



## **Bioproceso reductor de la solubilidad de cadmio rizosférico**

**Producto 9: Documentos de discusión desarrollados**

**2023**



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 Izaguirre, M.L.; Godeas, A.; García Romera, I.; Silvani, V.; Scotti, A.

Copyright © 2022 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) (<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](mailto:fontagro@fontagro.org)

[www.fontagro.org](http://www.fontagro.org)



# Tabla de Contenidos

<b>Resumen (español/inglés) .....</b>	<b>4</b>
<b>Resumen Ejecutivo .....</b>	<b>5</b>
<b>Palabras clave .....</b>	<b>6</b>
<b>Presentación del material.....</b>	<b>7</b>
<b>Conclusiones .....</b>	<b>8</b>
<b>Anexo .....</b>	<b>10</b>
<b>Instituciones participantes .....</b>	<b>59</b>



## RESUMEN

En la presente nota técnica se presentan los documentos de discusión desarrollados en el marco de las actividades del plan de gestión del conocimiento del proyecto ATN\_RF-18951-RG T3937\_ID401. El objetivo es incrementar el conocimiento en la reducción del cadmio extraído por la planta de cacao. La metodología será la presentación de trabajos a congresos, presentación de publicaciones científicas en revistas indexadas, presentación del proyecto en jornadas, dictado de cursos y charlas magistrales, y la inclusión de la temática en tesis de grado y post grado. Los países involucrados son Ecuador, Argentina y España, las instituciones son Universidad Técnica de Manabí, Laboratorio Bioambiental ICES CNEA UTN FRSR; Laboratorio de Microbiología del suelo FCEN UBA IBBEA CONICET, Departamento de Microbiología del Suelo y Sistemas Simbióticos Estación Experimental del Zaidín, CSIC. En forma cuantitativa podemos decir que Fontagro está participando fehacientemente en 12 documentos de gestión del conocimiento desglosados en: 1 tesis doctoral defendida, 1 tesis doctoral en progreso, 1 *paper* publicado en revista científica indexada (Q2), 1 tesis de grado, 1 *paper* en evaluación, 7 presentaciones a Congreso/Encuentros/Jornadas.

## ABSTRACT

This technical note presents the discussion documents developed within the framework of the activities of the knowledge management plan of ATN\_RF-18951-RG T3937\_ID401 project. The objective is to increase knowledge about the reduction of cadmium extracted by cocoa plants. The methodology includes the presentation of works at congress, publishing scientific papers in indexed journals, presenting the project at conferences, teaching courses and dissertations, and incorporating the subject into undergraduate and postgraduate theses. The countries involved are Ecuador, Argentina and Spain, and the institutions are Universidad Técnica de Manabí, Laboratorio Bioambiental ICES CNEA UTN FRSR; Laboratorio de Microbiología del suelo FCEN UBA IBBEA CONICET, Departamento de Microbiología del Suelo y Sistemas Simbióticos Estación Experimental del Zaidín, CSIC. Quantitatively, we can mention that Fontagro is reliably participating in 12 knowledge management documents, including: 1 defended doctoral thesis, 1 doctoral thesis in progress, 1 paper published in an indexed scientific journal (Q2), 1 degree thesis, 1 paper under review, and 7 presentations to Congress/Meetings/Conferences.

## RESUMEN EJECUTIVO

En la presente nota técnica se presentan los documentos de discusión desarrollados en el marco de las actividades del plan de gestión del conocimiento del proyecto ATN\_RF-18951-RG T3937\_ID401. El objetivo es 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, presentación del proyecto en jornadas, presentación de tesis doctorales y de grado. Los países involucrados son Ecuador, Argentina y España, las instituciones son Universidad Técnica de Manabí, Laboratorio Bioambiental ICES CNEA UTN FRSR; Laboratorio de Microbiología del suelo FCEN UBA IBBEA CONICET, Departamento de Microbiología del Suelo y Sistemas Simbióticos Estación Experimental del Zaidín, CSIC. En el primer año del proyecto se presentaron 7 trabajos a Congreso/Encuentros/Jornadas (E-ICES 17a, E-ICES 17b, Cuyania, E-ICES 18, y Foro Tecnológico, Jornadas Abiertas de Biología del Suelo, FCEN-UBA y Jornadas IBBEA) vinculados al aislamiento de micorrizas, comportamiento de la simbiosis micorrícica frente a exclusión vs captación de metales pesados y al funcionamiento y calibración de los biorreactores (BR) construidos para el producto 4, los cuales son herramientas tecnológicas de laboratorio que simulan porciones de humedales artificiales subsuperficiales, en los cuales se estudia la partición de un elemento químico entre las diversas matrices incluyendo lixiviación. Estos resultados se publicaron en Mineral Journal, 2023 (Q2 2075163X IF 2.818), en este trabajo se utilizan los biorreactores para el estudio de diversas especies nativas creciendo en un suelo contaminado con cadmio, e inoculadas con hongos micorrízicos aislados de zonas mineras ricas en Zn y Cd, entre otros metales. En dicho *paper* se mencionó el financiamiento de Fontagro. Se defendió una tesis doctoral titulada: *Selección de consorcios nativos: plantas – microorganismos, que aceleran la rizorremediación de suelos contaminados con metales pesados*. (dirección Dra. Godeas). En esta tesis se describe el comportamiento de cepas micorrícicas en simbiosis con *Senecio bonariensis* capaces de tener diversos comportamientos, entre ellos la exclusión de metales pesados. Se preparó un *paper* relacionado con este trabajo el cual se encuentra en revisión, en este *paper* se hace referencia al financiamiento de Fontagro. Se organizaron las Jornadas Abiertas de Biología del Suelo y Jornadas de IBBEA donde se habló y presentó el proyecto Fontagro. Se presentó a congreso E-ICES 18 una solución tecnológica alternativa para la disminución de Cd en las almendras de cacao. Se encuentran en desarrollo 1 tesis de doctorado y 1 tesis de grado con participación de Fontagro. Se presentó un video de la tesista de doctorado de ICES CNEA (dirección Dra. Scotti) en el marco del XVIII Taller de Seguimiento Técnico Anual de Proyectos. En forma cuantitativa podemos decir que Fontagro está participando fehacientemente en 12 documentos de gestión del conocimiento desglosados en: 1 tesis doctoral defendida, 1 tesis doctoral en progreso, 1 tesis de grado, 1 paper publicado en revista científica indexada (Q2), 1 paper en evaluación, 7 presentaciones a Congreso/Encuentros/Jornadas.



**PALABRAS CLAVE / KEY WORDS:**

Gestión del Conocimiento – Fontagro – Bioproceso- Cadmio rizosférico

Knowledge management – Fontagro – Bioprocess – Rhizosphere cadmium

## PRESENTACIÓN DEL MATERIAL

- 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.frsr.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 Gañán 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* (**under review**).

## CONCLUSIONES

Se cumplieron las expectativas proyectadas para el primer año, las cuales indicaban que el producto 9 estaría compuesto por 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.





Presentamos una mayor producción científica que la proyectada (7 proyectados, 12 presentados) encontramos una solución tecnológica alternativa, estamos encaminados en la investigación de microorganismos aislados de suelo ecuatoriano y de raíces de cacao, contamos con los biorreactores preparados para la puesta en estudio de estos nuevos esquemas de investigación con los microorganismos aislados, hemos puesto a punto las variables de calibración necesarias.

## ANEXO 1



The poster features a landscape photograph of a canyon with a turquoise lake in the foreground. At the top, logos for UNCUYO, ices, and the Comisión Nacional de Energía Atómica are visible. The main title 'E-ICES 18' is prominently displayed in white, accompanied by a colorful globe icon. Below the title, the full name of the event is written in white text. A list of scientific topics is provided in a smaller font, followed by the venue information. At the bottom, contact details and social media links are listed, along with the event dates and year.

UNCUYO  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CUYO

ices

Comisión Nacional de Energía Atómica

**E-ICES 18**

18° ENCUENTRO DEL CENTRO INTERNACIONAL DE CIENCIAS DE LA TIERRA

Recursos y Prospección Geofísica y Geoquímica - Riesgo ambiental y Territorial  
Antropología Ambiental - Ambiente y Clima - Bio-Geotecnología  
Estudios Sociales y Humanos de la Ciencia y la Tecnología  
Recursos Geo-Tecnológicos en las Ciencias de la Tierra

Centro de Convenciones y Exposiciones Thesaurus  
Malargue - Mendoza, Argentina

encuentro.ices@gmail.com | www.uncuyo.edu.ar/ices  
icesargentina  
ices.uncuyo

FORMATO: BIMODAL  
(PRESENCIAL/STREAMING)

Del 21 al 24 de noviembre  
**2023**

## FITORREMEDIACIÓN ASISTIDA POR MICORRIZAS COMO SOLUCIÓN TECNOLÓGICA EN LA DISMINUCIÓN DE CADMIO RIZOSFÉRICO

Adalgisa Scotti<sup>a,b</sup>, Ana Rosa Castaño Gañán<sup>b</sup>, Vanesa Silvani<sup>c</sup>, Andrea Juárez<sup>a</sup>,  
Gabriela Coria<sup>a</sup>, Inmaculada García-Romera<sup>d</sup>, Alicia Godeas<sup>e</sup>, María Luisa Izaguirre<sup>e</sup>

<sup>a</sup>Laboratorio Biambiental ICES CNEA - FRSS UTN, Mendoza, ARGENTINA

<sup>b</sup>ICES-CNEA, Regional Malargüe, Mendoza, ARGENTINA

<sup>c</sup>Laboratorio de Microbiología del Suelo, Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental  
y Aplicada, UBA-CONICET, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de  
Buenos Aires, Buenos Aires, ARGENTINA

<sup>d</sup>Departamento de Microbiología del Suelo y Sistemas Simbióticos  
Estación Experimental del Zaidín, CSIC- ESPAÑA

<sup>e</sup>Facultad de Ingeniería Agrícola, Universidad Técnica de Manabí, ECUADOR

<sup>f</sup>Istituto di Geologia Ambientale e Geoingegneria- CNR- Roma- Cagliari- ITALIA

<sup>g</sup>Facultad de Ciencias Exactas y Naturales UNCUYO Mendoza ARGENTINA

e-mail: [scotti@cnea.gov.ar](mailto:scotti@cnea.gov.ar)

### RESUMEN

El mercado latinoamericano de cacao nacional fino de aroma se ha visto limitado por los altos contenidos de cadmio (Cd) en las almendras, este proviene de los constituyentes del suelo y se acrecienta por el uso de fertilizantes, sobre todo los fosforados que contienen Cd. A partir del 2019, la Unión Europea (UE) redujo el límite permitido de Cd a 0,8 mg kg<sup>-1</sup> en las almendras del cacao. En el marco del proyecto Fontagro titulado "Bioproceso reductor de la solubilidad de cadmio rizosférico" proponemos como solución tecnológica el manejo de microorganismos beneficiosos del suelo. En este contexto se realizó un ensayo de micro-fitorremediación asistida en biorreactores a TRL 4, calibrados por su constante de permeabilidad (Ks), utilizando un consorcio de especies vegetales conformado por *Helianthus annuus*, *Baccharis salicifolia* (Bs) y *Senecio subulatus* y hongos micorrícicos arbusculares aislados de la mina Paramillos de Uspallata (con altos contenidos de Zn y Cd). Se realizó un diseño experimental factorial con suelo contaminado y suelo control con y sin inoculación micorrícica de las plantas. Los elementos medidos en biomasa y suelo fueron Cd, Cu, Zn, Ni, Sr y P. Los resultados arrojaron diferencias significativas en los coeficientes de bioacumulación aérea (CBA) y radicular, y en los factores de translocación en plantas inoculadas. Además, se observaron diferencias significativas en los valores de Ks de los suelos contaminados con plantas micorrizadas al final del experimento. En particular, para el Cd se encontró que plantas de Bs micorrizadas mostraron el valor más alto de CBA (70). Estos resultados relevantes pueden ser una solución tecnológica alternativa para la reducción del Cd en suelo, en la que se utilizarían especies nativas de Bs de regiones productoras de cacao inoculadas con micorrizas aisladas de zonas con alto contenido de Cd y Zn.

**Palabras Clave:** Fitorremediación asistida por micorrizas, Cacao Ecuatoriano, Cadmio rizosférico, Fontagro



# 17<sup>o</sup> E-ICES

ENCUENTRO INTERNACIONAL DE CIENCIAS DE LA TIERRA



## DETERMINACIÓN DE CONSTANTES HIDRAÚLICAS UTILIZANDO EL ESCALAMIENTO DE BIORREACTORES A MÓDULOS DE DEPURACIÓN VEGETAL

Sol Cerioni<sup>a,b</sup>, Andrea Juárez<sup>a</sup>, Vanesa Silvani, Alicia Godeas, Juan Cerioni<sup>a,b</sup>, Martín Mengarelli<sup>a,b</sup>, Agustina García<sup>a,b</sup>, Gabriela Coria<sup>b</sup>, Mauricio Visciglia<sup>a</sup>, Gustavo Osisnaldi<sup>b</sup>, Adalgisa Scotti<sup>a</sup>, Roberto Vilches<sup>b</sup>.

<sup>a</sup>Laboratorio BioAmbiental para Escalamiento Ingeniería- FRSR UTN- ICES-CNEA.

<sup>b</sup>Facultad Regional San Rafael-Universidad Nacional Tecnológica.

<sup>c</sup>Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada, IBBEA (UBA-CONICET), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

**Síntesis:** Se plantea la transferencia de tecnología aplicable desde los biorreactores (TRL 4) a los módulos de depuración tecnológica (TRL 6) ubicados en el centro Tecnológico de Desarrollo Regional, Los Reyunos, respetando escala, pendiente, sustratos, componente del sistema biorremediador, tipo de riego, entre otras variables de interés.

**Palabras Clave:** Biorreactor, Módulo de Depuración Vegetal, Escalamiento, Bioambiental, Fitorremediador.



Figura (1): Diseño de biorreactores de policarbonato alveolar.



Figura (2): Biorreactores ubicados en el Laboratorio Bioambiental-Universidad Tecnológica Nacional - Facultad Regional San Rafael. ICES- CNEA



Figura (3): MDV en CTDR.

### Ley de Darcy

$$K_s = \frac{Q}{A_c \cdot s}$$

Donde:

- $K_s$  = constante hidráulica (L/m<sup>2</sup>/día).
- $Q$  = caudal medio al que entra y sale (L/días).
- $A_c$  = área perpendicular al caudal (m<sup>2</sup>).
- $s$  = pendiente (m/m).



Figura (4): Esquema de MDV.

## DETERMINACIÓN DE CONSTANTES HIDRÁULICAS UTILIZANDO EL ESCALAMIENTO DE BIORREACTORES A MÓDULOS DE DEPURACIÓN VEGETAL.

Sol Cerioni<sup>a,b</sup>, Andrea Juarez<sup>a</sup>, Vanesa Silvani<sup>c</sup>, Alicia Godeas<sup>c</sup>, Juan Cerioni<sup>a,b</sup>,  
Martin Mengarelli<sup>a,b</sup>, Agustina García<sup>a,b</sup>, Gabriela Coria<sup>a</sup>, Mauricio Visciglia<sup>a</sup>,  
Gustavo Osisnaldi<sup>a</sup>, Adalgisa Scotti<sup>a</sup>, Roberto Vilches<sup>a</sup>.

<sup>a</sup>Laboratorio BioAmbiental para Escalamiento Ingenieril- FRSR UTN- ICES-CNEA.

<sup>b</sup>Universidad Tecnológica Nacional - Facultad Regional San Rafael.

<sup>c</sup>Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada, IBBEA (UBA-CONICET),  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires,  
Argentina.

e-mail: [solcerioni@gmail.com](mailto:solcerioni@gmail.com)

### RESUMEN

El Laboratorio Bioambiental de Escalamiento Ingenieril se utilizará para el escalamiento de ensayos de laboratorio. El mismo está situado en el Centro Tecnológico de Desarrollo Regional Los Reyunos (San Rafael, Mendoza) donde se encuentran los módulos de depuración vegetal (MDV) a escala TRL 6 y en la Facultad Regional San Rafael - Universidad Tecnológica Nacional donde se encuentran los biorreactores (BR) a escala TRL 3 - 4. Nuestro trabajo se basa en la hipótesis de que no habrá diferencias en el comportamiento de la partición de metales entre las matrices suelo, lixiviado y biomasa cuando se respetan las variables hidráulicas elegidas en el cambio de escala de BR a MDV. La segunda hipótesis es que el sistema de humedal artificial subsuperficial modificado sigue la Ley de Darcy, utilizándose caudales de flujo laminar. Para poner a prueba nuestras hipótesis se estudiarán las variables hidráulicas a ser utilizadas en el escalamiento, las cuales son tiempo de retención hidráulica, constante hidráulica y caudal de ingreso, el cual se definirá como un ingreso de 2 cm de espesor, caudal inundado, y se medirá caudal de salida hacia la cámara colectora, las variables estudiadas serán determinadas en una primera etapa para el filtro de piedra, luego con la adición del sustrato y finalmente con el sistema mico-fitorremediador, utilizando *Helianthus annuus* como especie acumuladora tanto en BR como en MDV. El elemento utilizado para analizar los coeficientes de partición será el cobre ya que se pudo determinar que el potencial de extracción del elemento en el MDV es en flores de  $1870 \pm 211$  ppm, en raíces  $1473 \pm 882$  ppm y en hojas  $2102 \pm 470$  ppm, utilizando como sustrato, suelo de la mina "Los Cóndores". Los resultados del presente trabajo permitirán definir variables hidráulicas que permitirán la maduración tecnológica del concepto de fitorremediación.

**Palabras Clave:** Biorreactor, Módulo de Depuración Vegetal, Escalamiento, Bioambiental, Fitorremediador.

### Determinación de las constantes hidráulicas en Biorreactores y MDV.

Martín Mengarelli<sup>1</sup>, Sol Cerioni<sup>1</sup>, Agustina García<sup>1</sup>, Juan Cerioni<sup>2</sup>, Mauricio Visciglia<sup>1</sup>, Andrea Juárez<sup>2</sup>,  
Coria Gabriela<sup>1</sup>, Adalgisa Scotti<sup>1</sup>, Roberto Vilches<sup>2</sup>.  
<sup>1</sup>Laboratorio BioAmbiental para escalamiento ingenieril – FRSR UTN – ICES – CNEA.  
e-mail: mengarellimartin1@gmail.com

#### Resumen Extendido

En el presente trabajo se presenta el Laboratorio Bioambiental de Escalamiento Ingenieril para el correcto escalamiento de ensayos de laboratorio hasta TRL 6, esto se aplica al proyecto financiado por FONTAGRO titulado: Bioproceso reductor de la solubilidad de cadmio rizosférico.

En las inmediaciones de la Universidad Tecnológica Nacional – Facultad Regional San Rafael se encuentran los Biorreactores (BR) a escala TRL 3 - 4, y en el Centro Tecnológico de Desarrollo Regional Los Reyunos (San Rafael, Mendoza) se encuentran los módulos de depuración vegetal (MDV) a escala TRL 6.

Los BR son a una escala menor que los MDV a TRL 6, ya que, los mismos se encuentran a una escala de 1:10 en corte longitudinal, y una relación 1:1 en corte transversal. Actualmente los BR poseen un sistema hidráulico para el riego del suelo de los plantines, comandado de forma manual que se encuentra en el proceso de mejora. El proceso mencionado hace referencia a la aplicación de una PCB con microcontrolador Arduino, específicamente un Arduino Mega que por medio de un desarrollo de programación comandará una electroválvula para lograr un riego automático a un horario establecido y que dure un cierto tiempo, higrómetros logrando la exacta medición de la humedad del suelo y que en un futuro se le podrá agregar un display para visualizar los datos obtenidos y sensores de temperatura.

El trabajo expuesto a continuación está sustentado en que no habrá diferencias en el comportamiento de los BR cuando se extrapolen distintas variables a los MDV, ya sean hidráulicas (caudales de ingreso y egreso, tipo de flujo, tiempo de retención hidráulica y constante hidráulica), biológicas (especie vegetal, cantidad de esporas presentes en suelo y el porcentaje de colonización radicular micorrícica), físicas (potencial redox a distintas profundidades del suelo), químicas (pH, cantidad de materia orgánica presente en el sistema). 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.

Además, el sistema analizado se comporta como un humedal artificial subsuperficial modificado siguiendo la Ley de Darcy, por utilizar caudales de flujo laminar. Por lo que a continuación se analizará una de las variables hidráulicas a aplicar en BR para luego verificar en MDV el correcto escalamiento de las mismas. La variable analizada es la constante hidráulica, cuyo cálculo se especifica a continuación:

$$K_s = Q / (A_c * s)$$

Donde:

- $K_s$  = constante hidráulica (m<sup>3</sup>/m<sup>3</sup>/día)
- $Q$  = caudal medio al que entra y sale (m<sup>3</sup>/días)
- $A_c$  = área perpendicular al caudal (m<sup>2</sup>)
- $s$  = pendiente (m/m)

Para modelar el flujo hidráulico se tuvo en cuenta la entrada y salida cuando se alcanzó la capacidad de campo, luego se estimó  $K_s$  antes de la siembra del MAP, cabe destacar que el volumen de efluente obtenido en la cámara colectora no fue significativo. Para el modelado mencionado se realizó un riego mediante flujo vertical.

También se midió el tiempo de retención hidráulica ( $t_h$ ) registrando el tiempo que tardaba el afluente en atravesar las diferentes capas y salir a cámara colectora después de que una película de 2 cm de agua cubriera la capa superficial de piedra del biorreactor.

Con un caudal ( $Q$ ) de 7,3 m<sup>3</sup>/día y un  $t_h$  de 10 minutos. Aplicando la ley de Darcy se obtuvo el valor de la constante hidráulica, siendo el mismo de 811,11 m<sup>3</sup>/m<sup>3</sup>/día.

En un futuro se planea llevar a cabo la misma prueba en los MDV, para verificar la extrapolación de las variables obtenidas en los BR.

**Palabras Clave:** Escalamiento – MDV – biorreactor – constante hidráulica – tiempo de retención hidráulica.

#### Referencias

Adalgisa Scotti, Vanesa Analia Silvani, Juan Cerioni, Mauricio Visciglia, Matías Benavidez & Alicia Godeas (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, DOI: 10.1080/15226514.2019.1583634

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. (2019). 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., Silvani V., Godeas A., Turano J., Quiroga C., Genovese F., Gómez M. (2020). ESCALAMIENTO INGENIERIL A NIVELES DE MADURACIÓN TECNOLÓGICO (TRL) 3 A 6 EN EL LABORATORIO BIOAMBIENTAL. ISBN 978-987-1323-64-7

<http://www.uncuyo.edu.ar/ices/upload/actas-e-ices-14final3.pdf>



# 17<sup>o</sup> E-ICES

ENCUENTRO INTERNACIONAL DE CIENCIAS DE LA TIERRA

1 AL 4 DE NOVIEMBRE DE 2022  
MODALIDAD VIRTUAL

- 16:10 hs. "REMOCIÓN DE METALES DE LIXIVIADOS UTILIZANDO ALGAS AISLADAS DE AMBIENTES CONTAMINADOS"  
CÓRDOBA, JUAN F., FERRARI, GABRIELA, GARCÍA, JUAN F., RIZZO, DANIEL, RIZZO, DANIEL
- 16:25 hs. "DETERMINACIÓN DE UN MODELO DE EDAD BASADO EN EL ANÁLISIS DE CICLICIDAD DE SÍBDO EN UN GLACIAR TROPICAL"  
CHALCO GARCÓN, JUAN F., CORTI, DANIEL, VALENZUELA, JUAN
- 16:40 hs. "VALORACIÓN AMBIENTAL Y ALTERNATIVAS DE REMEDIACIÓN PARA LAS ESCOMBRENAS DE MINAS CAPILLITAS DPTO. ANDALGALÁ, PROVINCIA DE CATAMARCA"  
CALETTI, CLAUDIA B.

16:55 hs. INTERVALO

- 17:00 HS. PLENARIA  
"EL RESULTADO DE LA APLICACIÓN DE UN PROGRAMA DE PROTECCIÓN PATRIMONIAL: LA HISTORIA DETRÁS DEL HALLAZGO DE THANATOSDRACON AMARU, EL PTEROSAURIO MÁS GRANDE DE SUDAMÉRICA"  
*Dr. Leonardo Ortiz David*

18:00 hs. INTERVALO

- 18:05 hs. "SELECCIÓN DE INDICADORES DE SOSTENIBILIDAD APLICABLE A CRÍA INTENSIFICADA DE CERDOS. TUCUMÁN, ARGENTINA"  
CHANGUI, LUCAS, BARRA, GUSTAVO, CASTRO, LUIS, GARCÍA, DIEGO, VERA, JUAN
- 18:20 hs. "PRODUCCIÓN Y TRANSPORTE DEL MONÓXIDO DE CARBONO POR QUEMA DE BIOMASA EN SUDAMÉRICA"  
CARRASCO, BENÍTEZ, SANCHEZ, BARALDIAN, MARÍA F., MARRASCO, LUIS G.
- 18:35 hs. "MODELO SIG MULTICRITERIO PARA EVALUAR LA VULNERABILIDAD SISMICA DEL SUR BOGOTÁ"  
CARRERA, COLOMBIA, ANDRÉS, DANIEL GARCÍA, JUAN A., JARAMA, GABRIEL
- 18:50 hs. "ANÁLISIS GEODÉSICO DEL DEL EVENTO SISMICO ARATOCA - SANTANDER DEL 10 MARZO DE 2015 CON EL METODO GNSS PPP ESTÁTICO"  
CARRERA, COLOMBIA, ANDRÉS
- 19:05 hs. "CONTROLES DE LAS TRANSICIONES EXPLOSIVAS-EFUSIVAS EN LOS CICLOS ERUPTIVOS ENTRE 1972 Y 2021 DEL VOLCÁN NEVADOS DE CHILLÁN (CHILE)"  
CARRERA, COLOMBIA, ANDRÉS, FELIX, GABRIEL
- 19:20 hs. "CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE ALGUNOS MANANTIALES TERMALES DE LA PROVINCIA DE CATAMARCA Y SU RELACIÓN CON LA GEOLOGÍA"  
CARRERA, COLOMBIA, ANDRÉS, FELIX, GABRIEL
- 19:35 hs. "ESTADO ACTUAL DE LA VEGETACIÓN Y MICROORGANISMOS ASOCIADOS EN LA ANTIGUA MINA "PARAMILLOS DE USPALLATA"  
CASTRO, DANIEL, COLOMBIA, ANDRÉS, FELIX, GABRIEL, LIZARDI, ANDRÉS L., GONZALEZ, ANDRÉS, SANCHEZ, GABRIEL





## ESTADO ACTUAL DE LA VEGETACIÓN Y MICROORGANISMOS ASOCIADOS EN LA ANTIGUA MINA “PARAMILLOS DE USPALLATA”

Utge Perri S.<sup>a</sup>, Colombo R.P.<sup>ab</sup>, Scotti A.<sup>cd</sup>, Aguilar M.<sup>d</sup>, Lenzano Andía L.<sup>d</sup>, Godeas A.<sup>ab</sup>, Silvani V.A.<sup>ab</sup>

<sup>a</sup> Lab. Microbiología del Suelo, DBBE, FCEN, Universidad de Buenos Aires, ARGENTINA

<sup>b</sup> Lab. Microbiología del Suelo, IBBEA, UBA-CONICET, FCEN, ARGENTINA

<sup>c</sup> ICES, CNEA, Regional Cuyo, ARGENTINA

<sup>d</sup> Universidad Nacional de Cuyo, ARGENTINA

e-mail: [softautge@gmail.com](mailto:softautge@gmail.com)

### RESUMEN

La minería puede generar impactos sobre las propiedades del suelo, las comunidades vegetales y sus microorganismos asociados. En particular, las minas Paramillos de Uspallata, dentro del flanco occidental de las Sierras de Uspallata (Mendoza), son las minas más antiguas del país. Su explotación intermitente comienza desde mediados del siglo XVII hasta la década del 80, con un cese de la actividad de 40 años. Durante este período la vegetación ha re-colonizado escasamente el sitio disturbado, adaptándose a las condiciones adversas. Muchas de esas especies pueden formar simbiosis con los hongos micorrícicos arbusculares (HMA), quienes brindan mayor tolerancia frente a estreses, entre otros beneficios. Además, los HMA acumulan o inmovilizan metales pesados en sus estructuras, contribuyendo a la biorremediación de sitios contaminados. En este trabajo se analizó el estado micorrícico de la vegetación y la diversidad de HMA, dentro de la mina y en un área cercana no disturbada. Se determinaron las propiedades del suelo y cuantificaron metales pesados. En total se analizaron 54 individuos correspondientes a 14 especies vegetales en 12 sitios, de los cuales 12 de 15 (80%) y 23 de 39 individuos (59%) tenían HMA en sus raíces, fuera y dentro de la mina respectivamente; observando una disminución en abundancia y diversidad de plantas, y en la colonización micorrícica en sitios más afectados. Los propágulos de los HMA (esporas) con ciertas características funcionales se distribuyeron de manera desigual en las áreas, encontrando una correlación significativa entre una especie de HMA con la conductividad eléctrica del suelo. Dado que se hallaron escasas especies de plantas endémicas y amenazadas que forman micorrizas arbusculares en sitios muy degradados, y una disminución en la densidad de propágulos de HMA en el suelo, la introducción de esas especies inoculadas con HMA nativos deberían considerarse en programas de restauración. La restauración ecológica y biorremediación de las minas en desuso es una importante estrategia de desarrollo sostenible del país y la región.

*Palabras clave:* Minería, Hongos Micorrícicos Arbusculares, Plantas metalófitas, Resiliencia, Restauración.



## **XIII Reunión Anual CUYANIA**



**19-12-2022**

**CTDR Los Reyunos  
San Rafael (Mendoza)**

## Determinación de las contantes hidráulicas en biorreactores y MDV.

Martín Mengarelli\*, Sof Cerioni\*, Agustina García\*, Andrea Juárez\*, Coria Gabriela\*, Juan Cerioni\*,  
Mauricio Visciglia\*, Adalgisa Scotti\*, Roberto Vilches\*  
\*Laboratorio BioAmbiental para escalamiento ingenieril – FRSR UTN – ICES – CNEA  
e-mail: scotti@cnea.gov.ar

### \*Presentación comunicación oral.

#### Resumen

En las inmediaciones de la Universidad Tecnológica Nacional – Facultad Regional San Rafael se encuentran los Biorreactores (BR) a escala TRL 3 - 4, y en el Centro Tecnológico de Desarrollo Regional Los Rayunos (San Rafael, Mendoza) se encuentran los módulos de depuración vegetal (MDV) a escala TRL 6. Estos modelos tecnológicos se aplican a diversos proyectos de escalamiento de tecnología, actualmente se están calibrando para el proyecto FONTAGRO titulado: Bioproceso reductor de la solubilidad de cadmio rizosférico

Los BR son una escala menor que los MDV, los mismos se encuentran a una escala del 1:10 en corte longitudinal, y una relación 1:1 en corte transversal. Actualmente los BR poseen un sistema riego del suelo manual para los plantines, encontrándose actualmente en proceso de automatización, utilizando un microcontrolador Arduino Mega, que por medio de un desarrollo de programación comandará una electroválvula para lograr un riego automático que será establecido por sensores de humedad, que enviarán la señal para que dé inicio y fin de riego.

El trabajo expuesto a continuación está sustentado en que no habrá diferencias en el comportamiento de los BR cuando se extrapolen distintas variables a los MDV, ya sean hidráulicas (caudales de ingreso y egreso, tipo de flujo, tiempo de retención hidráulica y conductividad hidráulica), biológicas (especie vegetal, cantidad de esporas presentes en suelo y el porcentaje de colonización radicular micorrízica), físicas (potencial redox a distintas profundidades del suelo), químicas (pH, cantidad de materia orgánica presente en el sistema). 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.

Además, el sistema analizado se comporta como un humedal artificial subsuperficial modificado siguiendo la Ley de Darcy, por utilizar caudales de flujo laminar. Por lo que a continuación se analizará una de las variables hidráulicas a aplicar en BR para luego verificar en MDV el correcto escalamiento de las mismas. La fórmula está dada por  $Ks = Q / (Ac * s)$ , donde: **Ks**: constante hidráulica ( $m^3/m^2/día$ ); **Q**: caudal medio al que entra y sale ( $m^3/días$ ); **Ac**: área perpendicular al caudal ( $m^2$ ); **s**: pendiente ( $m/m$ ).

Para modelar el flujo hidráulico se tuvo en cuenta la entrada y salida cuando se alcanzó la capacidad de campo, luego se estimó **Ks** antes de la siembra del MAP, cabe destacar que el volumen de efluente obtenido en la cámara colectora no fue significativo. Para el modelado mencionado se realizó un riego mediante flujo vertical.

También se midió el tiempo de retención hidráulica (**th**) registrando el tiempo que tardaba el afluente en atravesar las diferentes capas y salir a cámara colectora después de que una película de 2 cm de agua cubriera la capa superficial de piedra del biorreactor.

Con un caudal (**Q**) de  $7,3 m^3/día$  y un **th** de 10 minutos. Aplicando la ley de Darcy se obtuvo el valor de la constante hidráulica, siendo el mismo de **811,11  $m^3/m^2/día$** .

En un futuro inmediato se llevarán cabo las mismas pruebas en los MDV, para verificar la extrapolación de las variables obtenidas en los BR.

**Palabras Clave:** Escalamiento – MDV – biorreactor – conductividad – tiempo de retención hidráulica



**IBBEA90**  
 Charlas cortas abiertas en 90 min  
 29 de Setiembre de 2022 14 a 15:30  
 Aula 1101 Pabellon Cero+INFINITO

**Un PUE-CONICET con impacto**  
 Ecotoxicología: Desarrollo de una cadena trófica modelo para evaluar los efectos de la biomagnificación de contaminantes ambientales  
**Enrique Rodríguez**  
 DBBE & IBBEA (UBA-CONICET)



**De Córdoba a Buenos Aires:**  
 Toxicología, fisiología y comportamiento de los insectos vectores de la Enfermedad de Chagas  
**Gastón Mougabure Cueto**  
 IBBEA (UBA-CONICET)



**Fontagro y una patente de lujo:**  
 Bioremediación: bioproceso reductor de la solubilidad del cadmio rizosférico  
**Alicia Godeas**  
 DBBE & IBBEA (UBA-CONICET)



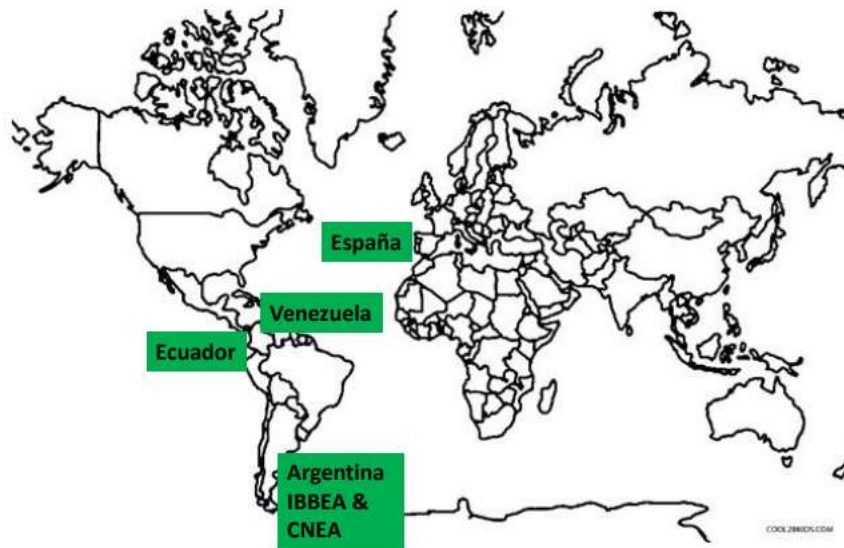
## FONTAGRO

2021-2024

## Información del proyecto

- **Bioproceso reductor de la solubilidad del Cadmio rizosférico**
- *Ejecutor*: UTM - Universidad Técnica de Manabí. Ecuador.
- *Co-ejecutores*: IBBEA-(UBA – CONICET), UTN - Universidad Tecnológica Nacional, CSIC - Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
- *Organizaciones asociadas*: CFV - Corporación Fortaleza del Valle, TD - Turba DELTANA, Gobierno Autónomo Descentralizado

## Quienes participamos





## Co-equipers



Adalgisa Scotti  
ICES CNEA.  
ARGENTINA



Inmaculada Garcia  
Romera  
CSIC. ESPAÑA



Maria Luisa Izaguirre  
Universidad Técnica  
de Manabi  
Ecuador  
COORDINADORA



Alicia Godeas  
IBBEA - UBA-  
CONICET

## Cooperativas cacaoteras de Ecuador y Venezuela



Galpones de acopio



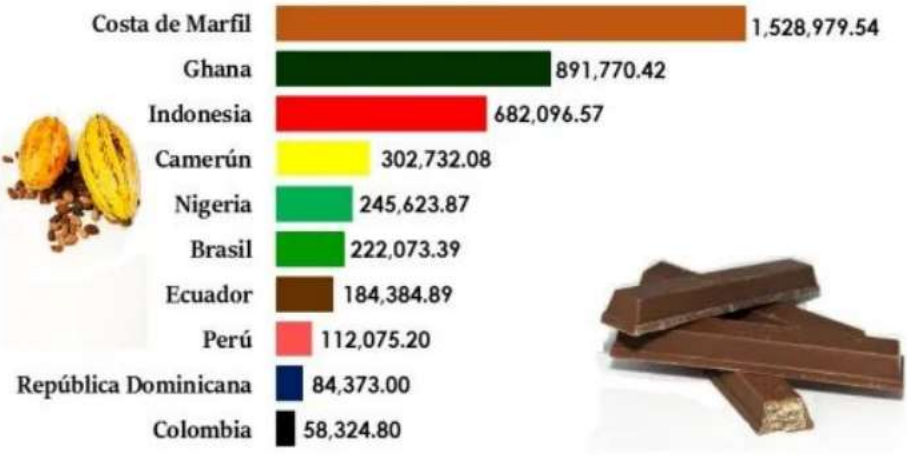
Cacao organico  
De la amazonia  
ecuatoriana



# El mercado del cacao



**Principales productores de granos de cacao en 2016, por valor en la producción (miles de dólares)**



**Principales productores de cacao (2018) (toneladas)**

Costa de Marfil	1.963.949
Ghana	947.632
Indonesia	593.832
Nigeria	332.927
Camerún	307.867
Brasil	239.387
Ecuador	235.182
Perú	134.676
Dominicana	85.139
Colombia	52.743
Sierra Leona	50.150
Papúa Nueva Guinea	44.757
Togo	41.235
México	28.399
Uganda	27.789
Venezuela	25.137
Guinea	20.700
India	17.333
Haití	13.347
Guatemala	12.042

- 
- <http://youtube.com/watch?v=7Vfbv6hNeng>
  - The dark side of chocolate



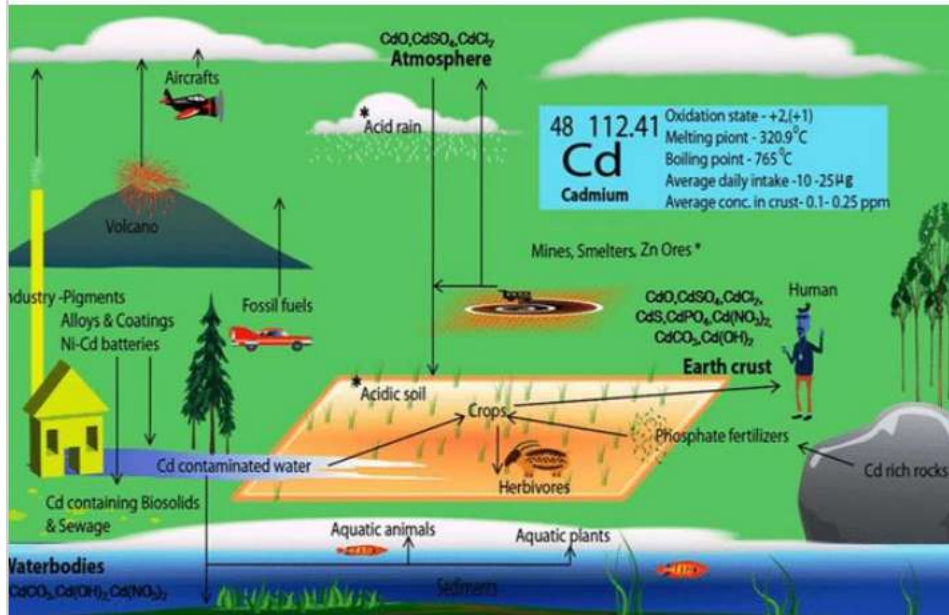
# Cacao



## Theobroma cacao L


- Familia Malvaceae
- El cacao crece de manera silvestre en la cuenca del Amazonas
- Árbol perennifolio, de 4 a 7 m de altura (20 m).
- Hojas grandes, alternas, colgantes, elípticas u oblongas, de punta larga, ligeramente gruesas, margen liso
- El tronco generalmente es recto
- Las flores aparecen insertadas sobre el tronco en racimos .
- El fruto es una baya grande de color amarilla o purpúrea, de 15 a 30 cm de largo con 30-40 semillas.
- Un árbol comienza a rendir cuando tiene cuatro o cinco años. (20 bayas cada uno)
- Se realizan dos cosechas.

## Ciclo del Cadmio



## Por que Ecuador?

- Ecuador es el primer productor de cacao fino de aroma orgánico que se exporta a los mercados más exigentes de todo el mundo.
- Y se cultiva en suelos ácidos de origen volcánico.



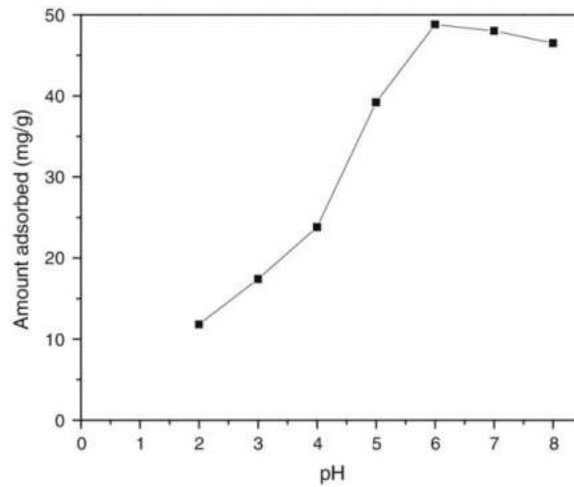
## El problema

- El cadmio (Cd) se ha convertido en uno de los metales pesados contaminantes más preocupantes en la cadena de valor del cultivo de cacao.
- El cadmio está presente en los granos de cacao y pasa a los productos elaborados causando un riesgo para la salud humana.
- La contaminación con cadmio puede originarse por la mineralización de la roca parental, agua contaminada y utilizada para riego, ecosistemas costeros, fertilizantes (orgánicos y/o químicos), manejos agronómicos inadecuados, procesos de pos cosecha, entre otros.

## Solución hasta el momento

- Por medio de la aplicación de enmiendas de suelo se busca disponer de alternativas para la reducción de Cd en plantaciones cacaoteras.
- Cambiando el pH del suelo

## Cd /pH



En América Latina suelos ácidos



## Concentración de cadmio en muestras de cacao en polvo provenientes de latinoamerica

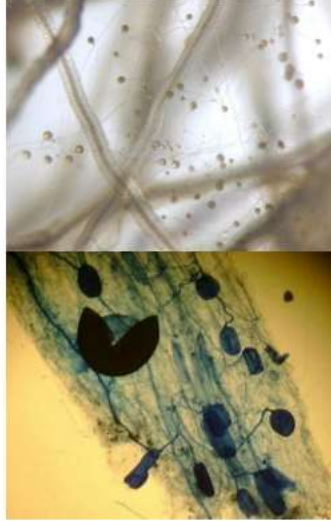
Origen		N° de muestras	Mínimo (mg/Kg)	Máximo (mg/Kg)	Promedio (mg/Kg)
Región	País				
América Latina y el Caribe	Brasil	18	0,038	0,45	0,2
	Colombia	1		3,15	
	Ecuador	7	0,7	3,64	2,25
	México	1		0,98	
	Perú	9	0,92	1,29	1,2
	República Dominicana	1		0,46	

## Nuestra propuesta

Generar un bioproceso con base en un consorcio de hongos que reduce la cantidad de cadmio presente en las almendras de cacao.

# Que hongos?

**BGIV** Banco de Glomeromycota In vitro  
Buenos Aires, Argentina



**CSIC**



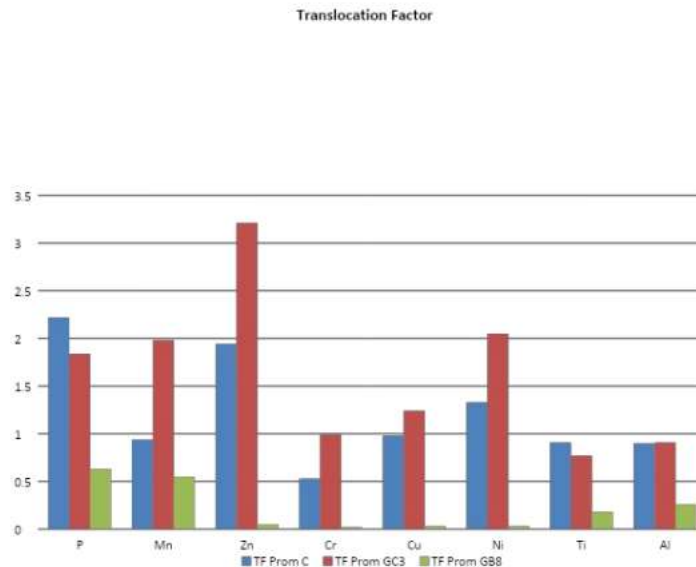
**Trametes versicolor**

## cultivo

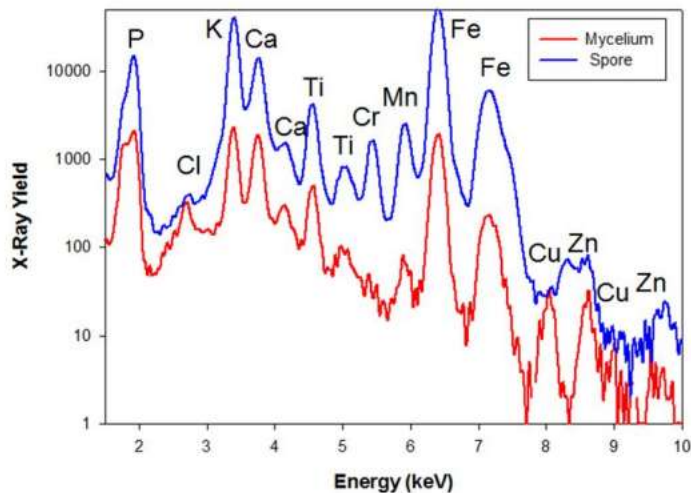


## Nuestra experiencia

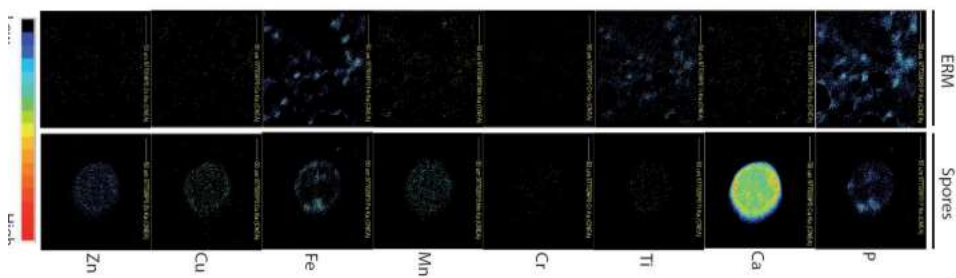
- Cepas capaces de retener en sus estructuras cationes de metales pesado que reducen la translocación aumentando la fitoestabilización.
- Aumento de la producción de sustancias quelantes en las raíces de las plantas
- Producción de glomalina
- Biorreactores que permiten modificar partición entre biomasa, suelo y lixiviación
- Laboratorio de escalamiento a TRL 6
- Cepas capaces de disminuir la translocación a flor y fruto



# GB8

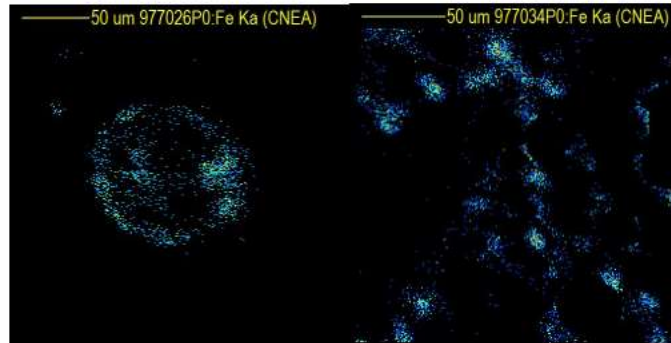


Distribución de diferentes metales en esporas y micelio





## En el Fe



- **El bioproceso implicará:**
- (a) el aislamiento de un consorcio de hongos nativos de suelos en plantaciones de cacao, capaces de disminuir el coeficiente de bioacumulación radicular y aéreo (CB<sub>r,a</sub>);
- (b) la validación del bioproceso en biorreactores y
- el escalamiento a Niveles de Maduración Tecnológica (TRL) 6 y 7 a fincas de cacao de agricultores familiares (AF).

## Como se hará?

- Mediante la Cooperación Técnica (CT) entre científicos, agricultores familiares (AF) y el sector empresarial; así como gubernamental en:
- Ecuador, Argentina, España y Venezuela.
- El conocimiento generado será gestionado y transferido a través de publicaciones y capacitaciones estimándose un total de 3.130 beneficiarios directos y 3.000 indirectos involucrados en la cadena de valor del cacao.

- QUE SON LOS Niveles de maduración tecnológica
- Los TRLs en uso en Europa son:
- TRL 1 – Principios básicos observados
- TRL 2 – Concepto de tecnología formulado
- TRL 3 – Prueba experimental de concepto
- **TRL 4 – Tecnología validada en laboratorio**
- TRL 5 – Tecnología validada en un entorno relevante (entorno industrialmente relevante en el caso de tecnologías habilitadoras clave)
- **TRL 6 – Tecnología demostrada en un entorno relevante (entorno industrialmente relevante en el caso de tecnologías habilitadoras clave)**
- **TRL 7 – Demostración del prototipo del sistema en un entorno operativo**
- TRL 8 – Sistema completo y calificado
- TRL 9 – Sistema real probado en el entorno operativo (fabricación competitiva en el caso de tecnologías habilitadoras clave; o en el espacio)

- El impacto de este proyecto es disminuir la concentración de cadmio en las almendras de cacao a valores menores a 0,8 mg kg<sup>-1</sup> de materia seca, en las plantaciones en las cuales se implementará la biotecnología propuesta.
- En las zonas de Calceta, Ecuador y en la Península de Paria Venezuela, se brindará asistencia técnica a **3000** agricultores familiares y capacitará a **150** emprendedores para transferir la biotecnología propuesta.
- Todo esto permitirá mejorar las condiciones de vida de la región, incrementando los ingresos de los beneficiarios, poniendo énfasis en la promoción de las mujeres involucradas (rurales, técnicas, profesionales y emprendedoras).
- La presencia en el medio se manifestará en dos redes formadas, **13 documentos científicos publicados y 3 tesis presentadas.**

## BENEFICIARIOS POTENCIALES

- Se beneficiarán directamente de los resultados
- **2.880** personas provenientes de 720 fincas familiares de Ecuador,
- **100** personas provenientes de 25 fincas familiares en Venezuela y **150** emprendedores capacitados en metodologías innovadoras.
- Los **beneficiarios indirectos** se cuantifican en **3.000** personas y comprenden a todos los eslabones que involucra a la actividad del cacao sin tener en cuenta a productores.
- Mediante buenas prácticas de gestión del conocimiento, con la participación del Gobierno autónomo descentralizado de Manabí (GAD), la Corporación Fortaleza del Valle (FdV) y Empresa Turba Deltana (ETB) se puede alcanzar al 5% del sector abarcando a toda la cadena de valor de la actividad lo cual equivale a **150.000** personas a nivel regional.



## **JORNADA ABIERTA DE BIOLOGIA DEL SUELO**

**Dra Maria Luisa Izaguirre. Impacto de los sistemas agrícolas tradicionales sobre el microbioma del suelo. UTM. Ecuador.**

**Dra Inmaculada Garcia Romera. Biorremediación por organismos de la rizosfera. EEZaidín. España.**

**Dra Adalgisa Scotti. Biotecnología ambiental en un contexto de economía circular. CNEA. Argentina.**

**JUEVES 18 NOVIEMBRE 13- 16.30 hs (hora Argentina)**

**Inscripción: [alumnosmicrodelsuelo@gmail.com](mailto:alumnosmicrodelsuelo@gmail.com)**



**FONTAGRO**



**UBA**

I B B E A



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales  
Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental

*Selección de consorcios nativos (planta-microorganismos) que facilitan la biorremediación  
de suelos contaminados con metales pesados*

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el

área de CIENCIAS BIOLÓGICAS

Matias Ernesto, Benavidez

Director de tesis: Dra Alicia M. Godeas

Consejero de estudios: Dra Alicia M. Godeas

Co-Director de tesis: Dra. Adalgisa Scotti

Lugar de trabajo: Lab. de Microbiología del Suelo, DBBE, FCEN-UBA

Buenos Aires

2022



#### Titulo

*Selección de consorcios nativos (planta-microorganismos) que facilitan la rizorremediación de suelos contaminados con metales pesados*

#### Resumen

La cuenca baja del Matanza-Riachuelo presenta importantes problemas socio-ambientales, esta es la cuenca hidrográfica más grande de la región metropolitana y es de gran importancia su recuperación y saneamiento. En este sentido, el presente trabajo detalla los resultados obtenidos luego de realizar una prospección del área de estudio, caracterizar el suelo, revisar la vegetación espontánea y seleccionar una especie vegetal para los ensayos de rizorremediación. Además, se logró, caracterizar la comunidad de HFMA con técnicas morfológicas y moleculares y las rizobacterias endófitas asociadas a estos últimos dando como resultado el aislamiento de un hongo micorrízico arbuscular (HFMA) y 37 rizobacterias endófitas asociadas al micelio y esporas. Se obtuvieron los mapas de distribución espacial algunos de los metales pesados en los diferentes tejidos de cada órgano de la planta seleccionada, como así también en las diferentes estructuras fúngicas de los HFMA utilizados en los ensayos. *Senecio bonariensis* fue la planta seleccionada y se la propone como tolerante y acumuladora de MP. Aplicados en conjunto en un suelo contaminado el sistema rizorremediador conformado por *S. bonariensis*, la cepa de HFMA G88 y la bacteria 2 son propuestas como candidatos para la fitoestabilización de Cr, Cu, Ni y Zn.

#### Titulo (inglés)

*"Selection of native consortiums (plant-microorganisms) that facilitate the rhizoremediation of soils contaminated with heavy metals"*

#### Resumen (inglés)

The lower basin of Matanza Riachuelo presents important socio-environmental problems, this is the largest hydrographic basin in the metropolitan region and its recovery and sanitation is of great importance. In this sense, the present work details the results obtained after conducting a survey of the study area, characterize the soil, review the spontaneous vegetation and select a plant species for rhizoremediation tests. In addition, it was possible to characterize the AMF community and the endophytic rhizobacteria associated with the latter, resulting in the isolation of an arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) and 37 endophytic rhizobacteria associated with mycelium and spores. The maps of spatial distribution of heavy metals in the different tissues of each organ of the selected plant were obtained, as well as in the different fungal structures of the AMF used in the tests. *Senecio bonariensis* was the selected plant and is proposed as tolerant and accumulator of MP. Applied together in a contaminated soil, the rhizoremediator system formed by *S. bonariensis*, the AMF G88 strain and the bacterium 2 are proposed as candidates for the phytostabilization of Cr, Cu, Ni and Zn.

## Agradecimientos

Esta tesis no hubiera sido posible sin la colaboración de muchas personas que de una u otra manera facilitaron el camino para alcanzar la meta.

En primer lugar, a mis compañeras de laboratorio Laura, Roxana, Vanesa, Alicia M., Marina R. y Mariana quienes estuvieron siempre cerca, respondiendo inmediatamente a todas mis consultas y haciendo que todo sea más simple. Estaré siempre agradecido por su generosidad y predisposición. También agradezco a la Dra. Marta Cabello (Instituto de Botánica Carlos Spegazzini - FCNyM-UNLP) y las Dras. Vanesa Silvani y Roxana Colombo (Lab. de Microbiología del Suelo, DBBE-FCEN-UBA) que colaboraron con la clasificación de los hongos formadores de micorrizas arbusculares.

Mi agradecimiento especial a los Dres. Mario Debray y Emmanuel De la Fourniere y a los Lic. Nahuel Muler y Nahuel Vega de la Gerencia de Investigación y Aplicaciones del Centro Atómico Constituyentes (CNEA) por sus grandes contribuciones para llevar adelante éste trabajo.

A mí Co-Directora Dra. Adalgisa Scotti gracias por haberme contactado con estos grandiosos profesionales y haberme brindado la posibilidad de trabajar con el Modulo de Depuración Vegetal.

A mis Directoras las Dras. Alicia M. Godeas y Adalgisa Scotti por resolver con suma eficiencia cualquier inconveniente técnico y haber proporcionado el andamiaje para la totalización de este trabajo.

Al Lic. Pablo Simon, División Plantas Vasculares, Museo de Ciencias Naturales de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo (UNLP), por haberme ayudado con la determinación taxonómica de los organismos vegetales, a la Cooperativa "Evita Montonera" Avellaneda Pcia de Bs As, que colaboró en el mantenimiento del predio donde se hizo el experimento de campo, a la Secretaria de Técnica de la FCEN-UBA y en especial al Sr. Cañete (chofer) quien siempre predispuesto brindó sus servicios para la búsqueda de suelos contaminados y traslado de muestras desde la FCEN hasta el Riachuelo y desde el Riachuelo hasta la FCEN. Al Dr. Hernan Sialino por su gran colaboración con las bacterias endófitas de raíz y muy especialmente a el Sr. Hector Verna encargado del Campo Experimental de la FCEN-UBA por su constante apoyo y colaboración con las plantas de invernadero. Al Dr. Pablo Pomata, profesional de apoyo a la investigación del INGEBI quien realizó los cortes delgados de los órganos vegetales.

A mis queridos amigos Damián, Jerónimo, César y Gabriel por estar siempre y entender lo que significa la tesis. Y especialmente a Maia Castela por su apoyo en casi todo el recorrido de mi tesis y especial colaboración con el ensayo de mesocosmos.

A mis padres Viviana y Marcelo por haberme dado los valores del respeto, la paciencia y el amor por lo que uno hace, que sin ello hoy poco podría decir o hacer. Y mis herman@s Estefania, Sofia y Elias que siempre se preocuparon y brindaron su apoyo.

Y finalmente al sistema científico y tecnológico: a esta Universidad, a Universidad Tecnológica Nacional, la Universidad Nacional de Cuyo, el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas y la Comisión Nacional de Energía Atómica. Sin su apoyo esta tesis no hubiera sido posible.



Universidad de Buenos Aires  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales  
Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental  
Carrera de Ciencias Biológicas  
Tesis de Licenciatura

Diversidad de hongos micorrícicos arbusculares en la antigua mina  
Paramillos de Uspallata

Sofía Yasmin Utge Perri

Directora de Tesis: Dra. Vanesa Analia Silvani  
Directora Asistente: Dra. Roxana Paola Colombo  
Consejera de Estudios: Dra. Alicia Margarita Godeas  
Laboratorio de Microbiología del Suelo  
Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 30 de marzo del 2022





**Factibilidad:**

El trabajo de tesis se realizará en el Lab. Microbiología del suelo de la FCEN (IBBEA, CONICET-UBA), el cual cuenta con todo lo necesario para llevar a cabo las actividades. Para la identificación morfológica de los hongos MA se dispone de material de laboratorio, equipos como: centrifuga, microscopios y lupas binoculares con cámaras fotográficas, computadoras para la edición de imágenes y escritura de tesis, así como también bibliografía actualizada sobre la temática. El laboratorio cuenta además, con dos invernaderos para los cultivos trampa en el campo experimental de la FCEN. Actualmente, el laboratorio posee financiamiento UBACYT "Inoculación de semillas con consorcios microbianos seleccionados. Efectos sobre diferentes cultivos" (20020170100142BA), FONTAGRO ATN\_RF-18951-RG (RG-T3937\_ID401) Bioproceso reductor de la solubilidad del Cadmio Rizosférico, y se han presentado diferentes subsidios que se encuentran en evaluación (CONICET y FONCYT).

**Cronograma de actividades:**

Periodo	Sep-Oct	Nov- Dic	Ene-Febr	Marzo
<b>Actividades</b>	-Presentación del plan de tesis  - Inicio de Actividades: Lectura de Bibliografía, Capacitación virtual a cargo de Directoras	- Capacitación virtual a cargo de Directoras  - Redacción de tesis preliminar	- Análisis morfológico.  - Análisis y discusión de resultados.  - Redacción de tesis  - Entrega de preliminar de tesis	- Presentación de tesis

**Referencias bibliográficas**

1. Brundrett, M. C. Mycorrhizal Associations: The Web Resource. <https://mycorrhizas.info/index.html> (2008).
2. Watkinson, S. C. *Mutualistic Symbiosis Between Fungi and Autotrophs. The Fungi: Third Edition* (Elsevier Ltd., 2016). doi:10.1016/B978-0-12-382034-1.00007-4.
3. Smith, S. E. & Read, D. *Mycorrhizal Symbiosis*. (Elsevier Ltd., 2008). doi:10.1097/00010694-198403000-00011.

Article

## Remote Sensing and Mycorrhizal-Assisted Phytoremediation for the Management of Mining Waste: Opportunities and Challenges to Raw Materials Supply

Ana Rosa Castaño <sup>1</sup>, Adalgisa Scotti <sup>2</sup>, Vanesa Analia Silvani <sup>3</sup>, Stefano Ubaldini <sup>4</sup>, Francesca Trapasso <sup>4</sup>, Emanuela Tempesta <sup>4</sup>, Rita Rosa Plá <sup>5</sup>, Margherita Giuffrè <sup>4</sup>, Natalia Andrea Juarez <sup>2</sup> and Daniela Guglietta <sup>4,\*</sup>

<sup>1</sup> International Center for Earth Sciences, National Atomic Energy Commission, Malargüe 5613, Mendoza, Argentina; anaro99@gmail.com

<sup>2</sup> Bio Environmental Laboratory, International Center for Earth Sciences, National Atomic Energy Commission, San Rafael 5600, Mendoza, Argentina; adalgiascott@gmail.com (A.S.); andraq1606@gmail.com (N.A.J.)

<sup>3</sup> Institute of Biodiversity and Applied and Experimental Biology, Faculty of Exact and Natural Science, National Scientific and Technical Research Council—University of Buenos Aires, Buenos Aires 1428, Argentina; vanesasilvani@gmail.com

<sup>4</sup> Institute of Environmental Geology and Geoenvironment, National Research Council of Italy (CNR IGAG), Research Area of Rome 1, 00010 Rome, Italy; stefano.ubaldini@cnr.it (S.U.); francesca.trapasso@cnr.it (F.T.); emanuela.tempesta@cnr.it (E.T.); margherita.giuffre@cnr.it (M.G.)

<sup>5</sup> Department of Nuclear Chemistry, GAANS, National Atomic Energy Commission, Presbitero Juan González y Aragón 15, Ezeiza B1802AYA, Provincia de Buenos Aires, Argentina; ritapla2017@gmail.com

\* Correspondence: daniela.guglietta@cnr.it



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

Academic Editor: Michael Hinch

Received: 6 April 2023

Revised: 25 May 2023

Accepted: 31 May 2023

Published: 31 May 2023



**Copyright:** © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** In recent times, the development of innovative processes permits the application of a circular economy approach to the management and exploitation of mining waste with respect to human health and environment, such that society is changing its fundamentally negative perception of the mining sector. This study presents the opportunities and challenges of supplying raw materials from waste using a remote sensing technique, mycorrhizal-assisted phytoremediation, and hydrometallurgical techniques to transform mining waste from a problem to a resource. Soil/mine wastes from the Sierra Pintada mine (Mendoza, Argentina) were mineralogically and chemically analyzed, and then, a mapping of the mining waste was carried out by Sentinel-2A images to identify areas with similar characteristics. The bioaccumulation of HMs by autochthonous shrubs was also determined to select accumulator plant species, and to evaluate their potential for phytoremediation of mine soils at different technological scales, when they were inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi originated from a mining-impacted area. RMs were recovered from plant biomass by scaling in biosectors, the depuration module, and hydrometallurgical techniques. The encouraging results highlight that this multidisciplinary approach can be applied to meet the increasing demand for RMs supply and, at the same time, to protect the environment and public health.

**Keywords:** Sentinel-2 image; pixel-based classification; circular economy; mycorrhizal-assisted phytoremediation; scale up-hydrometallurgical processes

### 1. Introduction

Since prehistoric times, humans have exploited their territory and its resources to their own ends (progress, competition, and economic growth) with little or no attention to the environmental, health, and social consequences. The worldwide population growth, the emerging technological development, and the high demand for raw materials (RMs) have led to an ever-less-sustainable consumption of mineral resources, since they were considered as abundant and easily extractable. During industrial processes and consumption, large quantities of waste are accumulated causing notable environmental problems associated with their disposal, including ecological losses, downstream contamination, and

pronounced landscape transformation (e.g., stockpiled waste rock and tailings, subsidence basins, open pits, and removal of overburden rock and topsoil) [1]. After the Aznalcollar (Spain, 1998) and Baia Borsa/Baia Mare (Romania, 2000) accidents involving mining activities (the latest in a long list), in 2006 the European Commission (EC) adopted the Mining Waste Directive on the management of waste from extractive industries [2].

Although European countries have a long mining history, they produce only 3% of the world's ore, but consume 25%–30% of the world's metal [3]. Over the last decades, due to increasing domestic production costs, competitive land use, and resource depletion, EU countries' RMs import rate has dramatically increased, representing one of the key challenges for the EU economy. Nevertheless, to address this major challenge, in 2008, the EC adopted the European RMs Initiative [4] and, in 2011, a strategy document [5] based on three pillars to secure and improve access to RMs for the EU: (1) ensuring the fair and sustainable supply of RMs from international markets; (2) fostering sustainable supply within the EU; and (3) boosting resource efficiency and promoting recycling. In 2011, the EC started publishing the lists of Critical Raw Materials (CRMs), defined as those RMs that are economically and strategically important for the European economy [5–8]. CRMs are identified in the EU according to two main dimensions—economic importance and supply risk—that change over time and thus the list is subject to regular reviews and updates [9], the latest dating back to 2020 (<https://rmis.jrc.ec.europa.eu/>, accessed on 15 March 2023).

Current EU goals are to: (i) reduce import dependency by improving access to RMs within the EU and from other sources; (ii) promote resource efficiency also through recycling and substitution; and (iii) to reduce environmental and social impacts [9]. In this context, mining waste plays a major role as these huge deposits represent, at the same time, a social and environmental concern as well as potential anthropogenic resources, exploitable through appropriate management strategies and innovative processing solutions. However, to achieve that, it is necessary to know accurate information about waste because, at the time of opening mining activity, the waste chemical and mineralogical composition was ignored, or this material was considered below the cut-off grade [10]. In the present, the technological progress and development of innovative processes permit the application of a circular economy approach to the management and exploitation of mining waste with respect to human health and environment, so that society changes its fundamentally negative perception of the mining sector [10]. During the pandemic situation linked to COVID-19 and the Ukraine war, the concern has transformed into a major problem creating a status of dependence on extra-EU supply for Europe and risks of market distortions. To overcome this problem, multidisciplinary approaches are being developed that consider the common interest towards the raw materials needed, acting sustainably and responsibly for the green recovery and for building a fair and climate-neutral economy.

To this end, in the last few decades, a remote sensing approach has been increasingly used in geological applications (such as mineral exploration) by exploiting the specific interactions of geological materials with electromagnetic spectrum in three wavelength regions: visible to near infrared (VNIR—from 400 nm to 1000 nm), shortwave infrared (SWIR—from 1000 nm to 2500), and thermal infrared (TIR—from 7600 nm to 14,000 nm) [11,12]. Thanks to the diagnostic spectral absorptions, unique for each material, the remote sensing represents a key tool to individuate and map the mining waste in a valuable, fast, low-cost, and sustainable way, and, at the same time, to manage wastes rich in RMs as resources for the future [11–13]. In particular, Sentinel-2, the European optical imaging satellite launched in 2015 as part of the European Space Agency's Copernicus Program, is used in studies to optimize the management of mining waste [14], to improve mineral estimation by band ratio [15], to map mining residues rich in RMs [16], exploiting the spatial resolution of 10–20 m, and to revisit the frequencies of 10 days and spectral resolution ranging from 490 nm to 2190 nm.

The use of biological methods to improve the quality of the environment, degraded because of anthropo-pressure, is a priority at this time [17,18]. Many studies tackle the challenge to recover RMs from mining waste by using mycorrhizal-assisted phytoremediation

(MAP) [19]. The MAP is composed of a hyperaccumulating plant species associated to an Arbuscular Mycorrhizal (AM) fungus in its roots, and the addition of an enzymatic cofactor, placed in an environment constituted by volcanic ashes and soil (methodology according to the granted patent) [20]. There are many hyperaccumulating species of heavy metal(oids) (HMs) described in the literature within the families *Asteraceae*, *Poaceae*, and *Brassicaceae*, and most of them establish mutualistic symbiosis with AM fungi (*Glomeromycota* Phylum). AM fungi are capable of uptaking nutrients and HMs from soil and translocating them to the host plant. They also accumulate these elements in the intraradical structures or immobilize them in external mycelium and spores in soil [21]. Some mycorrhizal plant species show high bioaccumulation of HM in their roots, and others display high translocation and bioaccumulation in the aerial parts, with exclusion of HM from the reproductive and fruiting parts [19]. These behaviors highly depend on the plant species, the nature and concentration of the HM, the environmental and physical-chemical variables, such as the presence of other metals, and pH and Eh values in soil/substrate. The substances involved in the processes, some of them being described as the results of mycorrhizal symbiosis, are fundamentally phytochelatin (involved in HM chelation and making them more bioavailable for entry into cells), metallothioneins (that favor the entry of certain HM into cells), and glomalin (glycoproteins secreted by AM fungi that sequester HM in soils). Other transporting substances are still being studied [19,22,23].

The MAP system to be applied to the territory must go through different technology maturation stages called Technology Readiness Levels (TRLs). The TRL for pilot tests or prototypes that involve environmental engineering has nine levels, from the verification of conceptual hypotheses to the replication in territory [22,24,25]. Scotti et al. [24] proposed a Vegetable Depuration Module (VDM) for scaling up the MAP at TRL 6. The VDM falls under the definition of artificial subsurface wetland, but with the difference that it is modified in its solid matrix and in its slope with an outlet to a collecting chamber. These modifications allow us to know the partition of HMs and the possibility of recycling the filtered solution by setting other modules in series or parallel order with a change in calibration parameters [22,25].

In this work, we acquired a Sentinel-2A image to analyze a simultaneous image with the same time campaigns and we built a bioreactor (BR) that simulates the VDM at a smaller scale (TRL 4). The BR is ten times smaller than the VDM longitudinally but with the same characteristics of height, slope, and fill contents. The calibration of physical-chemical-biological variables in BR permits us to extrapolate and to verify results to the VDM (TRL 6). Additionally, any variable can be adjusted for the change in scale, and a protocol emerges to be applied in territory to the extent required by the project engineering [19,24,25]. The extraction potential of the system is related to the physical-chemical-biological variables. The hydraulic variables are related to irrigation, inflow, outflow, slope, type of vertical or horizontal flow, hydraulic retention time, and hydraulic constant. Any variation of those conditions can promote the element exclusion or bioaccumulation in plant biomass [26]. The amount of biomass obtained and the high bioextraction potential with the MAP system are essential for the recovery of secondary raw materials (SRMs) and CRMs, this is why the scaling in VDM to TRL6 is proposed.

The aims of this study were to determine the potential of Sentinel-2 for the classification and mapping of mining waste, identifying the areas in the mine with the same mineralogical, chemical, and spectral characteristics, and then to apply the MAP system followed by the hydrometallurgy technique to extract HMs of importance, in order to transform mining waste from a problem to a resource, together with the possible opportunities and challenges of exploiting wastes.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Study Area and Sampling Sites

The Sierra Pintada Uranium mine, with an area of 2007 Ha, is located approximately 12 km to the Southwest of Villa 25 de Mayo in Mendoza province (Figure 1). It was dis-

covered in 1968 through aerial radiometric prospecting, identifying a series of anomalies with subsequent corroboration of Uranium presence within the area. The area belongs to the so-called San Rafael Block, for the Sierra Pintada area. It is constituted by the basement of ancient lands (Devonian and Carboniferous), affected by intense tectonism and a profuse volcanic activity developed in the Lower Permian that led to the accumulation of an important sequence of volcanic clastic rocks [27]. The large volumes of intermediate and acid ignimbrites, as consequences of permo-triassic volcanism, generated favorable conditions for the concentration of Uranium deposits [28]. From 1975, the Sierra Pintada Manufacturing Mining Complex (SPMMC) was put into operation for obtaining Ammonium Diuranate as a final product, thus converting it as the largest Argentine uranium deposit to date. However, in 1997, the mining complex was forced to stop its activities due to the drop in the international price of commodities.

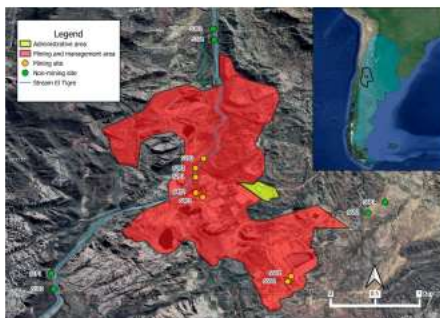


Figure 1. Study area and sampling sites in Sierra Pintada Uranium mine (Mendoza, Argentina).

In situ sampling campaigns have been carried out in December 2018 to collect samples of soil and plants of *Senecio subulatus*, (D. Don ex Hook. & Arn.), *Baccharis salicifolia* (Ruiz & Pav. Pers.), and *Senecio aphylla* ((Cav.) H.S. Irwin & Barneby) (*Asteraceae* family) from 13 different sites within the mine area (Figure 1). About 1 Kg of soil sample was collected for further mineralogical and chemical characterization. Plant material was chemically determined to determine potential hyperaccumulating plant species. The geographical coordinates, pictures, and a brief description of each sampling site were registered.

## 2.2. Chemical and Mineralogical Analysis of Mining Waste

In the Soil Laboratory of the Uranium Mining Environmental Remediation Program (PRAMU) of the Nuclear Chemistry Department (CNEA), soil subsamples (about 50 g) were used for the determination of pH (1:3) with a Pocket Hanna Combo digital pHmeter, and the heavy metal(oids) (HMs) concentration by Neutron Activation Analysis (NAA). Previously, the samples were dried in an oven for 24 h and packed in quartz ampoules for irradiation together with the certified reference materials (NIST SRM 1633b Coal Fly Ash and Chinese Soil GBW 07405). Subsequently, the samples and the reference materials were irradiated for 4.5 h in the RA-3 reactor. Two measurements were carried out with decay times of approximately 7 and 30 days, and the following HMs were determined: As, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, La, Nd, Rb, Sb, Sc, Sm, Sr, Th, and U. The Ortec GeHP detectors (30% efficiency, 1.9 keV resolution for the  $^{60}\text{Co}$  1332.5 keV peak), the Ortec 919E multichannel buffer module and Gamma Vision data acquisition software was used. The

---

values of concentrations were estimated through programs developed in the laboratory. Determinations were performed using neutron activation analysis (NAA) by the Nuclear Analytical Techniques Laboratory (TAN, CNEA).

The mineralogy determination was carried out by the Institute of Environmental Geology and Geoengineering (National Research Council, Montelibretti, Italy). For that, pulverized mining wastes were analyzed with the X-Ray Powder Diffraction technique (XRPD) by using a Bruker D2 Phaser XRD, equipped with Lynxeye detector, Cu-K $\alpha$  radiation and working at 30 kV and 10 mA, a fast instrument for determining the phase content of polycrystalline material. Each sample exhibited a distinctive XRPD pattern and semi-quantitative phase composition was obtained by using Crystallography Open Database of the DIFFRAC.EVA software.

### 2.3. Chemical Analysis of Plant Samples

Root samples and aerial parts of individual plants of *Senecio subulatus*, *Bacharis salicifolia*, and *Senecio aphylla* were collected in each sampling site and the content of HMs was determined through NAA as previously described. Firstly, plant samples were ground using a cryogenic mill and lyophilized for 24 h, then, they were pelletized and packaged for irradiation, and subsequently measured. Two measurements were made with decay times of approximately 7 and 30 days for the determination of: As, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, La, Rb, Sc, Sm, Sr, Th, U, and Zn.

### 2.4. Analysis of Sentinel-2A Image in the Sierra Pintada Mine Area

The spatial, spectral, and temporal resolution of satellite data together with data availability, data storage, and data handling limitations, have prevented the use of remote sensing in many potential applications. To try and overcome these limitations, the European Space Agency (ESA, Paris, France) and European Commission have developed a series of next-generation Earth Observation missions, called Sentinels, for land, ocean, and atmospheric monitoring, and each Sentinel mission is based on a constellation of satellites to provide accurate, timely, and free datasets. In this study, the multispectral Sentinel-2A image was downloaded from the ESA Copernicus Open Access hub and acquired in the Sierra Pintada mine area on 12 December 2018. The spatial resolution of the Sentinel-2A image is of 10 m in the visible and near-infrared range and 20 m in the short-wave infrared range, with spectral resolution ranging from 490 nm to 2190 nm. The 13 georeferenced samples, collected during the in situ sampling campaign, were overlaid on the satellite image and, for each sample, the spectral signature was acquired. Then, all the spectral signatures and mineralogical data were used as input for cluster analysis to obtain groups of spectrally and mineralogically similar samples. In particular, the average linkage between groups criterion (UPGMA algorithm) and Euclidean similarity index have been used. Afterwards, the supervised pixel-based classification was applied using the Spectral Angle Mapper (SAM) algorithm (see Guglietta et al. (2020) [14]).

### 2.5. Potential Phytoremediation of Autochthonous Plants

Plants of *Senecio subulatus*, *Bacharis salicifolia*, and *Senecio aphylla* species were found in all sampling sites. These plant species are autochthonous from the study area, and they are characterized by their rapid growth and their great capacity to colonize disturbed areas by mining activity. Furthermore, considering the impact level and the possibility of quantifying the concentration of some HMs in plant biomass of these species, it was decided to use them as the MAP system.

The bioconcentration factor (BCF) and translocation factor (TF) were used to evaluate the potential phytoremediation of plants. The BCF is the concentration of HMs in total biomass (ppm)/concentration HMs in soil (ppm); TF is the concentration HMs in aerial part (ppm)/concentration HMs in roots (ppm). A BCF value higher than 1 indicated that a plant was an accumulator. TF value determines plant efficiency in HMs translocation from the root to the shoot. A plant was considered efficient in metal translocation from root to

shoot when TF was higher than 1 due to an efficient metal transport system. TF values less than 1 indicated ineffective metal transfer and suggested that these plants accumulate metals in the roots and rhizomes more than in shoots or leaves. The BCF and TF were determined for the vegetation that naturally grew in the SPMMC and the BCF of plant biomass in the BRs assay was also determined.

#### 2.6. Mycorrhizal-Assisted Phytoremediation (MAP) in Bioreactors (BR) and Vegetable Depuration Module (VDM)

For the MAP system, the following plant species were considered: *Senecio subulatus* and *Bacharis salicifolia* plant species. They were inoculated with a mixed inoculum of mycelium, spores, and colonized root fragments composed by several AM fungi, previously isolated from Paramillos de Uspallata mine (Mendoza, Argentina). The AM fungal inoculum was obtained from a trap culture using *Medicago sativa* (L.) as host plant, isolated and propagated by Banco de *Glomeromycota* in vitro (FCEN UBA, <https://bgjv.com.ar/>, accessed on 12 May 2010) as described in [29].

Four BRs, placed in the Bioenvironmental Laboratory (CNEA-FRSR, Mendoza), were made with polycarbonate containers (30 cm × 60 cm and 80 cm in height and with 10 cm for the collector chamber to measure the volume/flow of the leachate generated by the substrate irrigation (Figure 2a)). Each BR was filled with three layers of stones of different granulometry. The first deeper layer (thickness of 10 cm) is represented by coarse gravel (average diameter = 10 cm); the second one (thickness of 15 cm) by medium gravel (average diameter = 5 cm); the third layer (thickness of 20 cm) by fine gravel (average diameter = 1 cm); and the upper layer (thickness of 15 cm) by mine soil samples, volcanic ashes (1:1, v/v), and 350 ppm ZnSO<sub>4</sub> (contaminated soil, CS) (Figure 2a). The control treatment was performed with commercial soil (BS). The BR and test chamber were connected to a collection chamber (10 cm × 30 cm and 80 cm deep) to collect percolated water. These BR had a relation of 1:10 with the vegetable depuration module (VDM, TRL 6), and conserved the dimensions, slope, filter layers, physicochemical (pH, Eh), and hydraulic parameters (hydraulic constant, hydraulic retention time, and vertical income flow) [19]. The depth and slope of the VDM and the BR are 80 cm and 6%, respectively. The VDM is located at the Bioenvironmental Laboratory (CNEA-FRSR, Mendoza) and a description of its performance is detailed in Scotti et al. [19] (Figure 2c). The size of VDM is 3 m in width and 5 m in length with a collection chamber of 3 m in width and 1 m in length (Figure 2b). According to Scotti et al. [25], the fill is made up of layers of coarse gravel, fine gravel, pellets, and the substrate to be bioremediated.



Figure 2. Overview of Bioreactors placed in Bioenvironmental Laboratory (a), VDM with vertical flow (b), and overview of VDM (c).

### 2.6.1. Hydraulic Parameters in BR and VDM

To model the hydraulic flow in the BR and the VDM, Darcy's law was used. This law considers the inlet and outlet flow when field capacity is reached by this Equation (1):

$$Ks = \frac{Q}{(Ac * s)} \quad (1)$$

where

Ks: hydraulic constant (m/days);

Q: average flow rate at which it enters and which it exits (m<sup>3</sup>/days);

Ac: perpendicular area to the flow (m<sup>2</sup>) = 0.3 m × 0.5 m;

s: slope (m/m) = 0.03 m/0.5 m.

Furthermore, the hydraulic retention time (th) was measured by registering the time it took the flow to cross down the different layers and to exit towards the collecting chamber.

Additionally, the water-holding capacity (WHC) of the BR was determined by Equation (2):

$$MWHC = Mt - Ms \quad (2)$$

where

MWHC: mass of the water in grams;

Mt: total mass of the container and wet soil in grams;

Ms: total mass of the container and dry soil in grams.

### 2.6.2. Experimental Design and Measurement of Parameters

Four BR were performed, as described above, under two treatments: control soil (BS) and contaminated mine soil substrate (CS), each one inoculated by AM fungi and uninoculated. In each BR, five plants of *Senecio subulatus* and eight plants of *Bacharis salicifolia* were grown. One of the BR was inoculated with the AM fungal inocula and the other one was not inoculated. After 4 months, plants were harvested from each BR. The shoots were separated into leaves and flowers, and the roots were carefully rinsed with distilled water to eliminate substrate particles. Fresh weights of leaves, flowers, and roots were registered, then dried in an oven at 80 °C for 72 h to obtain dry biomass.

The BCF and TF were determined as previously described for the following heavy metal(oids): Cr, Zn, P, Ni, Rb, Sr, Cu, and Mn [17]. Furthermore, the BioPotential Extraction (BPBR/VDM (g)) of the system, defined as the HMs concentration in total biomass (ppm) \* density of biomass plants in Br and VDM (g), was calculated.

## 3. Results and Discussions

### 3.1. Map of Characterized Mining Waste

The dendrogram of cluster analysis has identified three main groups (Cluster 1, Cluster 2, and Cluster 3) of mining waste and three samples (S3P2, S5P1, and S5P2) that do not belong to any cluster with different spectral characteristics and mineralogical phases (Figures 3 and 4). Each cluster represents a distinct class with the samples used, respectively, as training set to classify the Sentinel-2A image and as ground control point to validate the results of SAM (Figure 5). In particular, the results of accuracy include the user's accuracy (84.13%), producer's accuracy (89.6%), overall accuracy (90.73%), and kappa coefficient (0.74).



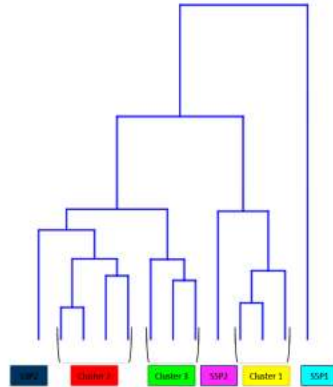


Figure 3. Cluster analysis results obtained using spectral signatures by Sentinel-2A and main mineralogical phases by Bruker D2 Phaser XRD.

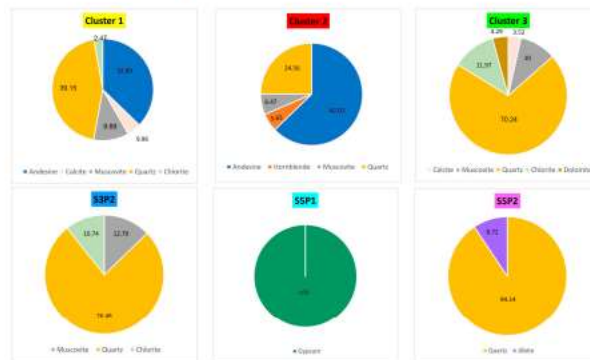
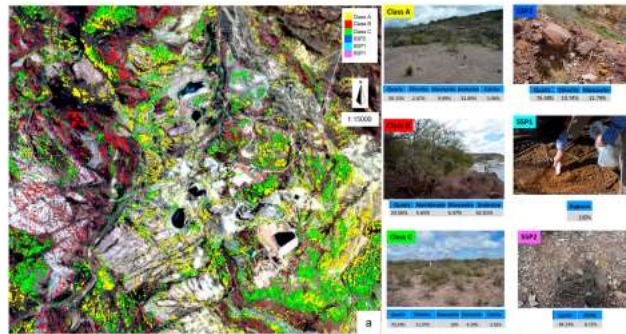


Figure 4. Concentrations of the main minerals (in percentage) in each cluster.



**Figure 5.** Map of mining waste of Sierra Pintada mine (a) with the description of classes and for each class the main minerals (b): Class A—mining waste from processing activities; Class B—samples collected in the natural area; Class C—processing waste recolonized by native vegetation; S3P2—waste from extraction process; S5P1 and S5P2—waste from processing activity accumulated over time.

The results of SAM classification have been used to create a map of mining waste that highlights the location of the classes in the Sierra Pintada mine with the major mineralogical phases (Figure 5). Class A is represented by samples from Cluster 1 (S4P1, S4P2, and S6P2) with 32.89% of andesine, 39.15% of quartz, 9.89% of muscovite, 3.96% calcite, and 2.47% chlorite. In particular, the sample S4P1 belonging to this class derives from the processing activities of the mine, a stand with more than 20 years, with the natural native vegetation that is growing all around and the wind and water erosion processes that are accumulating material above the processing mine waste. Class B is characterized by samples from Cluster 2 (S2P3, S2P2, and S1P2) with 62% of andesine, 24.56% of quartz, 6.47% of muscovite, and 5.65% of hornblende, and this class includes the samples collected in the natural area along the Tigre River. The class C is characterized by samples from Cluster 3 (S3P1, S6P1, S2P1, and S1P1) with natural recolonization of the area by native vegetation. The main minerals are represented by quartz (70.24%), chlorite (11.97%), muscovite (10%), dolomite (4.29%), and calcite (3.52%). Furthermore, S3P2, S5P1, and S5P2, not belonging to the other three clusters, are thus different classes characterized by different mineralogical composition. S3P2 contains waste from the extraction process with 77.48% of quartz, 10.74% of chlorite, and 12.79% of muscovite. S5P1 and S5P2 have been collected in the mine area with waste from the processing mine activity accumulated over the time and with different main mineralogical phases: S5P1 with exclusively of 100% gypsum and S5P2 with quartz (84.14%) and albite (8.72%).

The map has been used to identify the different kinds of waste that are selected for further phytoremediation analysis: S4P1 from Class A (in yellow), S1P2 from Class B (in red), S2P1, S3P1, and S6P1 from Class C (in green), S5P1 (in cyan), and S5P2 (in magenta).

### 3.2. Potential Natural Phytoremediation

The results in Tables 1 and 2 represent the BCF and TF values for sampled vegetation grown under natural conditions at each site from the SPMMC. A value of BCF higher than 1 or close to 1 (in bold) indicates that the plant accumulated HMs in their biomass. These results support previous reports about members of the *Asteraceae* family being capable of

tolerating and accumulating large amounts of HMs and radionuclides in their tissues, and usually establishing the AM symbiosis in their roots [30].

**Table 1.** Total Bioconcentration Factor (BCF) of different plant species (*Senecio subulatus* (Sub), *Bacharis salicifolia* (Ssal), and *Senou aphylla* (Saph)) sampled from the mining sites. BCF > 1 ug/g are in bold; na: not available values.

Plant Species and Site	Bioconcentration Factor in Plant Biomass															
	As	Ce	Ca	Cr	Cs	Eu	Fe	Hf	La	Rb	Sc	Sm	Sr	Th	U	Zn
SubS1P2	0.035	0.008	0.016	0.099	0.014	0.007	0.006	0.008	0.007	0.054	0.005	0.009	0.219	0.005	0.017	na
SaphS1P2	na	na	0.003	0.069	na	0.010	0.002	na	0.002	0.031	0.001	0.002	0.396	na	na	na
BsalS1P2	0.015	0.006	0.007	0.071	0.022	na	0.003	na	0.002	0.105	0.003	0.004	0.223	0.003	na	na
SaphS2P1	0.004	0.005	0.002	0.027	0.013	0.010	0.001	na	0.003	0.027	0.001	0.011	0.650	0.001	0.225	na
BsalS2P1	0.014	0.003	0.004	0.043	0.052	0.001	0.003	0.046	na	0.066	0.002	0.008	0.359	0.002	0.109	na
SubS3P1	0.008	na	0.010	0.059	0.102	0.007	0.003	0.003	0.002	0.130	0.003	0.003	0.277	0.003	0.012	na
BsalS3P1	na	na	0.005	0.039	0.223	na	0.003	na	0.151	0.088	0.002	0.002	0.365	0.002	na	na
SubS4P1	0.017	0.005	0.110	0.101	0.056	0.007	0.004	na	0.003	0.126	0.003	0.005	0.292	na	0.008	<b>31.315</b>
BsalS4P1	0.010	0.006	0.020	0.154	0.030	na	0.006	na	0.751	0.082	0.004	0.006	0.316	0.002	0.011	<b>47.547</b>
SaphS4P1	na	0.002	0.003	0.059	0.037	0.008	0.003	na	0.001	0.077	0.002	0.000	0.418	na	0.001	<b>34.143</b>
SubS5P1	0.019	0.015	0.017	0.184	0.033	0.006	0.004	0.004	0.011	0.098	0.003	0.026	0.176	0.003	0.055	<b>11.366</b>
SaphS5P1	0.003	0.001	0.003	0.077	0.053	0.002	0.002	0.003	0.002	0.073	0.002	0.001	0.703	0.004	0.001	<b>11.984</b>
SaphS5P2	0.010	0.008	0.006	0.086	0.041	0.008	0.005	0.003	0.005	0.072	0.004	0.007	na	0.004	0.018	na
SubS6P1	0.020	0.006	0.011	0.174	0.031	na	0.005	0.005	0.005	0.065	0.003	0.004	0.086	0.007	0.004	<b>34.104</b>
SaphS6P1	0.006	0.004	0.007	0.138	0.032	0.005	0.005	0.003	0.003	0.069	0.005	0.003	<b>1.351</b>	na	na	<b>140.067</b>

**Table 2.** Translocation factor of HMs in the different plant species (*Senecio subulatus* (Sub), *Bacharis salicifolia* (Ssal), and *Senou aphylla* (Saph)) from the mining sites. TF > 1 is in bold; na: not available values.

Plant Species and Site	Translocation Factor in Plant Biomass															
	As	Ce	Ca	Cr	Cs	Eu	Fe	Hf	La	Rb	Sc	Sm	Sr	Th	U	Zn
SubS1P2	0.444	0.456	0.774	0.204	0.790	na	0.302	0.351	0.370	0.994	0.323	0.275	<b>1.192</b>	na	na	<b>1.161</b>
SaphS1P2	na	na	0.757	0.229	na	<b>1.367</b>	0.993	na	<b>1.996</b>	<b>1.538</b>	<b>1.873</b>	<b>2.188</b>	<b>1.118</b>	na	na	<b>1.860</b>
BsalS1P2	na	na	<b>1.239</b>	<b>1.463</b>	<b>2.468</b>	na	<b>3.788</b>	na	na	<b>1.789</b>	<b>8.277</b>	<b>4.050</b>	<b>1.491</b>	<b>3.261</b>	na	<b>1.033</b>
SaphS2P1	na	na	<b>2.133</b>	<b>3.576</b>	<b>1.283</b>	<b>1.741</b>	0.895	na	<b>12.27</b>	0.760	<b>4.027</b>	<b>47.14</b>	0.691	na	na	0.379
BsalS2P1	na	<b>1.099</b>	0.610	0.522	0.463	na	0.872	na	0.790	0.441	0.739	0.775	0.490	na	0.698	0.676
SubS3P1	na	na	<b>1.341</b>	0.658	0.911	0.512	0.872	0.998	0.520	<b>1.132</b>	0.544	0.488	<b>1.609</b>	na	na	<b>2.067</b>
BsalS3P1	na	na	0.858	0.842	0.691	na	0.443	na	0.467	0.681	0.247	0.352	<b>1.138</b>	na	na	0.799
SubS4P1	0.676	<b>2.201</b>	<b>14.352</b>	<b>1.868</b>	<b>2.543</b>	<b>3.785</b>	<b>3.323</b>	na	<b>1.979</b>	<b>1.080</b>	<b>5.647</b>	<b>1.758</b>	<b>4.277</b>	na	<b>1.510</b>	<b>3.574</b>
BsalS4P1	na	0.551	<b>2.087</b>	0.652	<b>2.126</b>	na	<b>3.629</b>	na	0.710	<b>1.842</b>	<b>5.409</b>	na	<b>2.848</b>	na	0.424	<b>3.008</b>
SaphS4P1	na	na	0.700	<b>2.878</b>	0.576	0.449	<b>1.258</b>	na	<b>1.483</b>	<b>1.171</b>	<b>1.731</b>	na	0.578	na	na	<b>1.076</b>
SubS5P1	0.851	0.676	<b>3.389</b>	0.313	<b>3.058</b>	<b>1.493</b>	<b>1.254</b>	<b>2.448</b>	0.783	<b>3.300</b>	<b>2.916</b>	0.401	<b>1.661</b>	<b>2.528</b>	0.376	<b>2.093</b>
SaphS5P1	0.727	na	0.259	0.226	<b>2.286</b>	0.353	0.491	na	0.297	<b>2.887</b>	0.278	0.277	0.594	0.845	na	<b>3.015</b>
SaphS5P2	0.636	0.456	0.796	0.289	<b>2.582</b>	0.584	0.702	<b>1.438</b>	0.481	<b>3.367</b>	0.663	0.292	0.764	0.572	0.341	<b>4.000</b>
SubS6P1	0.931	0.803	<b>1.039</b>	0.781	<b>1.023</b>	na	0.714	<b>1.194</b>	0.768	<b>1.056</b>	0.744	0.794	<b>1.126</b>	<b>1.363</b>	na	<b>1.017</b>
SaphS6P1	na	0.534	0.411	0.215	<b>2.821</b>	0.442	0.364	0.000	0.334	<b>3.353</b>	0.328	0.346	<b>1.372</b>	0.000	na	<b>3.923</b>

A high extraction potential and bioaccumulation of Zn in the biomass of the sampled plants of *Bacharis salicifolia* (BCF Zn = 47.547) from the S4P1 site (Class A), and of *Senou aphylla* (BCF Zn = 140.067) from the S6P1 site (Class C), were detected. The *Senou aphylla* plants from S6P1 (Class C) had the highest value of BCF of Sr (1.3).

Regarding the TF, the results in Table 2 indicate that the HMs passed from the roots to the aerial part when the value of TF is greater than 1, whilst a TF < 1 indicates low translocation to the aerial part, and possibly the stabilization of HMs in the roots or soil.

The highest value of TF for Co, Eu, and Sr were found in the biomass of *Senecio subulatus* grown at the S4P1 site (Class A) with 14.35, 3.78, and 4.28, respectively. The TF values for *Bacharis salicifolia* plants found at S1P2 site (Class B) were 3.78 for Fe and 4.05 for Sm.

With regards to the ability of *Senecio subulatus* to translocate HMs from roots to aerial parts (Table 2), it was observed that the highest values of TF were obtained for La (12.27), Sm (47.14), Cr (3.5), Eu (1.74), and Sr (1.17) in plants grown at the S2P1 and S6P1 sites (Class C), Zn (4.0) from S5P2, and Fe (1.25) from the S4P1 (Class A) sites. For the rest of the elements, low values of TF were obtained.

In *Senecio subulatus* plants from the S5P1 site, the TF values for As and Th were close to 1, and these elements could be considered as transferable in *Senecio subulatus*. HMs with very low values of TF, such as U and Th (S5P2 site), Co (S5P1 site), and Zn (S2P1 site), could be stabilized in the root tissues or soil. Although the TF indicates translocation to the aerial part of *Senecio subulatus* for some elements, the low BCF values indicated a weak translocation of these elements from the soil to roots, or probably a strong sequestration of HMs into the soil matrix. The efficiency of *Senecio subulatus* to uptake the elements could depend on root exudates, soil pH, texture, and content of organic matter. Otherwise, soil microorganisms and AM fungi could greatly influence the sequestration and/or assimilation processes of *Senecio subulatus* plants [17].

A positive correlation between the concentrations of HMs in soil with the concentrations in roots and aerial parts was detected in *Senecio subulatus* plants grown at the S5P1, S5P2, and S1P2 sites (Cluster 2) (Figures 3 and 5). In the remaining sites, there was a positive correlation between the concentration of the elements in the root and in the aerial part.

The HMs concentrations in the roots of *Senecio subulatus* were higher than the values in the aerial parts for Zn, Cs, La, Sc, Rb, Co, Cr, Eu, Fe, Se, and Sm, which are transferred from the root to the aerial part while others (such as U, Th, and Co) did not, and this depended on the low value of TF (TF < 1). The results indicate that these elements are probably stabilized in the root system. *Senecio subulatus* and *Bacharis salicifolia* plants were able to translocate Sr from roots to the aerial part. This is of great importance given that Sr is considered as an RM.

According to the Total BCF (Table 2) of the studied vegetation developed under natural conditions in the SPMMC, *Senecio subulatus*, *Senecio subulatus*, and *Bacharis salicifolia* had the capacity to accumulate great amounts of Zn and Sr. Figure 6 shows that the presence of Zn is only for the S4P1 (Class A), S5P1, S5P2, and S6P1 (Class C) sites. In particular, the BCF for Zn reached 47.5 in *Bacharis salicifolia* plants at the S4P1 site (Class A), and the lowest value in *Senecio subulatus* at the S5P1 site (BCF = 11.3), while *Senecio subulatus* at S6P1 (Class C) resulted in the highest value (BCF = 140).

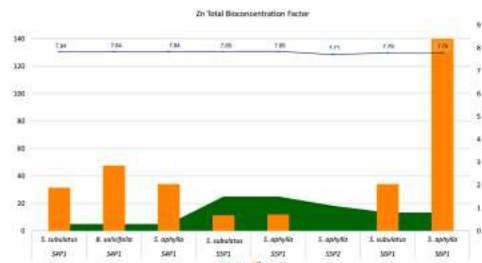


Figure 6. Total Bioconcentration factor for Zn (expressed in ug/g) in plant species found in mine sites with high Zn concentration in soil, soil pH values, and organic matter content (OM, expressed in %).

It is noteworthy that the S4P1 (Class A) and S6P1 (Class C) sites with plants with high total BCF values of Zn (47.5 and 140, respectively), had slightly alkaline soil pH values (7.84 and 7.79) and organic matter (O.M) percentages of 0.3 and 0.8, respectively.

Figure 7 showed the total BCF for Sr in plant biomass of the three sampled plant species. It is important to note that the value of the total BCF for Sr in *Sena aphylla* biomass was higher than the other plant species. In particular, the BCF (1.35) at the S6P1 site (Class C) was higher compared to the other plant species within the same site, and the other mine sites. Furthermore, the BCF values of Sr at the S4P1 site (Class A) were equal to 0.41 in *Sena aphylla*, 0.31 in *Bacharis salicifolia*, and 0.29 in *Senecio subulatus*. At the S1P2 site (Class B), they were similar to the previous class (Class A), even if the samples were from different sites within the mining area. Class A represents mining waste from processing activities but with accumulating materials (i.e., natural rocks) on its surface by erosion processes, while Class B is characterized by samples from natural areas. The lowest values of BCF ( $\leq 0.22$ ) for Sr were highlighted in *Senecio subulatus* and *Bacharis salicifolia* plants grown at the S1P2 (Class B), S5P1, and S6P1 (Class C) mine sites.

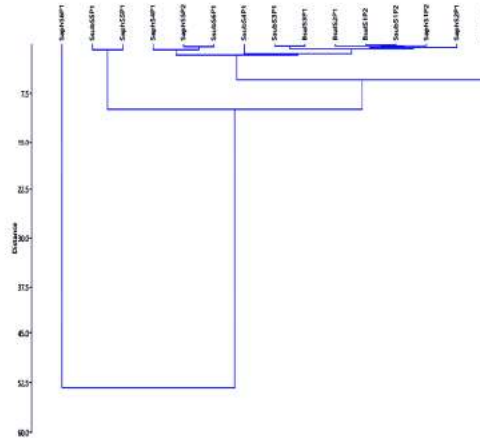


**Figure 7.** Total Bioconcentration Factor of Sr in biomass of plants species from different sites where it was possible to determine the value of Sr in soil with respect to pH and organic matter (O.M, expressed in %).

The O.M percentages were lower at S4P1 (Class A) site (O.M = 0.3%) and higher at the S5P1 site (O.M = 1.5%). In particular, the S4P1 (Class A) and S5P1 represent areas impacted by mining activity but with different re-vegetation processes due to site management and topographic conditions. The S4P1 site is characterized by a flat topography with a high evaporation rate, while the S5P1 is a terrain that is more uneven, with a high accumulation of soil moisture. The natural conditions of the other sites showed the typical percentages of O.M of these semi-arid zones [27].

The cluster analysis of the total BCF of HMs, the pH values, and O.M contents in soil determined clusters according to the degree of disturbance or activity related to the substrate, but also to the presence of the different plant species (Figure 8). Despite the S4P1 site being characterized by a high level of disturbance in the substrate compared to the S5P1, S5P2, and S6P1 sites, they were grouped by the HMs assimilation capacity in *Sena aphylla* and *Senecio subulatus* plants. Similar results were found with *Senecio subulatus* and *Sena aphylla* in the S5P1 site, although there was a distance between *S. aphylla* in comparison to *Senecio subulatus* in the S6P1 site (low level of disturbance). Furthermore, *B. salicifolia* in the S4P1 site was distant compared to in the S1P2, S2P1, and S3P1 sites (low level of disturbance). These results could be explained by the typical ecological behaviors

of the colonizing plant species since they usually depend on adapted mechanisms (such as competition) to establish in areas with few resources.



**Figure 8.** Cluster analysis results obtained using UPGMA algorithm and Euclidean similarity index from the total bioconcentration factor of heavy metals in the vegetation with respect to the substrate, considering the pH values and contents of organic matter (%) in each site.

### 3.3. Scale Up from TRL 4 to TRL 6

#### MAP Application in BR and Estimation of the Bioextraction Potential (BP) in VDM

*Bacharis salicifolia* and *Senecio subulatus* plant species were chosen for the BR experiment to recover Sr and Zn from plant biomass. Then, the results obtained in the BR were projected in the VDM. *Sena aphylla* could not be scaled in BR since it did not survive the nursery stage, even though the percentage of germinated seeds was good (300 seeds 90% germination). *Bacharis salicifolia* and *Senecio subulatus* were placed in the BR containing mining waste from the S4P1 (Class A) site (contaminated soil, CS treatment) and the other plants in BR with the control soil (blank soil, BS), under the protocol previously described. Additionally, plants were inoculated with AM fungi (M+) and other plants were not inoculated (M−). After 4 months, *Bacharis salicifolia* and *Senecio subulatus* plants developed well under BS treatment, but only *Bacharis salicifolia* grew well under CS treatment. The results of plant biomass in the BR experiment are shown in Table 3. The inoculated plants of *Bacharis salicifolia* had the highest aerial biomass.

**Table 3.** Biomass of *Baccharis salicifolia* and *Senecio subulatus* in aerial and roots parts, in contaminated soil (CS) and blank soil (BS) with inoculation (M+) and without inoculation (M−), of AM fungi in the BR (na: not available data; -: not survived).

Treatment	Plant Species	Aerial Tissue (Mean ± SD)	Root Tissue (Mean ± SD)
CS M+	<i>Baccharis salicifolia</i>	52.67 ± 33.53	6.75 ± 5.91
	<i>Senecio subulatus</i>	na	1.00 ± 0.58
CS M−	<i>Baccharis salicifolia</i>	37.67 ± 28.31	9.00 ± 7.21
	<i>Senecio subulatus</i>	na	na
BS M−	<i>Baccharis salicifolia</i>	30.00 ± 22.72	5.50 ± 4.20
	<i>Senecio subulatus</i>	48.50 ± 14.85	8.00 ± 0.00
BS M+	<i>Baccharis salicifolia</i>	35.75 ± 24.06	7.25 ± 2.87
	<i>Senecio subulatus</i>	82.00 ± 57.98	18.00 ± 12.73

Biological parameters such as the type of fungal inoculum MA, the plant biomass, and the physical-chemical and hydraulic parameters, such as hydraulic constant (Kh), water holding capacity (WHC), inlet flow, pH, Eh, and enzymatic cofactors, are important in carrying out scaling in the VDM and in retrieving items of interest, such as RMs. It is necessary to establish the experimental conditions of the MAP system in the BR to later scale it in VDM. In this sense, the protocol to be applied was: inflow every 2 days at field capacity, with no outlet to the collection chamber, vertical flow, mycorrhizal tension in the impacted area of the Paramillos mine, and density of 9 plants per BR. The Kh value was  $165 \pm 36 \text{ m}^3/\text{d}/\text{m}^2$  (mean ± SD), and the WHC resulted in 5.4 kg. These results will be considered for scaling-up in the VDM.

In previous experiments, we observed that the mentioned physical-chemical-biological variables were relevant to predict possible competitions between HMs at the membrane-cell level that could modify the patterns of entry of elements, or the presence of fungal-bacterial consortia that could exude chemical substances that alter the solubility of the different HMs present in soils [17–19]. To verify the statistical significance of the biomass obtained from the plant species in the BRs, a Tukey Test was performed (Table S1). The post hoc range test identified homogeneous subsets of means that did not differ from each other. No significant differences in the root biomass of *B. salicifolia* in the BS and inoculated (M+) and CS treatments were observed. On the contrary, the aerial parts of the plants inoculated with AM fungi (M+) of the BS and CS treatments presented more biomass than the non-inoculated one. On the other hand, the inoculated plants (M+) of *S. subulatus* had a higher biomass than the uninoculated plants of the BS treatment whilst, in contaminated soil, the plants did not survive under these conditions in the BRs. On the other hand, *S. aphylla* did not survive in the BRs.

The bioaccumulation of Sr and Zn of the studied plant species are shown in Supplemental Table S1; *Sena aphylla* was a good accumulator, followed by *Baccharis salicifolia*, and finally *Senecio subulatus* for Sr, whilst *Baccharis salicifolia* was the best bioaccumulator for Zn.

The bioextraction potential (BP) of the inoculated *Baccharis salicifolia*, previously analyzed under BR conditions, was scaled to the VDM with the following parameters: 12 plants per  $0.15 \text{ m}^2$ ,  $2 \text{ m}^3$  of substrate (soil: volcanic ash) at field capacity conditions. The projection of BP in the VDM are shown in Table 4.

**Table 4.** Total bioaccumulation of Zn and Sr (in ppm) in *Senecio subulatus*, *Baccharis salicifolia*, and *Sena aphylla* plant species. In parenthesis, the sampling site.

Plant Species	Bioaccumulation Sr (ppm)	Bioaccumulation Zn (ppm)
<i>Senecio subulatus</i>	125.5 (S4P1)	62.63 (S4P1)
<i>Baccharis salicifolia</i>	221 (S2P1)	95.1 (S4P1)
<i>Sena aphylla</i>	700.3 (S6P1)	68.26 (S4P1)

Although the three plant species resulted in a high BCF for Zn and Sr elements, only *Baccharis salicifolia* displayed adequate characteristics (resistance to manipulation, biomass)

for scaling-up in the mycorrhizal-assisted phytoremediation. Sr is considered a CRM by the fifth technical assessment in 2023 for the EU, and Zn, even if not considered critical, is important for the EU economy [3].

The MAP system was established with native plant and AM fungal species, both adapted to mine areas to efficiently extract HMs, including RMs. The results showed that the studied native species were much more efficient than non-native species associated with AM fungi from non-impacted areas. In Table 5, the BP values of Zn and Sr obtained in this experiment (678 g and 1576 g, respectively) far exceed those obtained in previous report (159 g and 30.2 g, respectively) [31]. These results may be due to the application of the AM fungal inoculum adapted to grow in metalliferous or contaminated soils that possibly show specific mechanisms for the uptake and tolerance of toxic elements [32]. Several authors have confirmed that the inoculation with AM fungi adapted to these soils increases the efficiency of bioremediation processes through greater absorption by the external mycelium and translocation to the plant, providing better protection against stress [32,33]. This result confirms the importance of AM fungal strains adapted to these conditions, for their subsequent application in degraded soils.

**Table 5.** Bioextraction Potential (BP) of Zn and Sr in the BR and the VDM for *Baccharis salicifolia* species.

Plant Species	Higher Total Biomass in BR	BP in BR (g)		BP in VDM (g)	
		Zn	Sr	Zn	Sr
<i>Baccharis salicifolia</i>	731.04	67.8	157.6	678	1576

#### 3.4. Application of Hydrometallurgical Process

There is an increasing need to develop innovative solutions, to implement environmentally sustainable practices in the recovery of SRMs and CRMs accumulated, and to concentrate on plant biomass by application of phytoremediation techniques [19,31]. Hydrometallurgical processes have a wide range of useful applications, in the mining and environmental sector for the remediation of polluted sites, for the recovery and purification of SRMs and CRMs from wastes, and for their commercial reuse as valuable metals [19,34–39].

The results achieved in this experimental investigation encourage the subsequent recovery of SRMs and CRMs by hydrometallurgical techniques, with final purification by selective electrodeposition, as a viable environmentally friendly and cost-effective option. They allow, using specific innovative reagents and the application of electrochemical techniques, the selective recovery of precious valuable metals at high degree of purity. Therefore, following this investigation, a first phase by laboratory experiments will be carried out, assuming an integrated process circuit consisting of a leaching phase of accumulated and concentrated SRMs and CRMs, and subsequent purification by electrochemical methods. The main aim of the leaching phase will be to reach a recovery of 95% of purified metals, accumulated and concentrated on plant biomass, such as demonstrated in previous studies [19,31,37,38]. Regarding the purification phase by electrochemical methods, the scope will be to reach a purity level over 99% [37–39] that will permit an industrial reuse of SRMs and CRMs in the context of a circular economy approach. In a subsequent step, an integrated flowsheet will be drawn, with the aim of outlining a first scale-up of the process for industrial application.

#### 4. Conclusions

Considering the actual worldwide economic and geopolitical situation, the technological advances in the field of remote sensing techniques (i.e., new sensors with high spatial and spectral resolution) and processing software, represent an opportunity to map the potential deposits of RMs, and then to supply these valuable resources from mining waste in a direct, cost-effective, and rapid way.

In this study, we have investigated the potential of Sentinel-2 to identify and classify the different types of mining waste considering similar mineralogical phases and spectral signatures, and then to create a map to recognize subjected sites for further phytoreme-



diation and extraction of RMs from mine wastes. In previous works, we applied this methodology on mining wastes of an open mine, obtaining encouraging results. In this study, we applied this methodology to the Sierra Pintada mine, a stand with more than 20 years, with different mineralogical and spectral characteristics, in comparison with mines of previous case studies.

The inoculation of plants with AM fungal species, isolated from the Paramillos de Uspallata mine, significantly improved the efficiency of the phytoextraction and bioaccumulation of autochthonous plant species. The AM fungi were found in soils with high content of Zn and Sr within the Paramillos de Uspallata mine, thus this could be related to a positive effect on these RMs by improving their bioaccumulation in the biomass of mycorrhizal autochthonous plant species. Three autochthonous plant species capable of accumulating RMs under natural conditions were chosen to optimize the bioextraction potential in the BR, through the adjustment of physical-chemical and biological parameters, prior to scaling-up to the VDM for obtaining an abundant extractive biomass of Sr and Zn. Only two plants species (*Baccharis salicifolia* and *Senecio subulatus*) were tolerant of the contamination condition of the soils and survived, but only *Baccharis salicifolia* had a good development of biomass with high extraction of RMs elements. For further studies, conditions in the BR will be optimized so that all plant species can be tested.

Finally, the remote sensing technique will be applied by multitemporal analysis from different sensors (i.e., Landsat, Sentinel-2), to highlight the process of recolonization by native vegetation in the mine and to identify the mining area for the phytoremediation process.

**Supplementary Materials:** The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/min13060765/s1>, Table S1. Biomass of *Baccharis salicifolia* and *Senecio subulatus* in aerial and roots parts in contaminated soil (SC) and blank soil (BS) with inoculation of AM fungi (M+) and without inoculation (M-) in the BR. Tukey HSD Test-Homogeneous group \*—Sc: *Senecio subulatus*; Bs: *Baccharis salicifolia*, M Mycorrhized, A: aerial part, R: roots. B: blank—C: contaminated soil.

**Author Contributions:** Data curation, D.G., A.S., A.R.C., V.A.S., S.U., F.T., E.T., M.G., R.R.P. and N.A.J.; investigation, D.G., A.S., A.R.C. and V.A.S.; methodology, D.G., A.S., A.R.C. and V.A.S.; resources, D.G., A.S., A.R.C. and V.A.S.; writing—original draft, D.G., A.S., A.R.C., S.U. and V.A.S.; writing—review and editing, D.G., A.S., A.R.C., V.A.S. and S.U. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was funded by the S&T Cooperation Programme between the Italian Republic and Argentina, financially supported by the Italian Ministry of Foreign Affairs and International Cooperation (MAECI) and the Ministry of Science, Technology, and Innovation of the Argentine Republic (MINCYT), entitled: “Integrated multidisciplinary approach for the identification and recovery of raw materials from mining waste, by remote sensing”. Furthermore, this work was funded by FONTAGRO ATN-RF-18951-RG ‘Bioproceso reductor de la solubilidad del cadmio rizosférico’.

**Data Availability Statement:** Not applicable.

**Acknowledgments:** The authors would like to thank Veronica Iraola, Gisela Jaymes, Gabriela Coria, Vanesa Garcia, Gustavo Alvarez, and Christian Gutierrez from the National Atomic Energy Commission (CNEA, its acronym in Spanish) for their suggestion in terms of geological data and their technical support during the in situ sampling campaign.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Hudson-Edwards, K.A.; Dold, B. Mine Waste Characterization, Management and Remediation. *Minerals* **2015**, *5*, 82–85. [CrossRef]
2. European Parliament and the Council of the European Union. *Mining Waste Directive 2006/21/EC*; European Parliament and the Council of the European Union: Brussels, Belgium, 2006.
3. Bellenfant, G.; Guezennec, A.G.; Bodenan, F.; DHugues, P.; Cassard, D. Reprocessing of Mining Waste: Combining Environmental Management and Metal Recovery? In *Mine Closure 2013*; Tibbitt, M., Fourie, A.B., Digby, C., Eds.; Australian Centre for Geomechanics: Perth, Australia, 2013.



4. European Commission. *The Raw Materials Initiative—Meeting Our Critical Needs for Growth and Jobs in Europe*; European Commission: Brussels, Belgium, 2008.
5. European Commission. *Tackling the Challenges in Commodity Markets and on the Raw Materials 2011*; European Commission: Brussels, Belgium, 2011.
6. European Commission. *On the Review of the List of Critical Raw Materials for the EU 2014*; European Commission: Brussels, Belgium, 2014.
7. European Commission. *On the 2017 List of Critical Raw Materials for the EU*; European Commission: Brussels, Belgium, 2017.
8. European Commission. *Study on the EU's List of Critical Raw Materials Final Report 2020*; European Commission: Brussels, Belgium, 2020.
9. European Commission. *Critical Raw Materials Resilience: Charting a Path Towards Greater Security and Sustainability 2020*; European Commission: Brussels, Belgium, 2020.
10. Aznar-Sánchez, J.A.; García-Gómez, J.J.; Velasco-Muñoz, J.F.; Carretero-Gómez, A. Mining Waste, and Its Sustainable Management: Advances in Worldwide Research. *Minerals* **2018**, *8*, 284. [\[CrossRef\]](#)
11. Van der Meer, F.D.; van der Werf, H.M.A.; van Ruitenbeek, F.-J.A.; Hecker, C.A.; Bakker, W.H.; Noomen, M.F.; van der Meijden, M.; Carranza, E.J.M.; de Smeth, J.B.; Woldat, T. Multi- and hyperspectral geologic remote sensing: A review. *Int. J. Appl. Earth Obs. Geoinf.* **2012**, *14*, 112–128. [\[CrossRef\]](#)
12. Buzzi, J.; Raza, A.; García-Meléndez, E.; Weide, S.; Bachmann, M. Mapping changes in a recovering mine site with hyper spectral airborne HyMap imagery (Sotiel, SW Spain). *Minerals* **2014**, *4*, 313–329. [\[CrossRef\]](#)
13. Peyghambari, S.; Zhang, Y. Hyperspectral remote sensing in lithological mapping, mineral exploration, and environmental geology: An updated review. *J. Appl. Remote Sens.* **2021**, *15*, 031501. [\[CrossRef\]](#)
14. Guglietta, D.; Belardi, G.; Casentini, B.; Passeri, D.; Ubaldini, S.; Salvatori, R.; Trapasso, F. Optimising the management of mining waste by means Sentinel-2 imagery: A case study in Joda West Iron and Manganese Mine (India). *J. Sustain. Min.* **2020**, *19*, 4. [\[CrossRef\]](#)
15. Bruno, R.; Kasmaeeyazdi, S.; Tinti, F.; Mandanici, E.; Balomenos, E. Spatial component analysis to improve mineral estimation using Sentinel-2 band ratios: Application to a Greek bauxite residue. *Minerals* **2021**, *11*, 549. [\[CrossRef\]](#)
16. Guglietta, D.; Coen, A.M.; Paciucci, M.; Passeri, D.; Trapasso, F.; Salvatori, R. Mining residues characterization and sentinel-2a mapping for the valorization and efficient resource use by multidisciplinary strategy. *Minerals* **2022**, *12*, 617. [\[CrossRef\]](#)
17. Bala, S.; Garg, D.; Thirumalesh, B.V.; Sharma, M.; Sridhar, K.; Inbaraj, B.S.; Tripathi, M. Recent Strategies for Bioremediation of Emerging Pollutants: A Review for a Green and Sustainable Environment. *Toxics* **2022**, *10*, 484. [\[CrossRef\]](#)
18. Moczek-Płociniak, A.; Mencil, J.; Zakrzewski, W.; Roszkowski, S. Phytoremediation as an Effective Remedy for Removing Trace Elements from Ecosystems. *Plants* **2023**, *12*, 1653. [\[CrossRef\]](#)
19. Scotti, A.; Milia, S.; Silvani, V.; Cappai, G.; Guglietta, D.; Trapasso, F.; Tempesta, E.; Passeri, D.; Godeas, A.; Gómez, M.; et al. Sustainable recovery of secondary and critical raw materials from classified mining residues using mycorrhizal-assisted phytoextraction. *Metals* **2021**, *11*, 1163. [\[CrossRef\]](#)
20. Scotti, A.; Godeas, A.; Silvani, V. Procedimiento Para Aumentar la Capacidad Bioremediadora de Plantas Hiperacumuladoras a Través de Hongos Formadores de Micorrizas Arbusculares (hna) Para Tratamiento de Suelos y/o Aguas Contaminados. Patente Argentina N° AR090183B1, 2022.
21. Colombo, R.; Benavidez, M.; Bidondo, L.; Silvani, V.; Bompadre, M.; Statello, M.; Scorza, M.; Scotti, A.; Godeas, A. Arbuscular mycorrhizal fungi in heavy metal highly polluted soil in the Riachuelo river basin. *Rev. Argent. Microbiol.* **2020**, *52*, 145–149. [\[CrossRef\]](#)
22. Scotti, A.; Silvani, V.; Milia, S.; Cappai, G.; Ubaldini, S.; Ortega, V.; Gómez, M. 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. In Book: *Soil Science—Emerging Technologies, Global Perspectives and Applications*, 1st ed.; Aide, M.T., Braden, L., Eds.; Intechopen: Springfield, MO, USA, 2021. [\[CrossRef\]](#)
23. Ferrol, N.; Tamayo, E.; Vargas, P. The heavy metal paradox in arbuscular mycorrhizas: From mechanisms to biotechnological applications. *J. Experim. Bot.* **2016**, *22*, 6253–6265. [\[PubMed\]](#)
24. Ibañez de Aldecoa Quintana, J.M. Niveles de madurez de la tecnología technology readiness levels: TRLS: Una introducción. *Econ. Indus.* **2014**, *393*, 165–171.
25. Scotti, A.; Cerioni, J.; Reviglio, H.; Vasciglia, M.; Cerioni, S.; Biondi, R.; Saavedra, V.; Litter, M.; Silvani, V.; Godeas, A.; et al. Scaling to technological readiness levels 6 in the bio-environmental laboratory. *Robot. Autom. Eng. J.* **2019**, *4*, 555–637.
26. Mena, J.; Rodríguez, L.; Nuñez, J.; Fernández, F.J.; Villaseñor, J. Design of horizontal and vertical subsurface flow constructed wetlands treating industrial wastewaters. *WIT Trans. Ecol. Environ.* **2008**, *111*, 555–564.
27. Kleiman, L.E. El volcanismo permo-triásico y triásico del Bloque de San Rafael (Provincia de Mendoza): Su potencial uranífero. In Proceedings of the 12th Congreso Geológico Argentino, Mendoza, Argentina, 10–15 October 1993; Volume 5, pp. 284–293.
28. Marsilla, M.Y.; Dieguez, S.R. Modelamiento geológico mediante “software” minero del sector Tigre I. La Terraza: Distrito Uranífero Sierra Pintada, provincia de Mendoza. *Revista de la CNRA* **2013**, *51*–52, 21–31.
29. Silvani, V.A.; Fernández Bidondo, L.; Bompadre, M.J.; Pèrgola, M.; Bompadre, A.; Fracchia, S.; Godeas, A.M. Growth dynamics of geographically different arbuscular mycorrhizal fungal isolates belonging to the ‘Rhizophagus clade’ under monoxenic conditions. *Mycologia* **2014**, *106*, 963–975. [\[CrossRef\]](#)
30. Ker, K.; Charest, C. Nickel remediation by AM-colonized sunflower. *Mycorrhiza* **2010**, *20*, 399–406. [\[CrossRef\]](#)

31. Scotti, A.; Silvani, V.A.; Juárez, N.A.; Godeas, A.M.; Ubaldini, S. The Role of Mycorrhizal-Assisted Phytomining in the Recovery of Raw Materials from Mine Wastes. *Metals* **2022**, *12*, 1828. [\[CrossRef\]](#)
32. Regvar, M.; Vogel-Mikus, K. Arbuscular Mycorrhiza in Metal Hyperaccumulating Plants. In *Mycorrhizas*; Varma, A., Ed.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2008; pp. 261–280.
33. Emam, T. Local soil, but not commercial AMF inoculum, increases native and non-native grass growth at a mine restoration site. *Rest. Ecol.* **2016**, *24*, 35–44. [\[CrossRef\]](#)
34. European Commission. *Study on the Critical Raw Materials for the EU 2023—Final Report*; European Commission: Brussels, Belgium, 2023.
35. Ubaldini, S.; Guglietta, D.; Veglio, F.; Giuliano, V. Valorization of Mining Waste by Application of Innovative Thiosulphate Leaching for Gold Recovery. *Metals* **2019**, *9*, 274. [\[CrossRef\]](#)
36. Ubaldini, S.; Povar, I.; Lupascu, T.; Spinu, O.; Trapasso, F.; Passeri, D.; Carloni, S.; Guglietta, D. Application of Innovative Processes for Gold Recovery from Romanian Mining Wastes. *Chem. J. Mold.* **2020**, *15*, 29–37. [\[CrossRef\]](#)
37. Ubaldini, S.; Guglietta, D.; Trapasso, F.; Carloni, S.; Passeri, D.; Scotti, A. Treatment of Secondary Raw Materials by Innovative Processes. *Chem. J. Mold.* **2019**, *14*, 32–46. [\[CrossRef\]](#)
38. Ubaldini, S.; Massidda, R.; Veglio, F.; Beolchini, F. Gold stripping by hydro-alcoholic solutions from activated carbon: Experimental results and data analysis by a semi-empirical model. *Hydrometallurgy* **2006**, *81*, 40–44. [\[CrossRef\]](#)
39. Ubaldini, S.; Veglio, F.; Toro, L.; Abbruzzese, C. Combined bio-hydrometallurgical process for gold recovery from refractory stibnite. *Miner. Eng.* **2000**, *13*, 1641–1646. [\[CrossRef\]](#)

**Disclaimer/Publisher's Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

## INSTITUCIONES PARTICIPANTES



Secretaría Técnica Administrativa



Con el apoyo de:



[www.fontagro.org](http://www.fontagro.org)

Correo electrónico: [fontagro@fontagro.org](mailto:fontagro@fontagro.org)