facultad Regional San Rafael
 - 9- Comisión Nacional de Energía Atómica International Center of Earth Sciences – Laboratorio Bioambiental.
 - 10- Universidad Nacional de Cuyo – Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
 - 11- Universidad de Buenos Aires –Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Departamento de Biodiversidad y Experimental Laboratorio de Microbiología del Suelo
 - 12- IBBEA CONICET Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental Aplicada
 - 13- Universidad de Granada, Departamento de Edafología y Química Agrícola a través de la Unidad Asociada “Biorremediación de suelos”
 - 14- Universidad degli Studi di Cagliari, e IGAG CNR - Italia

Venezuela

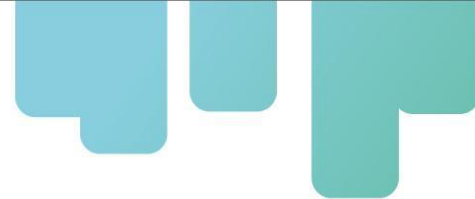
- 15- Empresa Turba Deltana.
- 16- Agrupación de cacaoteros de Rio Caribe.
- 17- Cooperación internacional con la Dra. Laurie Fajardo, Centro de Ecología, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas.

Dinámica: En Ecuador se relacionaron las Universidades con las asociaciones de agricultores con la participación del GAD en la realización de jornadas, capacitaciones y trabajos de campo. Se realizaron galerías fotográficas de los eventos y se realizaron trabajos en invernaderos con la participación de agricultores. Se relacionaron las universidades y centros de investigación entre sí generando eventos científicos, publicaciones, proyecciones de convenios y presentación a llamados de proyectos de investigación y participación en congresos, también se dictaron cursos de posgrado con la participación de las distintas universidades y centros de investigación de los países implicados en Fontagro, más la incorporación de Italia.

Para hacer más entendible la lectura del punto de sinergia se reemplazan los nombres de las instituciones por los números correspondientes al listado.

Sinergia: Producción de cepas fúngicas caracterizadas y conservadas en 11, 12 y 17- Banco de semillas de plantas hiperacumuladoras en 8 y 9. Preparación de biorreactores y módulo de depuración a TRL 4 y 6 en 8, 9 y 14.

Además de las universidades y centros de investigación (1,6,8,9,10,11,12,13,14), se utilizan también los canales de 2 y 5 para convocar a las asociaciones de productores (3,4,7,15,16) a la difusión, capacitación e incorporación de la biotecnología (bioproceso reductor)



Logros: Presentación de la red formada Ecuador-Argentina-España-Italia a llamados de proyectos I-Coop (CSIC), Virtus (Italia), Maeci-SINCyT (Italia-Argentina) con la misma temática y con fortalecimiento en la transferencia. Se incorporaron instituciones Comisión Nacional de Energía Atómica, Istituto di Geologia Ambientale e Geoingegneria Consiglio Nazionale delle Ricerche con proyectos de transferencia y temática de aislamiento y conservación de biotecnología industrial para transferencia. Pasantía de cooperación internacional para transferencia desde Argentina a Italia, Doctoranda Sofia Utge Perri. Armado y calibración de biorreactores en Italia. Transferencia del bioproceso a otros cultivos (Argentina-España). Transferencia de biorreactores desde Argentina a Italia. Transferencia del bioproceso a campos de fitominería y recuperación de materias primas críticas.

Proyección: Convenios marco y específicos entre Universidad Técnica de Manabí (Ecuador) y Universidad Técnica Nacional (Argentina) – Convenio específico entre UBA FCEN y Laboratorio Bioambiental CNEA- UTN – Convenio marco y específico entre IGAG y FCEN UNCUIYO

B- RED DE TÉCNICOS Y PRODUCTORES DE CACAO

Los responsables de cada ente citado se encuentran especificados en los productos **10** y **1**.

<https://www.fontagro.org/new/proyectos/bioproceto-cd/es>

Dinámica: La red de técnicos se encuentra en contacto permanente con los productores en Ecuador, esta interacción está favorecida por el GAD y por las asociaciones que nuclean a los productores. Nuestra interacción con los productores que participaron en el proyecto y los eventos realizados permitió el acercamiento de los técnicos los cuales también fueron llamados a participar de los eventos realizados.

Sinergia: Los técnicos actúan capacitándose para la transferencia del bioproceso, pero como apoyo de los productores emprendedores capacitados ya que se buscó que los mismos productores puedan actuar como “intermediarios tecnológicos innovadores” (ITI). El traslado desde los emprendedores hacia los técnicos ya organizados y convocados frecuentemente por el GAD y las asociaciones es para nosotros una segunda opción, qué si bien tiene todo el “aparato” para hacerla efectiva, en nuestro proyecto apostamos a un emprendedorismo desde los agricultores familiares.

Logros: Los productores de cacao que se capacitaron en nivel 2 manifestaron en algunos casos querer actuar como ITI armando los biorreactores con plantas de cacao jóvenes más semillas de hiperacumuladoras (provenientes del banco de semillas) a las que se les coloca las micorrizas provenientes de los bancos de glomeromycota y se regulan condiciones físico-químico-biológicas (mediante protocolo) con asistencia de la universidad y técnicos en el caso que fuese necesario.

Proyección: Empoderamiento de ITI mediante capacitaciones permanentes, generación de esta nueva “categoría de técnicos” búsqueda de apoyo desde diversos actores.

C- ECUADOR RED PÚBLICO-PRIVADA ACADÉMICA GUBERNAMENTAL

Los responsables de cada ente citado se encuentran especificados en el Producto 10.

- Universidad Técnica de Manabí
- Universidad Técnica de Manabí, Facultad de Ingeniería Agrícola
- Escuela Superior Politécnica de Manabí
- Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (Portoviejo)
- Asociación de Producción Agropecuaria Carrizal Cristalino, ASOCCRISTAL
- Instituto de Investigaciones Agropecuarias

Sinergia: Esta red está compuesta por los principales actores públicos pertenecientes a Ecuador que podrían transferir el bioproceso a los integrantes de ASOCCRISTAL. Es una primera transferencia desde el modelo propuesto a los integrantes de Fortaleza del Valle (socios de la CT y beneficiarios de las capacitaciones) hacia otra asociación de cacaoteros compuesta por mujeres. Es decir, capacitaciones a productores de ASOCCRISTAL, determinación de ITI dentro de ASOCCRISTAL para las funciones de armado de biorreactores, protocolo de armado de biorreactores, búsqueda en el sector académico de esporas y semillas hiperacumuladoras, reemplazo de plantas envejecidas de cacao por los nuevos bioprocesos en biorreactores para llevar a territorio.

Logros: Acercamiento a cada uno de los actores propuestos en la red, primeras charlas de convenios realizadas. Convenio ASOCCRISTAL – UTM realizado.

Proyecciones: Convenios en progreso.

D- RED DE PRODUCTORES ACOPIADORES DE CACAO Y AGRÓNOMOS DE ECUADOR

Los responsables de cada ente citado se encuentran especificados en el **Producto 10**.

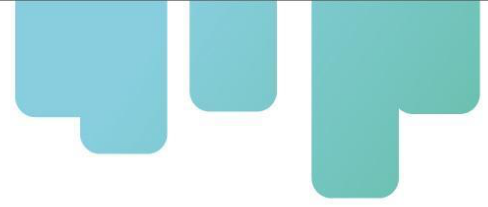
- Corporación Fortaleza del Valle
- Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIAP/Portoviejo
- Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIAP/Quevedo
- Universidad Técnica de Manabí

Sinergia y proyección: Esta red involucra a Fortaleza del Valle, socio de esta CT con actores referentes del INIAP y la UTM desde el sentido de otorgar fuerza al bioproceso, fortalecer esta red apunta a que frente a casos de fracasos en la transferencia debido a problemas técnicos/climáticos/imprevistos haya un canal directo desde el acopiador con la universidad que promueve el bioproceso y el INIAP a modo de dar confianza y solucionar los problemas que se presenten

E- RED DE ORGANIZACIONES CACAOTERAS

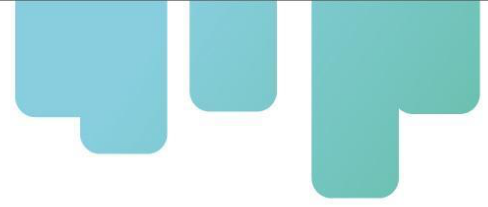
Los responsables de cada ente citado se encuentran especificados en el **Producto 10**.

- 1- Olmedo, Cooperativa de servicios agropecuarios CEDOCAO, GAD Municipal.
- 2- Bellavista, Comité pro mejora las Anonas, GADP.
- 3- NoboaAsociación de segundo grado el NAP, GADP.
- 4- La Unión, Comité de desarrollo comunitario 7 de Diciembre.
- 5- Honorato Vásquez, Comité de desarrollo comunitario Fino de Aroma.
- 6- San Pablo de Pueblo Nuevo, Asociación agropecuaria Los Colorados.



- 7- Portoviejo, Asociación de productores agrícolas cacaoteros unidos venceremos Higuerón Adentro.
- 8- San Placido, Corporación fino de aroma de San Placido.
- 9- Chirijos, Corporación agropecuaria Rio Chamotete, GADP.
- 10- Alahuela, Unión de productores de Alhajuela, GADP.
- 11- Junín, Municipio de Junín, GAD municipal.
- 12- Junín, Asociación de agricultores La Florida del sitio La Florida.
- 13- Junín, Asociación de pequeños agricultores dos bocas.
- 14- Calceta, Unión de organizaciones campesinas del Cantón Bolívar UOCCAB.
- 15- Membrillo, Asociación artesanal La Pepa de Oro Membrillo.
- 16- Membrillo, Asociación de Productores Agropecuarios "Puerto Alto".
- 17- Pichincha, Asociación de producción agropecuaria de los pequeños productores Piedra de Plata.
- 18- Barraganete, Asociación agropecuaria Barraganete Central, GADP.
- 19- Chone, Asociación agropecuaria El Progreso de Tablada de Sánchez.
- 20- Convento, Asociación de producción agropecuaria Convento.
- 21- Ricaurte, Asociación agropecuaria de Segundo Grado Ricaurte (La Auténtica de Ricaurte).
- 22- Ricaurte, Asociación agropecuaria Rio Santo.
- 23- Eloy Alfaro, Asociación de productores de Cacao del Sitio Las Piedras Gran Cacao.
- 24- Chibunga, Asociación de emprendedores productivos de la Parroquia Chibunga, Presidenta Aso.
- 25- San Isidro, Unión de organizaciones campesinas de San Isidro UOCASI.
- 26- San Isidro, Centro de negociación campesina UOCASI.
- 27- Zapallo, Asociación agropecuaria zapallito ``ASOGROZAP``.
- 28- Zapallo, Comuna trabajemos juntos.
- 29- Wilfrido Loor, Asociación agropecuaria Asomai.
- 30- Santa María, Corporación agropecuaria de pequeños agricultores Manga del Cura.
- 31- Pedernales, Municipio de Pedernales, GAD Municipal
- 32- Pedernales, Unión de asociaciones agropecuarias del norte de Manabí UNAANM.
- 33- Cojimíes, Asociación agropecuaria TATIFEMECH.
- 34- Cojimíes, Asociación de campesinos para el desarrollo productivo y comunitario del Sector Mache ASOMACHE.

Sinergia: Esta red es la que hay que incorporar de modo progresivo en futuras transferencias. La progresividad es importante ya que el bioproceso requiere bioinsumos que deben ser producidos y eso implica un grado de organización, escalamiento, análisis de inversión, start up, generación de empresa de base tecnológica o alguna herramienta para poder asistir a todo el sector.



Logros: Bioproceso patentado, otorgamiento de un proyecto de capital semilla para la generación de una empresa de base tecnológica- Convenio entre el Laboratorio de Microbiología del suelo de la FCEN UBA y el Laboratorio Bioambiental CNEA UTN.

Proyección: Se está trabajando en la conformación de una empresa de base tecnológica.

F- Entidades INTERNACIONALES Públicas de investigación

Los responsables de cada ente citado se encuentran especificados en el Producto 10.

CONSIGLIO NAZIONALE DELLE RICERCHE (CNR) ISTITUTO DI GEOLOGIA AMBIENTALE E GEOINGEGNERIA (IGAG) Sedes Roma y Cagliari

Dinámica: Se trabaja en conjunto con el IGAG para la extracción de metales pesados y otras materias críticas de interés desde biomasa, utilizando técnicas de hidrometalurgia y electrodeposición para recuperar estos elementos críticos y estratégicos en forma sólida.

Sinergia: Este grupo de investigadores italianos ha participado en la transferencia del bioproceso para su aplicación en fitominería y recuperación de materias primas críticas desde biomasa. El trabajo conjunto permitió armar biorreactores en Italia e incorporar otras disciplinas como la teledetección en los esquemas de biorremediación.

Logros: Se realizó una transferencia en Italia del bioproceso para su aplicación en seguridad alimentaria mediante publicaciones, conferencias y presentaciones a congresos. Se incorporó al grupo italiano en las investigaciones y trabajos realizados para Fontagro, se realizaron presentaciones del proyecto Bioproceso reductor de la solubilidad de cadmio rizosférico en conjunto con el IGAG en los E-ICES 17 y 18. Se envió a una pasante doctoranda del Laboratorio de Microbiología del Suelo UBA, integrante de Fontagro y consultora para entrenamiento durante 9 meses al IGAG Italia.

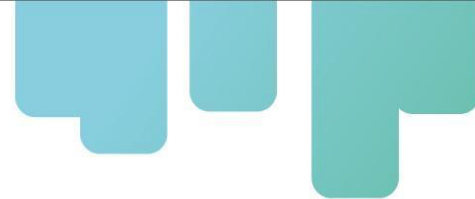
Proyección: Se está preparando una proyección en seguridad alimentaria, presentación a llamados de unión europea y convenios con la Universidad Nacional de Cuyo.

G- INTERNACIONALES EUROPEAS GUBERNAMENTALES

Los responsables de cada ente citado se encuentran especificados en el **Producto 10**.

- 1- Consejero por la cultura y la innovación de la Región del Friuli Venezia Giulia
- 2- Embajada de Ecuador en Argentina – Consulado de Ecuador en Mendoza
- 3- Embajada de Italia en Argentina

Dinámica: Tanto el consejero por la cultura y la innovación de la Región del Friuli Venezia Giulia, el Agregado Científico de la Embajada de Italia en Argentina como la Cónsul de la Embajada de Ecuador en Mendoza, están en contacto con integrantes de las redes mencionadas específicamente la red A, esto nos permite estar informados frente a convocatorias, eventos de difusión, invitaciones a conferencias etc. El apoyo de estas esferas internacionales favorece la concreción de actividades de difusión y transferencia.



Logros: Se dio una conferencia sobre el proyecto Fontagro en la región del FVG y se estimuló a la transferencia a zonas productivas de Italia. La Embajada de Italia en Argentina a través de su Agregado Científico propició un intercambio de científicos de italianos y argentinos de la red A. La Cónsul de Ecuador también está en contacto para favorecer la transferencia a los productores ecuatorianos ofreciendo su colaboración.

Proyección: Presentar una propuesta de intercambio para poder trabajar más en territorio con el bioproceso.

ORGANIZACIONES NO GUBERNAMENTALES DE MUJERES

ASOCIACIONES DE MUJERES PRODUCTORAS-ASOCIACIÓN DE PRODUCCIÓN AGROPECUARIA CARRIZAL CRISTALINO, “ASOCCRISTAL”.

CONVENIOS VIGENTES DE COOPERACIÓN ENTRE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ Y LAS INSTITUCIONES PÚBLICAS Y PRIVADAS PARTICIPANTES EN LA EJECUCIÓN DEL PROYECTO FONTAGRO

1- CONVENIO MARCO DE COOPERACIÓN INTERINSTITUCIONAL ENTRE EL GOBIERNO AUTÓNOMO DESCENTRALIZADO PROVINCIAL DE MANABÍ (GAD) Y LA UNIVERSIDAD TECNICA DE MANABI.

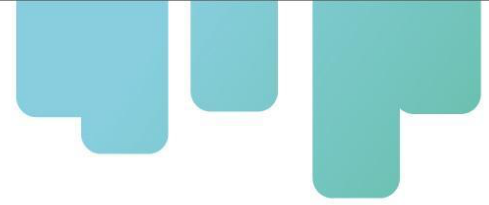
El objetivo del presente Convenio es establecer bases académicas que permitan: (a) la colaboración en campos de interés común, y el desarrollo de buenas prácticas en los ámbitos de la docencia, investigación y vinculación a través de actividades que impulsen la transferencia de conocimientos que aporten a los objetivos que cada institución persigue. La cooperación entre ambas instituciones centrará su apoyo y vinculación con el fortalecimiento y trabajo en los ámbitos de los cuales se detalla:

1. Apoyo a Programas de Desarrollo Humano y Profesional.
2. Formación y desarrollo de Programas de Posgrado (Maestrías y/o Doctorados).
3. Seminarios y simposios.
4. Estudios conjuntos de investigación.
5. Contribuir institucionalmente en la elaboración y publicación de artículos científicos en revistas de alto impacto.
6. Desarrollo de Prácticas Pre Profesionales.
7. Coparticipación en proyectos de vinculación.
8. Intercambio de experiencias.
9. Intercambio de información.
10. Encuentros sociales, culturales y deportivos.
11. Usos de los laboratorios e instalaciones de ambas partes.
12. Apoyo en actividades relacionadas con la gestión ambiental, agroindustria, emprendimientos comunitarios liderados por mujeres, y fortalecimiento de capacidades.
13. Otras actividades de cooperación acordadas entre ambas partes.

2- CONVENIO ESPECÍFICO INTERINSTITUCIONAL ENTRE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ Y LA CORPORACIÓN FORTALEZA DEL VALLE PARA EL DESARROLLO DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

El objetivo central del convenio firmado entre la UTM y la Corporación Fortaleza del Valle es determinar el potencial productivo de los clones de cacao INIAP y fortalecer las capacidades productivas locales, mediante capacitaciones en parcelas de aprendizaje y difusión de los resultados generados.

La corporación Fortaleza del Valle está conformada por cuatro asociaciones agrícolas “Valle del Carrizal, La Fortaleza, Quiroga, y Río Grande de Canuto”, ubicadas en los cantones de Bolívar, Tosagua, Chone, Junín y Portoviejo con un total de más de 980 socios. Su objetivo principal es promover la producción y comercialización de cacao nacional fino y de aroma con certificación orgánica, y comercio justo,



promoviendo así el desarrollo social, económico y medioambiental de sus miembros y familias. El manejo del cacao se realiza a través de un riguroso sistema agroforestal y un exhaustivo control de calidad que garantiza su exquisito aroma y sabor suave y floral.

3- CONVENIO MARCO DE COOPERACIÓN INTERINSTITUCIONAL ENTRE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ Y LA ASOCIACIÓN DE PRODUCCIÓN AGROPECUARIA CARRIZAL CRISTALINO, “ASOCCRISTAL”.

El objetivo del presente convenio es establecer bases académicas que permitan la colaboración en campos de interés común, y el desarrollo de buenas prácticas en los ámbitos de la investigación y vinculación a través de actividades que impulsen la transferencia de conocimientos que aporten a los objetivos que cada institución persigue. La cooperación entre ambas instituciones centrará su apoyo y vinculación en el fortalecimiento de programas de desarrollo humano y profesional mediante la coparticipación en proyectos de vinculación en actividades relacionadas con la gestión ambiental, agroindustria, emprendimientos comunitarios liderados por mujeres, y fortalecimiento de capacidades.

ESTRATEGIA DE INTERACCIÓN

El esquema de interacción propuesto vincula los diferentes actores y remarca las conjunciones a sostener para la sostenibilidad en el tiempo (Figura 17).

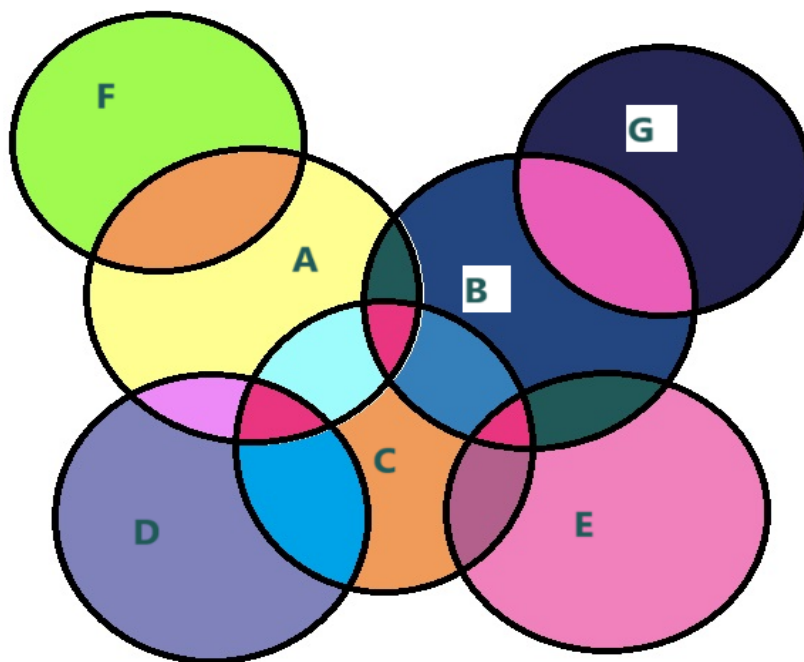
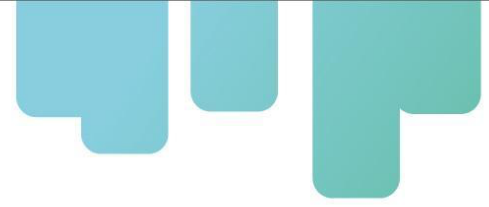


Figura 17: Esquema de interacciones entre las redes descritas como estrategia de sustentabilidad. A- Redes participantes activas del proyecto, tanto iniciales como agregadas, B- Red de técnicos y productores de cacao, C- Red público-privada-académica-gubernamental de Ecuador, D- Red de productores, acopiadores de cacao y agrónomos de Ecuador, E- Red de organizaciones cacaoteras, F-



Entidades públicas de investigación internacionales; G- Entidades gubernamentales internacionales europeas no académicas

- *Fase 1: Interacciones*

De la interacción entre A y B se genera la sinergia entre los actores del proyecto, componentes del sector académico, privado, gubernamental y los productores. A su vez los productores que integran bases de datos independientes del proyecto y los capacitados a través de la CT y diferenciados en Nivel 1 y Nivel 2 son los amplificadores para la sostenibilidad de la propuesta. La participación de entes europeos y de LAC en cuanto a sectores diplomáticos, como las embajadas, los agregados científicos, aportes internacionales gubernamentales académicas y no académicas (grupo F, G y H) son potenciadores del grupo A.

El grupo C (red público-privada académica gubernamental de Ecuador) juega un rol importantísimo en el cuidado de las normas de producción orgánica, limpia, sustentable y en el cuidado de las estructuras de comercialización. A su vez el grupo C se ve potenciado por el grupo E (red de asociaciones cacaoteras) que tienen su peso a la hora de poner en práctica las decisiones políticas institucionales y educativas de los actores del grupo C.

El grupo D compuesto por los técnicos de sectores públicos y privados, actúa de modo transversal y compone un soporte tanto para el grupo C como para el grupo A.

Otro grupo que actúa también en forma transversal es el grupo I compuesto por organizaciones no gubernamentales de sectores minoritarios en fortalecimiento como las asociaciones de mujeres productores de cacao de Ecuador y Venezuela.

- *Fase 2: Incorporación de la Biotecnología en las interacciones marcadas en color*

La colocación de la biotecnología a nivel de reconocimiento para la difusión en niveles de universidades, asociaciones no gubernamentales y técnicos gubernamentales y privados, es un factor importante para la sostenibilidad. Para ello es necesario que los insumos para la puesta en marcha de la biotecnología estén disponibles en esos sectores, organizar su producción y distribución. Estas acciones deberían estar en manos de las personas designadas que componen las conjunciones A, B y C.

Un modo de llegar a este punto crucial para la sustentabilidad es ir nombrando con nombre apellido y datos de contacto cada una de las conjunciones coloreadas A, B y C diferentemente y que involucren a 2 grupos para luego ir agregando las conjunciones de 3 grupos que son las que se definen como estratégicas.

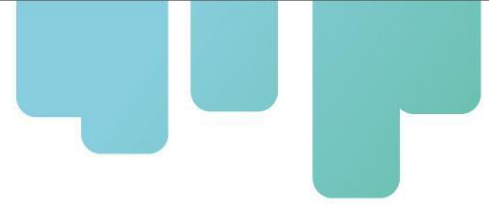
A modo de ejemplo se presenta la siguiente propuesta:

Interacción A-B-C

Actividad: puesta en marcha de biorreactores con el bioproceso- Coordinador: Profesor con experiencia y capacitación referenciada.

Interacción A-C-D

Actividad: producción de microorganismos y especies vegetales (Banco de semillas y Banco de Glomeromycota) – Coordinador: Profesor con experiencia y capacitación referenciada.



Interacción B-C-E

Actividad: entrega de insumos (microorganismos, plantines micorrizados, biorreactores) a los productores que solicitan la solución biotecnológica.

CONCLUSIONES

La generación de alianzas para lograr objetivos permitió tener bases de datos de diversos actores y convenios específicos tales como: CONVENIO MARCO DE COOPERACIÓN INTERINSTITUCIONAL ENTRE EL GOBIERNO AUTÓNOMO DESCENTRALIZADO PROVINCIAL DE MANABÍ (GAD) Y LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ, CONVENIO ESPECÍFICO INTERINSTITUCIONAL ENTRE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ Y LA CORPORACIÓN FORTALEZA DEL VALLE PARA EL DESARROLLO DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN y CONVENIO MARCO DE COOPERACIÓN INTERINSTITUCIONAL ENTRE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ Y LA ASOCIACIÓN DE PRODUCCIÓN AGROPECUARIA CARRIZAL CRISTALINO, “ASOCCRISTAL”, que ayudan a la incorporación de biotecnología en el sector para hacerlo más competitivo frente a la problemática del cadmio y otras que pudieran presentarse a futuro. Además, la interacción del sector académico local, regional e internacional fortalece la búsqueda de nuevas soluciones frente a estas problemáticas.

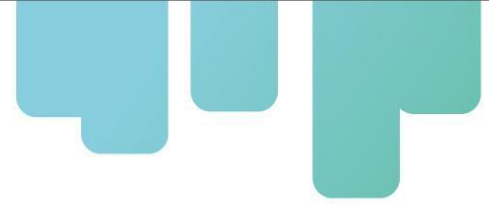
Las alianzas logradas, las bases de datos y los convenios permiten fortalecer la sustentabilidad del proyecto a la finalización de la CT y generar nuevos desafíos frente a nuevas problemáticas.

RESULTADOS COMPONENTE 3. PRODUCTO 8.

Actividad 3.3: Análisis no experimental de impacto socio-económico, ambiental, tecnológico y género

Producto 8: 1 *Monografía* con el detalle del *análisis no experimental de impacto* socio-económico, ambiental, tecnológico y de género ex ante y ex post.

Se realizó el análisis de impacto del proyecto ANT/RF-18951-RG, el cual, si bien comenzó en el año 2021, se vió demorado por la pandemia COVID-19, empezando realmente en 2022 y finalizando en 2025 (4 años de proyecto). La metodología empleada fue el análisis no experimental de impacto socio-económico, ambiental, tecnológico y de género ex ante y ex post, aplicando: a) análisis de estadísticos de regresión lineal múltiple para verificar cambio estructural, b) análisis de la ponderación aplicada a los aspectos socio-económico, ambiental, tecnológico y de género en el Índice Multiparamétrico (IM) aplicado, c) análisis de score en matrices salidas de encuestas seleccionadas para la cuantificación de cada parámetro y d) análisis de indicadores cuantitativos en los aspectos social de género y educativo. Para la situación previa al proyecto se analizaron N= 953 casos y para la situación post proyecto N=603 casos. Los resultados mostraron un cambio estructural antes y después del proyecto en el aspecto tecnológico. Además, hubo un cambio de score en los aspectos ambientales, institucional y de género. Por otro lado, el proyecto presenta potencialidad para el escalamiento y es sustentable. El aspecto socio económico, vinculado a la actividad cacaotera no pudo verificarse debido a que es necesario un tiempo mayor de inserción de la tecnología en territorio, pero los factores que hacen a la sustentabilidad presentaron un muy buen score por lo que se infiere que el proyecto podrá alcanzar el escalamiento



buscado en un futuro cercano, es decir cuando los nuevos plantines estén en producción y las plantas envejecidas se reemplacen por nuevos plantines con el bioproceso, y creemos que se podrá verificar la permanencia en el mercado internacional y buen precio de cacao Ecuatoriano. En el análisis ex antes se consideró el aspecto socio económico con la mayor ponderación (0,22 en el IM), lo cual es correcto ya que es el fin del proyecto, pero el mayor impacto fue tecnológico ambiental ligado al bioproceso. En términos educativos y científicos se defendieron tesis de grado y postgrado y se publicaron artículos de investigación por arriba del número proyectado inicialmente alcanzando más de 16 eventos, más de 10 artículos publicados en revistas de alto impacto, más de 10 trabajos completos en proceedings y capítulos de libros, más de 21 presentaciones a congresos, 1 tesis doctoral finalizada, 3 tesis doctorales en curso, 3 tesis de grado finalizadas y 8 tesis de grado en curso. En cuanto a beneficiarios se capacitó a 931 agricultores familiares, alcanzando a 3452 personas de las cuales 1646 son mujeres y se capacitó a 189 estudiantes, tesis y emprendedores provenientes de las universidades y público interesado.

Los Indicadores principales diseñados en la comisión técnica (CT) fueron:

Tecnológicos ambientales: a) valor del CBr,a (coeficiente de bioacumulación aéreo y radicular) del Cd en el cacao, b) cantidad de herramientas de Agricultura 4.0 utilizadas;

Socio-educativos: a) personas capacitadas/empoderadas, b) tesis recibidos;

Económicos: a) ingreso/familia, b) capacitados realizando tareas remuneradas directa o indirectamente;

Género: cantidad de mujeres involucradas (rurales, técnicas, profesionales, emprendedoras);

Organizacionales: cantidad de organizaciones civiles formadas/empoderadas.

Institucionales: cantidad de propuestas de marcos legales para la sustentabilidad de la CT;

Gestión del conocimiento: cantidad de documentos generados y redes.

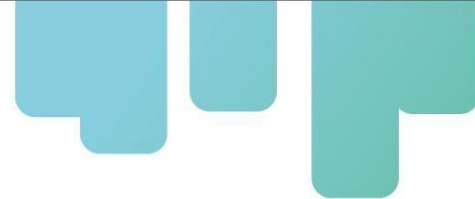
Los indicadores fueron clasificados y ponderados para hacer una cuantificación mediante Índices Multicriterios y cuantificación no experimental del impacto.

Para el armado de la línea de base se trataron indicadores socio económicos relativos a la actividad cacaotera, la percepción de progreso de la actividad, las iniciativas de capacitación y la rentabilidad. Se indagó sobre el sector cacaotero en la región incluyendo indicadores de género, cooperativismo, colaboración asociativa, comercialización, experiencia en la actividad y tamaño de fincas productivas, incluyendo cantidad de plantas. Se tuvieron en cuenta indicadores cuantitativos y cualitativos.

El año de partida del proyecto es el 2021 en contexto de COVID en Ecuador, un país muy golpeado por la pandemia, sintiéndose el malestar en el sector cacaotero también.

Principales parámetros de la línea de base

La mayoría de los productores tenidos en cuenta para el armado de la línea de base (953 agricultores familiares) tienen menos de 5000 plantas de cacao y menos de 5 ha (Figuras 18 y 19). Podemos ver en el gráfico 36 y 35 que la conformación del sector cacaotero analizada es principalmente de pocas hectáreas y la mayoría vive en las fincas, todo el grupo familiar está comprometido con la actividad por lo tanto es de carácter familiar. Se puede ver que para la mayoría de los productores las hectáreas improductivas son menos de 2, pero en 6 casos observamos mayor o igual a 60 hectáreas improductivas, no sabemos si las razones son debidas a problemas de suelo o circunstancias económicas o de manejo. En la Figura 20 podemos ver el rendimiento en quintales de cada productor.



Se puede observar la heterogeneidad en el rendimiento, es decir en la cantidad de quintales en función de las plantas y las hectáreas. Esto es debido a las diferencias tecnológicas entre los agricultores. Hay una fuerte concientización en la incorporación de tecnología, buenas prácticas de manejo, asistencia técnica brindada por las asociaciones, las universidades y el gobierno.

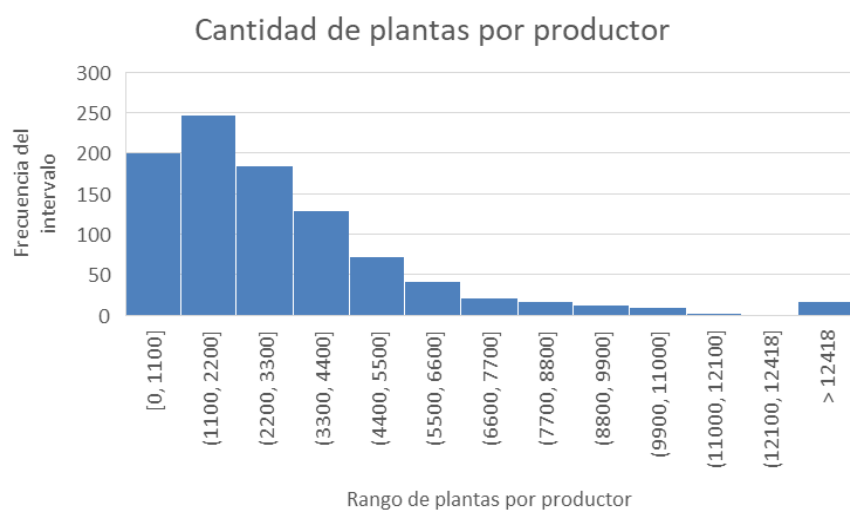
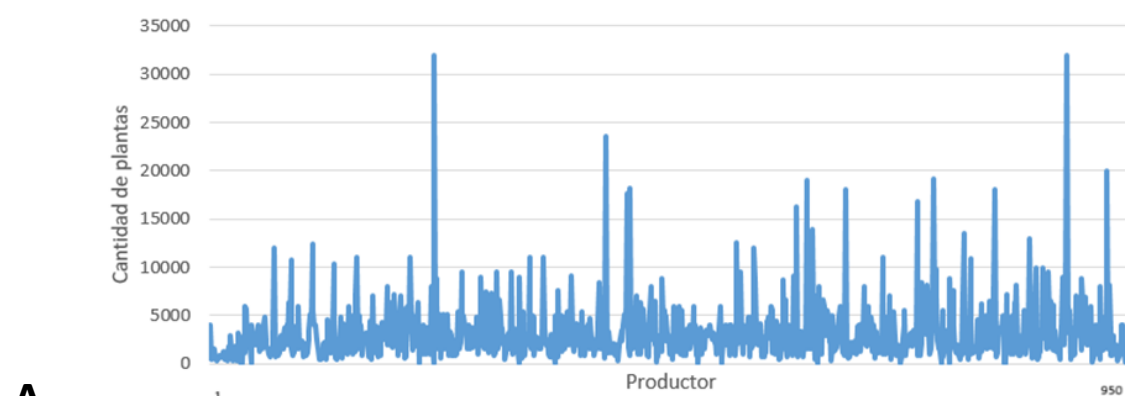


Figura 18: a) Cantidad de plantas por productor; b) Histograma de la cantidad de plantas por productor.

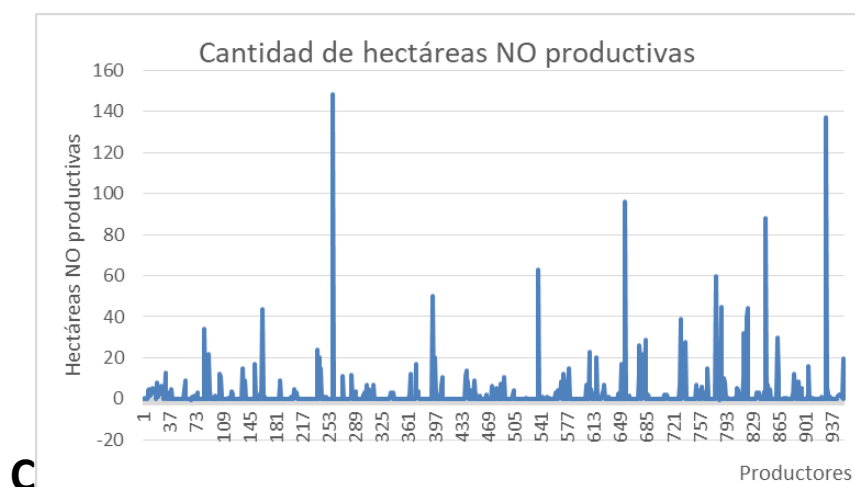
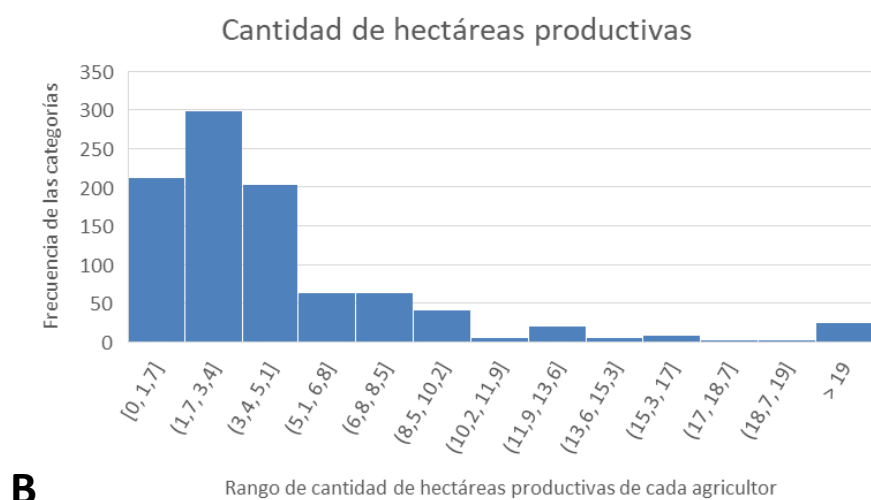
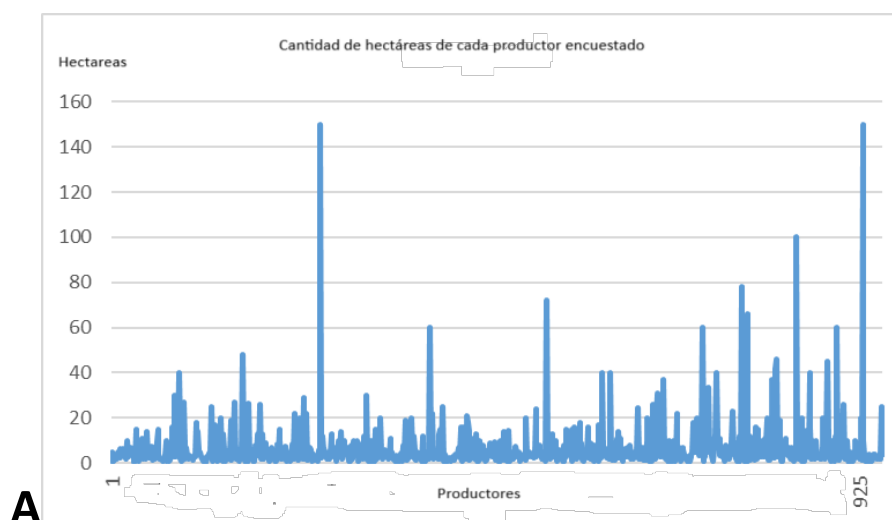
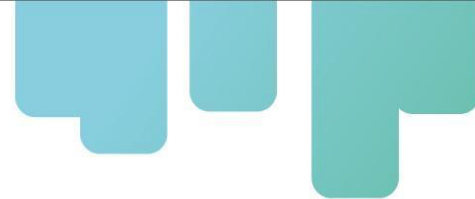


Figura 19. a) Cantidad de hectáreas de cada productor; b) Histograma de la cantidad de hectáreas productivas por agricultor; c) Distribución de la cantidad de hectáreas No productivas por productor.

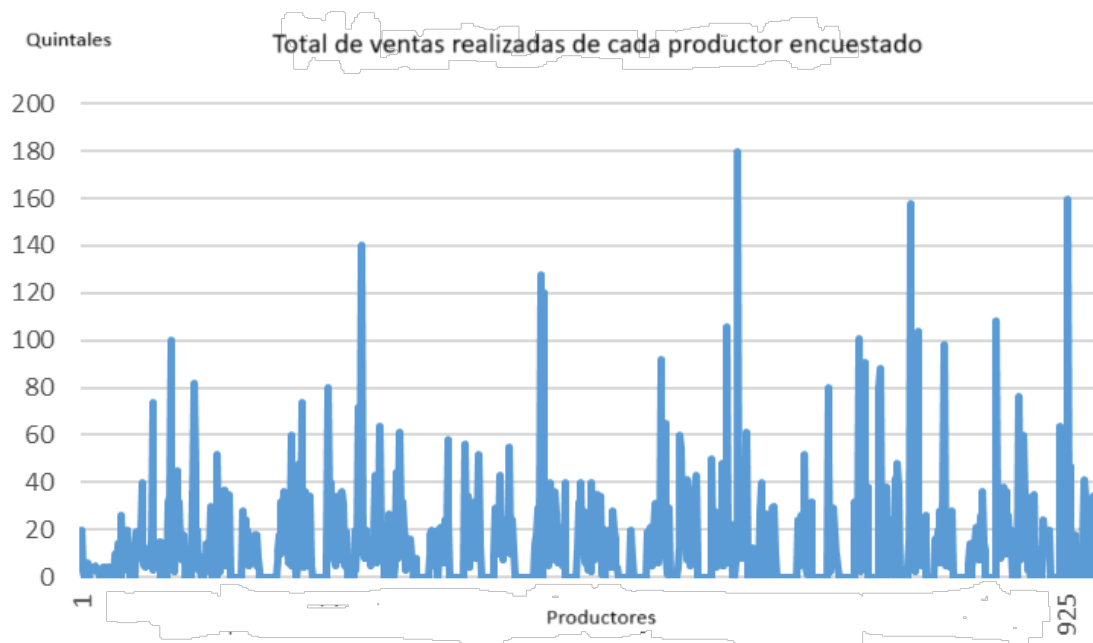


Figura 20. Total de ventas realizadas por cada productor encuestado

En la Figura 38 podemos ver cómo la mayoría de los productores (99%) quieren seguir capacitándose ya que lo ve reflejado en su productividad, y las capacitaciones previas le resultaron de ayuda para un mejor manejo de la actividad. En la figura 21 vemos que el 80% de las familias agricultoras de cacao han recibido asistencia técnica. También se analizó el número de plantas por hectárea productiva y los quintales vendidos por hectárea productiva, estos resultados se pueden encontrar en la página del FONTAGRO donde se encuentra el **producto 8** publicado.

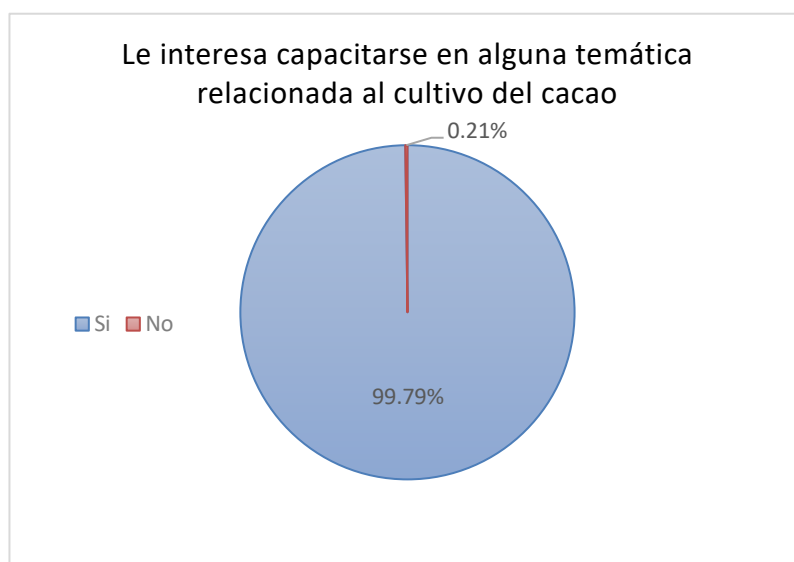


Figura 21. Interés en la capacitación para las buenas prácticas en la producción de cacao

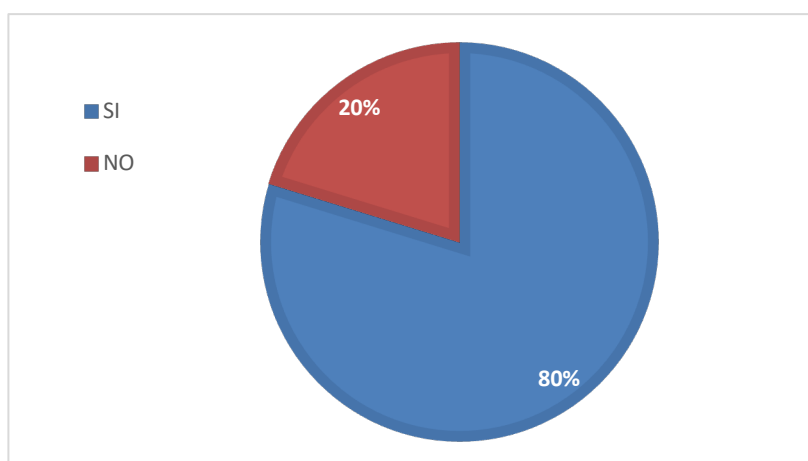


Figura 22. Distribución de familias que recibieron asistencia técnica

Además, otro factor importante es el hecho de que para muchos productores el cacao es su principal ingreso. En la Figura 23 podemos ver que para la mayoría de los productores el cacao es su único ingreso o aporta más del 50% de los ingresos familiares. En la Figura 24 podemos observar que el porcentaje de productores cacaoteros que dependen de la actividad es del 74 % (suma de la clasificación 1 más 2).

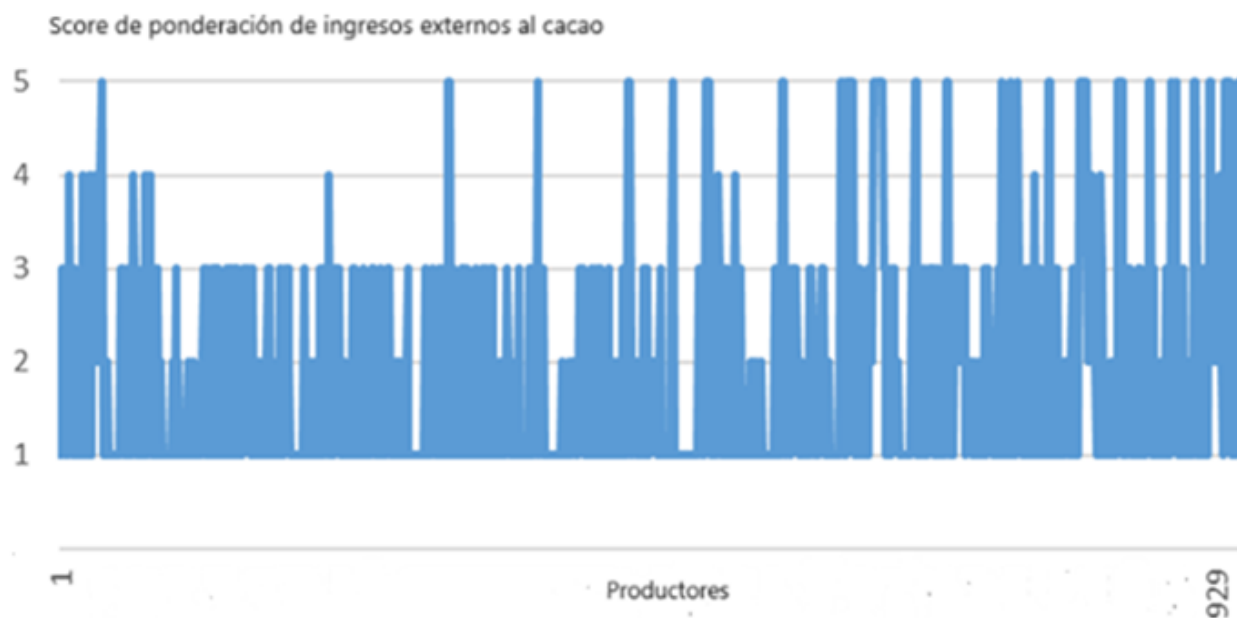
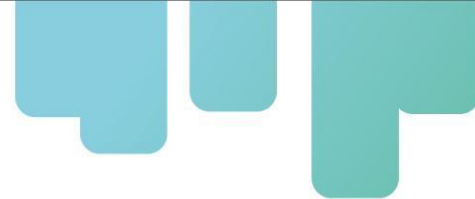


Figura 23. Distribución de la importancia del cultivo de cacao en los ingresos familiares. 1- Muy Importante: Ingreso debido al cacao mayor al 90 % del ingreso familiar o único. 2- Importante: El 50 % o más del ingreso familiar depende del cacao. 3- Algo importante / poco importante: el ingreso familiar no depende del cacao, pero cubre un porcentaje menor al 50 %. 4- Nada importante: El ingreso familiar no depende del cacao. 5- No responde

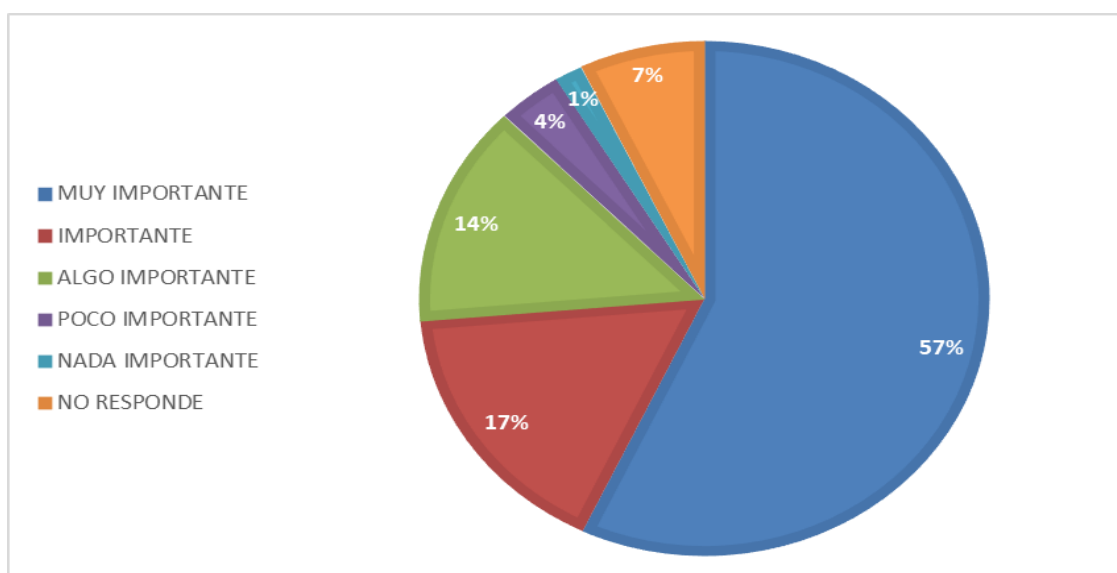
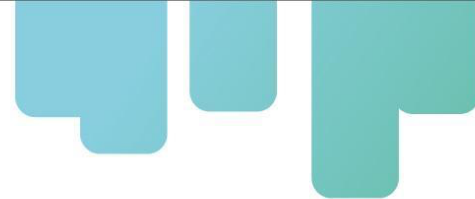


Figura 24. Importancia del cacao en los ingresos familiares



En el análisis de la línea de base pudimos notar una fuerte desigualdad en la participación de las mujeres, tanto sea en las capacitaciones como también en el momento de registrarse como trabajadoras del sector cacaotero. En la Figura 25 observamos la desigualdad: 24 % femenino y 76 % masculino.

La mayoría de los productores se encuentra asociado a una estructura no gubernamental que le brinda asesoramiento, asistencia técnica e interviene en las ventas. En la Figura 26 vemos la distribución de las asociaciones. En esta CT la corporación Fortaleza del Valle es asociada y es sobre los socios de esta corporación con los cuales vamos a trabajar en este proyecto.

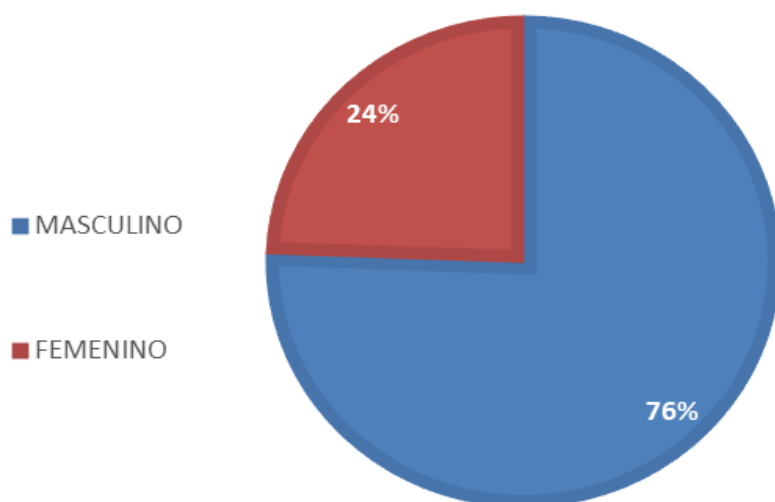
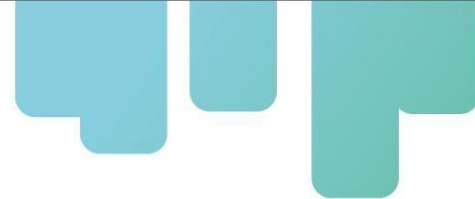


Figura 25. Distribución por sexo de los productores registrados en la actividad cacaotera y en las capacitaciones



Figura 26. Distribución de productores encuestados asociados a organizaciones no gubernamentales



En síntesis, para la línea de base, podemos observar que la mayoría de los productores tienen menos de 10 hectáreas. En general la cantidad de plantas por hectárea es homogénea indicando un asesoramiento técnico y la rentabilidad también es bastante pareja indicando medidas de manejo general y asesoramiento técnico. Para la mayoría de los cacaoteros en la actividad es muy importante o importante constituyendo un alto porcentaje de sus ingresos. Hay una alta proporción de cacaoteros que manifiestan que es su único ingreso.

Casi todo el sector cacaotero está en contacto con asesoramiento técnico y es capacitado frecuentemente. Las ventas son realizadas bajo esquemas cooperativistas por lo tanto se nota una homogeneidad en las ventas y el precio del producto, variando por supuesto con la calidad y el manejo adecuado. Hay un fuerte componente masculino.

En la Figura 27 podemos observar un fuerte componente de jóvenes por familia.

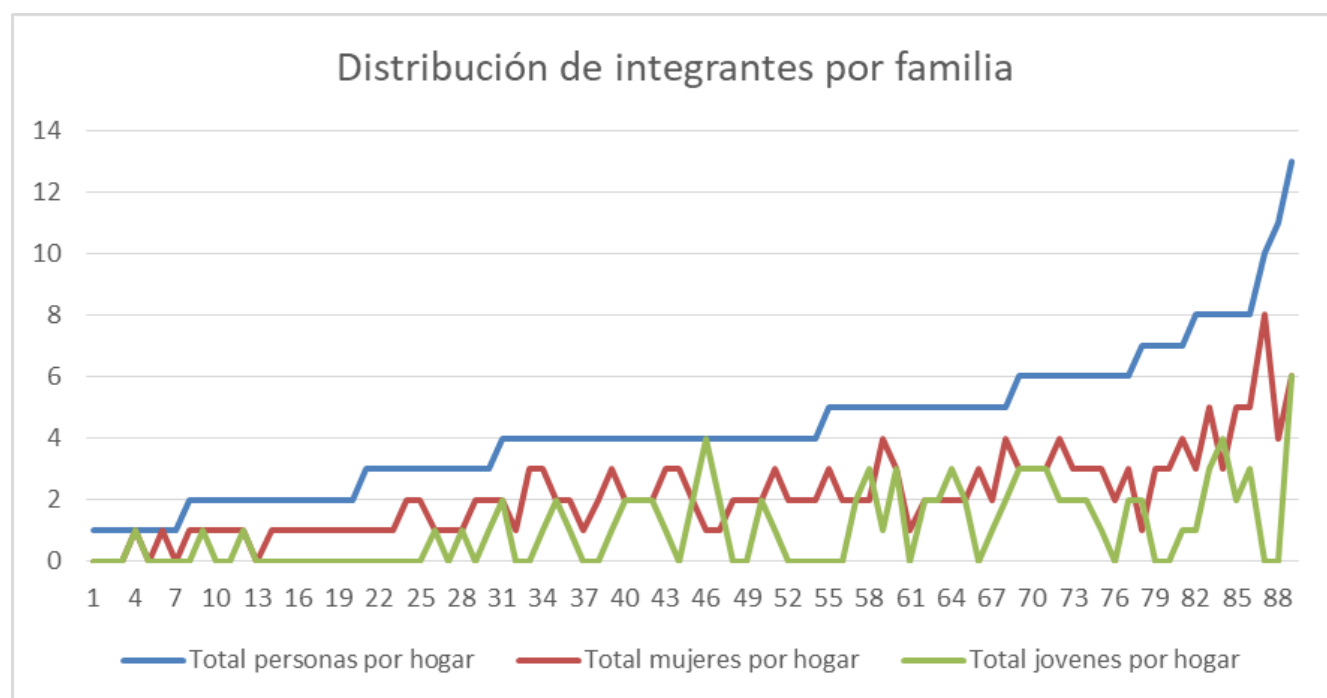


Figura 27. Distribución de integrantes por familia

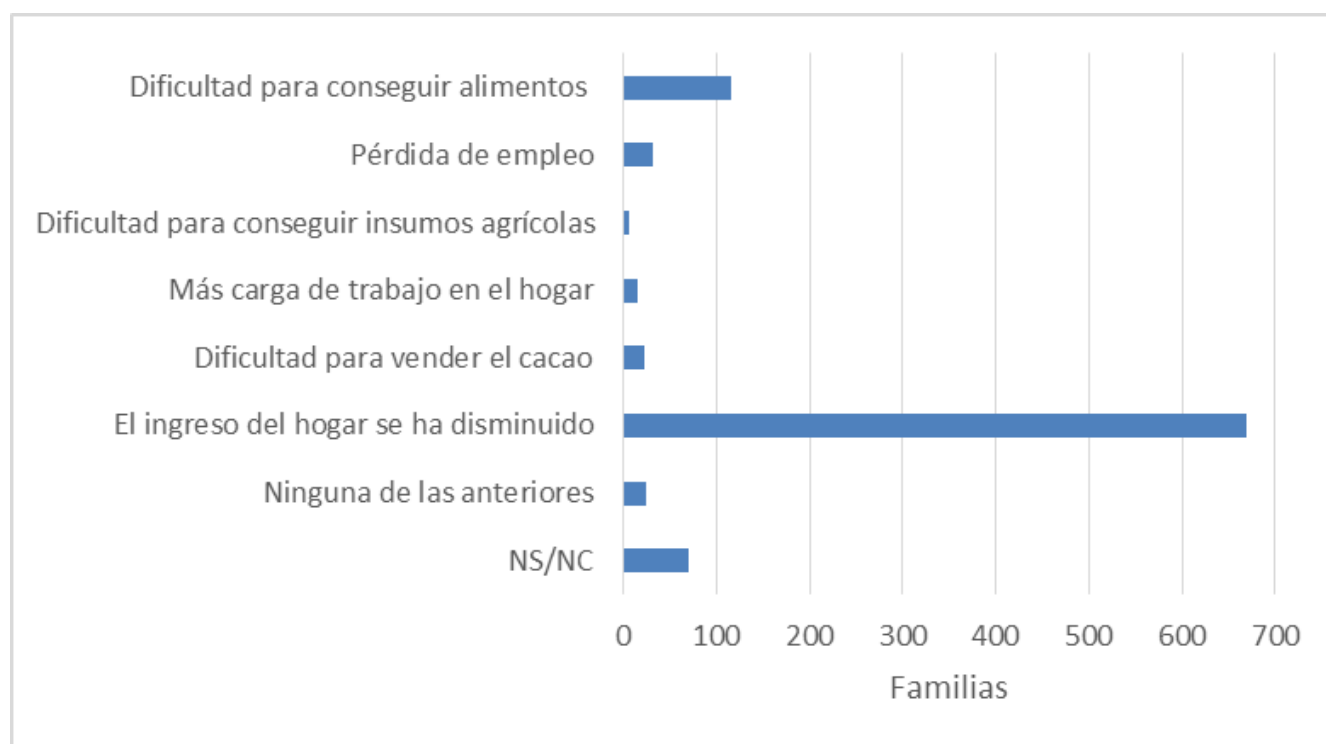
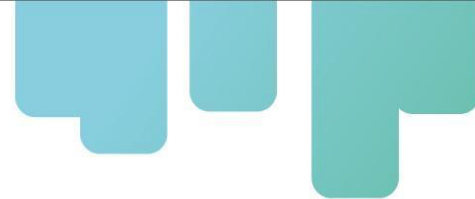
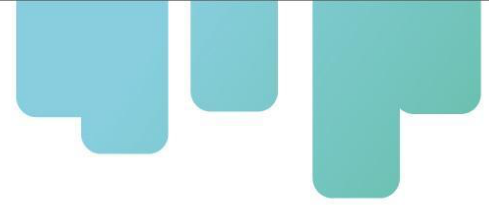


Figura 28. Dificultades planteadas por las familias acorde a los ingresos

Mientras que en la Figura 28, las barras horizontales azules están indicando que 669 familias manifestaron que el ingreso había disminuido, 115 familias manifestaron que tenían dificultad para conseguir alimento, 32 familias habían tenido un integrante que había perdido el empleo, 22 familias manifestaron que tenían dificultad para vender el cacao y 6 familias dijeron que tenían dificultad para conseguir insumos para la producción. Pocas familias (15) manifestaron que había más carga de trabajo en el hogar.

Según una Base de Datos aportada por Fortaleza del Valle, los productores cacaoteros en el año que inicia el proyecto se sienten desesperanzados con una proyección de rentabilidad para el año siguiente de un 38 % menor (comunicación telefónica con el Presidente de la Corporación Fortaleza del Valle) por factores climáticos y disminución de la productividad. Además, el precio disminuyó y la problemática del cadmio comenzaba a disminuir los precios del cacao latinoamericano. La situación económica empeoraba, pero se mantuvo la voluntad de continuar con las capacitaciones y la certificación orgánica. También se fortaleció en ese período difícil la actitud cooperativista y colaborativa. El espectro general corresponde a trabajadores de pocas hectáreas con buena productividad, capacitados, asesorados organizados para la producción y la comercialización a través de intermediarios. En la actividad predomina el registro de varones a pesar de que en el campo se ven igual o mayor cantidad de mujeres. Los hogares están conformados en la mayoría de los casos por adultos y jóvenes/niños.

Hay una gran proporción de cacaoteros que manifiestan que es su único sostén o su principal sostén económico. Entre las capacitaciones existentes no se menciona la problemática del cadmio, a pesar de



que es una limitante en el momento de fijar precios y comercializar. La comercialización está en manos de terceros, acopiadores, corporaciones etc.

Consideraciones a tener en cuenta para el análisis de impacto ex post.

Los Indicadores (I) proyectados en la CT se enumeran a continuación:

Impacto económico ex ante:

En el momento de elaborar el proyecto de cooperación técnica (CT), se consideró que habría un aumento de 10% del valor agregado del cacao orgánico trazable con estándares de Cd compatibles con las exigencias del mercado internacional europeo. No se pudo llegar a evaluar este indicador económico porque el trabajo de transferencia a campo se vió demorado por problemas sanitarios (COVID), geopolíticos y energéticos en Ecuador. Además, cabe recalcar que el precio del cacao orgánico de las fincas que actúan con el proyecto continuó con sus fluctuaciones normales independientemente de la problemática del Cadmio. En cuanto a la reglamentación internacional en abril de 2023 la UE emite su documento N°32023R0915

(<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A02023R0915-20250101>) con las cantidades de cadmio aceptadas en los alimentos. Es decir que el proceso de control internacional aún está ralentizado. De todos modos, los productores recibieron entrenamiento acerca del bioproceso y se está elaborando un programa de transferencia con la consiguiente construcción de un invernadero en la Universidad Tecnológica de Manabí (UTM) para la asistencia de plantines micorrizados y asesoramiento técnico.

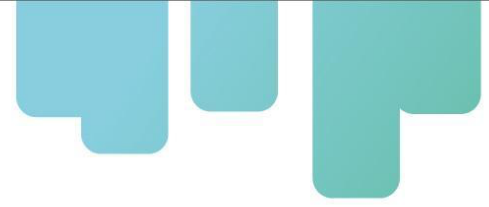
Impacto ambiental y científico ex ante:

Disminución de Cd rizosférico en el cacao con mantenimiento de la biodiversidad edáfica visualizado en coeficientes de bioacumulación aéreo y radicular menores a 1 ($C_{Br,a} < 1$). Este parámetro pudo desarrollarse, se encontró una simbiosis que excluía el ingreso de Cadmio y un sistema hiperacumulador *Baccharis salicifolia* micorrizado con una cepa diferente que absorbía el cadmio rizosférico.

Se consideró que el Indicador “solución tecnológica” con cuantificación 1 y 2 (ausencia/presencia) es uno de los parámetros estadísticos para evaluar el impacto antes y después del proyecto CT. Se lo llamó parámetro (a) clasificado como ambiental-científico. A modo de registrar otro aspecto importante en la innovación se incorporó otro parámetro, llamado (b), vinculado a la mejora ambiental inteligente frente a cambio climático, debido a que la solución planteada otorga resistencia a las plantas y se comporta como un solubilizador de fósforo y un biofertilizante. La cuantificación de (b) es de 1 a 2 (ausencia/presencia). En el análisis de la línea de base se consideraron también las innovaciones en aspectos como biofertilizantes, producción orgánica, riego a pesar de que no se trataba la problemática del Cadmio pero aportaban a acciones compatibles con resiliencia a cambio climático.

Impacto social ex ante:

Se consideró ex ante el armado de redes y organizaciones civiles de agricultores familiares, aumento del ingreso per cápita, mejora de la calidad de vida de las mujeres agricultoras de esta CT, cantidad de mujeres beneficiadas de la iniciativa, mujeres, jóvenes y pueblos originarios que participan de la iniciativa, capacitaciones certificadas de conocimiento tecnológico como herramienta laboral de



empreendedorismo. Se pudo cuantificar el aumento de mujeres involucradas en las capacitaciones y en el desarrollo del bioproceso para la disminución de cadmio rizosférico. Este parámetro fue tenido en cuenta para el análisis y se lo llamó (d), su valor es el que corresponde a mujeres involucradas/presentes en el hogar/capacitadas en la producción de cacao, se armó también un sistema de registro binario con valores de 1 y 2 correspondientes a “menor o igual a 4” y mayor o igual a 5” respectivamente.

Además, se establecieron las bases para el emprendedurismo en el momento de asistencia técnica, preparando a los productores para la entrega de plantines, la producción de esporas, la construcción de biorreactores, la transferencia a nivel educativo en modo transversal a distintos niveles de aprendizaje. Este parámetro se tuvo en cuenta para el análisis de impacto. En el análisis de base se consideró la capacitación y asistencia técnica. Su carácter también es binario va de 1 a 2 y se lo llamó (f).

Impacto institucional ex ante:

Se tuvo en cuenta la firma de convenios y acuerdos entre productores, acopiadores, academia y gobierno con el fin de facilitar: a) el acceso a internet para la comunicación y formación de los beneficiarios aportando salones con conectividad, entrega de tablet, celulares etc. y b) el acompañamiento en las encuestas de diagnóstico y seguimiento socio-económico de los AF participantes en la CT. Este parámetro se desarrolló parcialmente por falta de tiempo, pero se logró la aprobación de un proyecto de la UTM para la construcción de invernadero para la etapa de transferencia.

En cuanto a las organizaciones el piso de la línea de base fue lo suficientemente alto para minimizar la influencia de la CT en este armado organizativo (todos los encuestados forman parte de una organización no gubernamental Gráfico 9). No obstante, se fomentaron nuevas redes y bases de datos con interacciones interesantes en el ámbito científico

Impacto en ciencia y técnica, transferencia ex ante:

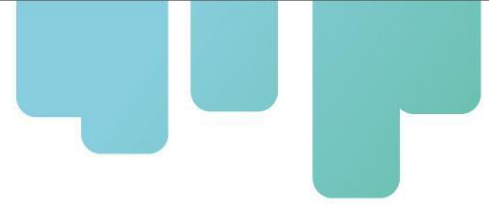
Se tuvo en cuenta la producción de documentos de investigación, tesis de posgrado y pregrado. Este parámetro se lo llamó (e). Su carácter es binario adoptando el valor 1 cuando no se desarrollaron tesis y 2 cuando la innovación fue pasmada en artículos de investigación, presentación a congresos y tesis de grado y posgrado.

Impacto social educativo:

Se tuvo en cuenta la cantidad de productores, estudiantes, emprendedores que realizaron la capacitación técnica. Este parámetro fue llamado (c) y su carácter también es binario, va de 1 a 2 según el rango de capacitados, involucrados e interesados en continuar su entrenamiento.

Para el armado de la matriz se calificaron estos 6 parámetros tanto en la línea de base que abarcó a 953 productores pertenecientes a diversas regiones de Ecuador y socios de diferentes asociaciones, como también para la base de datos última de la CT perteneciente a socios de Fortaleza del Valle, 608 agricultores familiares. Con estos valores se armó un score (y) el cual se sometió a regresión lineal múltiple para detectar cambio estructural, y si lo hubiese a cuál(es) parámetro(s) obedecía ese cambio.

Además, se estableció ex ante una ponderación del impacto, para ello, todos los efectos esperados



fueron cuantificados utilizando la metodología de Índice Multicriterio (IM), se ponderaron los criterios económicos, sociales, ambientales, organizacionales y de transferencia. Se estimó el cambio desde la línea de base hasta la finalización de la CT mediante prueba estadística de Chow F que permite medir cambios estructurales (Enders 2010).

Nuestra jerarquización de criterios para el análisis de IM (ex ante) resultó en 0.22 social, 0.21 económico, 0.20 ambiental, 0.18 organizacional-institucional, 0.19 comunicación y transferencia. Esto significa, que en el análisis de los cambios que nosotros consideramos que se producirán a futuro cercano, el proyecto tiene mayor impacto en lo social-económico (43%) que en lo organizacional-institucional (18%). Sin embargo, en el período del proyecto podemos evaluar lo ambiental, organizacional-institucional, comunicación y transferencia y social-educativo, pero no podemos evaluar el impacto social económico.

Modelo e hipótesis para la verificación de un cambio estructural

Dividimos el conjunto de resultados en dos grupos: antes del proyecto (y_i) y después de 3 años de proyecto (y_f), los parámetros serán 6, detallados de (a) hasta (f), como se señaló anteriormente. En cuanto a la conceptualización de los parámetros a la finalización del proyecto (Y_f) se tuvieron en cuenta los siguientes hitos:

- a) Científico: presentación de solución biotecnológica para la problemática del cadmio y otras biotecnologías
- b) Ambiental: mejora ambiental inteligente frente a cambio climático
- c) Social-educativa: Aprendizaje Nivel 1: adquisición de esporas y biorreactores Nivel 2: adquisición de conocimientos en construcción de biorreactores y funcionamiento de biorreactores con el bioproceso. Para línea de base: entrenamientos, capacitaciones, voluntad de continuar capacitándose y mejorar sus prácticas cacaoteras, voluntad de incorporar biotecnología.
- d) Social- género: cantidad de mujeres en el hogar participando de la producción de cacao, cantidad de mujeres capacitadas, cantidad de mujeres en el nivel 1 y nivel 2
- e) Cantidad de tesis (grado y postgrado): tesis de grado y doctorales en la temática en curso, finalizadas, defendidas y aprobadas
- f) Cantidad de productores involucrados en capacitación, emprendedurismo, producción de nuevos plantines, adquisición de la solución biotecnológica, venta, otros modos de transferencia

La H_0 es $y_i = y_f$ por lo tanto en el modelo propuesto:

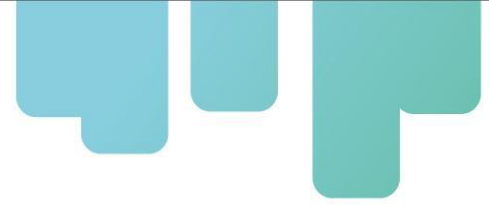
$$y_i = a_1 + b_1x_{1t} + c_1x_{2t} + d_1x_{3t} + e_1x_{4t} + f_1x_{5t} + \varepsilon.$$

$$y_f = a_2 + b_2x_{1t} + c_2x_{2t} + d_1x_{3t} + e_1x_{4t} + f_2x_{5t} + \varepsilon.$$

La hipótesis nula, H_0 del test de Chow es que:

$$a_1 = a_2, b_1 = b_2, c_1 = c_2, d_1 = d_2, e_1 = e_2 \text{ y } f_1 = f_2.$$

Mientras que la hipótesis alternativa H_A es que al menos 1 parámetro será distinto



Sea SC la suma de cuadrados residuos de la serie original, S1 la suma de cuadrados residuos del primer grupo y S2 la suma de cuadrados residuos del segundo grupo. N1 y N2 son el número de observaciones en cada grupo y k es el número total de parámetros (en este caso, 6). Entonces el estadístico del test de Chow es;

$$[(SC - (S1+S2))/k] / [(S1+S2)/ (N1+N2-2k)]$$

El estadístico del test se comporta como una distribución F con k y N1+N2-2k grados de libertad.

Hemos pensado en un indicador referido a la situación económica laboral social antes y después del proyecto, pero para el modelo presentado no se lo puede tener en cuenta ya que ese indicador requiere mayor tiempo y continuidad (con la consiguiente inversión necesaria) para evaluar el rendimiento y percepción social post transferencia biotecnológica. En otras palabras, el tiempo de duración del proyecto no es suficiente para el análisis de ese parámetro. Para aproximarnos a la cuantificación de este factor utilizamos el parámetro f, el cual refleja el involucramiento de los productores para la adquisición de la biotecnología, este parámetro es el que posteriormente podrá conducir a un análisis del impacto del proyecto en lo socio-económico. No se transcriben aquí las tablas de datos crudos para la realización del análisis estadístico, ya que los N son muy elevados para la incorporación en esta monografía.

En el cuadro 11 podemos ver la regresión múltiple lineal mediante la aplicación de Forward Stepwise set to zero para todos los parámetros en función de Yi, score de la línea de base (antes del proyecto).

Cuadro 11. Regression Summary for Dependent Variable: Yi R= 0,99985525 R²= ,99971052
Adjusted R²= 0,99970960 - F(3,950)=1094E3 p<0,0000 Std.Error of estimate: 0,12110

N953	Beta	Std.Err of Beta	B	Std.Err. Of B	t (950)	p-level
Pf i	0,209828	0,006263	1,465983	0,043757	33,50295	0,00
Pc i	0,493807	0,005036	1,757394	0,017921	98,06122	0,00
Pa i	0,299971	0,003783	2,026079	0,025552	79,29385	0,00

$$Y_i = 1,46 (\pm 0,04) Pfi + 1,76 (\pm 0,02) Pci + 2,03 (\pm 0,03) Pai \quad \text{Ecuación 1}$$

Según este modelo aplicado, los parámetros influyentes en el score Yi antes de iniciar el proyecto, sobre la base de 953 productores de cacao de toda la región, fueron el Pf, Pc y Pa;

En el Cuadro 12 observamos la Regresión lineal múltiple para el score final (Yf) calculado sobre una base de datos correspondiente al último año del proyecto, aplicando Forward Stepwise set to zero.

Cuadro 12. Regression Summary for Dependent Variable: Yf $R= 0,99727225$ $R^2= ,99455194$
Adjusted R²= 0,99454297 - F(1,607)=1108E2 p<0,0000 Std.Error of estimate: 0,71488

	Beta	Std.Err. of Beta	B	Std.Err. of B	t (607)	p-level
Pa f	0,997272	0,002996	5,079271	0,015259	332,8797	0,00

$$Yf=5,08 (\pm 0,01) Paf \text{ Ecuación 2}$$

Según el estadístico de Chow y observando que los valores de los parámetros son diferentes para el análisis de Yi en comparación con Yf, es decir situación antes y después de la CT podemos decir que la H nula se descarta y el modelo sigue la hipótesis alternativa indicando un cambio estructural entre la situación inicial y la final. Los parámetros significativos en la situación inicial son la participación de los productores, su capacitación, la aplicación de metodologías innovadoras, mientras que el factor significativo en la variabilidad de Yf fue la solución biotecnológica, la innovación, que si bien este parámetro también se lo observó en la situación inicial se puede verificar que Pai es menos de la mitad que Paf (2,03 y 5,08 respectivamente).

En las etapas sucesivas (ya sin el proyecto Fontagro) se evaluará el impacto económico de la biotecnología aplicada en función del ingreso para saber si también ese factor muestra un cambio estructural.

ENCUESTAS PARA EL ARMADO DE LA MATRIZ PARA EL ANÁLISIS DE IMPACTO (ex post)

Se programaron las siguientes preguntas a ser respondidas con una escala del 1 al 5. También se agrega la opción N/A en el caso que por razones externas los supuestos no se hubiesen cumplido por lo tanto no se pudo poner en marcha la estrategia de actividades diseñadas para cumplir los objetivos del componente. En el transcurso del proyecto, Ecuador, ha sufrido primero una desestabilización política, con violencia callejera armada, luego inclemencias climáticas, y, por último, sufrir cortes de energía que alcanzan las 14 hs diarias. Estos factores han postergado los trabajos de campo y los intercambios programados entre investigadores para el fortalecimiento de redes y alianzas estratégicas. Se espera que, en el último año del proyecto, 2025, se pueda profundizar en los aspectos pendientes. Por lo dicho anteriormente hemos incorporado el ítem N/A porque serán evaluados a la finalización del proyecto mientras que otras preguntas pueden ser ya respondidas para proceder a la evaluación de impacto ambiental.

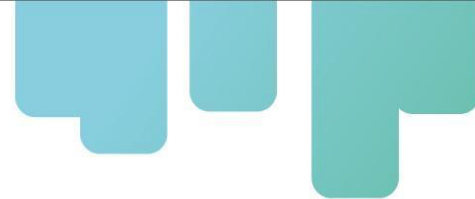
La clasificación corresponde a los siguientes scores:

5 = Altamente Satisfactorio: Cumple con las expectativas y/o presenta deficiencias menores.

4 = Satisfactorio: En general, cumple con las expectativas, pero con algunas deficiencias.

3 = Moderadamente satisfactorio: Se encuentra por debajo de las expectativas y/o presenta deficiencias significativas.

2 = Insatisfactorio: Se encuentra sustancialmente por debajo de las expectativas y/o presenta



deficiencias importantes.

1 = Altamente insatisfactorio: Hay deficiencias graves.

N/A: No se puede evaluar

Se abordarán las siguientes categorías:

1. IMPACTO CIENTÍFICO-TECNOLÓGICO-ECONÓMICO
2. IMPACTO AMBIENTAL
3. IMPACTO EN LA GOBERNANZA
4. SOSTENIBILIDAD Y ESCALAMIENTO
5. EFICACIA
6. EFICIENCIA DEL PROYECTO
7. RELEVANCIA SOCIAL
8. TRANSVERSALES DE IMPACTO
9. CONOCIMIENTO Y DIFUSIÓN

Las respuestas de cada pregunta se encuentran en color y a continuación de la pregunta. En muchos casos se agregó una breve explicación del score colocado. Luego se armó una matriz considerando el score máximo y el score alcanzado. Sobre esto se sacó un porcentaje de impacto.

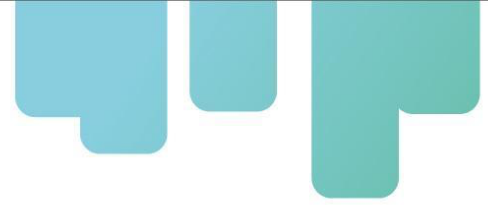
En algunos casos se colocó la palabra “estimado” ya que si bien aún no tenemos el resultado podemos estimarlo con alto grado de certeza, no obstante, en la evaluación del score se consideró un 50% del valor cuando era estimado (ver matriz, cuadro 13)).

Impacto científico-tecnológico- económico

En esta sección, se busca evaluar cuales son las percepciones sobre los impactos del proyecto en cuanto a la ruta científica-tecnológica.

¿Cuáles son los impactos del proyecto en cuanto a la ruta científica-tecnológica?

- a) ¿Ha logrado el proyecto elaborar borradores finales o documentos científicos refrendados internacionalmente? **5**
- b) ¿Ha logrado el proyecto nuevas patentes, marcas, registros de Propiedad Intelectual, nuevas variedades u otras novedades tecnológicas registrables? **5**
- c) ¿Ha logrado el proyecto aumentos de rendimiento o productividad por hectárea o unidad de análisis? *Estimado 3 Se estima mayor biomasa y vehiculización de nutrientes debido al efecto biofertilizante de las micorrizas aplicadas.*
- d) ¿Ha logrado el proyecto aumentos de precio por unidad de medida? *Estimado 3, mejoramiento*



de calidad al ingresar en concentraciones de cadmio aceptables para la comercialización.

e) ¿Ha logrado el proyecto una disminución de costos por hectárea o unidad de análisis? *N/A*

Impacto ambiental

¿Cuáles son los impactos del proyecto en cuanto a la ruta ambiental?

a) ¿Ha logrado el proyecto desarrollar e implementar medidas de adaptación al cambio climático?

5 Las micorrizas regulan los impactos hídricos del cambio climático, mejoran la agregación del suelo y retienen dióxido de carbono.

b) ¿Ha logrado el proyecto desarrollar e implementar medidas de mitigación de cambio climático?

5 Las micorrizas regulan los impactos hídricos del cambio climático, mejoran la agregación del suelo y retienen dióxido de carbono.

f) ¿Han sido adoptadas por productores u otros actores relevantes las medidas de adaptación y mitigación al cambio climático? *N/A*

c) ¿Ha utilizado el proyecto herramientas de machine learning e inteligencia artificial para la gestión de datos resultantes de la investigación? *Se desea aplicar para el estudio de mercado de chocolate sin cadmio. No se realizó aún. Se prevé la contratación de especialista. N/A*

d) ¿Ha generado el proyecto impactos positivos al ambiente? *5 Las micorrizas regulan los impactos hídricos del cambio climático, mejoran la agregación del suelo y retienen dióxido de carbono. Son biofertilizantes.*

Impacto en la gobernanza

¿Cuáles son los impactos del proyecto en cuanto al impacto socio-económico y de gobernanza?

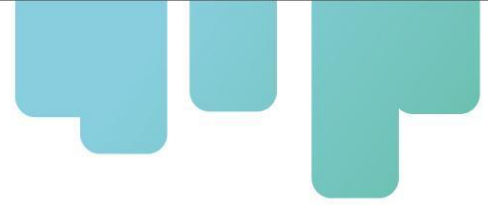
a) ¿Ha impactado positivamente el proyecto en el fortalecimiento de la capacidad técnico-científica? *5*

b) ¿Ha impactado positivamente el proyecto en el fortalecimiento de la capacidad de gestión y coordinación de redes multipaíses? *5*

c) ¿Ha impactado positivamente el proyecto en el fortalecimiento de las instituciones participantes en algún otro aspecto? *5 Se consolidó colaboración abarcando otro proyecto de carácter ganadero.*

d) ¿Ha logrado el proyecto incrementar la colaboración y cooperación de participantes en la red? *5*

e) ¿Ha logrado el proyecto incrementar la colaboración y cooperación de nuevos participantes durante la implementación? *5 Se incorporó IGAG, Roma, IGAG Cagliari*



Sostenibilidad y escalamiento

En esta sección, se busca evaluar en qué medida los beneficios netos del proyecto continúan o es probable que continúen. Para esta evaluación, la sostenibilidad se define como la capacidad que tiene el proyecto de tener efectos duraderos, es decir los efectos no desaparecen al finalizar el proyecto.

Escalamiento se define cómo el potencial de expandir el proyecto a nivel horizontal y/o vertical. Las pautas para responder son:

4 = Probable: riesgos insignificantes para la sostenibilidad

3 = Moderadamente probable: riesgos moderados para la sostenibilidad

2 = Moderadamente improbable: riesgos significativos para la sostenibilidad

1 = Improbable: riesgos graves para la sostenibilidad

N/A: No se puede evaluar

¿En qué medida el proyecto es escalable/sostenible?

a) ¿Existe probabilidad que, una vez finalizado el apoyo financiero de Fontagro haya recursos financieros propios o de terceros para continuar la investigación y/o sostener los resultados del proyecto? *4 Ya hay un proyecto aprobado para continuar con la transferencia.*

b) ¿Cuán probable es que los beneficiarios y otras partes interesadas tengan un nivel adecuado de apropiación de los resultados? *4 – El bioproceso es altamente transferible y la UTM, Fortaleza del Valle y GAD pueden actuar favoreciendo. Los insumos son de muy bajo costo. Hay que gestionarlo en el año que queda en el territorio (Ecuador).*

c) ¿Cuán probable es que los beneficiarios y otras partes interesadas tengan la capacidad técnica necesaria para garantizar que se mantengan los beneficios del proyecto? *4- Se ha estado capacitando al respecto, y las entidades mencionadas en el punto anterior pueden favorecer.*

d) ¿Cuán probable es que factores sociopolíticos y marcos institucionales locales afecten los resultados generados por el proyecto? *1-Poco*

e) ¿Cuán probable es que los resultados del proyecto se vean afectados por riesgos ambientales que puedan reducir el flujo futuro de impactos y beneficios? *1 – Las micorrizas y hongos saprobios tienen un comportamiento adaptativo*

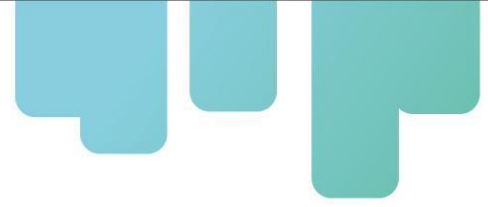
Eficacia

En esta sección, se busca evaluar si los proyectos de FONTAGRO han logrado nuevos aportes de conocimiento, tecnologías e innovaciones.

Se define EFICACIA como la generación de nuevos aportes al conocimiento, tecnologías, innovaciones.

Los criterios para las respuestas son:

5 = Altamente Satisfactorio: Cumple con las expectativas y/o presenta deficiencias menores.



4 = Satisfactorio: En general, cumple con las expectativas, pero con algunas deficiencias.

3 = Moderadamente satisfactorio: Se encuentra por debajo de las expectativas y/o presenta deficiencias significativas.

2 = Insatisfactorio: Se encuentra sustancialmente por debajo de las expectativas y/o presenta deficiencias importantes.

1 = Altamente insatisfactorio: Hay deficiencias graves.

N/A: No se puede evaluar

En esta sección, se busca evaluar la medida en que la CT FONTAGRO y los proyectos generen, o es probable que generen, resultados de manera oportuna y con alcance regional.

¿En qué medida se generan efectos significativos en los países?

5 – Los países participantes se vieron fortalecidos en distintos aspectos, los efectos pueden clasificarse como científico-tecnológicos, económicos y colaborativos. Ejemplo de ello es la búsqueda de una simbiosis que disminuya el efecto del arsénico en olivos y su aplicación en otros países. Este proyecto fue aprobado y financiado mientras que la visión de seguridad alimentaria buscando otros cultivos y otros contaminantes fue divulgado en los países intervinientes y transferido en Italia.

Eficiencia

En esta sección, se busca evaluar la medida en que los objetivos y el diseño del proyecto responden a las necesidades, políticas y prioridades de los beneficiarios, la región, el país y los socios/instituciones, y si continúan haciéndolo si las circunstancias cambian. Por lo tanto, este criterio de evaluación tiene como objetivo evaluar si las actividades del proyecto están en línea

con las necesidades y prioridades locales.

Los criterios para responder son:

5 = Altamente Satisfactorio: Cumple con las expectativas y/o presenta deficiencias menores.

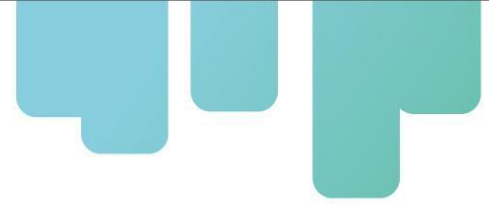
4 = Satisfactorio: En general, cumple con las expectativas, pero con algunas deficiencias.

3 = Moderadamente satisfactorio: Se encuentra por debajo de las expectativas y/o presenta deficiencias significativas.

2 = Insatisfactorio: Se encuentra sustancialmente por debajo de las expectativas y/o presenta deficiencias importantes.

1 = Altamente insatisfactorio: Hay deficiencias graves.

N/A: No se puede evaluar



¿Cómo considera la eficiencia del proyecto en términos de implementación regional?

3- La implementación en la región se ve debilitada por inestabilidad intrínseca de la misma lo cual dificulta proyectar, se espera en el último año poder trabajar más en territorio y en la región.

Relevancia social

En esta sección, se busca evaluar la medida en que los objetivos y el diseño del proyecto responde a las necesidades, políticas y prioridades de los beneficiarios, la región, el país y los socios/instituciones, y si continúan haciéndolo si las circunstancias cambian. Por lo tanto, este criterio de evaluación tiene como objetivo evaluar si las actividades del Fondo están en línea con las necesidades y prioridades locales.

¿Los objetivos y el diseño del proyecto responden a las necesidades, políticas y prioridades de los beneficiarios, la región, el país y los socios/instituciones?

a) ¿El proyecto contribuyó a los temas transversales de foro y diálogo, fortalecimiento de capacidades, igualdad de género, inclusión de juventud y pueblos originarios, la adaptación y mitigación de CC, la intensificación sostenible y resiliente junto con agricultura regenerativa, al desarrollo de agricultura digital y tecnologías de IA? *-3*

b) ¿Los actores locales y nacionales relevantes ¿estuvieron suficientemente involucrados en el desarrollo del proyecto? – *3 Es necesario intensificar territorio en la Región*

c) ¿Contribuyó el proyecto a la agenda 2030 y el cumplimiento de los ODS? *La propuesta colabora en fomentar soluciones que apoyan a los siguientes ODS: 1- Disminución de la pobreza; 5- Igualdad de género; 12- Producción y consumo responsable; 17-Alianzas para lograr objetivos. Hasta la fecha, podemos calificar con 5 en el ODS 5 y 12 mientras que en 1 no podemos aún calificar (siendo N/D) y en 17 nos falta 1 año para cerrar las alianzas, pero hasta la fecha podemos calificar en 4*

¿Es el proyecto costo-efectivo?

a) ¿El proyecto ha logrado contribuir a la resiliencia y sostenibilidad de las fincas? *5*

b) ¿El proyecto ha logrado contribuir a incrementar la cantidad de tecnologías e innovaciones con alto potencial de adopción e impacto en los sistemas productivos, agrosistemas y territorios? *5*

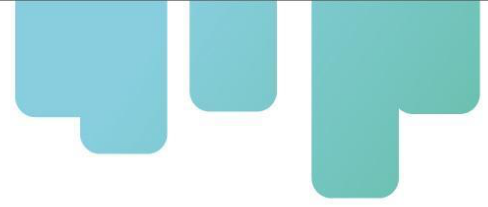
c) ¿El proyecto ha logrado contribuir a incrementar la aplicación de tecnologías e innovaciones con potencial de resultado e impacto positivo en la seguridad alimentaria, la nutrición y la salud? *5*

d) ¿El proyecto ha logrado contribuir a la apertura de mercados? *Estimado 3*

Transversales de impacto

a) ¿El proyecto ha logrado contribuir a aumentar las medidas de adaptación y mitigación del cambio climático? *5*

b) ¿El proyecto ha logrado contribuir a la digitalización de la agricultura? *1*

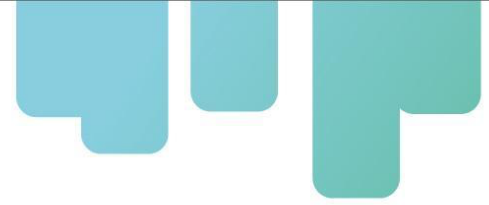


- c) ¿El proyecto ha logrado incrementar el desarrollo de alimentos nutritivos con efectos positivos en la salud? *5*
- d) ¿En qué medida el proyecto ha mejorado la cooperación entre instituciones a nivel regional y global? *Global 5 Regional 3*
- e) ¿En qué medida el proyecto ha mejorado la cooperación con asociaciones de productores y otras organizaciones locales? *Involucra actividades del año 2025 y sucesivos N/A*
- f) ¿En qué medida el proyecto ha mejorado la cooperación con el sector privado? *5- El sector privado involucrado es Fortaleza del Valle, se involucró en un 100 %. Luego en la transferencia del proyecto se involucró Villa Atuel SA*
- g) ¿En qué medida el proyecto ha abordado eficazmente la igualdad de género, la inclusión de jóvenes, y poblaciones minoritarias (indígenas)? *5- se sostuvo durante todo el proyecto la observación en la inclusión de grupos minoritarios, se trabajó con indígenas de la Península de Paria en Venezuela, se incluyó a mujeres en las actividades.*
- h) ¿En qué medida el proyecto ha contribuido eficazmente a avances en la agricultura regenerativa y sostenible? *5 – En la gestión de una rizósfera inteligente frente al cambio climático y a los contaminantes*
- i) ¿En qué medida el proyecto ha abordado eficazmente la adaptación y mitigación al cambio climático? *5 – En la gestión de una rizósfera inteligente frente al cambio climático y a los contaminantes*
- j) ¿En qué medida el proyecto a contribuido a la disminución de la pobreza? *N/A Se espera trabajarlo en 2025 y sucesivos*
- k) ¿En qué medida el proyecto ha abordado eficazmente la inversión en I+D+i para el incremento de tecnología innovadora? *5*
- l) ¿En qué medida el proyecto ha abordado eficazmente la mejora al acceso a inversiones y servicios agrícolas por parte de los agricultores? *N/A Se espera trabajarlo en 2025 y sucesivos*
- m) ¿Es satisfactorio el impacto del proyecto en el sector agropecuario del LAC en el mediano y largo plazo? *5*

Conocimiento y difusión

¿En qué medida fue satisfactoria la estrategia de gestión del conocimiento y comunicación del proyecto?

- a) ¿En qué medida han sido incorporados los resultados del proyecto por los beneficiarios? *N/A en el territorio*
- b) ¿En qué medida los resultados del proyecto resultaron una novedad para los beneficiarios? *5- en las capacitaciones se trabajó la transferencia de la innovación, es una biotecnología desconocida por los agricultores*
- c) ¿En qué medida ha alcanzado el proyecto resultados más allá del nivel local? *(regional e*



internacional) 5 Explicado anteriormente

Consideraciones sobre las preguntas realizadas y el criterio a evaluar

Las preguntas están orientadas a evaluar los distintos criterios y la evaluación de su estructura arrojó un alfa de Cronbach de 0,95. Si bien algunas preguntas pueden obedecer a diversos criterios en el análisis global las preguntas van a evaluar los diferentes criterios siendo robustas.

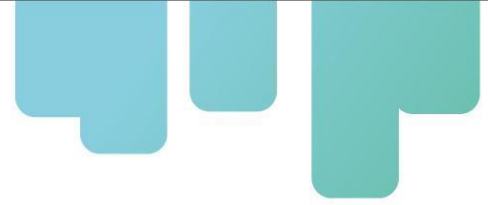
Para evaluar si los "índices combinados" miden el mismo concepto o constructo, se calcula el alfa de Cronbach (Cronbach, 1951). Como criterio general, George y Mallery (2003, p. 231) sugieren las siguientes recomendaciones para evaluar los valores de los coeficientes alfa de Cronbach:

- $\alpha > 0,9$ a $0,95$ es excelente
- $\alpha > 0.8$ es bueno
- $\alpha > 0,7$ es aceptable
- $\alpha > 0,6$ es cuestionable
- $\alpha > 0.5$ es pobre
- $\alpha < 0,5$ es inaceptable

Dentro de un análisis exploratorio estándar, un valor de consistencia interna alrededor de 0,7 es adecuado y es el nivel mínimo aceptable (Nunnally y Bernstein, 1994). Sin embargo, en las primeras fases de la investigación o los estudios exploratorios, un valor de consistencia interna de 0,6 o 0,5 puede ser suficiente (Nunnally, 1967).

Cuadro 13. Matriz de análisis de impacto

Preguntas	Observaciones	Score/Pregunta	Score óptimo	Puntaje obtenido
Impacto Científico Tecnológico-Económico			25	13
A		5		
B		5		
c Económico	estimado (50%)	3	5	
d Económico	estimado (50%)	3	5	
e Económico		N/A	5	
Impacto Ambiental			25	15
A		5		
B		5		
C		N/A		
D		N/A		
E		5		
Impacto en la gobernanza- Institucional			25	25
a		5		



Preguntas	Observaciones	Score/Pregunta	Score óptimo	Puntaje obtenido
B		5		
C		5		
D		5		
E		5		
Sostenibilidad y escalamiento			17	14
A		4		
B		4		
C		4		
D		1		
E		1		
Eficacia			5	5
A		5		
Eficiencia			5	3
a Social		3		
Relevancia Social			15	10
A		3		
B		3		
C		4		
Costo/beneficio			20	16,5
a Económico		5		
b Tecnología		5		
c Salud		5		
d Económico	Estimado 50 %	3		
Transversales			65	45
a Ambiental		5		
b Salud		1		
c Institución		5		
d institución		3		
e Institución	Proyectado aumento	1		
f Institución		5		
g Social		5		
h Tecnología		5		
I Ambiental		5		
j Social		N/A		
k Económico		5		
l Económico		N/A		
m Económico		5		
Conocimiento y difusión			15	10
A		N/A		

Preguntas	Observaciones	Score/Pregunta	Score óptimo	Puntaje obtenido
B		5		
C		5		
EVALUACIÓN	72%		217	156,5

Indicadores de género:

Podemos observar que cuando se analizan las bases de datos de los productores cacaoteros y la cantidad de mujeres participantes en la línea de base pre proyecto (en porcentaje) es 24 % presencia femenina y 74 % masculina. Si bien en el análisis estadístico de “cambio estructural” el cambio en la distribución de género no provocó una evidencia estadística, hubo un cambio (no estructural) en los porcentajes en la última base de datos (Producto 1: 4° Base de Datos y Excel adjunto) pasando a 31 % para mujeres y 69 % para hombres, (Figura 29). Por otra parte, cuando se analiza la cantidad de capacitados, tesistas emprendedores en Nivel 2 al final del proyecto obtenemos paridad de género, siendo el 49 % masculino y el 51 % femenino (producto 1: 4° Base de Datos) (Figura 30).

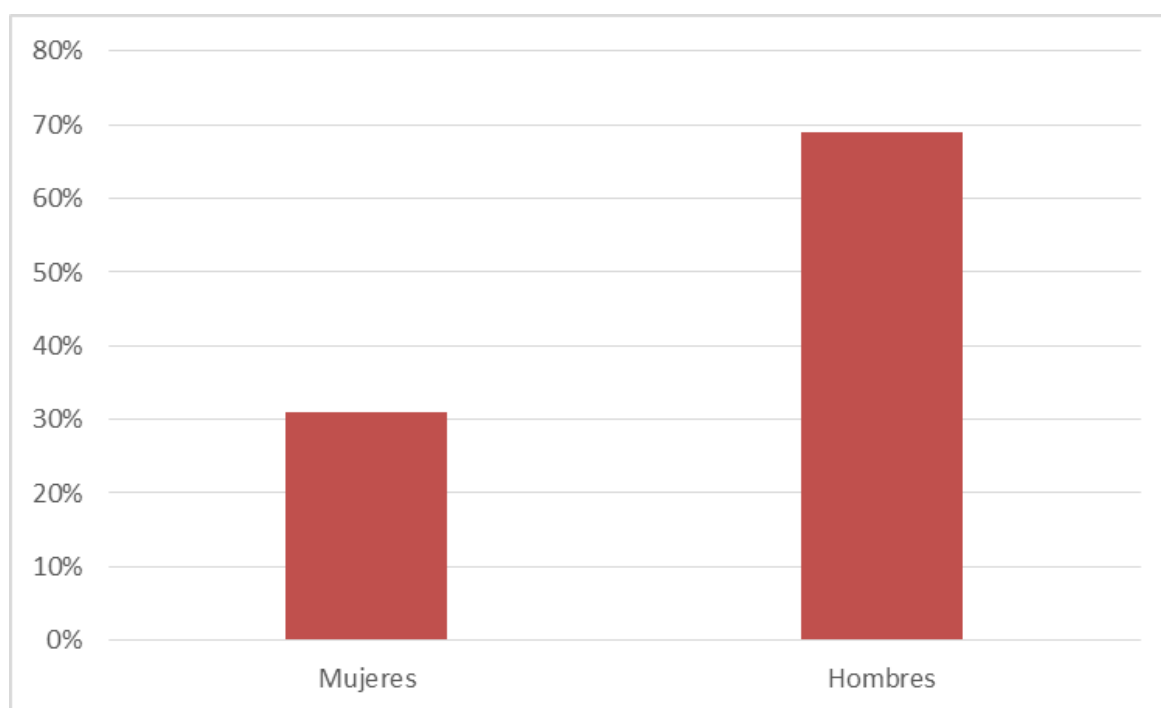


Figura 29. Distribución de cantidad de hombres y mujeres involucrados en el proyecto

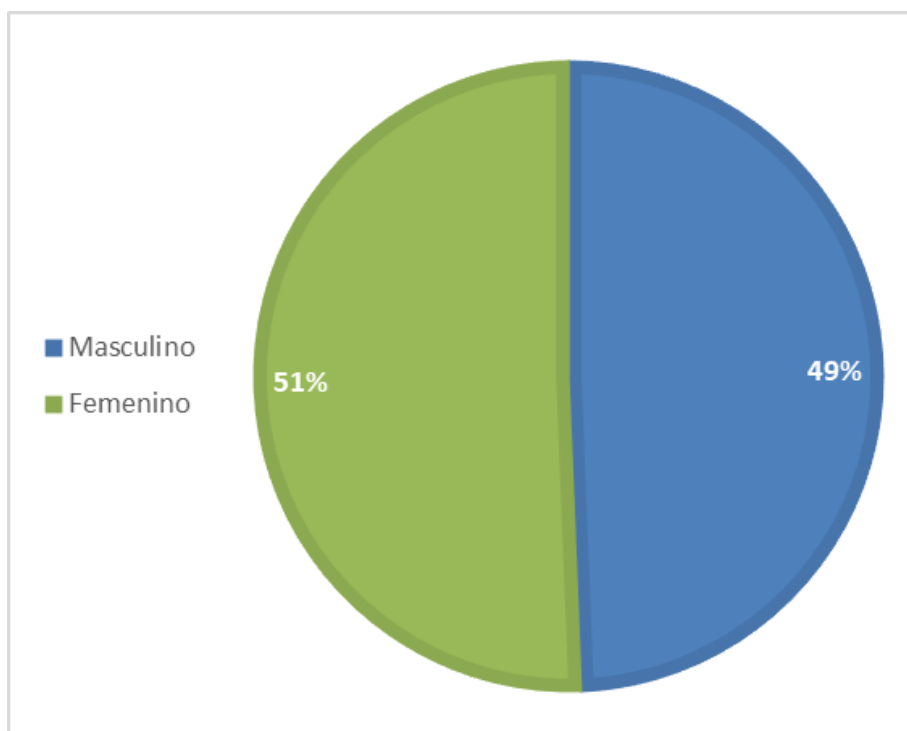


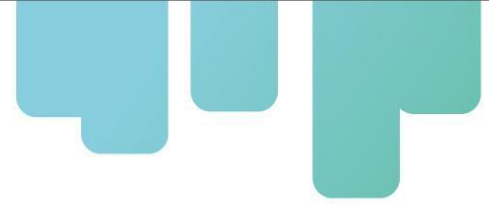
Figura 30. Distribución de capacitados en nivel 2 (tesistas, emprendedores, productores, alumnos)

Indicadores educativos y científicos cuantitativos:

En términos educativos y científicos se defendieron tesis de grado y postgrado y se publicaron artículos de investigación por arriba del número proyectado inicialmente alcanzando más de 16 eventos, más de 10 artículos publicados en revistas de alto impacto, más de 10 trabajos completos en proceedings y capítulos de libros, más de 21 presentaciones a congresos, 1 tesis doctoral finalizada, 3 tesis doctorales en curso, 3 tesis de grado finalizadas y 8 tesis de grado en curso. En cuanto a beneficiarios se capacitó a 931 agricultores familiares, alcanzando a 3452 personas de las cuales 1646 son mujeres y se capacitó a más de 177 estudiantes, tesistas y emprendedores de los cuales el 51 % son mujeres.

Material complementario:

Las bases de datos correspondientes a los participantes del proyecto en Nivel 1 y Nivel 2 se encuentran como productos entregados y aprobados a disposición para analizar cada uno de los parámetros con sus respectivos gráficos de tortas, barras histogramas etc. Los productos entregados actúan como probanzas del puntaje colocado en cada respuesta, cabe mencionar que el material está accesible en la página del proyecto. Se entrega junto a esta monografía un archivo Excel con la base de datos y gráficos/tablas utilizadas y un archivo Excel con los datos de base aportados por Fortaleza del Valle y la última Base de Datos del Producto 1.



CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- 1- El proyecto tiene un alto impacto en lo ambiental, organizacional-institucional y comunicación y transferencia.
- 2- El proyecto tiene un moderado impacto en lo social, falta realizar trabajos y transferencia en campo.
- 3- El proyecto tiene hasta la fecha un bajo impacto en lo económico.
- 4- El proyecto generó hasta la fecha cambios estructurales (prueba de Chow F) en el criterio ambiental científico.
- 5- El proyecto es fácilmente escalable y la implementación biotecnológica es de bajo costo.
- 6- Se generaron estrategias para la sostenibilidad a la finalización de la CT.

El impacto del proyecto, en relación a los criterios aplicados en los Índices Multimétricos ex ante, consideraba que la ponderación del impacto era mayor en el aspecto social, exactamente: 0.22 social, 0.21 económico, 0.20 ambiental, 0.18 organizacional-institucional, 0.19 comunicación y transferencia; mientras que en la evaluación ex post resultó más fuerte el impacto en los aspectos de comunicación y transferencia, organizacional y ambiental en comparación con el aspecto social y económico. Para mejorar este aspecto se recomienda profundizar en el aspecto social y económico en territorio en los próximos años para poder ver reflejada la tecnología incorporada en los aspectos social y económico. Mientras que las ponderaciones de impacto del proyecto con índices de 0,20 ambiental, 0,18 organizacional-institucional y 0,19 comunicación y transferencia fueron cubiertos por los resultados indicando que el proyecto presenta potencialidad para desarrollar (aumentar) impacto social y económico, pero hasta la fecha no se puede ver reflejado ya que necesita mayor tiempo.

RESULTADOS COMPONENTE 4. PRODUCTO 9.

Actividad 4.1: Plan de gestión del conocimiento.

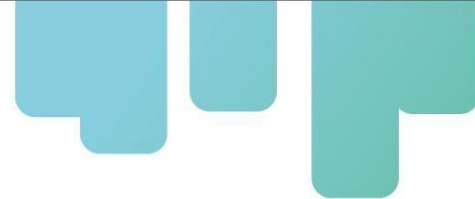
Producto 9: 7 *Documentos de discusión desarrollados* desglosados en 1 publicación en revista científica, 4 presentaciones a congresos con la temática de reducción de cadmio rizosférico, 1 tesis doctoral y 1 tesis de grado.

Este producto fue entregado en el segundo año ya que se alcanzó el número de documentos de discusión propuesto, pero posteriormente se continuó con las publicaciones en revistas científicas de alto impacto, capítulos de libros, presentaciones a congresos, encuentros, conferencias, cursos dictados, workshop, los cuales están detallados en el documento ISTA final.

En total a la finalización del proyecto se registraron 11 artículos científicos, 8 capítulos de libros o full text de proceedings, 21 presentaciones a congresos y 8 tesis de pre y post grado.

Se transcriben solo los documentos entregados que componen el producto 9.

- 1- Presentación de trabajos vinculados al proyecto Fontagro a Congresos/Encuentros/Foros/Jornadas



Se mencionan los trabajos y en anexo se adjuntan los resúmenes, carátulas, *flyers* y posters.

Adalgisa Scotti, Ana Rosa Castaño Gañán, Vanesa Silvani, Andrea Juarez, Gabriela Coria, Inmaculada García Romera, Alicia Godeas, María Luisa Izaguirre. (2023). Fitorremediación asistida por micorrizas como solución tecnológica en la disminución de cadmio rizosférico. **E-ICES 18**, 21 al 24 de Noviembre 2023, Malargue, Mendoza, Argentina

Cerioni Sol, Juarez Andrea, Silvani Vanesa, Godeas Alicia, Cerioni Juan, Mengarelli Martín, García Agustina, Coria Gabriela, Visciglia Mauricio, Osisnaldi Gustavo, Scotti Adalgisa, Vilches Roberto. Determinación de constantes hidráulicas utilizando el escalamiento de Biorreactores a Módulos de Depuración Vegetal. **E-ICES 17** – 1 al 4 de noviembre de **2022**. <https://www.uncuyo.edu.ar/ices/e-ices-17>

Martín Mengarelli, Sol Cerioni, Agustina García, Juan Cerioni, Mauricio Visciglia, Andrea Juarez, Coria Gabriela, Adalgisa Scotti, Roberto Vilches. Determinación de las constantes hidráulicas en Biorreactores y MDV- **IX Foro Tecnológico**, 20- 21 de Octubre de **2022** <http://www.frssr.utn.edu.ar/uploads/2022/10>

Utge Sofía, Colombo Roxana, Scotti Adalgisa, Aguilar Mariano, Lenzano Luis, Leguizamón Roxana, Gonzalez Florencia, Babay Paola, Silvani Vanesa. Diversidad y estado de vegetación y hongos asociados a suelos contaminados en la mina Paramillos de Uspallata. **E-ICES 17** – 1 al 4 de noviembre de **2022**. <https://www.uncuyo.edu.ar/ices/e-ices-17>

Martín Mengarelli, Sol Cerioni, Agustina García, Andrea Juarez, Coria Gabriela, Juan Cerioni, Mauricio Visciglia, Adalgisa Scotti, Roberto Vilches (**2022**) Determinación de las constantes hidráulicas en biorreactores y MDV. XIII Reunión Anual **Cuyania**- 19 de diciembre de 2022

Se presentó el proyecto Fontagro en las Jornadas IBBEA CONICET UBA, se adjunta el material difundido y en las Jornadas Abiertas de Biología del Suelo, se adjunta *flyer*.

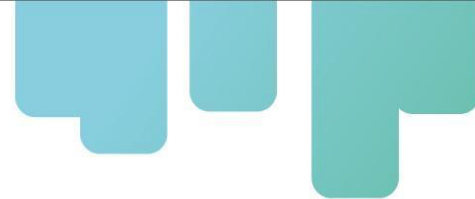
2- Tesis defendidas y en progreso, doctorales y de grado

- 2.1- Se defendió la tesis titulada: Selección de consorcios nativos (planta-microorganismos) que facilitan la rizorremediación de suelos contaminados con metales pesados.

En esta tesis se identifican cepas micorrícicas excluyentes de diversos metales pesados cuando están en simbiosis con *Senecio bonariensis* proveniente de una zona impactada con metales pesados (se adjunta carátula). El doctorando Matías Benavidez defendió su trabajo obteniendo una calificación de sobresaliente.

- 2.2- La tesista doctoral Ing. Forestal Ana Rosa Castaño Gañán presentó trabajos al E-ICES 17 y E-ICES 18 vinculados al proyecto Fontagro. Además, publicó como primera autora un trabajo en Minerals Journal (2023), en donde utiliza los biorreactores para probar diversas especies nativas provenientes de zonas impactadas con cadmio entre otros metales en simbiosis con una micorriza proveniente de la mina Paramillos de Uspallata (impactada con Zn y Cd). Se menciona el financiamiento de Fontagro. Se adjunta el paper.

Se cita el trabajo presentado en E-ICES 17 enmarcado en la tesis:



Castaño Gañan Ana Rosa, Scotti Adalgisa, Pla Rita, Silvani Vanesa. Estado de avance: *Senna aphylla*, *Bacharis salicifolia* y *Senecio subulatus* asociadas a hongos micorrícicos arbusculares. **E-ICES 17** – 1 al 4 de noviembre de **2022**. <https://www.uncuyo.edu.ar/ices/e-ices-17>

2.3- La tesista de grado Sofía Utge terminó su tesis y publicó trabajos vinculados en el E-ICES 17, se menciona al Fontagro. Trabajó con aislamientos micorrícicos de la mina Paramillos de Uspallata

3- Publicación en revista científica de alto impacto con expresa mención del proyecto Fontagro

Castaño, A.R.; Scotti, A.; Silvani, V.A.; Ubaldini, S.; Trapasso, F.; Tempesta, E.; Plá, R.R.; Giuffré, M.; Juarez, N.A.; Guglietta, D. (2023). Remote Sensing and Mycorrhizal-Assisted Phytoremediation for the Management of Mining Waste: Opportunities and Challenges to Raw Materials Supply. *Minerals*, 13, 765. <https://doi.org/10.3390/min13060765>

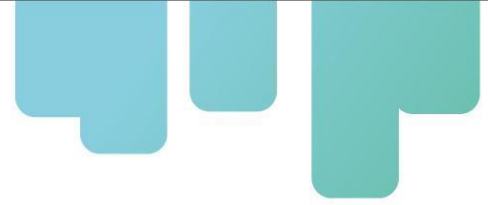
Colombo, Roxana; Scotti, Adalgisa; Benavidez, Matías; Silvani, Vanesa; Godeas, Alicia. (2022) Arbuscular Mycorrhizal fungal strains modulate different mechanisms of metal stabilization with *Senecio bonariensis* Hook & Arn. At pilot scale test. *Journal of Environmental Quality*

Posterior a esta Nota Técnica se realizaron otros eventos y publicaciones en revistas indexadas de alto impacto y presentaciones a congresos, jornadas, workshop etc.

Se transcriben los cuadros presentados en el ISTA final a modo de síntesis (Cuadro 14, 15, 16 y 17):

Cuadro 14. Agenda de eventos

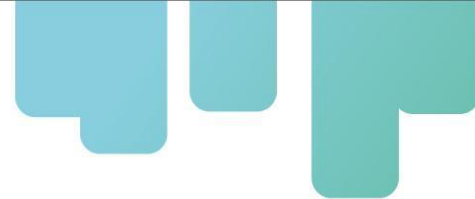
TÍTULO	OBJETIVO	LUGAR	MODALIDAD	FECHA	DESTINATARIO	INSTITUCIONES PARTICIPANTES
REUNIÓN CON LÍDERES CACAOTEROS DEL ESTADO SUCRE, VENEZUELA	COORDINACIÓN DE EVENTOS DE CAPACITACIÓN	CARACAS	PRESENCIAL	20 AGOSTO 12 SEPTIEMBRE 2022	GERENTES DE PRODUCCIÓN Y PRESIDENTE DE TURBA DELTANA	UTM- EMPRESA PRIVADA TURBA DELTANA
VISITA COMITIVA ITALIANA	COOPERACIÓN INTERNACIONAL	MENDOZA	PRESENCIAL	18-20 DE SEPTIEMBRE 2022	PUBLICO EN GENERAL Y SECTOR ACADÉMICO CIENTÍFICO	ICES- CNEA- UTN FRSR
FONTAGRO Y UNA PATENTE DE LUJO IBBEA 90	DIVULGACIÓN CIENTÍFICA	BUENOS AIRES	PRESENCIAL	29 SEPTIEMBRE 2022	PUBLICO EN GENERAL Y SECTOR ACADÉMICO CIENTÍFICO	IBBEA - CONICET- UBA
IX FORO TECNOLÓGICO	DIVULGACIÓN CIENTÍFICA	MENDOZA	PRESENCIAL	20-21 OCTUBRE 2022	PUBLICO EN GENERAL Y SECTOR ACADÉMICO CIENTÍFICO	UTN FRSR
ENCUENTRO E-ICES 17	DIVULGACIÓN CIENTÍFICA	MENDOZA	VIRTUAL	1 AL 4 NOVIEMBRE 2022	PUBLICO EN GENERAL Y SECTOR ACADÉMICO CIENTÍFICO	ICES- CNEA-UTN FRSR
4th EURO MEDITERRANEAN CONFERENCE	DIVULGACIÓN CIENTÍFICA	TUNEZ	VIRTUAL	1-4 NOVIEMBRE 2022	PUBLICO EN GENERAL Y SECTOR ACADÉMICO CIENTÍFICO	EEZ-CSIC
JORNADA ABIERTA DE MICROBIOLOGIA	DIVULGACIÓN CIENTÍFICA	BUENOS AIRES	PRESENCIAL	14 NOVIEMBRE 2022		IBBEA - CONICET- UBA



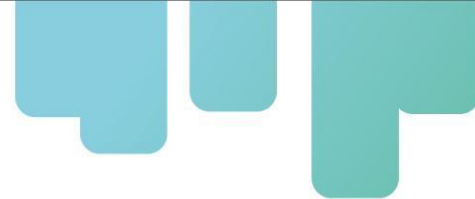
TÍTULO	OBJETIVO	LUGAR	MODALIDAD	FECHA	DESTINATARIO	INSTITUCIONES PARTICIPANTES
DEL SUELO 2022: Tesistas exponen sus proyectos					PUBLICO EN GENERAL Y SECTOR ACADÉMICO CIENTÍFICO	
I JORNADA JUVENTUD INVESTIGADORA EEZ	DIVULGACIÓN CIENTÍFICA	GRANADA	PRESENCIAL	30 NOVIEMBRE 2022	PUBLICO EN GENERAL Y SECTOR ACADÉMICO CIENTÍFICO	EEZ-CSIC
CUYANIA XIII	DIVULGACIÓN CIENTÍFICA	MENDOZA	PRESENCIAL	19 DE DICIEMBRE 2022	SECTOR ACADÉMICO E INVESTIGADORES	UTN FRSR - CONICET
Taller anual de seguimiento y los 25 años de Fontagro	DIVULGACIÓN CIENTÍFICA	MADRID ESPAÑA	VIRTUAL	5,6 Y 7 DE JUNIO 2023	SECTOR ACADÉMICO E INVESTIGADOR	IBBEA- UTM- CSIC- UTN
PASANTÍA IGAG ROMA	DIVULGACIÓN CIENTÍFICA	ROMA ITALIA	PRESENCIAL	12, 13, 14 Y 15 SEPTIEMBRE 2023	SECTOR ACADÉMICO E INVESTIGADOR	UTN
PASANTÍA IGAG CAGLIARI	DIVULGACIÓN CIENTÍFICA	CAGLIARI ITALIA	PRESENCIAL	3, 4 Y 5 OCTUBRE 2023	SECTOR ACADÉMICO E INVESTIGADOR	UTN
V Simposio Internacional de Ingeniería Agrícola	DIVULGACIÓN CIENTÍFICA	ECUADOR	VIRTUAL	30-oct-24	SECTOR ACADÉMICO E INVESTIGADOR	UTM
EXPO INTA RAMA CAIDA	DIVULGACIÓN CIENTÍFICA	MENDOZA	PRESENCIAL	18 Y 19 OCTUBRE 2024	PUBLICO EN GENERAL	INTA RAMA CAIDA
ENCUENTRO E-ICES 19	DIVULGACIÓN CIENTÍFICA	MENDOZA	VIRTUAL	30-31OCT y 1 NOV 2024	PUBLICO EN GENERAL Y SECTOR ACADÉMICO CIENTÍFICO	ICES- CNEA-UTN FRSR
X FORO TECNOLÓGICO	DIVULGACIÓN CIENTÍFICA	MENDOZA	PRESENCIAL	6-8 NOVIEMBRE 2024	PUBLICO EN GENERAL Y SECTOR ACADÉMICO CIENTÍFICO	UTN FRSR
CURSO	DIVULGACIÓN CIENTÍFICA	ECUADOR	PRESENCIAL	15 Y 16 MAYO 2025	SECTOR ACADÉMICO	IBBEA- UTM- UTN
CURSO	DIVULGACIÓN CIENTÍFICA	ECUADOR	PRESENCIAL	19/5/2025	SECTOR ACADÉMICO	IBBEA- UTM- UTN
SIMPOSIO	DIVULGACIÓN CIENTÍFICA	ECUADOR	VIRTUAL	21/10/2024	SECTOR ACADÉMICO	IBBEA- UTM- UTN
WORKSHOP	DIVULGACIÓN CIENTÍFICA	ECUADOR	PRESENCIAL	20/5/2025	PUBLICO-ACADEMIA	IBBEA- UTM- UTN

Cuadro 15. Artículos científicos publicados en revistas indexadas con referato de alto impacto

N°	Título	Primer autor	Co-autores	Año	Revista	Estado	Tipo	Link
1	The role of mycorrhizal-assisted phytomining in the recovery of raw materials from mine wastes.	Scotti, A.	Silvani, V.A., Juarez, N.A., Godeas, A.M., Ubaldini, S.	2022	Metals, 12(11), 1828	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https://doi.org/10.3390/met12111828



N°	Título	Primer autor	Co-autores	Año	Revista	Estado	Tipo	Link
22	Aplication of dry olive residue in combination with arbuscular mycorrhizal fungi enhances the microbial status of metal contaminated soils	Siles, J.A.	García-Romera, I., Cajthaml, T., Belloc, J., Silva-Castro, G., Szaková, J., Tlustos, P., García-Sánchez, M.	2022	Scientific Report, 12, 12690	PUBLICADO		https://doi.org/10.1038/s41598-022-17075-5
3	Inoculation of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi as a strategy for the recovery of long-term heavy metal-contaminated soils in a mine-spill area.	Silva-Castro, G.A.	Cano, C., Moreno-Morillas, S., Bago, A., García-Romera, I.	2023	Journal of Fungi 9, 56	PUBLICADO		https://doi.org/10.3390/jof9010056
4	Impacto de la microbiota nativa de suelos con distintas coberturas vegetales sobre el desarrollo de plántulas de cacao nacional fino de aroma en las tierras bajas de Ecuador	Jennifer Pamela Farfán Vélez	Juan Fernando Vélez Carranza María Amparo Gilces Reyna, Luz Cecilia García-Cruzatty y Maria Luisa Izaguirre-Mayoral	2023	Listo para ser enviado a Publicar			
5	Remote Sensing and Mycorrhizal-Assisted Phytoremediation for the Management of Mining Waste: Opportunities and Challenges to Raw Materials Supply	Castaño, A.R	Scotti, A.; Silvani, V.A.; Ubaldini, S.; Trapasso, F.; Tempesta, E.; Plá, R.R.; Giuffré, M.; Juarez, N.A.; Guglietta, D.	2023	Minerals, 13, 765.	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https://doi.org/10.3390/min13060765



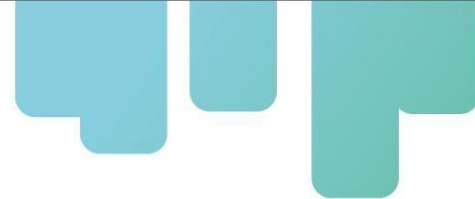
N°	Título	Primer autor	Co-autores	Año	Revista	Estado	Tipo	Link
6	Biotechnological Tool for Metal(lloid)s as Cd, Cu, Ni, and P Management with Multiple Approaches: Bioremediation, Recovery of Raw Materials, and Food Safety	Scotti, A	Castaño Gañan, A.R.; Silvani, V.A.; Juárez, A.; Coria, G.; Utge Perri, S.; Colombo, R.P.; García-Romera, I.; Izaguirre-Mayoral, M.L.; Godeas, A.; Ubaldini, S	2024	Metals.	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https://doi.org/10.3390/met14111259
7	Micro PIXE mapping proves a differential distribution and concentration of trace elements in fungal structures of Rhizophagus intraradices	M.E. Benavidez	E.M. de la Fournière, R.P. Colombo, V.A. Silvani, M.E. Debray, A. Scotti, A.M. Godeas	2024	Fungal Biology (Elsevier).	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https://doi.org/10.1016/j.funbio.2024.08.008
8	Different behavior of two strains of the arbuscular mycorrhizal fungus Rhizophagus intraradices on Senecio bonariensis Hook. & Arn. Against heavy metal soil pollution: a pilot-scale test	Roxana P. Colombo	Vanesa A. Silvani, Matias E. Benavidez, Adalgisa Scotti & Alicia M. Godeas	2024	International Journal of Phytoremediation	PUBLICADO	Revista de libre acceso	DOI:10.1080/15226514.2024.2353389
9	The microPIXE technique to understand the distribution of heavy metals in arbuscular mycorrhizal symbiosis	Marina Statello	Roxana P. Colombo, Emmanuelle M. de la Fourniere, Mario E. Debray, Alicia M. Godeas, Vanesa A. Silvani	2024	Revista Argentina de Microbiología	PUBLICADO	Revista de libre acceso	http://doi.org/10.1016/j.ra.m.2023.12.006



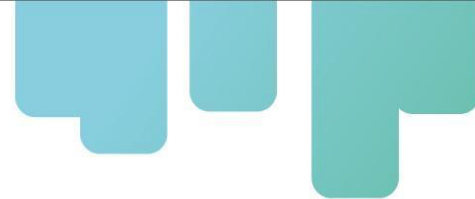
N°	Título	Primer autor	Co-autores	Año	Revista	Estado	Tipo	Link
10	Responses of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Plant Communities to Long-Term Mining and Passive Restoration.	Sofía Y. Utge Perri	María V. Valerga Fernández, Adalgisa Scotti, Roxana P. Colombo, Florencia Gonzalez, Lautaro Valenzuela, Alicia M. Godeas, Vanesa A. Silvani	2025	Plants 2025, 14, 580	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https://doi.org/10.3390/plants14040580

Cuadro 16. Artículos científicos, Full text - Chapter Book

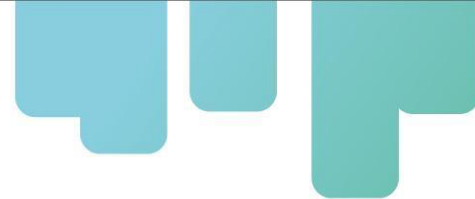
N°	TITULO	PRIMER AUTOR	CO-AUTORES	AÑO	REVISTA	ESTADO	TIPO	LINK
1	Bioremediation of alpeorujo by saprobe fungi and its use in agriculture.	García-Romera, I.	Silva-Castro, G.	2022	Proceeding of the Green Festival 2021, ISBN:978-84-120628-5-4.	PUBLICADO	Revista de acceso pago	
2	Scale-up of Mycorrhizal-Assisted Phytoremediation (MAP) system from TRL6 to TRL 7: cost-benefits within a circular economy context	Scotti, A.	Silvani, V., Milia, S., Cappai, G., Ubaldini, S., Ortega, V., Colombo, R., Godeas, A., Gómez, M.	2022	IntechOpen. Book (ISBN 978-1-83969-520-9)	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https://www.intechopen.com/chapters/79741



N°	TITULO	PRIMER AUTOR	CO-AUTORES	AÑO	REVISTA	ESTADO	TIPO	LINK
3	Determinación de la Kh del sustrato suelo-cenizas en biorreactores.	Scotti, A.	Cerioni, J., Visciglia, M., Cerioni, S., Biondi, R., Turano, J., Bianchini, J., Osisnaldi, G.	2022	edUTecNe Libro Digital PDF. Archivo Digital descargas y on line ISBN 978-987-4998-63-7	PUBLICADO	Revista de libre acceso	http://www.frsr.utn.edu.ar/investigacion/
4	Estrategia de enseñanza, transferencia tecnológica y emprendedurismo en un proyecto de investigación. Primera parte.	Scotti A.,	Perez G., Mengarelli M., Dudka Gutiérrez R, Pérez Cañada L., Gutiérrez Santos B., Visciglia M., Juárez A., Cerioni J., Silvani V., Godeas A., García-Romera I. , Izaguirre Lessmann M.L..	2023	MEMORIAS JEICE 2023 – ISBN 978-987-46333-5-4	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https://revistas.uncu.edu.ar/ojs/index.php/revic/ap/issue/view/511
5	Special Issue Reprint Advanced Technologies in Bio/Hydrometallurgy for Recovery and Recycling of Metals.	Scotti A.,		2023	Ed MDPI. ISBN 978-3-0365-8688-5 (Hbk) ISBN 978-3-0365-8689-2 (PDF)	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https://www.mdpi.com/journal/metals/special/issues/bio_hydrometallurgy_recovery_recycling

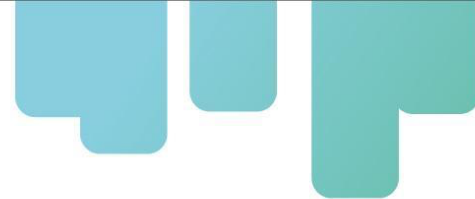


N°	TITULO	PRIMER AUTOR	CO-AUTORES	AÑO	REVISTA	ESTADO	TIPO	LINK
6	Técnica geomicrobiológica para prospección de uranio en subsuelo	Scotti A.,	Rojas, Guillermo; Servant, Marcela; Catálfamo, Pablo; Gómez, Martín	2023	Ciencia e Investigación, 73(3-2023), pp 5-11.	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https://aargentinaapciencias.org/wp-content/uploads/2023/08/01-Rojas-Cel73-3.pdf
9	Estrategia de enseñanza, transferencia tecnológica y emprendedorismo en un proyecto de investigación. Primera parte	Scotti, A	Gabriela Gisela Perez, Martín Mengarelli, Rocío Dudka Gutiérrez, Lucía Pérez Cañada, Betsabé Gutiérrez Santos, Mauricio Visciglia, Aliana Orellano, Andrea Juarez, Juan Jesús Miguel Cerioni, Vanesa Silvani, Alicia Godeas, Inmaculada García-Romera, María Luisa Izaguirre Lessmann.	2024	Revista Ingeniería y Ciencias Aplicadas. ISSN 2796-9444	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https://revistas.uncu.edu.ar/ojs3/index.php/revicap
10	Mitigation of heavy metal soil contamination: A novel strategy with mycorrhizal fungi and biotransformed olive residue	Higueras-Valdivia, M	Silva-Castro, G.A., Paniagua-López, M., Romero-Freire, A., García-Romera, I.	2025	Journal of Hazardous Materials Advances	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772416624001700?via=ihub

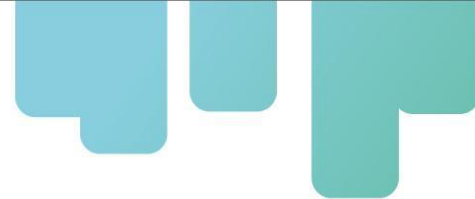


Cuadro 17. Trabajos publicados en eventos de CIENCIA Y TÉCNICA (Congresos, encuentros, Simposios, etc.)

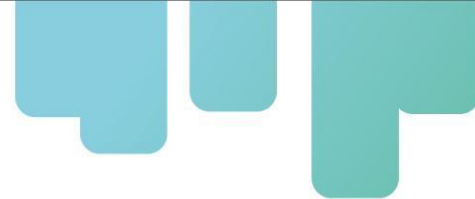
N°	TITULO	PRIMER AUTOR	CO-AUTORES	AÑO	EVENTO	ESTADO	TIPO	LINK
1	Determinación de las contantes hidráulicas en Biorreactores y MDV	Mengar elli, M.,	Cerioni, S., García, A., Cerioni, J., Visciglia, M., Juarez, A., Gabriela, C., Scotti, A., Vilches, R.	2022	IX Foro Tecnológico	PUBLICADO	Revista de libre acceso	http:// www.fr sr.utn. edu.ar > upload s > 2022/1 0
2	Determinación de constantes hidráulicas utilizando el escalamiento de Biorreactores a Módulos de Depuración Vegetal	Cerioni, S	Juarez, A., Silvani, V., Godeas, A., Cerioni, J., Mengarelli, M., García, A., Coria, G., Visciglia, M., Osisnaldi, G., Scotti, A., Vilches, R	2022	Proceedings E-ICES17	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https:// www. uncuyo .edu.ar /ices/e -ices- 17
3	Diversidad y estado de vegetación y hongos asociados a suelos contaminados en la mina Paramillos de Uspallata	Utge, S.,	Colombo, R., Scotti, A., Aguilar, M., Lenzano, L., Leguizamón, R., González, F., Babay, P., Silvani, V	2022	Proceedings E-ICES17	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https:// www. uncuyo .edu.ar /ices/e -ices- 17
4	Estado de avance: <i>Senna aphylla</i> , <i>Bacharis salicifolia</i> y <i>Senecio subulatus</i> asociadas a hongos micorrícicos arbusculares	Castaño Gañan, A.	Scotti, A., Pla, R., Silvani, V	2022	Proceedings E-ICES17	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https:// www. uncuyo .edu.ar /ices/e -ices- 17
5	Evaluation of the potential of alpeorujó biotransformed by saprobic fungi in the remediation of soils contaminated with heavy metals.	Silva- Castro, G.A.	Paniagua-López, M., Moreno-Morillas, S., Martín-peinado, F., Sierra- Aragón, M., García- Romera, I.	2022	4th Euro- Mediterrane an Conference for Environmen tal Integration.	PUBLICADO	Revista de acceso pago	http:// hdl.han dle.net /10261 /30933 1
6	Restoration of soils contaminated by heavy metals: a strategy based on waste recycling and bioremediation by	Paniagu a-López, M.	Silva-Castro, A., Martín- Peinado, F.J., Sierra- Arangón, M., García- Romera, I.	2022	I Jornada de la juventud investigador a de la Estación Experimenta	PUBLICADO	Revista de acceso pago	



N°	TITULO	PRIMER AUTOR	CO-AUTORES	AÑO	EVENTO	ESTADO	TIPO	LINK
	symbiotic and saprobic microorganisms.				I del Zaidín.			
7	Fitorremediación asistida por micorrizas como solución tecnológica en la disminución de cadmio rizosférico.	Scotti A.	Castaño Gañán, A.R., Silvani, V.A., Juárez, A., Coria, G., García Romera, I., Godeas, A., Izaguirre, M.L.	2023	Encuentro ICES - 18 - Acta de Reesúmenes -	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https://www.uncuyo.edu.ar/ices/galeria-de-posters
8	Transfer of results of the Maeci-Mincyt project to areas impacted with heavy metals from volcanism.	Scotti A.	Silvani, V., Milia, S., Guglietta, D., Castaño Gañán, A.R., Godeas, A., García Romera, I., Cappai, G., Colombo, R., Trapasso, F., Gómez M., Izaguirre, M.L., Ubaldini, S.	2023	Encuentro ICES - 18 - Acta de Reesúmenes -	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https://www.uncuyo.edu.ar/ices/galeria-de-posters
9	Glomalina y otros indicadores de calidad como parámetros de remediación pasiva en la mina "Paramillos de Uspallata".	Utge Perri, S.	Colombo RP, Scotti A, Valerga Fernández MV, Godeas A, Silvani VA	2023	Encuentro ICES - 18 - Acta de Reesúmenes -	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https://www.uncuyo.edu.ar/ices/galeria-de-posters
10	Determinación de las contantes hidráulicas en Biorreactores y MDV.	Juárez, A.	Mengarelli M., Cerioni S., Cerioni J., Visciglia M., Coria G., Vilches R., Scotti A	2023	Encuentro ICES - 18 - Acta de Reesúmenes -	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https://www.uncuyo.edu.ar/ices/galeria-de-posters
11	Glomalina y otros indicadores de calidad como parámetros de remediación pasiva en la mina "Paramillos de Uspallata	Utge Perri S,	Colombo RP, Scotti A, Valerga Fernández MV, Godeas A, Silvani VA.	2023	XVII Encuentro Internacional de Ciencias de la Tierra (ICES). Mendoza.	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https://www.uncuyo.edu.ar/ices/galeria-de-posters
12	Estrategia de enseñanza, transferencia tecnológica y emprendedurismo	Scotti A.	Pérez G., Mengarelli M., Dudka Gutiérrez R., Pérez Cañada L., Gutiérrez Santosi B., Visciglia M., Juárez A., Cerioni J., Silvani	2023	IV Jornadas de Enseñanza e Investigación de	PUBLICADO	Revista de libre acceso	Memorias- JEICE 2023- ISBN



N°	TITULO	PRIMER AUTOR	CO-AUTORES	AÑO	EVENTO	ESTADO	TIPO	LINK
	en un proyecto de investigación.		V., Godeas A., García-Romera I., Izaguirre Lessmann M.L.		Ciencias Naturales y Experimentales			978-987-46333-5-4
13	Herramienta biotecnológica para el manejo de metales(loides) con múltiples enfoques	Scotti, A.	Ana Rosa Castaño Gañan, Vanesa Analía Silvani, Andrea Juarez, Gabriela Coria, Sofía Utge Perri, Roxana Paola Colombo, Inmaculada García, María Luisa Izaguirre, Alicia Godeas Stefano Ubaldini	2024	XXVIII Jornadas de Investigación SIIP	PUBLICADO	Revista de libre acceso	www.uncuyo.edu.ar/?xxviii_jiu_2024
14	Escalamiento de TRLs en biorreactores para bioprocesos aplicados al manejo de metales y metaloides en suelos	Scotti, A.	et al	2024	VIII Convención científica Internacional UTM	PUBLICADO	Revista de libre acceso	UTM Página web del evento
15	Fitorremediación asistida por micorrizas como solución tecnológica en la disminución de Cadmio Rizosférico: herramientas y metodologías diseñadas para escalamiento ingenieril TRL 6 en MDV	Mengar elli, M.	Andrea Juarez , Gabriela Coria, Vanesa Silvani, Juan Cerioni, Rocío Dudka, Inmaculada García Romera, Alicia Godeas, María Luisa Izaguirre, Adalgisa Scotti	2024	IX Foro Tecnológico	PUBLICADO	Revista de libre acceso	www.fsr.utn.edu.ar/?forotec
16	Estrategias biotecnológicas para la desalinización de aguas afectadas a la ganadería.	Scotti A.	Juarez Andrea, Coria Gabriela	2024	Encuentro ICES - 19 - Acta de Reesúmenes -	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https://www.uncuyo.edu.ar/ices/
17	Herramienta biotecnológica para el manejo de metales(loides) con múltiples enfoques	Scotti A.	Ana Rosa Castaño Gañan, Vanesa Analía Silvani, Andrea Juarez, Gabriela Coria, Alicia Godeas, Inmaculada García, María Luisa Izaguirre and Stefano Ubaldini	2024	Encuentro ICES - 19 - Acta de Reesúmenes -	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https://www.uncuyo.edu.ar/ices/



N°	TITULO	PRIMER AUTOR	CO-AUTORES	AÑO	EVENTO	ESTADO	TIPO	LINK
18	Biorremediación de Níquel y Uranio utilizando Helianthus Annuus (girasol) con micorrización asistida	Scotti A.	Juan Pablo Gaviria, Vanesa Silvani, Gabriela Coria, Adalgisa Scotti.	2024	Encuentro ICES - 19 - Acta de Reesúmenes -	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https://www.uncuyo.edu.ar/ices/
19	Interdisciplinary sustainable strategies for bioremediation and resource recovery from Paramillos de Uspallata mine	Utge Perri Sofia	Scotti Adalgisa, Guglietta Daniela, Trapasso Franchesca, Colombo Roxana, Milia Stefano, Cappai Giovanna, Godeas Alicia, Ubaldini Stefano, Silvani Vanesa	2024	Encuentro ICES - 19 - Acta de Reesúmenes -	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https://www.uncuyo.edu.ar/ices/
20	Distribución espacial de metales pesados y calidad ambiental del suelo en el complejo minero fabril de San Rafael, Mendoza-Argentina	Castaño Gañan, A.	Francesca Trapasso , Gustavo G. Álvarez, Adalgisa Scotti	2024	Encuentro ICES - 19 - Acta de Reesúmenes -	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https://www.uncuyo.edu.ar/ices/
21	Endófitos fúngicos asociados a las raíces de cacao y su tolerancia al cadmio	Valerga Fernandez MV	Utge Perri SY, Calzada PM, Cecchi O, Torreguitar I, Silvani VA, Colombo RP, García Cruzatty LC, Scotti A, Godeas AM.	2024	Encuentro ICES - 19 - Acta de Resúmenes -	PUBLICADO	Revista de libre acceso	https://www.uncuyo.edu.ar/ices/

Si bien en esta producción están mencionados trabajos que no están completamente en el ámbito neto de Fontagro son investigaciones que hacen a la experiencia y complementariedad del grupo de trabajo, lo cual influye en la excelencia del material desarrollado exclusivamente para el proyecto Fontagro.

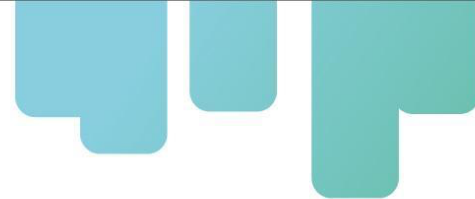
RESULTADOS COMPONENTE 4. PRODUCTO 10.

Actividad 4.2: Elaboración de una estrategia de comunicación y transferencia.

Producto 10: 6 Bases de datos de: emprendedores, agricultores, redes de agricultores, redes científicas, nucleación de entidades trabajadoras en la temática, redes científico-privadas-gubernamentales.

Las bases de datos registradas mediante la ejecución del presente proyecto superaron los resultados esperados, ya que se logró alcanzar la construcción de 10 bases de datos, incluyendo actores locales, regionales e internacionales, clasificados transversalmente como:

- Académicos: Universidades, técnicos profesionales, estudiantes de grado y postgrado
- Gubernamentales: Organismos de ciencia y técnica, embajadas, GAD, Gobierno de FVG (Italia)



- Privados: Acopiadores, productores de cacao y emprendedores.

Las bases de datos se encuentran en la página de Fontagro.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Mencionamos que se pudo agregar contactos público-privados académicos y gubernamentales de Italia, interesados en el proyecto. Otro aporte interesante fue la participación privada y la base de datos de técnicos especialistas. Sería recomendable integrar a los institutos interesados de Italia ya que dentro de la Unión Europea también tienen la problemática alimentaria con respecto al Cd, As, Pb y Hg. En el norte de Italia se expuso el trabajo del proyecto, en el Malnisio Sciences Festival y nos pidieron realizar un trabajo similar en zonas impactadas italianas.

Indicadores Técnicos

Se detallan los siguientes indicadores:

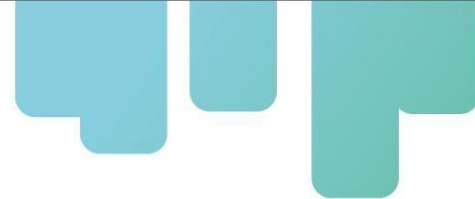
- 1- Publicaciones, producción científica
10 artículos en revistas científicas, 10 capítulos de libros, 21 presentaciones a congresos
- 2- Personas capacitadas 931, de las cuales 205 son mujeres.
- 3- Totales beneficiarios 3452 personas, de las cuales 1646 son mujeres
- 4- Tesis: total de tesis 8 pre y post grado: 1 doctoral defendida, 2 doctorales en progreso, 1 de grado defendida, 4 de grado en progreso.
- 5- Soluciones tecnológicas e innovaciones:
 - a) Vinculada a Hongos arbusculares (HA): simbiosis micorrícica con comportamiento diferente: excluyente de flor, fitoestabilizadora, hiperacumuladora de cadmio. Conservados en Banco de semillas (Laboratorio Bioambiental, ICES CNEA UTN), Banco de Glomeromycota (UBA FCEN- IBBEA)
 - b) Vinculada a Hongos saprobios: bioindicadores de cadmio, tolerantes e hiperacumuladores. Conservados en CSIC- Estación Experimental El Zeidín.
 - c) Vinculada al escalamiento y la conservación de condiciones para la reproducibilidad de resultados al aumentar de nivel de maduración tecnológica (TRL).

Por otra parte los IOV descriptos en la matriz del maco lógico fueron alcanzados en su totalidad:

*Base de datos de individuos capacitados, *registro de material de clases, *biorreactores funcionando con suelos seleccionados, cepas aisladas y plantines con valores de CBra < 1, *MDV funcionando a escala TRL 6, *documentos de gestión y disseminación del conocimiento.

Los medios de verificación son los productos entregados (1, 2, 3, 4, 6, 9 y 10) y aprobados por Fontagro

Hallazgos Destacados



Se aislaron especies fúngicas desde suelo de Ecuador perteneciente a cacaotales y desde raíces de cacao. Estas especies fúngicas (arbusculares y saprobios) tienen diversos comportamientos los cuales fueron caracterizados para emplearse en la disminución de la biodisponibilidad de cadmio rizosférico. Los hongos micorrícicos están conservados en el Banco de Glomeromycota y los saprobios en la Estación Experimental El Zeidín CSIS. Están disponibles para utilizarse en esquemas de biotecnología industrial ya que fueron probados en biorreactores a diversas escalas. Se logró además una simbiosis micorrícica arbuscular con una especie vegetal proveniente de una zona impactada minera con altísima capacidad de absorber Cd del suelo la cual puede combinarse con el agregado de las especies fúngicas en suelo a modo de estrategia de mejora por intercalado de esta simbiosis y las plantas de cacao. Se registró que estas estrategias solubilizan fósforo lo cual mejora el desarrollo vegetal y mejora la agregación del suelo adoptando también la función de biofertilizante.

Se generaron redes sólidas entre agricultores, academia, privados, se generaron convenios nuevos, uno de ellos para mujeres cacaoteras ecuatorianas, se transfirió la tecnología en workshop y congresos internacionales, se transfirió la tecnología a un grupo de investigación italiano (IGAG- CNR) que quiere extraer los metales de la biomasa en contexto de economía circular. Se generaron 10 bases de datos (4 de capacitados y 6 de redes) y convenio específico con instituciones académicas y gubernamentales. Se procuró paridad de género y se alcanzaron a capacitar más de 200 mujeres.

Las alianzas logradas, las bases de datos y los convenios permiten fortalecer la sustentabilidad del proyecto a la finalización de la CT y generar nuevos desafíos frente a nuevas problemáticas.

Como recomendación principal remarcamos la importancia de trabajar con especies nativas tanto vegetales como de microorganismos. En este proyecto por razones lógicas de duración del proyecto se trabajó con plantas modelo de girasol y con especies vegetales hiperacumuladoras de cadmio con micorrizas, algunas aisladas de cacao y otras provenientes de zonas impactadas por minería con altas concentraciones de cadmio. En futuras investigaciones hay que probar en los plantines de cacao que ya tenemos en crecimiento en Argentina o trasladar el modelo a Ecuador, buscando el comportamiento de *Baccharis salicifolia* u otra especie de Ecuador en plantaciones de cacao. En cuanto al consorcio fúngico fitoestabilizador, productor de glomalina, puede probarse su transferencia y conservación en Ecuador.

Las oportunidades de mejora se centran en poder probar con plantines de cacao las observaciones realizadas en modelo de girasol. Para ello el tiempo requerido es mayor. Del mismo modo sería conveniente encontrar una simbiosis hiperacumuladora de cadmio, solubilizadora de fósforo y productora de glomalina con una especie nativa de Ecuador, no sabemos si la especie *Baccharis salicifolia* se encuentra en Ecuador, algunas comunicaciones con biólogos nos han confirmado la existencia, en ese sentido sería interesante poder probar su comportamiento en biorreactores.

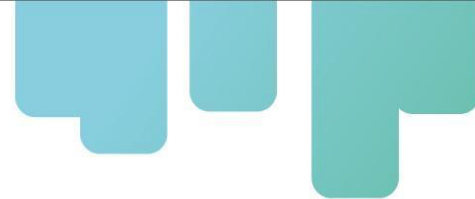
Como innovaciones podemos nombrar: A-Simbiosis absorbentes de cadmio

B- Mix fúngica productora de glomalina fitoestabilizadora

C- Biorreactores para el estudio de la partición biomasa, lixiviado, y suelo

D- Parámetros de escalamiento de TRL 4 a TRL 6 de sistemas fitorremediadores para la reproducibilidad

E- Innovación educativa mediante historietas motivadoras



Se detalla la lista de microorganismos aislados y testeados, n vías de testear, identificados y en vías de identificar.

HS endofitos de raíz (Argentina):

Suelo con Cd

Fusarium sp.1 (cepa: Ch1C)
Trichoderma harzianum (cepa: Ch2C - secuenciada)
Epiccocum sp. (cepa Ch3C)
Penicillium sp. (cepa Ch3A)

Suelo sin Cd:

Fusarium sp.2 (cepa L2A)
Trichoderma sp.2 (cepa: L1A)
Cepa L3C (hongo DSE, melanina complica la secuenciación)
Cepa L5Cb (bioindicador de Cd. Cambio de coloración del micelio acorde a la cpncentración de Cd en el medio)

HS suelos (España):

Se aislaron 10 cepas (no identificadas aún)

HS suelo colección Zaidin testeadas en el proyecto:

Phanerochaete chrysosporium (resistente a todas las concentraciones de Cd testeadas)
Trametes versicolor
Fusarium oxysporum
Pleurotus ostreatus
Coprinellus radians
Coroliopsis rígida
Aspergillus niger
Bjerkandera adusta

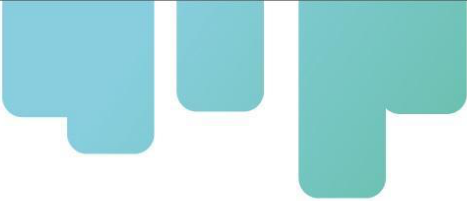
HA simbioses raíces (Argentina)

Suelos con Cd:

Acaulospora mellea
Acaulospora scrobiculata (se logró aislar *in vivo*)
Glomus brohultii

Suelos sin Cd:

Acaulospora scrobiculata (se logró aislar *in vivo*)
Acaulospora papillosa
Acaulospora excavata



Funneliformis geosporum (se logró aislar *in vivo*)
Glomus brohultii

Pertenecientes al BGIV y testeadas en el proyecto:

Rhizophagus intraradices (cepa GC3)
Rhizophagus intraradices (cepa GA5)
Rhizophagus intraradices (cepaGB8)
Mix de cepas aisladas de asentamiento minero (Paramillos de Uspallata)

Historias en el campo

Para visibilizar las historias vividas a lo largo del proyecto en el campo, con cacaoteros y se realizaron videos y presentaciones que se pueden visualizar en la página del FONTAGRO (<https://fontagro.org/es/historias-de-impacto/bioprocso-reductor-de-la-solubilidad-del-cadmio-rizosferico>) y en Youtube (<https://www.youtube.com/watch?v=SL5XzYGdNuM>). A continuación se trasladan aquí algunas de las experiencias a campo.

EXPERIENCIA EN RIO CARIBE

Río Caribe es un pueblo con una trayectoria agrícola y turística situado al oriente de Venezuela y al norte de la Península de Paria, en el Estado Sucre, famoso por sus bellas playas y gastronomía local. Río Caribe es también conocido mundialmente por la calidad de su cacao fino y de aroma, sembrado desde la época de la colonia.

Según cuenta la leyenda, la península de Paria fue azotada por un maremoto ancestral que llevó las semillas del cacao criollo a la vecina isla de Trinidad en donde se desarrolló y adquirió su nombre de cacao Trinitario. Este cacao se caracteriza por sus mazorcas alargadas de un color violeta oscuro con semillas que despliegan un delicioso saber afrutado combinado con los aromas de la tierra. Sin embargo, estudios genéticos han demostrado que el cacao Trinitario es, en realidad, el resultado de cruces entre el delicado cacao tipo Criollo del occidente de Venezuela y los robustos cacaos tipo Forastero provenientes de la cuenca del Amazonas, de la cual Venezuela también forma parte.

Actualmente, las siembras agroforestales de cacao están concentrada en unas 25 fincas cacaoteras, con el 25 % de las cuales son lideradas por mujeres, agrupadas a su vez en la cooperativa de cacao Río Caribe. Esta Cooperativa Río Caribe fue beneficiaria directa de este proyecto FONTAGRO, habiendo recibido numerosas charlas instructivas y divulgativas sobre los efectos tóxicos del Cd presente en algunos chocolates en los humanos. La Dra. María Luisa Izaguirre también realizó visitas anuales a las fincas cacaoteras en las cuales compartió conocimientos con los dueños, técnicos de campo y mujeres campesinas en zonas rurales de Río Caribe (Fig. 31).

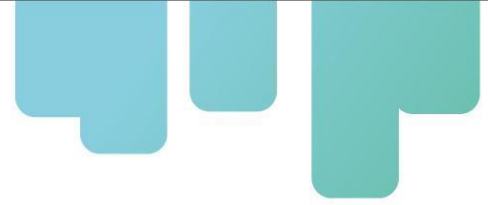


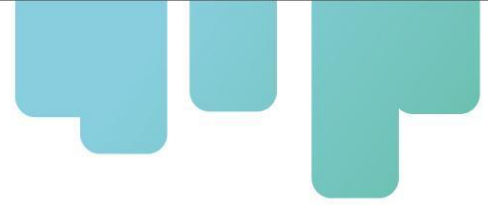
Figura 31: Ciclos de charlas y visitas a técnicos de campo y mujeres campesinas en Río Caribe

TRABAJO EN EL INVERNADERO

Estudiantes de octavo y noveno semestres de la Facultad de Ingeniería Agrícola (FIA) de la Universidad Técnica de Manabí (Ecuador), realizaron ensayos diseñados para investigar el impacto de microorganismos del suelo, incluyendo micorrizas y hongos saprobio, en el desarrollo de clones de cacao fino y de aroma. Los experimentos fueron dirigidos por la Dra. María Luisa Izaguirre, y llevados a cabo bajo condiciones de invernadero, con foto y termoperíodos naturales. Resultados obtenidos fueron presentados en 3 tesis de pregrado aprobadas en la FIA (Fig. 32)



Figura 32: Ensayos en invernadero con estudiantes de la Universidad Técnica de Manabí



Conclusiones

A la finalización de la CT los beneficiarios pueden desarrollar su propio biorreactor con el consorcio microbiano y la simbiosis elegida para mitigar el ingreso de cadmio a la planta de cacao. Pueden utilizar las redes creadas y las bases de datos para extender la comercialización del bioproceso a otras regiones con problemática similar.

Se está armando una red de asistencia a los cacaoteros para resolver inconvenientes que se presenten en el armado de sus biorreactores con plantas micorrizadas y el agregado de saprobios.

Los beneficiarios pueden realizar la inoculación de hongos micorrícicos arbusculares y endófitos de raíz de forma profesional gracias a la elaboración de un protocolo adaptado para los productores.

Los beneficiarios podrán armar sus plantines con sistemas biológicos que excluyan el cadmio de la flor/fruto, disminuyan la biodisponibilidad del cadmio al cacao y solubilizan el fósforo de modo de actuar también como fertilizante.

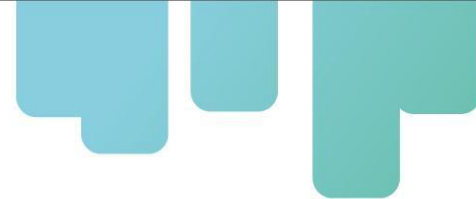
Se estableció como ejemplo una simbiosis hiperacumuladora de cadmio planta nativa-micorriza factible de ser utilizada en las plantaciones de cacao y también se generaron las bases para el desarrollo de una nueva simbiosis hiperacumuladora diseñada en Ecuador.

La transferencia al sector cacaotero está planteada y con las redes creadas para facilitar la adopción de la innovación tecnológica. Para ello es necesaria la colaboración de los diferentes actores: gobierno, universidades, organizaciones de cacaoteros, etc. Mediante este proyecto se dejaron armadas las redes para la sustentabilidad y la adopción biotecnológica.

Se concedió la patente AR N°: AR090183B1. y se utilizó el sistema para la hiperacumulación en arte aérea de modo de recuperar materias primas críticas (CRM) y estratégicas en conjunto con un instituto de investigación de Italia (CNR-IGAG). Se amplió el procedimiento a otros cultivos despertando el interés del sector privado olivícola.

Se establecieron las condiciones físico (hidráulico) químico biológicas para el escalamiento hasta TRL 6, se necesita mayor tiempo para la puesta a punto a mayor escala en territorio.

En términos educativos y científicos se defendieron tesis de grado y postgrado y se publicaron artículos de investigación por arriba del número proyectado inicialmente alcanzando más de 16 eventos, más de 10 artículos publicados en revistas de alto impacto, más de 10 trabajos completos en actas y capítulos de libros, más de 21 presentaciones a congresos, 1 tesis doctoral finalizada, 3 tesis doctorales en curso, 4 tesis de grado finalizadas y en curso. En cuanto a beneficiarios se ha capacitado a 931 agricultores familiares, alcanzando a 3452 personas de las cuales 1646 son mujeres y se capacitó a más de 177 estudiantes, tesistas y emprendedores.

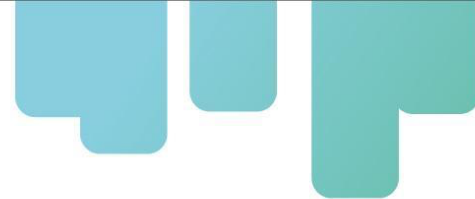


Recomendaciones

A continuación, se detalla un cuadro (ISTA) con las recomendaciones que iban surgiendo a medida que se avanzaba con el proyecto (Cuadro 18):

Cuadro 18. Recomendaciones surgidas a lo largo del desarrollo del proyecto

Año	Lecciones aprendidas	Recomendaciones
2022	El bioproceso contempla el agregado de microorganismos fúngicos saprobios y micorrícicos al suelo rizosférico de las plantas de cacao. Hemos observado en los biorreactores que el comportamiento de las cepas micorrícicas no es uniforme depende de muchos factores que deben ser controlados y calibrados. Entre los factores que modifican el comportamiento de las cepas micorrícicas se encuentran variables físico- químicas que nos permiten estimar la solubilidad del cadmio, si estas variables se modifican la solubilidad del cadmio puede variar y por ende su biodisponibilidad. Se seleccionaron aquellas variables fáciles de medir y que puede el productor cacaotero testear sin mayores inconvenientes.	Se debe incorporar el registro de potencial redox y pH a diversas profundidades, utilizando los biorreactores.
2022	Hemos encontrado que hay cepas micorrícicas arbusculares que aumentan la absorción de elementos químicos a nivel radicular mientras que otras lo hacen a nivel aéreo. Además, hay algunas cepas micorrícicas que evitan que el elemento químico pase a la flor. Estos experimentos los hemos realizado en especies vegetales diferentes al cacao pero pueden ser extrapolables. La clasificación de las cepas micorrícicas en función de la bioacumulación es un dato importante para la evolución del proyecto.	Publicaciones realizadas por el grupo de trabajo vinculadas a la temática deberían ser registradas como review de Fontagro
2022	Los biorreactores (BR) sirven para estudiar y calibrar las variables físico-químico-biológicas vinculadas a la solubilidad de Cd rizosférico. En base a esta condición de calibrar el comportamiento del consorcio de microorganismos en los BR hemos tenido el inconveniente de la altura excesiva y hemos tenido que proceder al ajuste de las dimensiones de los mismos.	En relación a los primeros BR contruidos se recomendó cambiar altura y material de construcción.
2023	Los resultados salidos del BR indican que es posible incorporar una especie vegetal en consorcio micorrícico saprobio para aumentar la capacidad de bioextracción de Cd de modo que no quede disponible para otras especies vegetales.	Se recomienda probarlo en Ecuador con plántulas de cacao o en la UBA con las semillas sembradas en invernadero.
2024	La hidráulica de los biorreactores en relación a la rizósfera fue estandarizada, se incorporaron variables físico-químico-biológicas que permiten el escalamiento y la estandarización para poder hacer reproducible la biotecnología	Se recomienda la calibración siguiendo la Ley de Darcy
2024	Se capacitaron en niveles 1 y 2 a agricultores, tesisas, estudiantes y emprendedores de diversos países. Se impartieron elementos para desarrollar la biotecnología a modo de desarrollo emprendedor.	Se recomienda fortalecer la interacción mediante la red de alianzas público privadas gubernamentales generadas en el proyecto

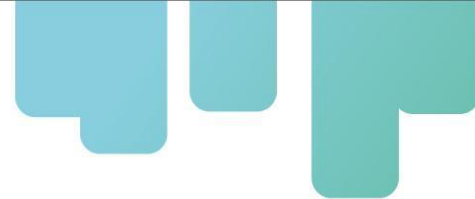


Año	Lecciones aprendidas	Recomendaciones
2024	Se transfirió la biotecnología a otros objetivos en otros centros como los cultivos de olivos y la recuperación de elementos críticos en minería	Se recomienda divulgar los múltiples enfoques y utilidades mediante mayor cantidad de workshop internacionales orientados a diversos sectores.
2024	Las especies aisladas se encuentran conservadas en los respectivos Bancos y están en proceso de secuenciación	Se recomienda identificarlas genéticamente y continuar su propagación. Se recomienda incorporar los perfiles bioquímicos de los exudados radiculares en el suelo
2025	Las especies fúngicas aisladas fueron testeadas como endófitos según postulados de Koch. Se evaluó su comportamiento como promotor del crecimiento vegetal o fitopatógeno	Se recomienda testear el comportamiento de las cepas como promotores del crecimiento vegetal con diversas especies de plantas de interés agronómico

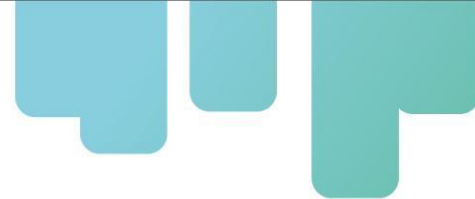
Hemos realizado recomendaciones en algunas actividades y están detalladas en cada componente, en forma general recomendamos a todos los sectores implicados en este proyecto continuar con la temática y ampliarla a otros elementos químicos como arsénico, plomo y mercurio, que actuarán de filtro en las comercializaciones internacionales de alimentos, tal como se detalla en el documento 32023R0915 de la Unión Europea con fecha abril 2023.

Referencias bibliográficas

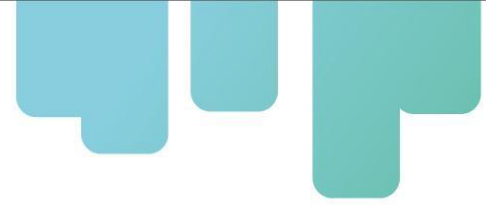
- Akhtar, O., Kehri, H. K., & Zoomi, I. (2020). Arbuscular mycorrhiza and *Aspergillus terreus* inoculation along with compost amendment enhance the phytoremediation of Cr-rich technosol by *Solanum lycopersicum* under field conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 201, 110869. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110869>
- Akhtar, O., Mishra, R., & Kehri, H. K. (2019). Arbuscular mycorrhizal association contributes to Cr accumulation and tolerance in plants growing on Cr contaminated soils. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 89, 63-70. <https://doi.org/10.1007/s40011-017-0914-4>
- Akratos, C.S.; Tsihrantzis, V.A. (2007). "Effect of temperature, HRT, vegetation and porous media on removal efficiency of pilot-scale horizontal subsurface flow constructed wetlands". *Ecological Engineering* 29(2), 173-91. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2006.06.013>.
- Argüello, D., Chávez, E., Lauryssen, F., Vanderschueren, R., Smolders, E., & Montalvo, D. (2019). Soil properties and agronomic factors affecting cadmium concentrations in cacao beans: a



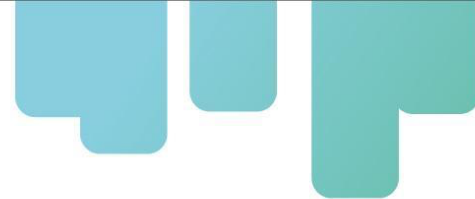
- nationwide survey in Ecuador. *Sci. Total Environ.*, 649:120-127, <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.292>.
- Arriagada C, Herrera M, García-Romera I, Ocampo J. (2004). Tolerance to Cd of soybean (*Glycine max*) and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) inoculated with arbuscular mycorrhizal and saprobe fungi. *Symbiosis* 36: 285-299.
- Barraza, F., Schreck, E., Lévêque, T., Uzu, G., López, F., Ruales, J., ... & Maurice, L. (2017). Cadmium bioaccumulation and gastric bioaccessibility in cacao: A field study in areas impacted by oil activities in Ecuador. *Environmental Pollution*, 229, 950-963.
- Barraza, F. (2020). Guía para la determinación de cadmio (Cd) en muestras de cacao en granos y en polvo. https://issuu.com/zentraagenciareactiva/docs/libro_final_versi_n_issuu
- Bray, R. H. & Kurtz, L. T. (1945). Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. *Soil science* 59:39-45
- Carrillo, I. F. (1985). Manual de laboratorio de suelos. CENICAFE.
- Castaño, A.R.; Scotti, A.; Silvani, V.A.; Ubaldini, S.; Trapasso, F.; Tempesta, E.; Plá, R.R.; Giuffré, M.; Juárez, N.A.; Guglietta, D. (2023). Remote Sensing and Mycorrhizal-Assisted Phytoremediation for the Management of Mining Waste: Opportunities and Challenges to Raw Materials Supply. *Minerals*. 13(6), 765. <https://doi.org/10.3390/min13060765>.
- Chávez, E., He, Z. L., Stoffella, P. J., Mylavarapu, R. S., Li, Y. C., Moyano, B. & Baligar, V. C. (2015). Concentration of cadmium in cacao beans and its relationship with soil cadmium in southern Ecuador *Sci. Total Environ.*, 533:205-214, <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06>.
- Chavez, E., He, Z. L., Stoffella, P. J., Mylavarapu, R. S., Li, Y. C., & Baligar, V. C. (2016). Chemical speciation of cadmium: An approach to evaluate plant-available cadmium in Ecuadorian soils under cacao production. *Chemosphere*, 150. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.013>
- Chen, Y., Chen, Y., Li, Y., Wu, Y., & Zeng, Z. (2019). Changes of heavy metal fractions during co-composting of agricultural waste and river sediment with inoculation of *Phanerochaete chrysosporium*. *Journal of Hazardous Materials*, 37815, 120757. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120757>
- Colombo R, Benavidez M, Fernandez Bidondo L, Silvani V, Bompadre M, Statello M, Scorza M, Scotti A, Godeas, A. (2020). Arbuscular mycorrhizal fungi in heavy metal highly polluted soil in the Riachuelo river basin. *Revista Argentina de Microbiología* 52: 145-149. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.05.001>
- Colombo, R.P.; Silvani, V.A.; Benavidez, M.E.; Scotti, A.; Godeas, A.M. (2024). "Different behavior of two strains of the arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus intraradices* on *Senecio bonariensis* Hook. & Arn. against heavy metal soil pollution: a pilot-scale test". *International Journal of Phytoremediation* 26 (11), 1741–1748. <https://doi.org/10.1080/15226514.2024.2353389>.
- Commission Regulation (EU) 2023/915 of April 25 2023 on maximum levels for certain contaminants in food and repealing Regulation (EC) No 1881/2006. Available online: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32023R0915>. Accessed on 12 September 2024.
- Cronbach, L.J (1951). Coefficient alpha and the internal structure of tests. *Psychometrika* 16, 297–334. <https://doi.org/10.1007/BF02310555>
- Cuenca, G., & Meneses, E. (1996). Diversity patterns of arbuscular mycorrhizal fungi associated with



- cacao in Venezuela. *Plant and Soil*, 183, 315-322. <https://doi.org/10.1007/BF00011447>
- de Aldecoa Quintana, J. M. I. (2014). Niveles de madurez tecnológica: Technology readiness levels: TRLS: Una introducción. *Economía industrial* 393, 165-171.
- Dico, G. M. L., Galvano, F., Dugo, G., D'ascenzi, C., Macaluso, A., Vella, A., ... & Ferrantelli, V. (2018). Toxic metal levels in cocoa powder and chocolate by ICP-MS method after microwave-assisted digestion. *Food Chemistry*, 245, 1163-1168.
- Enders, W. (2010). *Applied Econometric Time Series*. Wiley, Hoboken, NJ. 3rd edition.
- FAO. (2011). Las mujeres en la agricultura: cerrar la brecha de género en aras del desarrollo.
- Fazli, M.M., Soleimani, N., Mehrasbi, M., Darabian, S., Mohammadi, J., & Ramazani, A. (2015). Highly cadmium tolerant fungi: Their tolerance and removal potential. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 13, 1-19. <https://doi.org/10.1186/s40201-015-0176-0>
- Ferrol N.; Tamayo E.; Vargas P. (2016). The heavy metal paradox in arbuscular mycorrhizas: from mechanisms to biotechnological applications. *J. Experim. Bot.*, erw403.
- Förste F., Bauer, L., Streeck, C., Radtke, M., Reinholz, U., Kadow, D., Keil, C. & Mantouvalou, I. (2023). Quantitative analysis and 2D/3D elemental imaging of cocoa beans using X-ray fluorescence techniques. *Analytical Chemistry* 2023 95 (13), 5627-5634. DOI: 10.1021/acs.analchem.2c05370
- García, K. G. V., Mendes Filho, P. F., Pinheiro, J. I., do Carmo, J. F., de Araújo Pereira, A. P., Martins, C. M., ... & Oliveira Filho, J. D. S. (2020). Attenuation of manganese-induced toxicity in *Leucaena leucocephala* colonized by arbuscular mycorrhizae. *Water, Air, & Soil Pollution*, 231, 1-15.
- García-Hernández, M. A., Villareal-Chiu, J. F., Garza-González, M. T. (2017). Tetralophilic fungi research: an alternative for its use in the bioremediation of hexavalent chromium. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 14, 2023-2038. <https://link.springer.com/article/10.1007/s13762-017-1348-5#citeas>
- García-Sánchez M, Cajthaml T, Filipová A, Tlustoš P, Száková J, García-Romera I. (2019). Implications of mycoremediated dry olive residue application and arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on the microbial community composition and functionality in a metal-polluted soil. *J. Environ. Manage.* 247: 756-765.
- García-Sánchez M, Palma JM, Ocampo JA, García-Romera I, Aranda E. (2014). Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate oxidative stress induced by ADOR and enhance antioxidant responses of tomato plants. *J Plant Physiol* 171: 421-428.
- George, D., & Mallery, P. (2003). *SPSS for Windows step by step: A simple guide and reference*. 11.0 update (4th ed.). Boston: Allyn & Bacon
- Gerdemann, J. W. & Nicolson, T. H. (1963). Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, 46, 235-244. [http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536\(63\)80079-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536(63)80079-0)
- Ghoms, P. G. T., Eke, P., Kepngop, L. R. K., Kamdem, T. H. W., Nguemang, L. C. M., Nya, V. D., ... & Fekam, F. B. (2023). Propagation host affects the mycorrhiza-mediated Cd toxicity alleviation in cocoa (*Theobroma cacao* L.) seedlings and restoration of soil aerobic mesophyll microflora. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 23(2), 2694-2707. <https://doi.org/10.1007/s42729-023-01226-2>
- Göhre, V.; Paszkowski, U. (2006). "Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation". *Planta* 223(6), 1115-22. <https://doi.org/10.1007/s00425-006-0225-0>

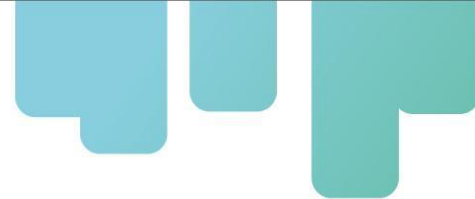


- Gramlich, A., Tandy, S., Gauggel, C., López, M., Perla, D., Gonzalez, V., & Schulin, R. (2018). Soil cadmium uptake by cocoa in Honduras. *Science of the Total Environment*, 612, 370-378
- Gramss, G., & Hans, B. (2014). Non-symbiotic ground fungi mobilize soil (heavy) metals and promote their plant uptake. *Trends in Environmental Science*, 297, 326. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-21408-0_19
- Guerra Sierra, B. E., Arteaga-Figueroa, L. A., Sierra-Pelaéz, S., & Alvarez, J. C. (2002). *Talaromyces santanderensis*: A new cadmium-tolerant fungus from cacao soils in Colombia. *Journal of Fungi* 8, 1042. <https://doi.org/10.3390/jof8101042>
- Guittonny-Philippe, A.; Masotti, V.; Höhener, P.; Boudenne, J.L.; Viglione, J.; Laffont-Schwob, I. (2014). "Constructed wetlands to reduce metal pollution from industrial catchments in aquatic Mediterranean ecosystems: A review to overcome obstacles and suggest potential solutions". *Environment International Journal* 64, 1-16. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.11.016>
- Huang, Z., He, K., Song, Z., Zeng, G., Chen, A., Yuan, L., Li, H., & Chen, G. (2019). Alleviation of heavy metal and silver nanoparticle toxicity and enhancement of their removal by hydrogen sulfide in *Phanerochaete chrysosporium*. *Chemosphere*, 224, 554-561. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.02.190>
- Husson, O. (2013). Redox potential (Eh) and pH as drivers of soil/plant/microorganism systems: a transdisciplinary overview pointing to integrative opportunities for agronomy. *Plant Soil*. 362(1-2), 389-417. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1429-7>
- Ibañez de Aldecoa Quintana JM. (2014). Niveles de madurez de la tecnología technology readiness levels: TRLS: Una introducción. *Econ. Indus.* 393: 165-171.
- Izaguirre-Mayoral ML, Flores S, Pieters A, Olivares E, Cuenca G. (2011). *Rhizophagus manihotis* promotes the growth of rhizobia-nodulated *Vigna luteola* L in phosphorus deficient acid montane soils devoid of ground cover vegetation. *Symbiosis* 55: 1-9.
- James, D. W., & Wells, K. L. (1990). Soil sample collection and handling: Technique based on source and degree of field variability. *Soil testing and plant analysis*, 3:25-44.
- Lambers, H. (2022). Phosphorus acquisition and utilization in plants. *Annual Review Plant Biology* 73, 17-42. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-102720-125738>
- Landon, J. R. (1984). Booker tropical manual. A handbook for soil survey and agricultural land evaluation in the tropics and subtropics. Booker Agricultural International Ltd. UK.
- Lanza J, Churión P, Liendo N, López V. (2016). Evaluación del contenido de metales pesados en cacao (*Teobroma cacao* L.) de Santa Bárbara del Zulia, Venezuela. *Saber*, 28, 106-115. <http://ve.scielo.org/pdf/saber/v28n1/art11.pdf>
- Lara-Borrero, J. A. (1999). Depuración de aguas residuales urbanas mediante humedales artificiales (Doctoral dissertation, Tesis de Maestría, Universidad Politécnica de Cataluña e Instituto Catalán de Tecnología, Barcelona, España).
- Luis-Alaya, B., Toro, M., Calsina, R., Ogata-Gutiérrez, K., Gil-Polo, A., Ormeño-Orrillo, E., & Zúñiga-Dávila, D. (2023). Evaluation of the presence of arbuscular mycorrhizae and cadmium content in the plants and soils of cocoa plantations in San Martin, Peru. *Diversity*, 15(2), 246. <https://doi.org/10.1080/10643389.2022.2099192>
- Li, S. M., Zheng, H. X., Zhang, X. S. Sui, N. (2021). Cytokinins as central regulators during plant growth and stress response. *Plant Cell Reports* 40, 271-282. <https://doi.org/10.1007/s00299-020-02612->

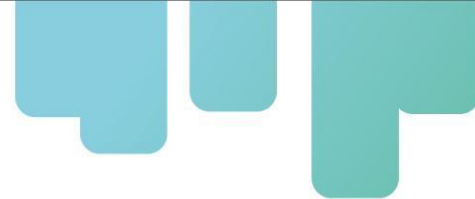


1

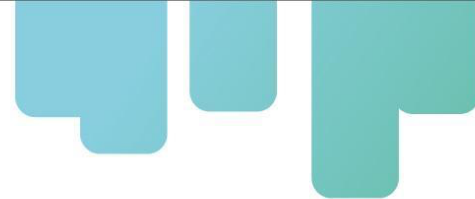
- Liu, S., Wang, Q., Qian, L., Zhang, B., Chen, X., Hong, H., Wu, S., Liu, J., Yan, C., Lu, H. (2022) Mapping the scientific knowledge of glomalin-related soil protein with implications for carbon sequestration. *Ecosystem Health and Sustainability*, 8, 1. <https://doi.org/10.1080/20964129.2022.2085185>
- Lujian, L., Le, H., Hualong, H., Hanyi, L., Xilin, X., Bo, Y., Shanle, L., Haoliang, L., Jingchun, L., Chongling, Y. (2023). Sequestration of strontium, nickel, and cadmium on glomalin-related soil protein: Interfacial behaviors and ecological functions. *Science of The Total Environment* 881, 163461. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163461>.
- Luthfiana, N.; Inamura, N.; Tantriani Sato, T.; Saito K.; Oikawa A. (2021). Metabolite profiling of the hyphal exudates of *Rhizophagus clarus* and *Rhizophagus irregularis* under phosphorus deficiency. *Mycorrhiza*. 31:403-412. DOI: 10.1007/s00572-020-01016-z
- Martínez, M., Bravo, D., Rodríguez-Giraldo, Y., Ramírez, L., García, E., Hidalgo, M., & Chávez, E. (2022). Producto 4. Metodología estandarizada para la determinación de cadmio (Cd) en suelos y material de cacao (*Theobroma cacao* L.).
- McKean, S. (1993). Manual de análisis de suelos y tejido vegetal: una guía teórica y práctica de metodologías. Centro Internacional de Agricultura Tropical· CIAT. Colombia.103pp.
- Mena, J.; Rodríguez, L.; Nuñez, J.; Fernández, F.J.; Villaseñor, J. (2008). "Design of horizontal and vertical subsurface flow constructed wetlands treating industrial wastewater". *Water Pollution IX* (111), 555-564. DOI:10.2495/WP080551.
- Mohamed, R., Zainudin, B. H. & Yaakob, A. S. (2020). Method validation and determination of heavy metals in cocoa beans and cocoa products by microwave-assisted digestion technique with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Food Chemistry*, 303, 125392. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125392>.
- Navarro, A., & Roza, L. (2014). Evaluation of potential biofertilizer diazotrophs bacteria isolated from cocoa crop (*Theobroma cacao* L.). *Plant Cell Reports* 36, 1971-1984. <https://doi.org/10.15446/acag.v63n3.41033>
- Nazir, A., Sarfraz, W., Allah, D., Khalid, N., Farid, M., Shafiq, M., ... & Naeem, N. (2023). Synergistic impact of two autochthonous saprobic fungi (*A. niger* and *T. pseudokoningii*) on the growth, ionic contents, and metals uptake in *Brassica juncea* L. and *Vigna radiata* L. under tannery solid waste contaminated soil. *International Journal of Phytoremediation*, 12, 1-13. <https://doi.org/10.1080/15226514.2023.2166457>
- Ngullie, E., Singh, A. K., Sema, A., & Srivastava, A. K. (2015). Citrus growth and rhizosphere properties. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, 46, 1540-1550. <https://doi.org/10.1080/00103624.2015.1043460>
- Nunnally, J.C.; Bernstein, B. (1994) New York: McGraw-Hill, xxiv + 752 pp. Applied Psychological Measurement, 19(3), 303-305.
- Nunnally J.C. (1967). Psychometric Theory, ISBN 9780070475625, Editor McGraw-Hill.
- Olsen, S. R. (1954). Olsen, S. R. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate (No. 939). US Department of Agriculture.
- Pérez Moncada U, Ramírez Gómez M, Serralde Ordoñez D, Peñaranda Rolón A, Wilches Ortiz W, Ramírez L, Rengifo Estrada G. (2019). Hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA)



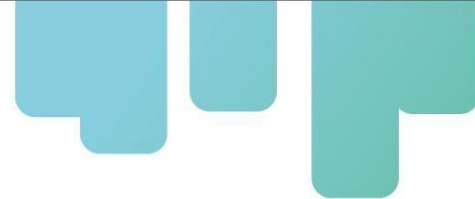
- como estrategia para reducir la absorción de cadmio en plantas de cacao (*Theobroma cacao*). Terra Latinoamericana 37: 121-130. Rilling M, Treseder K, Allen M. (2003). Global change and mycorrhizal fungi. In: Mycorrhizal Ecology. Springer-Verlag, Heidelberg. pp. 135-160.
- Ponce González, D. M. (2019). Evaluación de las poblaciones microbiológicas predominantes en suelos asociados a cacao en la zona de Buena Fe. *Universidad Técnica Estatal de Quevedo*. <https://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/3688>
- Pyakurel, A., Dahal, B. R. & Rijal, S. (2019). Effect of molasses and organic fertilizer in soil fertility and yield of spinach in Khotang, Nepal. *International Journal of Applied Science and Biotechnology*, 7, 49-53. <http://dx.doi.org/10.3126/ijasbt.v7i1.23301>
- Quaye, A. K., Doe, E. K., Amon-Armah, F., Arthur, A., Dogbatse, J. A., & Konlan, S. (2021). Predictors of integrated soil fertility management practice among cocoa farmers in Ghana. *Journal of Agricultural and Food Research*, 5, 100174. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100174>
- Ramírez Marrache, K., Florida Rofner, N., & Escobar Mamani, F. (2019). Indicadores químicos y microbiológicos del suelo bajo aplicación de microorganismos eficientes en plantación de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 6, 21-28. http://www.scielo.org.bo/pdf/riiarn/v6n2/v6n2_a04.pdf
- Ramtahal, G., Chang Yen, I., Ahmad, N., Bekele, I., Bekele, F., Maharaj, K., ... Harrynanan, L. (2015). Prediction of Soil Cadmium Bioavailability to Cacao (*Theobroma cacao* L.) using Single-Step Extraction Procedures. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 46(20), 2585–2594. <https://doi.org/10.1080/00103624.2015.1089262>
- Rodríguez Giraldo, Y., Rodríguez Sánchez, E., Torres L. G., Montenegro, A. C. & Pichimata, M. A. (2022), Development of validation methods to determine cadmium in cocoa almond from the beans by ICP-MS and ICP-OES, *Talanta Open*, Volume 5, 100078, ISSN 2666-8319, <https://doi.org/10.1016/j.talo.2021.100078>.
- Rodríguez-Rodríguez, R.R., Kemmelmeier, K., de Fátima Pedroso, D., Araújo Pinto, F., dos Santos, J.M., Gastauer, M., Fróis Caldeira, C., Ramos, S.J., Siqueira, J.O., Carbone Carneiro, M.A. (2021). Native arbuscular mycorrhizal fungi respond to rehabilitation in iron ore mining areas from the Eastern Brazilian Amazon. *Pedobiologia*, 89, 150768. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2021.150768>.
- Sadzwarka, A., Grez, R., Carrasco, A., & Mora, M. L. (2004). Métodos de análisis de tejidos vegetales. Comisión de Normalización y Acreditación (CNA) de la Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo. Chile.
- Scotti, A.; Castaño Gañan, A. R.; Silvani, V. A.; Juárez, N. A.; Coria, G.; Utge Perri, S.; Colombo, R. P.; García Romera, I.; Izaguirre-Mayoral, M. L.; Godeas, A. M.; Ubaldini, S. (2024). "Biotechnological Tool for Metal(loids) Management with Multiple Approaches". *Metals Journal Preprints* 091719. <https://doi.org/10.20944/preprints202409.1719.v1>
- Scotti, A.; Cerioni J.; Reviglio H.; Silvani V.; Godeas A.; Saavedra V.; Visciglia M.; Cerioni S.; Biondi R.; Turano J.; Quiroga C.; Genovese F.; and Gomez, M. (2019a). Scaling to Technological Readiness Levels 6 in the Bio-Environmental Laboratory. Case Report, Vol 4: 3. *Robotic Automation Engineering Journal*. ISSN 2577-2899 DOI: 10.19080/RAEJ.2019.04.555637.
- Scotti, A.; Cerioni J.; Reviglio H.; Visciglia M.; Cerioni S.; Biondi R.; Saavedra V.; Litter M.; Silvani V.; Godeas A.; Turano J.; Quiroga C.; Genovese F.; Gomez M. (2020a). Escalamiento ingenieril a niveles de maduración tecnológico del orden de desarrollo (TRL) 6 y 7 en el Laboratorio



- Bioambiental. X ENIDI Proceedings (pp 482-488) / compilado por Javier Gitto; Cecilia Soengas; Luisina Biondi. - 1a ed revisada. - Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Universidad Tecnológica Nacional. Facultad Regional San Rafael; Mendoza: Universidad Nacional de Cuyo; Universidad de Mendoza; Universidad Juan Agustín Mazza; San Rafael: Universidad Nacional de Cuyo -Facultad de Ciencias Aplicadas a la Industria, 2020. Libro digital, PDF Archivo Digital: descarga y online ISBN 978-950-42-0197-7. <http://www.enidi.org.ar/index.php/proceedings/>.
- Scotti, A.; Cerioni J.; Reviglio H.; Visciglia M.; Cerioni S.; Biondi R. (2020b). Escalamiento Ingenieril a Niveles de Maduración Tecnológico del Orden de Desarrollo: Technology Readiness Levels (TRL) 6 Y 7 del Laboratorio Bioambiental. Disco Compartido 2.0 UTN FRSR (pp 45-50) 3a ed- Ciudad Autónoma de Buenos Aires: edUTecNe Compilado por Angel Quiles, María Luisina Biondi, Cecilia Soengas. Coordinación General Felipe Genovese- Libro Digital PDF. Archivo Digital descargas y online ISBN 978-987-4998-51-4 <http://www.frsr.utn.edu.ar/investigacion/>.
- Scotti, A., Cerioni J., Reviglio H., Visciglia M., Cerioni S., Biondi R., Saavedra V., Silvani V., Godeas A., Turano J., Quiroga C., Genovese F., Gómez M. (2020c). Escalamiento Ingenieril a Niveles de Maduración Tecnológico (TRL) 3 A 6 en el Laboratorio Bioambiental. Comisión Nacional de Energía Atómica - CNEA Actas de Trabajos Completos del E-ICES 14 -(pp 297-302). Decimocuarto Encuentro del Centro Internacional de Ciencias de la Tierra / compilado por Martín Pedro Gómez; Dino Filipussi; editado por Martín Pedro Gómez; Dino Filipussi; Luis Lenzano; prólogo de Martín Pedro Gómez. - 1a ed revisada. - Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Comisión Nacional de Energía Atómica - CNEA, 2020. Libro digital, PDF Archivo Digital: descarga y online ISBN 978-987-1323-64-7. <http://www.uncuyo.edu.ar/ices/upload/actas-e-ices-14>.
- Scotti, A.; Cerioni J.; Visciglia M.; Cerioni S.; Biondi R.; Turano J.; Bianchini J.; Osisnaldi G. (2020d). Determinación de la Kh del sustrato suelo – cenizas en Biorreactores. VIII Foro Tecnológico, 18 y 19 de noviembre 2020. Reunión virtual UTN. <http://www.frsr.utn.edu.ar/foro-tec-2020-expositores/>.
- Scotti, A.; Godeas, A. (2019). Pilot testing of a bioremediation system for water and soils contaminated with heavy metals: vegetable depuration module. I. J. Phytoremediation 21: 899-907. DOI: 10.1080/15226514.2019.1583634.
- Scotti, A.; Godeas, A.; Silvani, V. (2013). Pat. AR090183A1. Sistema biorremediador para tratamiento de suelos y/o aguas contaminadas.
- Scotti, A.; Silvani, V.; Cerioni, J.; Visciglia, M.; Benavidez, M.; Godeas, A. (2019). "Pilot testing of a bioremediation system for water and soils contaminated with heavy metals: vegetable depuration module". *International Journal of Phytoremediation* 21(9), 899-907. <https://doi.org/10.1080/15226514.2019.1583634>.
- Scotti, A.; Silvani, V.; Godeas, A. 2022. Procedimiento para aumentar la capacidad biorremediadora de plantas hiperacumuladoras a través de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) para tratamiento de suelos y/o aguas contaminados. (A.R. Patente No. 090183B1). <https://www.cnea.gob.ar/nuclea/handle/10665/2680>
- Scotti, A.; Silvani, V.A.; Juarez, N.A.; Godeas, A.M.; Ubaldini, S. (2022). "The Role of Mycorrhizal-Assisted Phytomining in the Recovery of Raw Materials from Mine Wastes". *Metals*, 12(11), 1828. <https://doi.org/10.3390/met12111828>.
- Scotti, A.; Silvani, V.; Milia, S.; Cappai, G.; Ubaldini, S.; Ortega V.; Gómez M.; (2021). Scale-up of



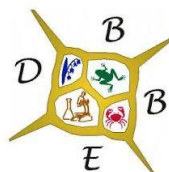
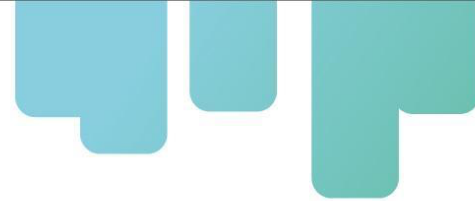
- Mycorrhizal-Assisted Phytoremediation system from Technology Readiness Level 6 (Relevant Environment) to 7 (Operational Environment): Cost-benefits within a Circular Economy Context. DOI: 10.5772/intechopen.101584.
- Siles, J., Rachid, C., Sampedro, I., García-Romera, I., & Tiedje, J. (2014). Microbial diversity of a Mediterranean soil and its changes after biotransformed dry olive residue amendment. *Plos One*, 9, e103035. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103035>
- Silvani V, Colombo R, Scorza M, Fernández Bidondo L, Rothen C, Scotti A, Fracchia S, Godeas A. (2017). Arbuscular mycorrhizal fungal diversity in high-altitude hypersaline Andean wetlands studied by 454-sequencing and morphological approaches. *Symbiosis* 72: 143-152. DOI 10.1007/s13199-016-0454-3
- Silvani, V.A., Fracchia, S., Fernández, L., Pérgola, M., Godeas, A.M. (2008). A simple method to obtain endophytic microorganisms from field-collected roots. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(5), 1259-1263. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.11.022>
- TMECC Method 04.12. 2002. Digestion techniques. In: The United States Composting Council. Test Methods for the Examination of Composting and Compost, New York, USA.
- Thomas, G. W., Peaslee, D. E., Walsh, L. M., & Beaton, J. D. (1973). Soil testing and plant analysis. Soil Science Society of America: Madison, WI.
- Umayangani, C., Malaviarachchi, W., Hettiarachchi, R., & Yapa, N. (2021). Different sources of phosphorus fertilizers and soil amendments affected the phosphorus and cadmium content in soil, roots and seeds of maize (*Zea mays* L.). *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 9(4), 640-645. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v9i4.640-645.3513>
- U.S. EPA. (1996). "Method 3050B: Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Soils," Revision 2. Washington, DC.
- U.S. EPA. (2007). "Method 3051A (SW-846): Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Oils," Revision 1. Washington, DC.
- U.S. EPA. (1996). "Method 3052 (SW-846): Microwave Assisted Acid Digestion of Siliceous and Organically Based Matrices". Washington, DC.
- Vives-Peris, V., Gómez-Cadenas, A., & Pérez-Clemente, R. M. (2017). Citrus plants exude proline and phytohormones under abiotic stress conditions. *Plant Cell Reports*, 36, 1971-1984. <https://doi.org/10.1007/s00299-017-2214-0>
- Wang, F. Y., Lin, X. G., & Yin, R. (2007). Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungus *Acaulospora mellea* decreases Cu phytoextraction by maize from Cu-contaminated soil. *Pedobiologia*, 51(2), 99-109. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2007.02.003>
- Wang, S., Dai, H., Wei, S., Skuza, L., & Chen, Y. (2021). Effects of Cd-resistant fungi on uptake and translocation of Cd by soybean seedlings. *Chemosphere*, 291, 132908. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132908>
- Wigunanda, I. W. S. A., Rai, I. N., & Wiraatmaja, I. W. (2023). Growth and yield response of organic cocoa (*Theobroma cacao* L.) to mycorrhizal biofertilizer prototype and pruning. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 22(2), 158-165. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2023.22.2.0048>
- Wu, F. Y., Ye, Z. H., & Wong, M. H. (2009). Intraspecific differences of arbuscular mycorrhizal fungi in their impacts on arsenic accumulation by *Pteris vittata* L. *Chemosphere*, 76(9), 1258-1264. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.05.020>



- Xu, X.; Xia, L.; Huang, Q.; Gu, J-D.; Chen, W. (2012). Biosorption of cadmium by a metal-resistant filamentous fungus isolated from chicken manure compost. *Environ Technol* 33: 1661-1670.
- Xu, X.; Xia, L.; Zhu, W.; Zhang, Z.; Huang, Q.; Chen, W. (2015). Role of *Penicillium chrysogenum* XJ-1 in the detoxification and bioremediation of Cadmium. *Front. Microbiol.* 6: 1422.
- Xu, Z.; Li, K.; Li, W.; Wu, C.; Chen, X.; Huang, J.; Zhang, X.; Ban, Y. (2022). "The positive effects of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation and/or additional aeration on the purification efficiency of combined heavy metals in vertical flow constructed wetlands". *Environmental Science Pollution Research* 29, 68950–68964. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20759-0>.
- Zagal, E. & Sadzawka, A. (2007). Protocolo de métodos de análisis para suelos y lodos. Universidad de Concepción, Servicio Agrícola y Ganadero: Santiago, Chile.
- Zarrillo, S., Gikwad, N., Lanaud, C., Powis, T., Viot, C., Lesur, I. et al. (2018). The use and domestication of *Theobroma cacao* during the mid Holocene in the upper Amazon. *Nature Ecology & Evolution*, 2, 1879. <https://www.nature.com/articles/s41559-018-0697-x#citeas>
- Zhang, J.; Li, J.; Ma, L.; He, X.; Liu, Z.; Wang, F.; Chu, G.; Tang, X. (2022). "Accumulation of glomalin-related soil protein benefits soil carbon sequestration: Tropical coastal forest restoration experiences". *Land Degradation & Development* 33(10), 1541–1551. <https://doi.org/10.1002/ldr.4192>.
- Zhao, D., Wang, P., & Zhao, F. J. (2023). Dietary cadmium exposure, risks to human health and mitigation strategies. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 53(8), 939-963. <https://doi.org/10.1080/10643389.2022.2099192>

Instituciones participantes





Secretaría Técnica Administrativa

