



*FORMULARIO DE
PRESENTACIÓN INICIATIVAS CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD 2017*

CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD (FIC)
AYSÉN 2017
ENTIDADES RECEPTORAS

**FORMULARIO
PRESENTACIÓN DE INICIATIVAS**



1. ANTECEDENTES GENERALES DE LA INICIATIVA

1.1 Nombre de la Iniciativa.

RECUPERACIÓN BIOLÓGICA DE SITIOS CONTAMINADOS CON METALES PESADOS

1.2 Período de ejecución

Duración (meses): 25

Fecha inicio proyectada: NOVIEMBRE DE 2017

1.3 Ubicación y Cobertura territorial:

Indique localidades, comunas y/o provincias para:

- a) Ubicación del proyecto: Coyhaique (provincia de Coyhaique),
- b) Ubicación de beneficiarios: Principalmente comunas adyacentes a los relaves abandonados del Lago General Carrera (Chile Chico, Puerto Tranquilo, Puerto Sánchez) Puerto Ibáñez (provincia de General Carrera)

1.4 Beneficiarios

Número de beneficiarios diferenciados por género.

3000 hombres y 3000 mujeres (Número de individuos aproximado que corresponde a la población de la Provincia del General Carrera).

1.5 Monto Iniciativa

Solicitado Total a FIC	:	\$ 111.573.000
Solicitado a FIC 2017	:	\$ 17.062.500
Aporte Propio ¹	:	\$ 16.556.000
Aporte Asociados	:	\$ 13.174.000
Monto Total	:	\$ 141.413.000

¹ Al menos el 5%, entre aportes propios y de asociados, debe ser pecuniario.



1.6 Resumen ejecutivo:

Indique brechas abordadas, mérito innovador de la solución propuesta, objetivo general y principales resultados y productos.

La Patagonia Chilena es un reservorio de biodiversidad destacado a nivel mundial. La Región de Aysén, como parte de la Patagonia Chilena, conserva una gran cantidad de especies vegetales las cuales poseen un potencial aún no determinado. Conocer, caracterizar y destacar las propiedades de las plantas nativas es de suma importancia para relevar el valor de la flora nativa y para la toma de decisiones relacionada con la sustentabilidad de los recursos naturales de nuestro país. Un ejemplo del valor que toman las plantas cuando se conocen sus propiedades sucede cuando son utilizadas para extraer contaminantes desde el medio ambiente, como ocurre en una tecnología denominada fitorremediación. Una tecnología de bajo costo y amistosa con el medioambiente, que podría solucionar problemas ambientales como el de la contaminación antrópica que generan las empresas mineras.

Los estudios de fitorremediación han permitido identificar diversas plantas a nivel mundial que tienen la propiedad de acumular contaminantes en su biomasa. Desde un punto de vista de la innovación, sabemos que esta tecnología ha sido probada solo por algunos grupos puntuales de investigación en Chile, restringiendo estos estudios a la zona norte de nuestro país, donde la actividad minera es muy conocida. Nosotros, proponemos innovar y utilizar plantas de nuestra región con potencial remediador para ayudar a recuperar zonas contaminadas por metales pesados permitiendo de esta forma mostrar nuestra región como una región preocupada de sus ecosistemas y medioambiente.

En el año 2015-2016, y gracias a un proyecto FIC-Región de Aysén, el equipo de investigación del Programa de Biorremediación del Campus Patagonia de la Universidad Austral de Chile logró identificar tres plantas y tres bacterias capaces de tolerar y atrapar altas concentraciones de metales pesados desde un relave abandonado que está ubicado en el centro del Lago General Carrera, donde se haya emplazado un monumento Histórico Nacional, Puerto Cristal. En la Etapa II de esta línea de trabajo, una etapa de escalamiento donde la componente de innovación es ahora llevada al público objetivo, y con la finalidad de generar una solución al problema de los contaminantes antrópicos como los metales pesados, es que en este proyecto proponemos: **Generar un protocolo agronómico de manejo y reproducción de plantas fitorremediadoras el cual será difundido a la comunidad, permitiendo dar a conocer esta tecnología de bajo costo y amistosa con el medioambiente.** A partir esta propuesta proponemos generar:

1. Un protocolo (manual) agronómico para el cultivo y masificación de plantas fitorremediadoras.
2. Difundir y transferir la tecnología de la fitorremediación a los beneficiarios.
3. Generar conocimiento de nuevas especies biorremediadoras.



. ANTECEDENTES DEL POSTULANTE Y ASOCIADOS

2.1 Identificación de la entidad postulante	
Nombre	Universidad Austral de Chile
RUT	81.380.500-6
Dirección	Campus Patagonia, Camino Coyhaique Alto, Km 4, s/n.
Teléfonos	672526955
2.2 Identificación Representante Legal²	
Nombre	Arturo Escobar Valledor
CI	██████████
Dirección	██
Teléfonos	██████████
E-mail	██████████████████
Firma ³	
2.3 Identificación de Representante Técnico	
Nombre	Ximena Valenzuela Monsalve
CI	██████████
Dirección	██
Teléfonos	██████████
E-mail ⁴	██████████████████
Firma	

² El representante legal, de la entidad receptora, es quién debe firmar cada documento enviado al GORE Aysén.

³ La postulación de iniciativas a esta Convocatoria acredita para todos los efectos legales, que el representante legal de la institución que postula conoce y acepta el contenido íntegro de las presentes bases y se sujetará a los resultados del presente Concurso.

⁴ Las comunicaciones oficiales, para efectos de coordinación de la iniciativa, se realizarán a esta dirección de correo electrónico.



*FORMULARIO DE
PRESENTACIÓN INICIATIVAS CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD 2017*

2.4 Presencia Regional del postulante

Refiérase a instalaciones físicas, administrativas, contables y recursos humanos presentes en la región y que el postulante pondrá a disposición para el desarrollo de la iniciativa.



FORMULARIO DE
PRESENTACIÓN INICIATIVAS CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD 2017

2.5 Identificación de asociados	
Nombre asociado 1	MUNICIPALIDAD DE RÍO IBÁÑEZ
Giro	Municipalidad
Rut	69.253.100-0
Dirección	Carlos Soza N°161, Puerto Ingeniero Ibañez.
Teléfonos	67-2423216
Contacto	Claudia Hormazábal R., Encargada de Cultura de la Ilustre Municipalidad de Río Ibañez.
E-mail	claudia.horm@gmail.com

Nombre asociado 2	INFOR
Giro	Otras actividades de servicios conexas a la silvicultura, N.C.P. investigaciones y desarrollo experimental en el campo de las ciencias.
Rut	61.311.000-3
Dirección	Camino Coyhaique Alto Km 4, Casilla N° 375.
Teléfonos	998831860
Contacto	Iván Moya
E-mail	imoya@infor.cl

Nombre asociado 3	CIEP
Giro	Centro de Investigaciones
Rut	81.380.500-6
Dirección	Camino a puerto Aysén Km 4,5
Teléfonos	67-244500
Contacto	Giovanni Danneri
E-mail	gdaneri@ciep.cl



FORMULARIO DE
PRESENTACIÓN INICIATIVAS CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD 2017

Nombre asociado 4	SEREMI DE MEDIOAMBIENTE
Giro	
Rut	61.979.930-5
Dirección	Portales N°125, Coyhaique
Teléfonos	672451463
Contacto	Claudio Fuentes
E-mail	cfuentes.11@mma.gob.cl

Nombre asociado 5	SEREMI DE MINERIA
Giro	
Rut	61701000-3
Dirección	Baquedano #336
Teléfonos	672233361
Contacto	Natalia Pino
E-mail	

Nombre asociado 6	UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CHILE
Giro	Educación
Rut	60.911.000-7
Dirección	
Teléfonos	
Contacto	Claudia Ortiz
E-mail	claudia.ortiz@usach.cl



FORMULARIO DE
PRESENTACIÓN INICIATIVAS CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD 2017

Nombre asociado 7	UNIVERSIDAD SAN SEBASTIAN
Giro	Educación
Rut	71.631.900-8
Dirección	
Teléfonos	
Contacto	Iván Ñancuqueo
E-mail	ivan.nancuqueo@uss.cl

3. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN DE LA INICIATIVA

3.1 Pertinencia y aporte de la iniciativa

Describa el problema a abordar en relación las líneas priorizadas en el punto 3 de las Bases de concurso y su pertinencia con lo descrito en la Estrategia Regional de Innovación.

La Región de Aysén posee un enorme potencial turístico y además, de producción agrícola. Esto último relevado por el hecho de que el **cambio climático** que estamos viviendo augura que nuestra región tendrá características muy semejantes a la zona central, generando un enorme “oportunidad”, para la producción agrícola. En este contexto, la relevancia que toma el cuidado del medio ambiente y mantener prístinos nuestros suelos y aguas en indudable, y esto se puede lograr con la ayuda de la ciencia y la investigación. Todo lo anterior hace eco en la estrategia regional de innovación **eje N°4**, el cual se releva *“la importancia de posicionar a la Región de Aysén como un polo de conocimiento reconocido, promoviendo la investigación y la innovación para el usos sustentables de los Recursos a Naturales”*.

Sin embargo, existen sitios en nuestra región que siguen contaminados ya que los focos de contaminación fueron generados en un momento histórico en el cual no existían políticas acordes con la mantención y preocupación del ambiente y las consecuencias que este tiene sobre la salud de la población. Además, sabemos que nuestra normativa ambiental es blanda con respecto a los residuos contaminantes especialmente los de origen antrópico. En ese sentido, gracias al apoyo del Gobierno Regional de Aysén, la Universidad Austral de Chile desarrolló un proyecto FIC denominado *“Buscando organismos Remediadores de Pasivos ambientales”*, donde se propuso iniciar una búsqueda de potenciales organismos que sean capaces de capturar contaminantes desde el medio ambiente, propuesta que fue exitosa ya que se logró encontrar y aislar bacterias y plantas nativas que son capaces vivir y atrapar contaminantes desde una zona altamente contaminada con metales pesados. Producto de la investigación anterior, ya contamos con organismos que deben ser enfrentados a estos contaminantes bajo



**FORMULARIO DE
PRESENTACIÓN INICIATIVAS CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD 2017**

condiciones reales para corroborar su efecto, dosis y sinergia sobre el sitio contaminados como el relave de donde fueron extraídas y de esta forma consolidar los resultados de la investigación para implementar modelos reales de control. Bajo esta óptica, el proyecto refleja perfecto **el eje N°4 del ERI**, donde se cumple la acción 4.1: *“Promover la investigación alrededor de los recursos naturales en la Región de Aysén”*; y con especial énfasis la acción 4.2, que especifica: *“Transferir y usar el conocimiento para un uso sustentable de los recursos naturales, promover la producción limpia y reducir los efectos negativos de las actividades económicas y productivas”*. De esta forma, se hace fundamental seguir promoviendo la conciencia que nuestro entorno ecológico nos pertenece a todos y que todos somos responsables.



3.2 Objetivo general

Corresponde indicar cuál es el resultado directo a ser logrado como consecuencia de la utilización de los objetivos entregados por el programa. Es decir, la contribución específica a la solución del problema diagnosticado. Se debe tener en cuenta que cada programa tiene un solo propósito u objetivo general.

La Etapa I de investigación, realizada gracias al aporte económico del Gobierno Regional de Aysén y desarrollado por el equipo de investigación del Programa de Biorremediación del Campus Patagonia de la Universidad Austral de Chile, se propuso y logró identificar organismos con potencial biorremediador. Estos organismos, plantas y bacterias, serán utilizados en la Etapa II de investigación, una etapa de escalamiento, donde la componente de innovación es ahora llevada al público objetivo, con la finalidad de generar una solución al problema de los contaminantes antrópicos como los metales pesados. Es por eso, que en este proyecto proponemos: **Generar un protocolo agronómico de manejo y reproducción de plantas fitorremediadoras el cual será difundido a la comunidad, permitiendo dar a conocer esta tecnología de bajo costo y amistosa con el medioambiente.**



3.3 objetivos específicos

Corresponde identificar y describir cuáles son los productos (bienes y/o servicios) específicos que produce o entrega el programa para cumplir su propósito. Cada objetivo debe ser justificado en relación a su contribución al logro del propósito.

OBJETIVO N°1

Multiplicar plantas de *Phacelia secunda* y 2 *Poaceas sp.* bajo condiciones de invernadero. Las plantas identificadas en el proyecto anterior como potenciales biorremediadoras, serán multiplicadas hasta obtener un número determinado de plantas adultas. Esto nos permitirá conocer las características agronómicas de estas plantas, generar protocolos de reproducción y crecimiento, además de proponer mediadas de uso, masificación y posterior utilización en otros sitios contaminados. Lo anterior nos permitirá utilizarla en otros sitios contaminados con metales pesados. Esto se realizará en cooperación con el INFOR.

OBJETIVO N°2

Establecer unidades de cultivo piloto de las plantas de *Phacelia secunda* y *Poaceas*. Una vez que las plantas de interés hayan sido multiplicadas y crecidas hasta alcanzar un tamaño adecuado en condiciones de invernadero, serán trasplantadas a sitios de cultivo piloto donde la presencia de material de relave nos permitirá estudiar la respuesta bioquímica y fisiológica de las plantas, e identificar la mejor tecnología para el desarrollo de estas bajo condiciones de estrés. En paralelo, y para recolectar mayor información, evaluaremos el efecto de las bacterias identificadas como tolerantes a metales pesados sobre el crecimiento de las plantas de *Phacelia secunda*.

Todo lo anterior, nos permitirá obtener el mejor modelo de cultivo para luego transferir esta tecnología a los principales beneficiarios, facilitando la implementación de programas regionales de biorremediación.

OBJETIVO N°3

Potenciar el conocimiento regional de la flora nativa y su importancia como agentes descontaminantes. Proponemos en paralelo, continuar con la búsqueda de potenciales organismos remediadores presentes en la Región de Aysén, analizando organismos de diferentes zonas reconocidas por su actividad minera (Puerto Sánchez, inmediaciones de la minera el Toqui y de la minera Cerro Bayo, etc.), y en zonas descritas como afloramientos basales elevados en metales pesados. Con este objetivo se pretende continuar reforzando la línea de remediadores, promoviendo el estudio biológico y químico de ellas. También, exploraremos la posibilidad de proteger las especies descritas como fitorremediadoras ⁽¹⁾ lo que contribuiría a la protección de los recursos regionales.

(1) Según categorización INAPI (Instituto Nacional de Propiedad Intelectual)



3.4 Mérito innovador (máximo 1 página)

Breve descripción de la iniciativa, su mérito innovador y nivel de diferenciación respecto de soluciones disponibles o iniciativas ya desarrolladas.

Descripción:

En un proyecto precedente, *el Campus Patagonia de la Universidad Austral de Chile* fue capaz de identificar potenciales organismos biorremediadores de pasivos ambientales, específicamente plantas y bacterias, identificadas en una zona altamente contaminada con metales pesados (etapa N°1). En esta oportunidad, queremos continuar con la innovación en la misma línea de investigación y desarrollar un protocolo agronómico de cultivo de plantas fitorremediadoras, el cual nos permita cultivar, multiplicar y transferir esta tecnología hacia agrupaciones que viven cerca de sitios contaminados por metales pesados, entidades que estén relacionadas con la protección del medioambiente, y/o instituciones preocupadas de generar valor agregado a los vegetales (etapa N°2). De esta forma, la Región de Aysén se posicionará como una de las pocas regiones de Chile que trabaja en temas ambientales con una tecnología amistosa con el medio ambiente, como lo es la biorremediación.

Merito innovador:

Este proyecto propone una forma innovadora de hacer frente a los contaminantes ambientales provenientes de sitios contaminados con metales pesados. De esta forma, haremos uso del conocimiento científico para manejar en forma sustentable los recursos naturales, transferir esta tecnología y reducir los efectos negativos de las actividades económicas y productivas, además de contribuir al desarrollo económico de la región (ERI). Así, probamos una tecnología utilizada en otras partes del mundo, relevamos la importancia de nuestra flora nativa explorando formas de protección intelectual y utilizamos una tecnología amistosa con el medio ambiente.

Nivel de diferenciación de otras iniciativas: Esta iniciativa se diferencia de las demás propuestas de descontaminación porque utiliza organismos de zonas aledañas al sitio contaminado, por lo tanto, supone una especie adaptada a las condiciones climáticas de la zona en cuestión. Es una tecnología comparativamente más barata y amistosa con el medioambiente comparada con otras que utilizan productos químicos para neutralizar los contaminantes ambientales, los que se mantienen como contaminantes secundarios en el sistema, o maquinaria para retirar los contaminantes de las zonas afectadas. Además, se logra potenciar plantas endógenas de la zona en cuestión, dando relevancia a la biodiversidad.



3.5 Diagnóstico de la situación actual

Describa qué acciones se han realizado en el ámbito regional, nacional e internacional en relación al problema a abordar y los resultados que se han obtenido. Incluya aspectos técnicos, comerciales, sociales, ambientales incorporar

La Patagonia Chilena es un reservorio de biodiversidad destacado a nivel mundial. La Región de Aysén, como parte de la Patagonia Chilena, conserva una gran cantidad de especies vegetales las cuales poseen un potencial aún no determinado. Conocer, caracterizar y destacar las propiedades de las plantas nativas es de suma importancia para relevar el valor de la flora nativa y para la toma de decisiones relacionada con la sustentabilidad de los recursos naturales de nuestro país. Un ejemplo del valor que toman las plantas cuando se conocen sus propiedades sucede cuando son utilizadas para extraer contaminantes desde el medio ambiente, como ocurre en una tecnología denominada fitorremediación.

Fitorremediación.

La fitorremediación, comprende un conjunto de metodologías que utilizan a las plantas para remediar suelos o aguas contaminadas, removiendo, estabilizando o detoxificando de contaminantes. Se define como una tecnología verde, de bajo costo, amistosa con el medioambiente y visualmente agradable. La fitorremediación agrupa 4 principales mecanismos por los cuales se realiza el proceso de remediación del medioambiente, estos son: **Rizofiltración o Fitofiltración**, principalmente efectuado por plantas acuáticas, donde su estructura es capaz de atrapar contaminantes disueltos en disolución acuosa; **Fitopurificación**, la planta atrapan los contaminantes volátiles en su biomasa aérea; **Fitoestabilización**, aquí la planta retiene los contaminantes en el suelo a nivel de la rizosfera; y **Fitoextracción o Fitoacumulación**, mecanismos por el cual las plantas extrae desde el suelo los contaminantes y los almacena principalmente en su biomasa aérea (Prasad and Freitas, 2003; Salt, D. E 1995, Henry, 2000).

Se ha reportado que la fitorremediación no solo reduce el riesgo de contaminación del suelo por metales pesados, sino que también incrementa la actividad y diversidad de los microorganismos del suelo mejorando la calidad del mismo (Ortiz, C 2008). La fitorremediación utiliza plantas que tienen la capacidad de vivir en condiciones extremas como ocurre con plantas tolerantes a altas concentraciones de metales pesados. En general, las plantas requieren para su crecimiento concentraciones pequeñas de metales como cinc, hierro, manganeso, molibdeno, pero cuando estos niveles se elevan, pueden llegar a ser tóxicos para ellas. Sin embargo, existe un grupo de plantas que pueden vivir y desarrollarse en sitios con elevadas concentraciones de minerales, ya sea de origen natural o antropogénico, a las cuales se les denomina **metalofitas**. Estas plantas han desarrollado mecanismos que les permite tolerar niveles de metales que para otras plantas podrían ser tóxicos. Algunas plantas metalófitas pueden acumular muy altas concentraciones de metales en su tejido aéreo, incluso mucho más altos que los niveles que se pueden encontrar en plantas metalófitas regulares. Estas especies son conocidas como **hiperacumuladoras**. Las



**FORMULARIO DE
PRESENTACIÓN INICIATIVAS CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD 2017**

especies hiperacumuladoras de metales pesados son capaces de acumular 100 veces más altas concentraciones de metal en su biomasa aérea que las plantas no hiperacumuladoras, lo que las hace útiles en procesos de fitoextracción de metales en suelos contaminados por actividades mineras (Barceló and Poschenrieder, 2003). Para Cd las concentraciones esperadas en materia seca es de 100 mg/Kg. Para Cu, Co, Cr y Pb la concentración es de 1000 mg/Kg de materia seca; para Zn y Mn es de 10.000 mg/Kg de materia seca. Se han reportado a *Festuca arundinacea* como una planta hiperacumuladora de Pb ya que ella acumula alrededor de 2000 mg /kg de material seca (Begonia et al. 2005; Raskin 1997). En Chile, a pesar de la alta diversidad de especies y el gran número de minas existentes, no han sido identificadas especies hiperacumuladoras de metales pesados, pero si se han identificado plantas metalófitas para Cu (*Mimulus luteus var. variegatus*, *Cenchrus echinatus*, *Erygeron berterianum*, *Mullinum spinosum*, *Nolana divaricata*, *Dactylium sp.* y *Oenothera affinis*) (Ginocchio & Baker 2004, González et al 2008).

Es importante determinar este tipo de propiedades en plantas nativas ya que si estas han sido identificadas en sitios contaminados por metales pesados, podrían usarse con mayor propiedad para un programa de mitigación de problemas ambientales relacionados con el sector minero (e.g., fitoextracción, fitoestabilización y fitominería) (Becerril, J. 2007)

La forma por la cual una planta actúa sobre un contaminante depende del grado de contaminación del sitio y de las características fisicoquímicas del contaminante. Depende también de las propiedades fenotípicas y genotípicas de cada especie de planta, como también el grado de tolerancia a los contaminantes y su habilidad para absorber, acumular y/o degradar un contaminante (Meagher 2000; Vangronsveld et al. 2009). Uno de los mecanismos que más se ha estudiado es el de rizofiltración y fitoextracción (Guevara, A y col. 2008; Martínez et al, 2006). Este último, es una de las opciones para el tratamiento de sitios contaminados con metales y metaloides, donde el uso de plantas hiperacumuladoras juega un gran papel.

Para identificar plantas hiperacumulador de metales pesados existe un parámetro indicativo tal como BCF (Bioconcentration Factor) el cual consiste en determinar la proporción entre las concentraciones de metales pesados existentes en las raíces y en el suelo. Otro parámetro indicador es el TF (Translocation Factor) el cual indica la eficiencia de translocación de los metales desde la raíz hacia las hojas. Cuando estos factores son mayores a 1, la planta es considerada con potencial para la fitoextracción (Baker et al., 1994).

Efecto tóxico de los metales pesados sobre plantas.

Cada planta es capaz de crecer y desarrollarse en forma óptima en un rango de concentración de iones presentes en el suelo. Sin embargo si los niveles de iones aumentan hasta el límite de la tolerancia de la especie, se produce un efecto tóxico sobre ella. Algunos de estos efectos tóxicos son **a)** Alteración fisiológica con influencia negativa en el crecimiento, largo de las raíces, y área foliar (Hall, 2002); **b)** Competición entre la absorción de los metales pesados y los nutrientes como Fe y Zn (Van Assche and Clijsters, 1990); **c)** Desordenes metabólicos tales



como inhibición de la fotosíntesis y respiración celular (Souza et al, 2011), **d**) Estrés oxidativo, el cual se evidencia por la acumulación de especies oxígeno reactivas (ROS) como radicales superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidroxilo (OH^-) y oxígeno singlete (1O_2) (Hall, 2002; Sharma and Dietz, 2009). La respuesta primaria de las plantas frente a un estrés por exposición a altos niveles de metales pesados es la generación de ROS, estos atacan rápidamente a los ácidos nucleicos, proteínas, lípidos, aminoácidos, resultando en un daño metabólico irreparable y posterior muerte celular (Luna et al 1994, Yaduv, 2010). En particular, se ha descrito que Pb genera efecto fitotóxico como necrosis, clorosis, reducción del tamaño de las raíces, disminución de la producción de fitohormonas, daño en el transporte de electrones durante la fotosíntesis, disminución del potencial hídrico, alteraciones en el potencial de menor absorbancia de minerales esenciales y reducción de la actividad enzimática (Sharma and Dubey, 2005). El Pb junto con algunos otros metales pesados como As, Hg y Cd incrementan las ROS disminuyendo las reservas de antioxidantes disponibles para la planta (Jomova and Valko, 2011).

Mecanismos de defensa de las plantas contra metales tóxicos.

Las plantas que tienen la habilidad de crecer en sitios con altas concentraciones de metales pesados son capaces de resistir el efecto tóxico de ellos (Ginocchio & Baker 2004). Esta respuesta es posible debido a la activación de mecanismos de defensa, entre los cuales se encuentran: *a*) unión de metales tóxicos a la pared celular o quelación por exudados de las raíces; *b*) reducción del transporte a través de la membrana celular *c*) expulsión hacia el apoplasto por transportadores de membrana; *d*) quelación en el citoplasma mediante ligandos como glutatión, fitoquelatinas, metalotioneínas, ácidos orgánicos y aminoácidos; *e*) transporte de complejo ligando-metal a través del tonoplasto e incorporación dentro de vacuolas; *f*) atrapamiento de metales dentro de vacuolas mediante transportadores o por bombas dependientes de ATP; *g*) mecanismos de defensa antioxidantes, supresión o eliminación de ROS antes que la maquinaria celular pueda ser dañada en presencia de contaminantes (Manara, 2012). Las células vegetales poseen un complejo y eficiente mecanismo de defensa antioxidante para controlar los niveles de ROS y estos se dividen en dos grandes grupos: **(1) Mecanismo de defensa antioxidante no enzimáticos**, como ascorbato (AA), ácido deshidroascórbico (DHA), glutatión (GSH) y sus formas oxidadas (principalmente buffers redox), y moléculas lipofílicas tales como tocoferol y carotenoides. **(2) Mecanismo de defensa antioxidante enzimático**, como la catalasa (CAT), peroxidasas (POD) y superóxido dismutasa (SOD); y desde el ciclo del Ascorbato–glutatión (conocido también como ciclo de Halliwell-Asada) estas incluyen a ascorbato peroxidasa (APX), monodeshidroascorbato reductasa (MDHAR), deshidroascorbato reductasa (DHAR) y glutatión reductasa dependiente de NADPH (GR) (Verma and Dubey, 2003). Glutatión actúa como una ponderosa molécula detoxificadora de metales y xenobióticos debido a la presencia del grupo sulfidril en su estructura, este participa directamente en la remoción del H_2O_2 cuando es usado como sustrato en varias enzimas reductoras como peroxidasas (Foyer and Noctor, 2005). El ascorbato está involucrado en la remoción de 1O_2 , $^{\cdot}O_2^-$, $^{\cdot}OH$ y radical peroxyl (ROO $^{\cdot}$). Los carotenoides protegen a la célula contra el daño oxidativo y debido a su



capacidad fotoprotectiva, previene el daño causado por la luz y por $1O_2$ (Machado and Fernandez, 2008a). Mientras tanto el tocoferol ayuda a eliminar la mayoría de los radicales libres, protegiendo en contra del daño oxidativo de la membrana lipídica (Balmori 2008).

Participación de las bacterias biorremediadoras en el desempeño de las plantas fitorremediadoras.

Las bacterias biorremediadoras son microorganismos capaces de tolerar altas concentraciones de contaminantes como metales pesados. Algunos microorganismos tienen la habilidad de desarrollarse en ambientes extremadamente contaminados y pueden ser capaces de alterar el estado químico, la forma o distribución de los contaminantes en el suelo (Erlich y Brierley, 1990; Skladany y Metting, 1993). Los microorganismos muestran una enorme potencia para el mejoramiento de la calidad del suelo, degradación e inmovilización de contaminantes, su efecto en el crecimiento y en la protección de las plantas frente a diferentes factores (González-Chávez, 2005). Esta última cualidad permite que las plantas en simbiosis con las bacterias logren mejorar los aspectos bioquímicos, fisiológicos y morfológicos y un mejor desempeño cuando estas plantas son además fitorremediadoras (Zimmer, D. y col 2009).

En el proyecto FIC -2014, Etapa I desarrollada por el **Programa de Biorremediación** del Campus Patagonia de la Universidad Austral de Chile, propusimos identificar organismos con potencial biorremediador y mediante exploración e investigación científica se logró identificar desde el relave de Puerto Cristal, tres plantas y tres cepas de bacterias, las cuales demostraron tolerar altas concentraciones de metales pesados. En el caso de las plantas, se identificó dos plantas a nivel de género (*Poa* sp.) y una a nivel de especie (*Phacelia secunda*). En el caso de las bacterias, los géneros identificados son (dos *Pseudomonas* sp. y un *Bacillus* sp.). En una segunda etapa (Etapa II) el programa de biorremediación propone lograr un escalamiento de los objetivos y de esta forma generar un producto tangible que pueda difundirse a la comunidad de nuestra Región y al país, logrando con ello aportar al cuidado y protección del medioambiente neutralizando las fuentes de contaminantes antrópicos que ya existen. Es por ello que en este trabajo proponemos como objetivo general **generar un protocolo agronómico de generación de plantas fitorremediadoras el cual será difundido a la comunidad, permitiendo dar a conocer esta tecnología de bajo costo y amistosa con el medioambiente.**

Bibliografía.

1. Assche, F. V., & Clijsters, H. (1990). Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant, Cell & Environment*, 13(3), 195-206.
2. Barceló J. & Poschenrieder, C. (2003). Phytoremediation: principles and perspectives. *Contributions to science*, 333-344.
3. Becerril, J. M., Barrutia, O., Plazaola, J. G., Hernández, A., Olano, J. M., & Garbisu, C. (2007). Especies nativas de suelos contaminados por metales: aspectos ecofisiológicos y su uso en fitorremediación. *Revista Ecosistemas*, 16(2).



**FORMULARIO DE
PRESENTACIÓN INICIATIVAS CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD 2017**

4. Begonia, M. T., Begonia, G. B., Ighoavodha, M., & Gilliard, D. (2005). Lead accumulation by tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) grown on a lead-contaminated soil. *International journal of environmental research and public health*, 2(2), 228-233.
5. Cárcamo, V., Bustamante, E., Trangolao, E., de la Fuente, L. M., Mench, M., Neaman, A., & Ginocchio, R. (2012). Simultaneous immobilization of metals and arsenic in acidic polluted soils near a copper smelter in central Chile. *Environmental Science and Pollution Research*, 19(4), 1131-1143.
6. Ehrlich, H. L., & Brierley, C. L. (1990). *Microbial mineral recovery*. McGraw-Hill, Inc.
7. Foyer, C.H. & Noctor, G., (2005) Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell* 17, 1866–1875.
8. Ginocchio, R. & Baker, A. J. (2004). Metallophytes in Latin America: a remarkable biological and genetic resource scarcely known and studied in the region. *Revista Chilena de Historia Natural*, 77(1), 185-194.
9. González-Chávez, M. D. C. Á. (2005). Recuperación de suelos contaminados con metales pesados utilizando plantas y microorganismos rizosféricos. *Terra Latinoamericana*, 23(1), 29-37.
10. Guevara, A., De la Torre, E., Villegas, A., & Criollo, E. (2008). Uso de la rizofiltración para el tratamiento de efluentes líquidos de cianuración que contienen cromo, cobre y cadmio. In *Iberomet, X congreso Iberoamericano de Metalurgia y Materiales*. Cartagena de Indias, Colombia (pp. 740-741).
11. Hall, J. L. (2002). Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of experimental botany*, 53(366), 1-11.
12. Henry, J. R. (2000). An overview of the phytoremediation of lead and mercury (pp. p3-9). Washington, DC: US Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, Technology Innovation Office.
13. Jomova, K. & Valko, M. (2011) Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology* 283, 65-87.
14. Luna, C.M., Gonzalez, V.S., Trippi, V.S., (1994) Oxidative damage caused by excess copper in oat leaves. *Plant Cell Physiol.* 35, 11–15.
15. Manara A (2012) Plant responses to heavy metal toxicity. In *Plants and heavy metals* 27-53. Springer Netherlands.
16. Martínez, M., Bernal, P., Almela, C., Vélez, D., García-Agustín, P., Serrano, R., NavarroAvi, J., 2006. An engineered plant that accumulates higher levels of heavy metals than *Thlaspi caerulescens*, with yields of 100 times more biomass in mine soils. *Chemosphere* 64, 478–485.
17. McGrath SP, Zhao FJ (2003) Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. *Curr Opin Biotechnol* 14:277–282
18. Meagher, R. B. (2000). Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants. *Current opinion in plant biology*, 3(2), 153-162.
19. Ortiz-Calderon, C., Alcaide, O., & Kao, J. L. (2008). Copper distribution in leaves and roots of plants growing on a copper mine-tailing storage facility in northern Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 81(4), 489-499.
20. Poschenrieder, C., & Coll, J. B. (2003). Phytoremediation: principles and perspectives. *Contributions to science*, 333-344.
21. Prasad M.N., Freitas H.M. (2003) Metal hyperaccumulation in plants-biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic journal of biotechnology*, 6(3), 285-321.
22. Raskin, I., Smith, R. D., & Salt, D. E. (1997). Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. *Current opinion in biotechnology*, 8(2), 221-226.
23. Salt, D. E., Blaylock, M., Kumar, N. P., Dushenkov, V., Ensley, B. D., Chet, I., & Raskin, I. (1995).



**FORMULARIO DE
PRESENTACIÓN INICIATIVAS CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD 2017**

- Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Nature biotechnology*, 13(5), 468-474.
24. Sharma P & Dubey RS (2005) Lead toxicity in plants. *Braz J Plant Physiol* 17:35–52.
 25. Sharma, S. S., & Dietz, K. J. (2009). The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance. *Trends in plant science*, 14(1), 43-50.
 26. Skladany, G. J., & Metting, F. B. (1993). Bioremediation of contaminated soil. *Soil Microbial Ecology. Applications in Agricultural and Environmental Management*. Marcel Dekker, Inc. New York, 646, 483-513.
 27. Vangronsveld, J., Herzig, R., Weyens, N., Boulet, J., Adriaensen, K., Ruttens, A., & van der Lelie, D. (2009). Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field. *Environmental Science and Pollution Research*, 16(7), 765-794.
 28. Vara Prasad, M. N., & de Oliveira Freitas, H. M. (2003). Metal hyperaccumulation in plants: biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic journal of biotechnology*, 6(3), 285-321.
 29. Verma, R.S., Dubey, (2003) Pb toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Sci.* 164, 645–655.
 30. Yadav, S.K., (2010) Heavy metals toxicity in plants: an overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. *S. Afr. J. Bot.* 76, 167–179.
 31. Zimmer, D., Baum, C., Leinweber, P., Hrynkiewicz, K., & Meissner, R. (2009). Associated bacteria increase the phytoextraction of cadmium and zinc from a metal-contaminated soil by mycorrhizal willows. *International Journal of Phytoremediation*, 11(2), 200-213.



3.6 Resultados esperados

Enumere los principales resultados que se esperan obtener de la ejecución de la iniciativa.

1. Protocolo (manual) agronómico para el cultivo y masificación de plantas fitorremediadoras.
2. Tecnología de la fitorremediación difundida y transferida a los beneficiarios.
3. Nuevas especies biorremediadoras identificadas.

3.7 Impactos esperado (económicos, sociales y/o ambientales)

Describa la dimensión, la magnitud y el tipo de impactos económicos, sociales y/o ambientales que la iniciativa espera causar entre los beneficiarios y la población objetivo.

Los principales impactos ambientales esperados a partir del desarrollo de este proyecto, serán los que se abordan en el eje N° 4 de la Estrategia Regional de Innovación, generando conocimiento relevante de los recursos naturales y biodiversidad de nuestra Región, lo que además incidirá en forma indirecta en las oportunidades agrícolas que se pueden desprender del cambio climático. En específico, el proyecto propone generar un protocolo de manejos agronómico de plantas capaces de remediar zonas contaminadas por metales pesados y disponerlos para su transferencia operativa como parte de tanto iniciativas de políticas públicas como de particulares. Estos protocolos entregados a la comunidad, podrán ser usados en otros sitios contaminados de nuestra región o incluso en otras regiones del país, posicionando a la Región de Aysén como líder en procesos biorremediadores, en beneficio del desarrollo territorial. Estas metodologías para la propagación y uso de plantas fitorremediadoras serán entregados a escuelas técnicas, difundidos a los escolares, profesores como parte de la estrategia de difusión para la adopción contenida en la presente propuesta.

Los impactos sociales, se verán reflejados en las siguientes área: educación ambiental, fomentando en la población regional la importancia del estudio y protección de nuestra biodiversidad; calidad de vida, entregando a la población regional herramientas ecológicas de bajo costo y probadas como un aporte a la descontaminación, lo que irá en directo beneficio tanto de la calidad de las aguas y la salud de los ecosistemas, como de sus habitantes.

El impacto ambiental y social incidirá directamente sobre el componente económico, principalmente el que se refiere al turismo y la producción agropecuaria, reforzando la idea de una región responsable con su entorno ambiental con conciencia ecológica, puesto que desde el punto de vista de la actividad turística, mejorará la calidad de los productos entregados ya que, con el desarrollo de este proyecto se contribuirá a la solución de un problema ambiental desde la mirada de la actividad turística, mejorando la calidad de los productos entregados, puesto que con el desarrollo del presente proyecto se busca contribuir a la solución de un problema medioambiental y a la habilitación de subterritorios, como parte de los modelos de diversificación productiva regional.



**FORMULARIO DE
PRESENTACIÓN INICIATIVAS CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD 2017**

Además, se espera que, tanto en la situación actual, como en las futuras oportunidades que genere el proceso de cambio climático global para la región, potencie a esta como una región sustentable y prístina, instalándose como un territorio productor de bienes y servicios con carácter marcadamente sustentables y, en el caso de la producción agroalimentaria en particular, productos de características y atributos saludables y beneficiosos para la salud, elaborados en un territorio que ha sido resguardado y recuperado ambientalmente cuando ha correspondido.

Si este proyecto logra cambiar, por parte de las autoridades, comunidad y las empresas que generan residuos contaminantes, como las mineras, asumir un rol activo tanto en la difusión de los beneficios como en la de mecanismos y protocolos de biorremediación específicamente desarrollados a partir de activos naturales y científicos regionales, de este modo, la Región de Aysén no necesitará mucho más para posicionarse a nivel mundial como una de las regiones con mejor calidad de vida.



**FORMULARIO DE
PRESENTACIÓN INICIATIVAS CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD 2017**

3.8 INDICADORES			
Objetivos	Indicador⁵	Meta⁶	Medios de Verificación⁷
Objetivo general	N° de plantas que se desarrollan sobre parcelas con relave / N° total de plantas sembradas sobre parcela con relave.	60%	Planillas y fotografías
Objetivo específico N°1	N° de Plantas que se desarrollaron en invernadero / N° total de plantas recolectadas en terreno.	70%	Planillas y fotografías
Objetivo específico N°2	N° de plantas desarrolladas en excelente estado en las parcelas con relave / N° total de plantas que se trasplantaron desde el invernadero.	60%	Planillas y fotografías
	Generar un protocolo para la reproducción de plantas fitorremediadoras.	1	Manual impreso
Objetivo específico N°3	N° de sitios en los cuales se identificó algún potencial remediador/ N° total de sitios analizados.	30%	Planillas y fotografías

⁵ Corresponde a una especificación cuantitativa de la relación de dos o más variables (fórmula) que permite verificar el logro alcanzado por el programa en el cumplimiento de sus objetivos. Cuando corresponda los indicadores deben incorporar el enfoque de género y territorial.

⁶ Corresponde al valor deseado del indicador al término del programa. Cada indicador debe contar con una meta.

⁷ Corresponden a las fuentes de información primaria o secundaria que se utilizarán para obtener los valores de los indicadores que verifiquen el grado de cumplimiento de los objetivos. Fuentes primarias son producidas por el programa mientras que las secundarias son independientes a él.



**FORMULARIO DE
PRESENTACIÓN INICIATIVAS CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD 2017**

3.10 Detalle de Actividades. Corresponde indicar cuáles son las principales actividades que se deben desarrollar para generar los productos (objetivos) del programa. Las actividades deben presentarse agrupadas por objetivo. De ser necesario, considerar el enfoque de género y territorial.

OBJETIVO	Actividad	Descripción
OBJETIVO N°1	A1.1 Recolección de muestras vegetales	Se realizarán terrenos con la finalidad de recolectar plantas y semillas
	A1.2 Mantenimiento y crecimiento de las plantas.	Las plantas se mantendrán bajo condiciones de invernadero hasta su establecimiento y aumento de biomasa.
	A1.3 Lanzamiento del proyecto.	Se realizará el lanzamiento oficial del proyecto.
OBJETIVO N°2	A2.1 Traslado de las plantas a las parcelas de prueba.	Las plantas desarrolladas en invernadero, serán trasladadas y mantenidas en las parcelas.
	A2.2 Análisis químico, bioquímico, fisiológico y biológico	Se realizarán constantes análisis para monitorear las condiciones fisiológicas, bioquímicas de las plantas. Se analizará los metales absorbidos por las plantas. Los análisis también se realizarán a los sustratos de cada parcela.
	A2.3 Confección del protocolo para el cultivo de plantas fitorremediadoras	Durante el transcurso de la observación de las respuestas química, bioquímica, fisiológica y biológica de las plantas, se tomarán periódicamente las muestras para cada uno de los análisis detallados en metodología.
	A2.4 Presentación de resultados parciales.	Al terminar los experimentos de terreno se confeccionará un protocolo para la difusión y transferencia de la tecnología de biorremediación para los asociados y a los principales beneficiarios.
	A2.5 Taller de difusión.	Presentación de los resultados parciales a los asociados y GORE.
OBJETIVO N°3	A3.1 Terreno	Se realizará una búsqueda de potenciales organismos remediadores desde sitios clasificados como sitios con altos niveles de metales pesados.
	A3.2 Análisis químico, bioquímico y biológico.	El material de relave y el suelo control se enviará a analizar al laboratorio especializado para determinar sus características físico-químicas
	A3.3 Presentación de	Se realizará una presentación al GORE de los resultados



FORMULARIO DE
PRESENTACIÓN INICIATIVAS CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD 2017

	resultados parciales	parciales del proyecto
	A3.4 Cierre del proyecto	Se realizará el cierre del proyecto
	A3.5 Taller de difusión.	Presentación de los resultados parciales a los asociados y GORE.

3.11 Metodología

Debe señalar la modalidad de producción de cada objetivo (mecanismos de ejecución o formas de proveer los productos y/o servicios, especificando en quién recae la responsabilidad de la ejecución de los productos o parte de ellos (entidades públicas o privadas).

OBJETIVO N°1 (**Encargado:** Técnico agropecuario y Coordinador alterno del proyecto)

Multiplicación de plantas de *Phacelia secunda* y 2 *Poaceas sp.* bajo condiciones de invernadero. Se multiplicarán plantas de *Phacelia secunda* y ambas *Poaceas* en el invernadero del INFOR. En el caso de *Phacelia secunda*, planta identificada a nivel de especie, el material para la multiplicación de esta planta se obtendrá a partir de una recolección en terreno. Alternativamente, en la época de producción de semillas se recolectarán semillas desde *Phacelia secunda* desde Puerto Cristal. Las plantas que no han sido identificadas a nivel de especie, serán multiplicadas mediante sistema vegetativo. Se trabajará en invernadero hasta obtener al menos 300 plantas jóvenes de cada especie. Al finalizar este objetivo tendremos el protocolo de reproducción en condiciones de invernadero de las plantas remediadoras información transferible a público objetivo, como estudiantes de la carrera en técnico agropecuaria de la universidad.

OBJETIVO N°2. (**Encargado:** Coordinador alterno del proyecto)

Establecer unidades de cultivo piloto de las plantas de *Phacelia secunda* y *Poaceas*. Una vez que las plantas de interés hayan sido multiplicadas y crecidas hasta alcanzar un tamaño adecuado en condiciones de invernadero, serán trasplantadas a sitios de cultivo piloto donde la presencia de material de relave nos permitirá estudiar la respuesta bioquímica y fisiológica de las plantas, e identificar la mejor tecnología para el desarrollo de estas bajo condiciones de estrés. En paralelo, y para recolectar mayor información, evaluaremos el efecto de las bacterias identificadas como tolerantes a metales pesados sobre el crecimiento de las plantas de *Phacelia secunda*.

Todo lo anterior, nos permitirá obtener el mejor modelo de cultivo para luego transferir esta tecnología a los principales beneficiarios, facilitando la implementación de programas regionales de biorremediación.

Unidades de cultivo:

Se construirán 12 unidades de cultivo (parcelas). Cada parcela tendrá un área de 1 m² y una profundidad 30 cm. La estructura que contendrá la parcela será de madera, forrado internamente



**FORMULARIO DE
PRESENTACIÓN INICIATIVAS CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD 2017**

con plástico el que tendrá pequeñas perforaciones para que el agua drene. Bajo ella habrá un receptáculo de plástico con canaletas y en pendiente, que permitirá recibir el líquido que genere el riego o eventuales lluvias. Mediante un sistema de tuberías, el agua que filtra desde las parcelas será recibida en un contenedor para reciclar y así evitar la contaminación de la zona aledaña a las parcelas. Cada parcela además será protegida por un sistema de mallas para evitar que los animales o personas puedan destruir las instalaciones.

Suelo de relave: El material de relave utilizado en estos experimentos serán traídos desde el relave de Puerto Cristal. Alternativamente, analizaremos las características químicas del relave de Puerto Sánchez para verificar si sus componentes químicos son semejantes al de Puerto Cristal y así disminuir los costos del traslado del material para construir las parcelas. Para ello, viajaremos a puerto Cristal y colocaremos el material de relave en contenedores de plástico hermético, para luego trasladarlos hasta el Campus Patagonia donde se construirán las parcelas. La parcelas control, serán construidas de la misma forma solo que el sustrato será suelo natural. Las parcelas serán construidas en el Campus Patagonia.

Análisis químico, bioquímico, fisiológico y biológico.

Durante el tiempo que se desarrolle el experimento, el comportamiento de las plantas y la microbiota del subsuelo serán analizados para verificar la respuesta fisiológica y bioquímica de la planta, junto con el análisis del comportamiento microbiológico del suelo.

Análisis Bioquímico:

Los análisis bioquímicos serán realizados a los vegetales. Las muestras vegetales inmediatamente sean tomadas, serán colocadas en un termo con nitrógeno líquido para detener el deterioro de las moléculas que se analizarán con posterioridad y luego llevadas al laboratorio y mantenidas en el refrigerador -80 °C hasta los análisis bioquímicos. Los análisis bioquímicos que realizaremos a las plantas serán los que corresponden al efecto de la generación de especies oxígeno reactivas (ROS) sobre la actividad de enzimas antioxidantes, las cuales dan cuenta de la respuesta de las plantas frente a un estrés por metales pesados.

- Extracción de proteínas: A partir de material congelado se homogenizará con 0,2 g de PVP hidratado (polyvinylpyrrolidone insoluble) en buffer fostato 0,1M (pH 7,8) suplementado con EDTA 0,1mM, DTT 2mM, PEG-4000 1,25mM y centrifugado a 14.000 xg durante 15 min a 4°C, el sobrenadante será utilizado para la determinación de la actividad enzimática. La concentración de proteínas de los extractos será determinada por el método Bradford (reactivo Bio-Rad Protein Assay), siguiendo instrucciones del fabricante.
- Superoxido dismutasa (SOD): Actividad de SOD se ensayará en base a su capacidad de inhibir la reducción fotoquímica de nitroazul de tetrazolio (NBT), según lo describe Giannopolitis y Ries (1977). La mezcla de reacción contendrá 0,063 mM NBT, 13 mM de L-metionina, EDTA 0,1 mM, 1,3 µM riboflavina, carbonato de sodio 0,05 M pH 10.2 y 0,5 ml de extracto de enzima (0,5 ml de agua destilada en el caso de control). Los tubos que contienen mezcla de reacción se mantendrán bajo dos lámparas fluorescentes de 15 W durante 15 min, luego se transferirán a oscuridad durante 15 min y la absorbancia será leída a



**FORMULARIO DE
PRESENTACIÓN INICIATIVAS CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD 2017**

560 nm. Alternativamente, se realizará la determinación en geles de poliacrilamida no denaturantes según describe Beauchamp y Fridovich (1971). Se utilizarán geles separadores con gradiente de poliacrilamida (12 - 17%) y después de la electroforesis no desnaturante se detectará la actividad enzimática incubando los geles en el tampón de revelado (Fosfato de Potasio pH 7,8; EDTA 0,5 M; Riboflavina 0,1 mM; NBT 0,12 mM).

- Ascorbato peroxidasa (APX). La actividad de APX se determinará en términos de la disminución de la absorbancia a 290 nm debido a la oxidación de ácido ascórbico a deshidroascorbato (Nakano y Asada, 1981). La mezcla de reacción contendrá Buffer fosfato 25mM (pH 7.0), EDTA 0,1 mM, Ácido ascórbico 0,25mM, H₂O₂ 1mM y 0,2 ml de extracto de enzima. Se medirá la disminución de la absorbancia a 290 nm por 1 minuto después de la adición del extracto. La actividad de la enzima será calculada usando el coeficiente de extinción (ϵ) 2,8 mM⁻¹cm⁻¹ y expresada como unidades mg⁻¹. Una unidad de enzima es definida como la cantidad de enzima requerida para descomponer 1 μ M de ascorbato por minuto a 25°C.
- Catalasa (CAT) se ensayará midiendo la velocidad de desaparición de H₂O₂ a 240 nm (Cakmak y Marschner 1992). La mezcla de reacción contendrá buffer fosfato 25mM (pH 7.0), H₂O₂ 10mM y 0,2 ml de extracto de enzima. La actividad de la enzima será calculada usando el coeficiente de extinción (ϵ) 39,4 mM⁻¹cm⁻¹ y expresada como unidades mg⁻¹. Una unidad de enzima es definida como la cantidad de enzima requerida para descomponer H₂O₂ 1 μ M de por minuto
- Peroxidasa de guayacol (POX): La actividad de POX se medirá por el aumento en la absorbancia a 470 nm debido a la oxidación de guayacol (Egley et al. 1983). La mezcla de reacción contendrá Buffer fosfato 25 mM (pH 7.0), EDTA 0,1 mM, guayacol 0,05%, H₂O₂ 1mM y 0,2 ml de extracto de enzima. La actividad de la enzima será calculada usando el coeficiente de extinción (ϵ) 23,6 mM⁻¹cm⁻¹ y expresada como unidades mg⁻¹. Una unidad de enzima es definida como la cantidad de enzima requerida para producir 1 μ M de guayacol por minuto.
- Glutación reductasa (GR): La actividad GR se medirá a 340 nm siguiendo la oxidación de NADPH según Esterbauer and Grill (1978). El ensayo contiene NADPH 50mM, Glutacion oxidado (GSSG) 10 mM, MgCl₂ 3mM en buffer fosfato 0,1M (pH 7,8) y el extracto de enzima. La actividad GR será expresada como nmol de NADPH oxidado por mg protein⁻¹ min⁻¹.

Bibliografía:

1. Beauchamp C, Fridovich I (1971) Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry* 44, 276-287.
2. Cakmak, I., & Marschner, H. (1992). Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves. *Plant physiology*, 98(4), 1222-1227.
3. Egley, G. H., Paul, R. N., Vaughn, K. C., & Duke, S. O. (1983). Role of peroxidase in the development of water-impermeable seed coats in *Sida spinosa* L. *Planta*, 157(3), 224-232.
4. Esterbauer, H., & Grill, D. (1978). Seasonal variation of glutathione and glutathione reductase in needles



FORMULARIO DE
PRESENTACIÓN INICIATIVAS CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD 2017

of *Picea abies*. *Plant Physiology*, 61(1), 119-121.

5. Giannopolitis CN, Ries SK (1977) Superoxide dismutases: II. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings. *Plant Physiol* 59:481-484.
6. Nakano, Y., Asada, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol*. 22, 867-880.

Análisis de metales pesados y parámetros de calidad de suelo.

Estos análisis se realizarán a suelo y vegetales. Las muestras de suelo, serán recogidas y almacenadas a -4 °C hasta su posterior envío al laboratorio. Los análisis que se solicitarán son: concentración de metales, elementos trazas totales, fertilidad de suelo, pH, CIC, CEC y textura. Las muestras de vegetales (raíz y hojas) serán extraídas y almacenadas a -4 °C, hasta su envío al laboratorio especializado. Los análisis que se realizarán serán presencia y concentración de metales en la biomasa aérea y en las raíces. Todos los análisis se realizarán en el INIA La Platina (Santiago).

Análisis fisiológicos de las plantas:

La respuesta fisiológica de las plantas se medirá diariamente, mediante la lectura de la tasa de fotosíntesis con un aparato de lectura manual el cual realiza esta lectura en terreno (Licor L6000). Semanalmente se tomarán muestras de plantas y se medirá tamaño de la raíz, tamaño de las hojas, etc.

Los resultados serán analizados en el Campus Patagonia con un programa computacional que ofrece el proveedor del equipo.

Análisis microbiológicos:

Cuantificación de unidades formadoras de colonia. Se prepararán cultivos líquidos en agar peptona, de una mezcla de tres cepas de bacterias (bacterias con potencial biorremediador identificadas en el proyecto anterior). Este material, será puesto en contacto con las plantas luego que estas hayan sido trasplantadas a las parcelas. Esta mezcla de bacterias se agregará a las parcelas que contienen material de relave y a las parcelas control. Una vez expuesto, se analizará cada dos semanas una muestra de sustrato de PE y PC, para determinar la presencia y número de estas bacterias. Las muestras de suelo se mantendrán a -80 °C hasta su análisis en los laboratorios del Campus Patagonia.

Diseño experimental:

El diseño experimental se realizará con un modelo de diseño factorial 2 elevado a 2 (2x2). En breve, se considera generar cuatro bloques con sus respectivas replicas. Cada replica se le llamará parcela. Se evaluará el tipo de suelo (suelo de relave y suelo control) y presencia o ausencia de bacterias. En cada parcela se sembrarán 25 plantas.



**FORMULARIO DE
PRESENTACIÓN INICIATIVAS CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD 2017**

3.13 Equipo técnico

Señalar el equipo técnico que desarrollará la iniciativa. Indicar quién actuará de coordinador técnico.

Nombre completo	Profesión	Rol	Funciones Principales	Dedicación (hrs.)	Relación Contractual y financiamiento (1)
Dra. Ximena Valenzuela	Licenciado en Ciencias Biológicas, Dr. en Bioquímica.	Coordinador	Dirigir el equipo de investigación. Supervisar el desarrollo de las actividades. Escribir artículos, difundir el programa de biorremediación. Escribir los informes mensuales. Dirigir el desarrollo de todos los objetivos.	64 horas/mes	CT (Financiamiento UACH)
Coordinador alternativo	Persona con post grado en el área de la fisiología vegetal y molecular con experiencia en investigación científica y manejo de grupos	Coordinar, crear y establecer las actividades prácticas del proyecto para que logre los objetivos propuestos.	Organizar generar actividades de análisis bioquímico y fisiológico de plantas, supervisar los terrenos y las actividades de propagación de plantas, escribir informes, publicar artículo científico. Generar resultados. Organizar y realizar y actividades de difusión. Asociado al objetivo N°1, 2 y 3.	160 horas / mes (Jornada completa)	CH (Financiamiento FIC)



**FORMULARIO DE
PRESENTACIÓN INICIATIVAS CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD 2017**

Dr. Eduardo Valenzuela	Bachiller en ciencias biológicas, Licenciado en Ciencias Biológicas, Magister en mención Microbiología y Dr. En Ciencias. Biológicas	Experto en microbiología	Asesor científico de ecología microbiana. (Objetivo N°2)	20 horas / mes	CT
Dr. Iván Ñancuqueo	Bioquímico, Magister en Ciencias de la Ingeniería con Mención en Ingeniería Bioquímica, PhD en Microbiología Ambiental	Experto en análisis moleculares de microorganismos extremófilos	Realizará el análisis molecular e identificación de las bacterias extremófilas. (Objetivo N°3)	100 horas	CT (Financiamiento USS)
Ximena Solís	Relacionadora pública, Licenciada en comunicación organizacional.	Difusión para la adopción.	Generará y realizará el plan de difusión para la adopción. Coordinará la estrategias de medios, plan comunicacional e institucional. Organizará los eventos, llevar la agenda, etc. Trabajará en el plan de difusión que será un objetivo transversal.	80 horas/mes (Media jornada)	CH (Financiamiento FIC)
Microbiólogo	Persona con amplia experiencia en análisis microbiológico	Cultivo y análisis de muestras biológicas (bacterias)	Desarrollará el muestreo y análisis de suelos propuestos en los objetivos N°2 y 3.	80 horas /mes	CH (Financiamiento FIC)
Técnico de terreno	Persona con experiencia en preparación de terrenos y en muestreo biológico.	Responsable de las actividades en terreno y de la logística en terreno. Llevará la	Apoyo del objetivo N°1 y 3 (A1.1)	44 horas /mes	CH (Financiamiento FIC)



FORMULARIO DE
PRESENTACIÓN INICIATIVAS CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD 2017

		bitácora de muestreo y traspasará datos de muestreo.			
Técnico de apoyo estacional	Persona del área de biología o recursos naturales	Apoyo en terreno y muestreo	Participará en el objetivo N°1, 2 y 3	44 horas /mes	CH (Financiamiento FIC)

(1) Relación contractual: **CT**: Contrato código del trabajo; **CH**: Contrato a honorarios;
EX: Externo/a (a través de una subcontratación)
Financiamiento: FIC - Aporte Propio - Asociados

3.14 Subcontrataciones

Señalar, si los habrá, contratos con personas jurídicas para la prestación de servicios relacionados directamente con las actividades del programa. Se excluye de este ítem todo gasto destinado a contratar servicios de administración y apoyo. Indicar razón social, RUT, giro, descripción de los servicios a contratar y experiencia relevante.

RAZÓN SOCIAL: Instituto de Investigaciones agropecuarias

RUT: 61.312.000-9

GIRO: Investigación agropecuaria y agricultura.

DESCRIPCIÓN: En este proyecto se solicitará a un laboratorio especializado y acreditado en el rubro de análisis biológicos y químicos, los análisis de suelo, agua y biomasa necesarios para lograr el objetivo de esta iniciativa. La empresa que realizó estos análisis específicos en el proyecto anterior fue **INIA la Platina** (Santiago), específicamente el Laboratorio Fertilidad de Suelos y Medio Ambiente. Este laboratorio está acreditado y cuenta con una larga trayectoria en análisis ambientales.

3.15 Estrategia de Comunicación, Difusión y/o Transferencia

La estrategia deberá ser desarrollada durante toda la ejecución de la iniciativa y remitirse solo resultados finales.

Deberá detallar el o los **mecanismos, instituciones, organismos empresariales o empresas involucradas y tiempos**. Si la iniciativa no contempla transferencia tecnológica como parte de su desarrollo, analizar al menos su proyección para una etapa siguiente.

El presente proyecto contempla la contratación de un profesional de área de las comunicaciones, quien, como Encargado de Comunicaciones del Proyecto, elaborará una estrategia comunicacional donde la **difusión para la adopción** será el eje principal.

La teoría de difusión de la innovación pasa por reconocerla como una acción proactiva y como paraguas, en donde la difusión mediática y técnica (artículos científicos) es parte de la estrategia de “difusión para la adopción” que pretende conseguir que esta sea adoptada por el público objetivo al que queremos beneficiar/llegar.

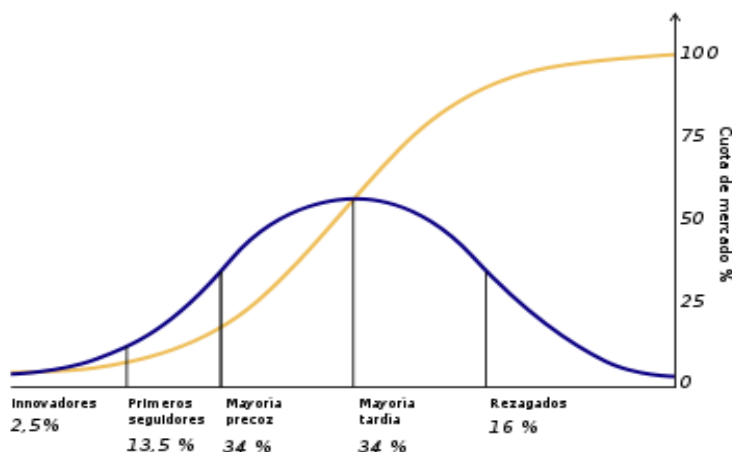
En efecto, la Teoría de la Difusión de la Innovación de Rogers ofrece un trabajo conceptual que



FORMULARIO DE
PRESENTACIÓN INICIATIVAS CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD 2017

discute la aceptación de la tecnología a partir de la interrelación de ésta con las dimensiones sociales y psicológicas del usuario, y presenta un análisis teórico preciso que investiga la difusión de la innovación en este sentido. A partir de las definiciones de Difusión, entendida esta como un proceso por el cual una innovación se comunica y adopta por cientos de canales a través del tiempo entre individuos de un sistema social y de innovación, (idea, práctica u objeto percibido como nuevo por un individuo u otra unidad de adopción (sistema social por ejemplo), Rogers plantea un modelo teórico basado en cinco elementos: la innovación, los canales de comunicación, el tiempo y el sistema social, y un proceso de Decisión de la Innovación dividido en varias etapas, que el individuo o la organización social han de superar para alcanzar el definitivo grado de adopción de una innovación.

Desde este punto de vista se reconocen categorías de “adoptantes”, lo que en la teoría de la difusión se distingue entre los individuos que aceptan las innovaciones en los primeros instantes de su emisión y aquellos que lo hacen en etapas posteriores. En este sentido, se establecen cinco categorías de adoptantes en función del tiempo que requieren los individuos para adoptar una innovación. Las categorías de adoptantes son: los innovadores, los primeros adoptantes, la mayoría precoz, la mayoría rezagada y los tradicionales. A saber:



Desde esta perspectiva, nuestro proyecto se encuentra en una “segunda fase”, y pretende gestionar procesos de investigación-innovativos cuyo proceso de difusión para la adopción alcancen, en el marco del modelo de difusión de innovaciones de Rogers, a los “innovadores” y “primeros seguidores”, los cuales se constituirán, en aquellas instituciones y personas ligadas y socias del proyecto como, posteriormente, y en un avance hacia la periferia, a aquellas instituciones a las cuales se expanda el modelo de gestión y de conocimiento público de interés, como lo son los habitantes locales, los servicios públicos relacionados, municipios y otros actores locales coligados al quehacer y uso directos/indirecto o a nivel de externalidad de uso de estas tecnologías.

Es en este marco de gestión y con el propósito de lograr la adopción de las innovaciones a desarrollar por este proyecto, que se establecen subestrategias tendientes a apoyar el proceso de difusión para lograr dicha adopción. Es así como se considera un Plan de difusión mediática y un plan de difusión técnica, como por ejemplo:

- Comunidades de Río Ibáñez, Puerto Tranquilo, Puerto Sánchez y Chile Chico
- Asociaciones gremiales de las comunidades mencionadas
- Sindicato de trabajadores de las mineras Cerro Bayo y el Toqui
- Mesa tripartita asociada a la empresa el Toqui, colegios y juntas de vecinos



FORMULARIO DE
PRESENTACIÓN INICIATIVAS CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD 2017

- Entidades públicas, tales como: Intendencia; Gobernación, Secretarías regionales Ministeriales atinentes; miembros de la Comisión de Ciencias, Tecnología e Innovación del Consejo Regional de Aysén; Jefes de las divisiones de Planificación y Desarrollo Regional, Análisis y Control de Gestión del Gobierno Regional de Aysén
- Académicos y Científicos de la región
- Estudiantes de la región
- Medios de comunicación regionales

Plan de difusión mediática: Los canales de difusión serán establecidos mediante el Plan de comunicaciones a elaborar, considerándose entre ellos, canales de comunicación off line y on line (radio, televisión, prensa escrita, redes sociales, página web, mailing, entre otros). También será difundido mediante links de interés de webs atinentes a la temática general del proyecto.

Plan técnico de difusión: considera un seminario de lanzamiento, un seminario de cierre, 2 talleres de difusión, participación en congresos regionales, nacionales y extranjeros, publicación de al menos un artículo científico. Se elaborará un material audiovisual, generando un registrando de las etapas y actividades del proceso científico del proyecto con las cuales se generará como producto final un Archivo audiovisual de la ejecución del proyecto.

Gracias al apoyo económico del Gobierno Regional de Aysén y mediante esta investigación, se pretende generar un escalamiento en la línea de investigación del Programa de Bioremediación, cuyo producto será el protocolo agronómico de manejo de plantas fitorremediadoras el que mediante una **estrategia de difusión para la adopción en el campo de la innovación**, nos permitirá difundir la tecnología biorremediadora.

4. FINANCIAMIENTO

El financiamiento debe incluir todos los gastos en que incurre la iniciativa. (De estimarse necesario se solicitarán cotizaciones y detalles de la valoración de ciertos ítems).

4.1 Presupuesto Total	
Monto total solicitado al FIC	M\$.....
2014	M\$.....
2015	M\$.....
Aporte Propio (1)	M\$.....
Aporte Asociados (1)	M\$.....
COSTO TOTAL INICIATIVA	M\$.....

(1) Los aportes Propio y de Asociados, en conjunto deben ser iguales o superiores al 10% del costo total de la iniciativa y debe estar respaldado por cartas compromiso.



**FORMULARIO DE
PRESENTACIÓN INICIATIVAS CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD 2017**

4.2 Presupuesto (aporte propio y asociados)				
Cuentas (a)	Unidad de Medida	Cantidad	Costo Unitario M\$	Costo Total M\$
1. Recursos humanos (b)				
Profesionales	Mes			
Técnicos	Mes			
Viáticos	Mes			
Subtotal				
2. Equipamiento (c)				
Subtotal				
3. Operación				
Difusión				
Misiones y pas.				
Subcontrataciones (d)				
Otros gastos (e)				
Subtotal				
SUB-TOTAL M\$	----	----	----	



**FORMULARIO DE
PRESENTACIÓN INICIATIVAS CONCURSO
FONDO DE INNOVACIÓN PARA LA COMPETITIVIDAD 2017**

4.3 Presupuesto General Solicitado				
Cuentas (a)	Unidad de Medida	Cantidad	Costo Unitario M\$	Costo Total M\$
Recursos humanos (b)				
Profesionales	Mes			
Técnicos	Mes			
Viáticos	Mes			
Subtotal				
Operación				
Difusión				
Misiones y pas.				
Subcontrataciones (d)				
Otros gastos (e)				
Subtotal				
5. Overhead (máximo 5%)				
SUB-TOTAL M\$	----	----	----	



4.4 Presupuesto Anual Detallado

Para cada año calendario de ejecución de la iniciativa llenar el siguiente cuadro:

Presupuesto Solicitado 20__					
Cuentas (a)	Actividad asociada	Unidad de Medida	Cantidad	Costo Unitario M\$	Costo Total M\$
1. Recursos humanos (b)					
Profesionales		Mes			
Técnicos		Mes			
Viáticos					
Subtotal					
2. Equipamiento (c)					
Subtotal					
3. Operación					
Difusión					
Misiones y pas.					
Subcontrataciones (d)					
Subtotal					
5. Overhead (máximo 5%)					
SUB-TOTAL 20__ M\$		----	----	----	

(a) Ver Bases Concurso FIC 2014 (Punto 12.2 Gastos permitidos)

(b) Detallar recurso humano agrupado por tipo y nivel de remuneraciones, la unidad de medida debe la remuneración mensual.

Coordinadores de proyecto cargados a la provisión FIC, deberán cumplir funciones Técnicas dentro de la iniciativa y demostrar su experiencia técnica y aporte a la iniciativa.

(c) Detallar por tipo de equipamiento considerado

(d) Detallar a nivel de contrato

(e) otros cargos a operación deberán ser detallados conformes a por partidas principales, y de ser necesario se solicitará el cálculo de estimación y cotizaciones correspondientes.