

# **CONVENIO ANGLO AMERICAN-INSTITUTO DE ECOLOGÍA Y BIODIVERSIDAD**

## **SEGUNDO INFORME**



## Tabla de Contenidos

|   |               |
|---|---------------|
| <b>1. Resumen ejecutivo</b>   | <b>3</b>      |
| <b>2. Introducción General</b>  | <b>4</b>      |
| <b>3. Caracterización de los microorganismos presentes en el suelo</b>  | <b>4</b>      |
| <b>3.1 Introducción</b>   | <b>4</b>      |
| <b>3.2 Metodología y resultados</b>   | <b>5</b>      |
| <b>3.3 Conclusión y Discusión</b>   | <b>6</b>      |
| <b>4. Servicios ecosistémicos asociados a la mina "El Soldado"</b>  | <b>8</b>      |
| <b>4.1 Introducción</b>   | <b>8</b>      |
| <b>4.2 Metodología</b>  | <b>8</b>      |
| <b>4.2.1 Área de estudio</b>  | <b>8</b>      |
| <b>4.2.2 Modelación de servicios ecosistémicos</b>  | <b>9</b>      |
| <b>4.2.3 Estimación de Energía hidráulica</b>   | <b>9</b>      |
| <b>4.2.4 Modelo de producción y valoración de energía eléctrica</b>   | <b>11</b>     |
| <b>4.2.5 Estimación de la captura de carbono</b>  | <b>11</b>     |
| <b>5. Bibliografía</b>  | <b>15</b>     |
| <br><b>ANEXO 1: Metodología para extraer muestras de TRFLP en terreno y laboratorio</b>   | <br><b>19</b> |
| <b>ANEXO 2: Estado de avance y datos requeridos para modelar almacenamiento de Carbono con InVEST</b>   | <b>21</b>     |
| <b>ANEXO 3: Estado de avance y datos requeridos para modelar rendimiento, consumo de agua y valor de la energía hidráulica generada por la(s) microcuenca(s) con InVEST</b> | <b>22</b>     |
| <b>ANEXO 4: Fotografías de los sitios muestreados en la Tabla 1</b>   | <b>23</b>     |

## 1. Resumen Ejecutivo

En este segundo informe de las actividades realizadas bajo el convenio entre Anglo American y el Instituto de Ecología y Biodiversidad (IEB) se reportan resultados preliminares en relación a las comunidades microbianas que hemos realizado en suelos colectados en los terrenos de El Soldado. En esta etapa hemos cuantificado la cantidad de ADN (Ácido Desoxirribonucleico) microbiano en los suelos por medio de métodos de extracción en gel de agarosa. Los resultados nos muestran que los suelos de las zonas de las laderas Sur y fondos de quebradas contienen hasta seis veces más ADN microbiano que los suelos sobre los cuales se realizaron plantaciones en los años 2011 y 2012 (i.e. Las lajas 1 y 3), y hasta tres veces más ADN que los suelos de plantaciones, pero que no fueron preparados (Las lajas 2). Este resultado sugiere que la diversidad de microorganismos, que son fundamentales para la formación del suelo, tiende a disminuir en las zonas de plantaciones, pero la pérdida es más drástica en suelos preparados, donde se pierde hasta el 84% de la diversidad microbiana. Estudios comparativos con suelos de otros sitios de Chile central serán relevantes para poder poner en contexto y dimensionar las consecuencias ecológicas de estos datos preliminares, y con el fin de ir construyendo un diagnóstico de los suelos de esta zona.

En segundo lugar, el informe contiene el diseño de la metodología que estamos utilizando para evaluar a escala de paisaje los servicios ambientales asociados con los ecosistemas en la propiedad de Anglo American. Este enfoque propone usar un método de modelación de servicios ecosistémicos provistos por un área caracterizada por la presencia de vegetación nativa, actividad minera y otras actividades agro-forestales. En este sentido, se evaluará la capacidad que tienen las microcuencas para generar agua y maximizar el carbono almacenado en la vegetación y los suelos del área de interés.

Los objetivos planteados son:

- (i) Determinar la historia de cambio de uso de suelo mediante el uso de mapas temáticos contruidos sobre la base de material aerofotométrico e imágenes satelitales de diferentes años,
- (ii) Cuantificar el estado de los servicios ecosistémicos (agua evaluada como energía hidráulica y captura de carbono) y evaluar su trayectoria temporal mediante el uso de modelos espacialmente explícitos, y
- (iii) Explorar los compromisos entre los servicios ecosistémicos y los cambios en la composición y configuración del paisaje considerando escenarios de expansión/reducción de la cobertura arbórea.

## **2. Introducción General**

En este segundo informe de avances de las actividades de investigación especificadas en el convenio firmado por AngloAmerican y el Instituto de Ecología y Biodiversidad (IEB) el 02 de Enero de 2012 se da cuenta de las actividades relacionadas con dos objetivos: 1) Estudios de la microbiología de los suelos y 2) Avance de las actividades para la cuantificación de los servicios ecosistémicos de provisión (agua) y de mitigación de cambio climático (secuestro de carbono). Para éstas actividades se describe la metodología a emplear y en los Anexos se indica el estado de avance de la implementación.

La estructura del informe contempla la descripción detallada de las actividades, metodologías y resultados a la fecha. En los anexos se presenta información adicional respecto a los sitios muestreados y se describen algunas técnicas moleculares utilizadas.

## **3. Caracterización de los microorganismos presente en el suelo**

### **3.1 Introducción**

Las características de los suelos son fundamentales para el desarrollo de la vegetación, afectando su cobertura, diversidad y productividad. El suelo es el hábitat de una gran variedad de macro y micro organismos que coexisten en una compleja interacción entre ellos. Los microorganismos del suelo, principalmente hongos y bacterias, se encuentran en el segundo nivel de la trama trófica del suelo, (Griffiths 1990), son la fuente de carbono y energía para otros organismos como protozoos, nematodos, microartrópodos y artrópodos, en un continuo flujo que llega hasta aves y mamíferos. (Wardle & Yeates 1993).

La mayoría de los microorganismos del suelo obtienen su nutrientes y energía de las plantas a través de dos mecanismos, en la superficie por medio de la degradación de hojarasca, y bajo suelo a través de los exudados que las plantas liberan de sus raíces (conjunto de moléculas de alto y bajo peso molecular, azúcares, aminoácidos etc., Wardle 1992, Lynch & Whipps 1990). La composición de los exudados varía según la especie de planta y modula las comunidades de hongos y bacterias estructurando una zona de alta densidad de microorganismos alrededor de las raíces llamada *rizósfera*, caracterizada por e factores nutricionales y señales químicas (Costa et al 2006, Smalla et al 2001).

Los microorganismos que habitan la rizósfera realizan variadas funciones que afectan el desarrollo y funcionamiento de las comunidades de plantas, como por ejemplo la fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato, liberación de hormonas que estimulan el crecimiento de raíces y hojas, y la protección contra patógenos. Existe una alta dependencia mutua entre los microorganismos de la rizósfera y el crecimiento y vigor de las plantas pero clásicamente los estudios de suelo se han centrado sólo en los factores abióticos como el pH, concentración de nutrientes y contenido de agua, sin evaluar la

biomasa y composición de microorganismos. Sin embargo existen estudios en diferentes biomas que correlacionan la biomasa de microorganismos en el suelo con la biomasa y productividad total de plantas (Fierer et al 2009). Recientemente, se ha empezado a reconocer la importancia de la composición y biomasa de microorganismos en el suelo como factores claves para evaluar el éxito de procesos de restauración de vegetación, así como escenarios alternativos de manejo de ecosistemas (Harris 2003) especialmente en proyectos de restauración asociados a la minería (Harris et al. 1989, 1993, Hart 1999).

El objetivo de este estudio ha sido caracterizar las posibles relaciones entre las comunidades de microorganismos y la cobertura vegetal, tanto en suelos con vegetación nativa, como en suelos con diferentes impactos de degradación en zonas de clima mediterráneo. Para ello se seleccionaron sitios dentro de la faena minera de “El Soldado” y sitios distribuidos dentro de los ecosistemas Mediterráneos en Chile central (los que proveerán de una línea de comparación). El número de sitios muestreados se incrementará con futuras campañas tanto dentro de “El Soldado” como en otras zonas de Chile central. En los estudios de microbiología del suelo que aquí reportamos hacemos uso de técnicas moleculares, ya que las técnicas microbiológicas clásicas que se basan en el cultivo de microorganismos, solo permiten identificar menos del 1% de los microorganismos del suelo, los que pueden ser cultivados para su estudio. (Torsvik 1980). Las técnicas moleculares resuelven el problema de la baja cultivabilidad de los microorganismos de suelo forestales y agrícolas ya que analiza muestras de DNA metagenómico, esto significa DNA extraído de todos los microorganismos presentes en una muestra de suelo.

### 3.2 Metodologías y resultados

Hasta la fecha se han muestreado 10 sitios en Chile central, los cuales se describen en la Tabla 1 y Anexo 4. Los sitios ubicados al interior de la faena “El Soldado” están marcados en amarillo en la Tabla 1. En este informe sólo presentamos datos de los sitios dentro del área del Soldado ya que las muestras de los restantes sitios aún están en proceso de análisis.

El sitio Bellotuda 1 corresponde a un fondo de quebrada, mientras que Bellotuda 2 corresponde a una ladera de exposición Sur, ambos sitios presentan especies comunes como *Cryptocaria alba*, *Beilschmiedia miersii*, *Peumus boldus* y donde se puede observar la presencia ocasional de ganado, ya que en ellos se encuentran gran cantidad de bostas de vaca por ejemplo. Los sitios de Las Lajas corresponden a sitios de laderas norte, que han sido plantados y donde el suelo fue preparado para ello, para el caso de las Lajas 1 y 3 (año de plantación 2011 y 2012 respectivamente), las especies ocupadas para plantar fueron principalmente *Cryptocaria alba*, *Quillaja saponaria* y *Lithraea caustica*, en cambio las Lajas 2 corresponde a los llamados “Tevales”, formación nativa de *Trevoa trinervis*, que son indicadores de zonas donde anteriormente ocurrieron fuertes disturbios (quema, ganadería, agricultura, etc.) y que son al parecer estados iniciales de la sucesión natural de esos bosques.

Tabla 1. Coordenadas UTM de las zonas muestreadas para obtener muestras para T-RFLP análisis (usando DNA de microorganismos)

| Localidad    | x      | y       | Altura |
|--------------|--------|---------|--------|
| Bellotuda 1  | 302885 | 6382842 | 676    |
| Bellotuda 2  | 302770 | 6383046 | 800    |
| Las Lajas 1  | 298361 | 6383420 | 409    |
| Las Lajas 2  | 298148 | 6383303 | 449    |
| Las Lajas 3  | 298347 | 6383426 | 417    |
| La Campana 1 | 306263 | 6354327 | 535    |
| La Campana 2 | 306246 | 6354141 | 490    |
| La Campana 3 | 306295 | 6353962 | 531    |
| La Campana 4 | 301775 | 6348957 | 612    |
| La Dormida 5 | 312574 | 6340581 | 1307   |

Los resultados obtenidos en una primera etapa, en que se extrajo DNA total o metagenómico de los 6 suelos: Bellotuda 1 y 2, Laja 1,2 y 3. Según el protocolo descrito en el Anexo 1, se muestra en la figura 1. En la tabla 2 se indica el promedio de DNA extraído de cada suelo

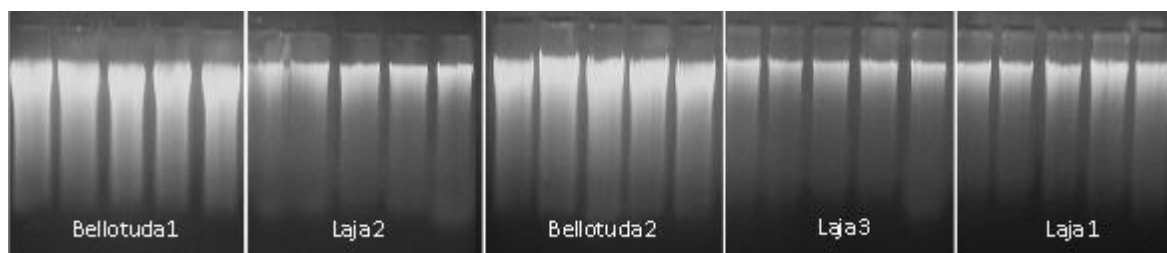


Figura 1. Gel de agarosa al 0,8%, se cargaron 5 µl la extracción de DNA en cada carril, se indica en la figura cada tipo de suelo. Las diferencias de gama de grises indican diferencias en concentración de DNA de microorganismos de suelo.

Tabla 2. Concentración esta expresada en ug de DNA/g de suelo.

|          | Bellotuda 1 | Bellotuda 2 | Laja1  | Laja 2 | Laja 3 |
|----------|-------------|-------------|--------|--------|--------|
| promedio | 609,52      | 534,76      | 166,64 | 282,56 | 143,64 |
| desv std | 48,06       | 87,02       | 24,50  | 71,76  | 32,71  |

### 3.3 Conclusión y Discusión

Los resultados preliminares sobre la concentración de DNA metagenómico en los suelos de “El Soldado”, nos permiten constatar que los suelos de la Bellotuda 1 y 2 tienen mayor cantidad de DNA por cada g de suelo lo que se traduciría en una mayor cantidad de microorganismos por g de suelo en comparación con los suelos de Las Lajas. Este

resultado es de gran interés por cuanto se ha señalado en la literatura que sitios degradados, como los muestreados en las Lajas tienden por lo general a presentar una reducida biomasa y actividad de microorganismos en el suelo en comparación a sitios más prístinos y húmedos. De hecho, las zonas intervenidas para plantar, donde se ha removido la cobertura vegetal, tienen menor biomasa de microorganismos en el suelo en comparación con Las Lajas 2 que corresponde a los llamados “Tevales”. Aparentemente en el curso de la sucesión vegetal, la biomasa de microorganismos aumenta tal como lo sugiere el hecho de que la plantación iniciada el 2011 posee mayor biomasa que la del 2012. En futuras campañas extenderemos estos análisis a otras zonas de El Soldado y en particular a secuencias temporales de restauración en curso (zonas donde los proyectos de restauración hayan empezado a distintos tiempos) para evaluar si ha existido recuperación de la biomasa de microorganismos.

Para tener información sobre la biomasa de hongos y bacterias, que es un valor que se correlaciona mejor con la actividad y almacenamiento de carbono en microorganismos, realizaremos un PCR cuantitativo, o PCR real time que nos permitirá calcular el número de copias de un gen en particular en cada gramo de suelo. Mediante PCR cuantitativo también se evaluará la presencia de determinados grupos de genes que participan en diferentes procesos biogeoquímicos en el suelo, así como también en la regeneración de suelo. Esta metodología y aproximación nos permitirá entender los factores que promueven el asentamiento de la cobertura vegetal.

Por otra parte estudiaremos las diferencias en estructura de las comunidades de microorganismos mediante TRFLP en los diferentes suelos. Estos resultados luego de un análisis estadístico nos permitirán conocer cualitativa y cuantitativamente las diferencias en diversidad que actualmente existen entre las comunidades de microorganismos y en el futuro nos permitirán monitorear la recuperación de suelos restaurados.

Otros estudios de alto impacto es la secuenciación masiva, este análisis permite conocer no sólo algunos genes, sino tener el metagenoma de cada tipo de suelo, es decir la composición de bacterias, hongos y arqueas a nivel de especie, todos los genes funcionales y metabólicos presentes en un suelo.

Estos datos permiten comprender los efectos de la biomasa y composición de las comunidades de microorganismos sobre el desarrollo de la cobertura vegetal durante la regeneración de suelos y los potenciales cambios en los procesos ecosistémicos. Así será posible por un lado evaluar el éxito de los esfuerzos de restauración con atención a las funciones que proveen los microorganismos del suelo y por otra hacer recomendaciones para recuperar la cobertura vegetal y por lo tanto la funcionalidad de los suelos. Adicionalmente queremos evaluar el efecto que las prácticas de restauración y manejo pudieran tener sobre las comunidades de microorganismos y viceversa.

#### **4. Servicios Ecosistémicos asociados a la Mina El Soldado**

## 4.1 Introducción

En la actualidad el enfoque que considera la modelación de servicios ecosistémicos (SE) para generar estrategias de conservación y planificación del territorio ha cobrado gran relevancia en contextos sociales, económicos y ecológicos (Jarvis et al. 2005, Díaz et al. 2006, Luck et al. 2009, Nelson et al. 2009), lo cual ha generado una mayor conciencia del valor que tiene la biodiversidad para la conservación de los bienes y servicios que sustentan el bienestar humano y de los componentes y funciones del ecosistema.

Sin embargo, el enfoque de evaluación del estado de los SE en áreas bajo la influencia del rubro de la minería en Chile y en el mundo es escasa, y se ha enfocado principalmente en evaluaciones de la percepción que tienen los inversionistas y tomadores de decisiones, y en el ámbito de estrategias de mitigación de las actividades extractivas (Grigg et al. 2011).

En consecuencia, la presente propuesta de evaluación a escala de paisaje, es pionera pues se propone usar el enfoque de modelación de SE en un área caracterizada por la presencia de vegetación nativa, actividad minera y otras actividades como las agrícolas y forestales. En este sentido, se evaluará la capacidad que tienen las microcuencas para generar agua y maximizar el carbono almacenado en el área de interés.

Los objetivos planteados son:

- (i) Determinar la historia de cambio de uso de suelo mediante el uso de mapas temáticos contruidos en base a material aerofotométrico e imágenes satelitales de diferentes años,
- (ii) Cuantificar el estado de los servicios ecosistémicos (agua evaluada como energía hidráulica y captura de carbono) y evaluar su trayectoria temporal mediante el uso de modelos espacialmente explícitos y
- (iii) Explorar los compromisos entre los servicios ecosistémicos y los cambios en la composición y configuración del paisaje considerando escenarios de expansión/reducción de la cobertura arbórea.

## 4.2 Metodología

### 4.2.1 Área de estudio

Comprende tres microcuencas aguas arriba y definida por la red hídrica que desemboca en el área de la Mina El Soldado perteneciente a la Empresa Minera Anglo American Chile ubicada al noreste de la comuna de Nogales, Región de Valparaíso de Chile (Figura 2). La Mina El Soldado produce anualmente 50.000 toneladas de cobre fino aproximadamente y comprende una mina a rajo abierto, una mina subterránea, plantas de chancado y áreas de relaves para el tratamiento de minerales oxidados y sulfurados<sup>1</sup>.

Según el Catastro de Bosque Nativo (CONAF 2010) el área de estudio comprende 12 tipos de uso del suelo, de los cuales nueve corresponden a tipos de vegetación (Figura 3a).

---

<sup>1</sup> [http://www.anglochile.cl/es/operaciones/pres\\_soldado.htm](http://www.anglochile.cl/es/operaciones/pres_soldado.htm)



#### **4.2.2 Modelación de servicios ecosistémicos**

Para la modelación se usará InVEST 2.4.3 (Tallis et al. 2011) que es una herramienta generada por Natural Capital Project para evaluar y modelar diversos servicios ecosistémicos en ambiente SIG y da la oportunidad de identificar áreas críticas dentro de un paisaje.

#### **4.2.3 Estimación de Energía Hidráulica**

InVEST estima la cantidad promedio anual y valor de la energía hidráulica producida por los reservorios, además identifica cual es el rendimiento y el valor que aporta cada clase de uso en el paisaje a la producción anual de energía hidráulica.

El modelo tiene tres componentes: (i) rendimiento de agua, (ir) consumo de agua y (oí) valoración de energía hidráulica. Los datos necesarios para ejecutar la modelación con InVEST se describen en el Anexo 3.

#### **Modelo de rendimiento de agua**

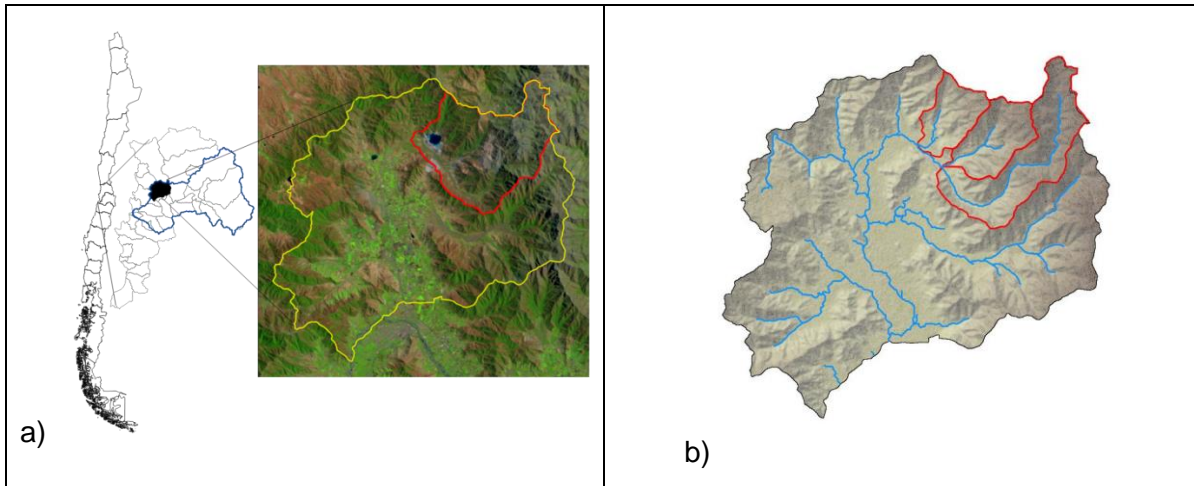
El rendimiento de agua para cada pixel está dado por:

$$Y_{xy} = \left(1 - \frac{AET_{xy}}{P_x}\right) \cdot P_x$$

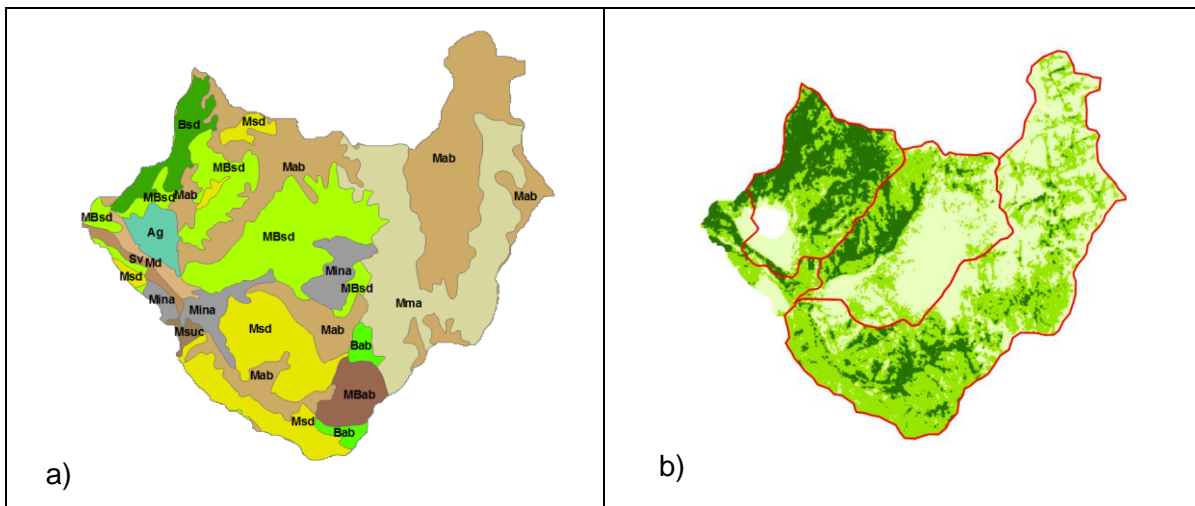
Donde  $E_x$  es el rendimiento anual de agua (mm) para cada pixel,  $AET_{xj}$  es la evapotranspiración promedio anual (mm) del pixel x de la clase de uso j y  $P_x$  es la precipitación promedio anual (mm) sobre el pixel x. La evapotranspiración se determina usando la siguiente expresión:

$$\frac{AET_{xj}}{P_x} = \frac{1 + w_x R_{xj}}{1 + w_x R_{xj} + \frac{1}{R_{xj}}}$$

Donde  $AET_{xj}/P_x$  es una aproximación de la curva de Budyko desarrollada por Zhang et al. (2001),  $R_{xj}$  es el índice de aridez adimensional de Budyko sobre el pixel x de la clase de uso j, definida como la razón de la evapotranspiración potencial y la precipitación (Budyko 1974) y  $W_x$  es la razón adimensional del agua almacenada disponible para las plantas y las precipitaciones esperadas durante el año.



**Figura 2.** (a) Área de estudio (polígono rojo) localizada en la comuna de Nogales (polígono amarillo) inserta al noroeste de la cuenca del río Aconcagua (polígono azul) y (b) Modelo elevación digital usado para la delimitación de tres microcuencas en el área de influencia de la Mina El Soldado.



**Figura 3.** Área de estudio según: (a) Tipos de uso del suelo (Mina, Md: matorral denso, Msd: matorral semidenso, Mab: matorral abierto, Mma: matorral muy abierto, MBsd: matorral arborescente semidenso, MBab: matorral arborescente abierto, Msuc: matorral con suculentas, Bsd: renoval semidenso, Bab: Renoval abierto, Sv: sin vegetación, Ag: cuerpos de agua y (b) NDVI (verde oscuro mayor NDVI, zonas claras corresponden al área de labores mineras) mostrando las tres microcuencas delimitadas en color rojo (b).

### **Modelo de escasez de agua**

Determina el valor de escasez de agua basado en el rendimiento de agua y el uso consuntivo en la cuenca (consumo de agua según clase de uso del suelo)

$$V_{in} = Y - u_d$$

Donde Y es el rendimiento total de agua aguas arriba desde un punto (ej. dique de embalse) y  $U_d$  es el volumen total de agua consumida aguas arriba desde un punto.

#### 4.2.4 Modelo de producción y valoración de energía eléctrica

El modelo de producción del reservorio estima la cantidad de energía producida y el valor de esta (\$) basado en la construcción hipotética de uno (o varios) embalse(s). El poder de generación de energía hidráulica se determina según la siguiente expresión:

$$p_d = \rho \cdot q_d \cdot \sigma \cdot h_d$$

Donde  $p_d$  es el poder en watts,  $\rho$  es la densidad del agua ( $1 \text{ Kg/m}^3$ ),  $q_d$  es el caudal ( $\text{m}^3/\text{s}$ ),  $\sigma$  es la fuerza de gravedad ( $9,81 \text{ m/s}^2$ ) y  $h_d$  es la altura detrás de la turbina o la pared del embalse hipotético (m).

Para determinar el valor presente neto (NPV) a partir de  $\varepsilon_d$  se aplicará la siguiente expresión:

$$NPVH_d = (p_e \varepsilon_d - TC_d) \times \sum_{t=0}^{T-1} \frac{1}{(1+r)^t}$$

Donde  $TC_d$  es el costo de operación anual para el embalse d,  $p_e$  es el valor de mercado de la electricidad por unidad de energía consumida,  $T_d$  es el número de años de operación de la planta de energía hidráulica y  $r$  es la tasa de descuento. Finalmente, para estimar la producción de energía durante el tiempo de vida de la planta de energía hidráulica, el modelo usa la siguiente expresión:

$$\varepsilon_x = (T_d \varepsilon_d) \times \left( \frac{c_x}{c_{tot}} \right)$$

Donde el primer término entre paréntesis representa la producción de energía durante el periodo de operación de la planta de energía hidráulica y el segundo término es la proporción del volumen de agua que proviene de la microcuenca x en razón con el volumen total de la cuenca. Por lo tanto, para estimar el valor de cada microcuenca se usará la siguiente expresión:

$$NPVH_x = NPVH_d \times \left( \frac{c_x}{c_{tot}} \right)$$

#### 4.2.5 Estimación de la Captura de Carbono

La estimación del C almacenado en el ecosistema requiere la determinación del C sobre el suelo (hojarasca y biomasa viva y muerta) y C bajo el suelo (biomasa de raíces y carbono en la materia orgánica del suelo) (MacDicken 1997, Ponce-Hernández et al. 2004). Para esto, se establecerán tres parcelas temporales de muestreo (PTM) por tipo de uso del suelo. La metodología de muestreo y establecimiento de las PTM corresponderá al procedimiento propuesto por Schlegel et al. (2001).

Las PTM serán parcelas circulares ( $400 \text{ m}^2$ ) (Figura 4) divididas en 4 cuadrantes (I, II, III y IV). En el cuadrante I (elegido al azar) se medirán todas las especies leñosas ( $\text{DAP} < 5\text{cm}$ ) y luego se continuará midiendo solo los arboles con  $\text{DAP} > 10\text{cm}$  de  $\text{DAP}$  en los

cuadrantes. La vegetación arbórea será identificada a nivel de especie y se estimarán la abundancia por especie y total.

En los cuadrantes II, III y IV se establecerán parcelas de 1m<sup>2</sup> en cada uno de ellos, donde se estimará la biomasa arbustiva (varias ramas desde la base con DAP<5cm), herbácea y hojarasca (ver más abajo) y variables de cobertura (m<sup>2</sup>). Los diferentes estratos serán pesados y se tomarán muestras de cada uno de ellos. Posteriormente serán secados al horno a 70°C por 48 hr para la determinación de peso seco y estimar la biomasa en 1m<sup>2</sup> que será transformada a contenido de carbono por estrato y por parcela.

Al centro de cada PTM circular, se tomaran muestras de suelo a tres profundidades (0-20, 20-40 y 40-60 cm) las cuales serán pesadas antes y después de secado en laboratorio a 70°C por 72 hr. Las muestras serán utilizadas para la determinación de densidad aparente (gcm<sup>-3</sup>) y contenido de carbono por PTM y por tipo de uso del suelo.

### **Biomasa y carbono sobre el suelo**

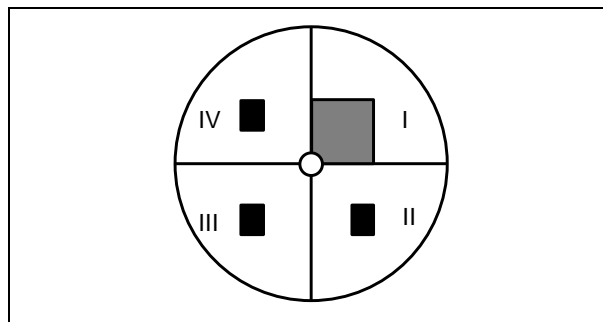
Se estimará la biomasa aérea del estrato arbóreo a partir de ecuaciones alométricas publicadas o desarrolladas para este fin en terreno.

### **Estimación de carbono en la biomasa aérea arbórea**

A partir de la estimación de biomasa de cada individuo por especie se determinará el contenido de carbono mediante la siguiente expresión:

$$C_{PTMi} = 0,025 \sum (B_i \times \%C_i)$$

Donde C<sub>PTMi</sub> es el contenido de carbono en una PTM, B<sub>i</sub> es la biomasa total de la especie i, %C<sub>i</sub> es el contenido relativo de C de la especie i (típicamente alrededor de 50%).



**Figura 4.** Esquema de las parcelas temporales de muestreo de 400m<sup>2</sup> (PTM) para (a) parcela circular de 11,28 m de radio dividida en cuatro cuadrantes (I, II, III y IV) para vegetación distribuida aleatoriamente Simbología dentro de parcelas: cuadrado gris = parcela de 25m<sup>2</sup> (5x5m); cuadrados negros = parcelas de 1m<sup>2</sup> (1x1m); círculos blancos = punto de toma de muestras de suelo.

### **Biomasa y carbono aéreo arbustivo y herbáceo**

Las muestras de la vegetación arbustiva y herbácea en las parcelas de 1m<sup>2</sup>, serán pesadas en campo y se tomaran muestras para determinar la biomasa a partir de la

relación peso seco – peso húmedo en laboratorio (González 2008) para convertir a cantidad de carbono según muestra, usando la siguiente expresión:

$$Cs_i = 0,5 \left( \frac{PS_c}{PH_c} \times PT_c \right)$$

Donde Cs<sub>i</sub> es el contenido de carbono total del estrato i (Kg de arbusto o hierba) en la parcela de 1m<sup>2</sup>, PS<sub>c</sub> es el peso seco de la muestra del componente (Kg), PH<sub>c</sub> es el peso de la muestra húmeda del componente (Kg) y PT<sub>c</sub> es el peso total del componente registrado en campo (Kg m<sup>-2</sup>) y la constante 0,5 por convención (Rügnitz et al. 2009).

Luego se determinará el contenido de C total por parcela de 1m<sup>2</sup> para extrapolar al área total del tipo uso del suelo.

### **Biomasa y carbono bajo el suelo (raíces)**

Para estimar la biomasa y carbono bajo el suelo se usarán factores de conversión estándares. Según MacDicken (1997) y Schlegel et al. (2001) la biomasa de raíces de especies arbóreas representa el 15% de la biomasa aérea arbórea. Por lo tanto, la siguiente expresión define el carbono de la biomasa subterránea arbórea:

$$C_{rus} = 0,075 \times B_{uso}$$

Donde C<sub>rus</sub> es el contenido de carbono total según uso del suelo, (t), B<sub>uso</sub> es la biomasa total del estrato arbóreo según uso del suelo.

### **Carbono del suelo**

La estimación del carbono en el suelo requiere la determinación de la densidad aparente (Da, gcm<sup>-3</sup>) y el contenido relativo de carbono (%C). La densidad aparente será estimada mediante el método del cilindro (Coile 1936) y se aplicará la siguiente formula:

$$Da = \frac{M_{ss}}{V_c}$$

Donde, Da es la densidad aparente del suelo (g cm<sup>-3</sup>), Mss es la masa del suelo seco (g) y Vc es el volumen del cilindro (cm<sup>3</sup>). La densidad aparente será determinada para las tres profundidades de suelo antes mencionado (0-20cm, 20-40cm y 40-60cm).

La determinación del contenido de carbono en el suelo será mediante análisis de laboratorio (CARLO-ERBA) y se usará la siguiente expresión:

$$C_p = (\%C_p \times Da_p \times P_p) \times 100$$

Donde  $C_p$  es el contenido de carbono a una profundidad  $p$  ( $\text{gcm}^{-2}$ ),  $\%C_p$  es el contenido relativo de carbono en la profundidad  $p$ ,  $Da_p$  es la densidad aparente ( $\text{gcm}^{-3}$ ) a una profundidad  $p$ ,  $P_p$  es el rango de la profundidad  $p$ -ésima (20cm) a la cual corresponde las mediciones y la constante 100 convierte las unidades de  $\text{gcm}^{-2}$  a  $\text{tha}^{-1}$ .

El contenido de carbono por nivel de profundidad y por uso de suelo estará en función de:

$$Ct_{puso} = \frac{S_{uso}}{N_{pus}} \sum C_{pus}$$

Donde  $Ct_{puso}$  es el carbono en un tipo de uso de la tierra en el rango de profundidad  $p$ -ésimo ( $\text{tha}^{-1}$ ),  $S_{uso}$  es la superficie del tipo de uso de la tierra (ha),  $N_{pus}$  es el número de puntos de muestro en el rango de la profundidad  $p$  y  $C_{pus}$  es el contenido de carbono en la profundidad  $p$  en un tipo de uso del suelo.

### **Carbono almacenado en el área**

Con las estimaciones anteriores se logrará obtener el carbono almacenado actual en el paisaje como la suma de todos los compartimentos según área y tipo de uso del suelo o vegetación.

### **Estimación del carbono almacenado a través del tiempo**

La determinación del carbono almacenado en el tiempo considerará el uso de los mapas temáticos temporales construidos, donde para cada uno de estos se estimará el carbono según tipo de uso o cobertura de suelo.

Se usarán los mapas temáticos construidos para evaluar la trayectoria del cambio de uso del suelo o cobertura de vegetación y el método de diferencias de existencias de carbono (IPCC 2006) para determinar la tasa de cambio del carbono almacenado entre dos momentos, dado por la siguiente expresión:

$$\Delta C_i = \frac{(Ct_{p-1} - Ct_p)}{(t_{p-1} - t_p)}$$

Donde  $\Delta C_i$  es el cambio anual del carbono almacenado en el tipo de uso del suelo,  $i$  ( $\text{tC año}^{-1}$ ),  $Ct_p$  es el carbono almacenado en el año  $t_p$  y  $Ct_{p-1}$  es el carbono almacenado en el año  $t_{p-1}$ .

## 5. Bibliografía

- Budyko M. 1974. Climate and life. Translate from russian by D.H Miller. Academic. San Diego, California.
- Coile TS. 1936. Soil samplers. Soil Science 42:139-142.
- CONAF. 2010. Actualización Catastro de Uso del Suelo y Vegetación, V Región de Valparaíso. SIG en línea [<http://sit.conaf.cl/>]
- Costa R., Götz M., Mrotzek N., Lottmann J, Berg G., Smalla K. (2006). Effects of site and plant species on rhizosphere community structure as revealed by molecular analysis of microbial guilds. FEMS Microbiol Ecol. 56(2):236-249.
- Díaz S, Fargione J, Chapin III S, Tilman D. 2006. Biodiversity loss threatens human well-being. PLoS Biology 4(8):1300-1305.
- Fierer N., Strickland P., Liptzin D., Bradford M., Cleveland C. (2009). Global patterns in belowground communities. Ecology Letters 12: 1238–1249
- Gardes M, Bruns TD. (1993) ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes—application to the identification of mycorrhizae and rusts. Molecular Ecology 2:113–118
- Griffiths B.S. (1990). A comparison of microbial-feeding nematodes and protozoa in the rhizosphere of different plants. Biology and Fertility of Soils 9: 83–88.
- Grigg A, Harper M, Verbunt S. 2011. Tread lightly. Biodiversity and ecosystem services risk and opportunity management within the extractive industry. The Natural Value Initiative. En línea [[http://www.naturalvalueinitiative.org/download/documents/Publications/NVI%20Extractive%20Report\\_Tread%20lightly\\_HR.pdf](http://www.naturalvalueinitiative.org/download/documents/Publications/NVI%20Extractive%20Report_Tread%20lightly_HR.pdf)]
- Jarvis PG, Ibrom A, Linder S. 2005. 'Carbon forestry': managing forests to conserve carbon. In Griffiths H, Jarvis PG (eds) The carbon balance of forest biomes. Taylor & Francis, Oxon, UK, pp 331–349.
- Lane D.J., Pace B., Olsen G.J., Stahl D.A., Sogin M.L. Pace N.R. (1985) Rapid determination of 16S ribosomal RNA sequences for phylogenetic analyses. Proc Natl Acad Sci USA 82:6955-6959.
- Loreau M., Naeem S., INchausti P. (2002) Biodiversity and Ecosystem Functioning: Synthesis and Perspectives. Oxford University Press

- Lynch J.M., Whipps J.M. (1990) Substrate flow in the rhizosphere. *Plant and Soil* 129:1–10.
- MacDicken KG. 1997. A guide to monitoring carbon storage in forestry and agroforestry projects. Arlington, VA: Winrock International Institute for Agricultural Development.
- Nelson E, Mendoza G, Regetz J, Polasky S, Tallis H, Cameron DR, Chan KMA, Daily GC, Goldstein J, Kareiva PM, Lonsdorf E, Naidoo R, Ricketts TH, Shaw MR. 2009. Modeling multiple ecosystem services, biodiversity conservation, commodity production, and tradeoffs at landscape scales. *Frontiers in Ecology and the Environment* 7:4-11.
- Ponce-Hernandez R, Koohafkan P, Antoine J. 2004. Assessing carbon stocks and modeling win-win scenarios of carbon sequestration through land-use change. FAO, Roma, Italia. 166 p. En línea [<ftp://ftp.fao.org/agl/agll/docs/carbonstocks.pdf>]
- Rügnitz MT, Chacon ML, Porro G. 2009. Guía para la determinación de carbono en pequeñas propiedades rurales. Centro Mundial Agroforestal (ICRAF) & Consorcio Iniciativa Amazónica (IA). Lima, Peru. 79 p. En línea [[http://moderncms.ecosystemmarketplace.com/repository/moderncms\\_documents/ICRAF\\_GuiaDeterminacionCarbono\\_esp.1.1.pdf](http://moderncms.ecosystemmarketplace.com/repository/moderncms_documents/ICRAF_GuiaDeterminacionCarbono_esp.1.1.pdf)]
- Schlegel B, Gayoso J, Guerra J. 2001. Manual de procedimientos de inventarios de carbono en ecosistemas forestales. Universidad Austral de Valdivia, Valdivia, Chile. 17 p. En línea [<http://www.fiagro.org.sv/systemFiles/manincar.pdf>]
- Smalla K, Wieland G, Buchner A, Zock A, Parzy J, Kaiser S, Roskot N, Heuer H, Berg G. (2001) Bulk and rhizosphere soil bacterial communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis: plant-dependent enrichment and seasonal shifts revealed. *Appl Environ Microbiol* 67(10):4742-51
- Somers E, Vanderleyden J, Srinivasan M (2004) Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet. *Crit Rev Microbiol* 30(4):205-40.
- Tallis HT, Ricketts T, Guerry AD, Wood SA, Sharp R, Nelson E, Ennaanay D, Wolny S, Olwero N, Vigerstol K, Pennington D, Mendoza G, Aukema J, Foster J, Forrest J, Cameron D, Arkema K, Lonsdorf E, Kennedy C, Verutes G, Kim CK, Guannel G, Papenfus M, Toft J, Marsik M, Bernhardt J. 2011. InVEST 2.4.4 User's Guide. The Natural Capital Project, Stanford.



- Torsvik, V.L. (1980) Isolation of bacterial DNA from soil. *Soil Biol Biochem* 12, 15–21.
- Wardle D.A. (1992) A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. *Biology Reviews* 67:321–358.
- Wardle D.A., Yeates G.W. (1993) The dual importance of competition and predation as regulatory forces in terrestrial ecosystems: evidence from decomposer food webs. *Oecologia* 93: 303–306.
- Wardle D.A., Bardgett R., Klironomos J. Setälä H., van der Putten W., Wall D. (2004) Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science* 304:1629–1633
- Zhang L, Dawes WR, Walker GR. 2001. Response of mean annual evapotranspiration to vegetation changes at catchment scale. *Water Resource Research* 37:701-708.

# ANEXOS

## **ANEXO 1. Metodología para extraer muestras de TFRLP en terreno y laboratorio**

### **a. Sitio de Estudio**

Se inició el análisis de cinco suelos provenientes de la mina El Soldado en el Valle de Aconcagua: Bellotuda Sur (Bellotuda 2), Bellotuda fondo de quebrada (Bellotuda 1), Laja1, 2 y 3 (Tabla 1).

Se tomaron seis muestras por sitio de estudio. Cada muestra comprende cinco puntos de extracción de suelo en 1 m<sup>2</sup>. Los suelos fueron tamizados para homogenizar y eliminar piedras y material vegetal, se mantuvieron a -20°C hasta su análisis.

### **b. Métodos moleculares**

**El análisis molecular de las comunidades de microorganismos comprende tres pasos.**

#### **1. Aislamiento del DNA meta- genómico .**

- Se aisló DNA total de 0,5 g de suelo que contienen DNA de todos los organismos presentes en ese suelo mediante el Kit FastDNA Spin for Soil (MpBio Biomedical LLCC, Illkrich, France).
- La integridad del DNA es visualizada en un gel de agarosa 0,8% y se cuantifica en un NanoDrop. Las muestras se mantienen a -80°C hasta su uso.

#### **2. Biomasa de microorganismos se estimará mediante un PCR cuantitativo.**

Se amplificará mediante PCR cuantitativo o PCR en tiempo real el gen 16SrRNA para bacterias. El número de copias se obtiene de una curva de calibración y permite conocer la biomasa de bacterias.

#### **3. La estructura de las comunidades de microorganismos se estudiara mediante análisis tipo *Terminal Restriction Fragment Lenght Polymorphism* (T-RFLP).**

- Para estudiar las comunidades de bacterias se amplifica por PCR el gen 16S rRNA para TRFLP, con los partidores 8F: 5'-AGA GTT TGATCC TGG CTC AG- 3', marcado con el fluorocromo FAM en el extremo 5' y el partidador 1392R.
- El producto se digiere con la enzima de restricción *Msp*-1 y *Hha*-1
- Los fragmentos obtenidos se envían a MacroGen Inc. (Corea) para ser analizados por electroforesis capilar. El laboratorio envía como resultado el tamaño de los fragmentos en cada muestra.

- El tamaño de los fragmentos obtenidos de cada comunidad, son sometidos a pruebas estadísticas no paramétricas multivariadas (ANOSIM). Este análisis calcula la diferencia entre grupos y arroja un estadístico "R", si este valor está entre 0 y 0.25 indica escasas diferencias entre los grupos, entre 0.25 y 0.5 diferencias moderadas y 0.5 y 1 diferencias fuertes. Además entrega un valor de significancia "p" al valor de R encontrado.
- Estos agrupamientos pueden ser visualizados en un nMDS (non-metric multidimensional scaling) que es una representación gráfica tridimensional, en que cada patrón de TRFLP se grafica como un punto y la distancia entre los puntos es reflejo de la diferencia entre ellos. Esta gráfica tiene asociado un valor de estrés que va entre 0 y 2. Siendo los valores más cercanos a cero una correspondencia perfecta entre las distancias representadas en el gráfico y las similitudes en la matriz.

## Anexo 2. Estado de avance y datos requeridos para modelar almacenamiento de carbono con el programa InVEST

| Variable                          | Sub-variable  | % Avance | Observación   |
|-----------------------------------|---|----------|---|
| Uso suelo                         | -   | 100      | Basado en clasificación de uso de suelo   |
| Tabla reservorio de carbono       | Código y descripción uso suelo                                | 100      | Basado en clasificación de uso de suelo   |
|                                   | Carbono almacenado biomasa aérea                              | 20       | Necesario acceso al predio para levantamiento de vegetación y determinar usando ecuaciones alométricas. |
|                                   | Carbono almacenado biomasa bajo el suelo                      | 20       | Necesario acceso al predio para levantamiento de vegetación y determinar usando ecuaciones alométricas. |
|                                   | Carbono almacenado en el suelo                                | 0        | Necesario tomar muestras de suelo y análisis de laboratorio   |
|                                   | Carbono almacenado en la materia orgánica muerta              | 0        | Necesario tomar muestras de suelo y análisis  |
| Tasa actual extracción de carbono | Carbono removido por polígono                                 | 70       | Basado en cambio de uso del suelo   |
|                                   | Año de remoción   | 100      | Corresponde a los años de cada mapa de uso de suelo   |
|                                   | Frecuencia de remoción  | 100      | Corresponde a los años de cada mapa de uso de suelo   |
|                                   | Vida media de los productos que son cosechados para algún uso | 0        | Valor arbitrario  |
|                                   | Densidad del carbono removido                                 | 100      | Basado en IPCC 2006   |
|                                   | Factor de expansión de biomasa a volumen                      | 100      | Basado en IPCC 2006   |

### Anexo 3. Estado de avance y datos requeridos para modelar rendimiento, consumo de agua y valor de la energía hidráulica generada por la(s) microcuenca(s) analizadas con el modelo InVEST

| Variable                                      | Sub-variable   | % Avance | Observación  |
|---|--|----------|--|
| Profundidad del suelo                         | -  | 50       | Indispensable, acceso al predio y/o comprar cartas de suelo CIREN  |
| Precipitación                                 | -  | 100      | Solicitar acceso a datos de estaciones meteorológicas ubicadas al interior del predio  |
| Contenido de agua disponible para las plantas | -  | 50       | Datos estándares de la FAO   |
| Evapotranspiración potencia anual             | -  | 50       | Gestión con la Red Agroclima   |
| Uso suelo                                     | -  | 100      | Clasificación basada en imágenes Landsat   |
| Cuenca  | -  | 100      | Determinación en SIG según modelación basada modelo de elevación digital y determinación de red hídrica y en la dirección y acumulación de flujo de agua |
| Sub-Cuenca                                    | -  | 100      |  |
| Tabla biofísica                               | Código y descripción uso suelo   | 100      | Basado en clasificación de uso de suelo  |
|   | Coefficiente evapotranspiración (etk)  | 50       | Datos estándares de la FAO   |
|   | Profundidad de raíces  | 50       | Datos estándares internacionales o basado en datos nacionales  |
| Constante de Zhang                            | -  | 100      | Valor arbitrario que depende de la estacionalidad de las precipitaciones, fluctúa entre 1 - 10.  |
| Tabla demanda                                 | Código y descripción uso suelo   | 100      | Basado en clasificación de uso de suelo  |
|   | Consumo agua promedio por tipo de uso  | 50       | Basado en literatura científica y técnica  |
| Tabla de valoración de energía hidráulica     | Código microcuenca   | 100      | Basado en clasificación de uso de suelo  |
|   | Eficiencia turbina   | 0        | -  |
|   | Fracción del agua disponible para generar energía                                    | 0        | -  |
|   | Altura de agua detrás de un punto hipotético donde se levanta la pared de un embalse | 0        | -  |
|   | Precio KW/hora   | 100      | Datos del mercado nacional   |
|   | Costo anual de operaciones de una planta de energía hidráulica                       | 50       | -  |
|   | Tiempo de funcionamiento de la planta de energía hidráulica                          | 0        | -  |
|   | Tasa de descuento del tiempo de operaciones de interés                               | 0        | -  |
| Tabla de calibración de energía hidráulica    | Código microcuenca   | 100      | Basado en clasificación de uso de suelo  |
|   | Constante calibración de rendimiento de agua   | 50       | -  |

**Anexo 4** . Fotografías de los sitios donde se cuenta con muestras de suelo y vegetación, presentados en la Tabla 1, y sitios por analizar.



Bellotuda 1



Bellotuda 1



Bellotuda 2



Bellotuda 2





La Campana 1



La Campana 1



La Campana 2



La Campana 2



La Campana 3





La Campana 4



La Campana 4



La Dormida



La Dormida



Las lajas 1



Las lajas 2



Las lajas 2



Las lajas 3