

Editorial

C. A. JEREZ

Colaboración en investigación entre Chile y la Unión Europea

BR Sabe

Ramón Latorre De La Cruz, Premio Nacional de Ciencias Naturales 2002 Pablo Valenzuela, Premio Nacional de Ciencias Aplicadas y Tecnológicas 2002

Ciencia y Sociedad

I Reunión regional de la red SciELO XVI Reunión Anual de la Sociedad de Biología Celular de Chile Biological Research Factor de Impacto 1,154

Articles

M. RIOS, A. VENEGAS and H. B. CROXATTO

In vivo expression of ß-galactosidase by rat oviduct exposed to naked DNA or messenger RNA

J. ILLANES, A. DABANCENS, O. ACUÑA, M. FUENZALIDA, A. GUERRERO, C. LOPEZ and D. LEMUS

Effects of betamethasone, sulindac and quinacrine drugs on the inflammatory neoangiogenesis response induced by polyurethane sponge implanted in mouse

M. GÖTTE and A. STADTBÄUMER

Heterologous Expression of Syntaxin 6 in Saccharomyces cerevisiae

C. R. SOTO, J. ARROYO, J. ALCAYAGA

Effects of bicarbonate buffer on acetylcholine-, adenosine 5 triphosphateand cyanide-induced responses in the cat petrosal ganglion in vitro

M. GALINDO, M. J. GONZALEZ and N.L GALANTI

Echinococcus granulosus protoscolex formation in natural infections



Biological Research

is the continuation since 1992 of

ARCHIVOS DE BIOLOGIA MEDICINA EXPERIMENTALES

founded in 1964
Founding Editor
Jorge Mardones
Past Editors
Tito Ureta, Patricio Zapata

This Journal is the official organ of the SOCIETY OF BIOLOGY OF CHILE

Legal personality N° 2.521 (4.6.54)

RUT 70-397.4000-0

Legal address: Canadá 308

Santiago 9, Chile

Juan Guillermo Valenzuela

(Legal Advisor and Representative)

This journal is partly subsidized by the "Funds for Publication of Scientific Journals" of the National Commission of Scientific and Technological Research (CONICYT), Chile

Yearly subscription US\$ 100 Payable to Sociedad de Biología de Chile

Correspondence to BIOLOGICAL RESEARCH Sociedad de Biología de Chile Canadá 253, piso 3°, Dpto. F. PO Box 16164 Santiago, Chile Fax (56-2) 225 8427 Phone (56-2) 209 3503 E-mail socbiol@manquehue.net

Indexed by Scielo, Medline, Biosis, Embase, Lilacs, Periodica, Research Alert, Science Citation Index Expanded (ISI), Web of Science (ISI)

Abstracted in Biological Abstracts, Excerpta Medica, Index Medicus and Medlars

ISSN: 0716-9760

ISSN versión electrónica: 0717-6287

Editor-in-Chief

Manuel Krauskopf

Universidad Andrés Bello Santiago, Chile

Associate Editor

Jorge Garrido

P. Universidad Católica de Chile Santiago, Chile

Assistant Editors

Laura Olguín (Production),
Margaret Snook (Editing and Proofreading)
Universidad Andrés Bello

Editorial Board

Oscar Burrone ICGEB, Trieste Juan Bacigalupo Universidad de Chile Enrique Brandan P Universidad Católica de Chile Claudio Barros P Universidad Católica de Chile Philipe Bouvet Ecole Normale Supérieure du Lyon Gonzalo Bustos P Universidad Católica de Chile Juan José Cazzulo Universidad Nacional San Martin Victor Cifuentes Universidad de Chile Leopoldo De Meis U Federal Rio de Janeiro Sonia Dietrich Institute of Botany, Sao Paulo Carlos González Universidad Austral de Chile Joan Guinovart Universidad de Barcelona Cecilia Hidalgo Universidad de Chile Carlos Hirschberg Boston University Nibaldo Inestrosa P Universidad Católica de Chile Carlos Jerez Universidad de Chile Rosalba Lagos Universidad de Chile Ramón Latorre Centro de Estudios Científicos Martin Montecino Universidad de Concepción Juan Olate Universidad de Concepción Adrian Palacios Universidad de Valparaiso Manuel Rieber IVIC M.A.Q. Siddiqui State University of New York Marc Thiry Universite de Liège Tito Ureta Universidad de Chile Pablo Valenzuela Fundación Ciencia Para la Vida Claudio Vazquez Universidad de Santiago, Chile

Ennio Vivaldi Universidad de Chile

Directorio 2001-2002

Mesa directiva

Dr. Carlos Jerez Presidente
Facultad de Ciencias
Universidad de Chile
Las Palmeras 3425 - Santiago
Fono: 6787376-6787377
Fax: 6787376
Email: cjerez@uchile.cl

Dr. Fabián Jaksic Vicepresidente P. Universidad Católica de Chile Alameda 340 Fono: 6862641 Fax: 6861615 Email: fjaksic@genes.bio.puc.cl

Past-Presidente
P. Universidad Católica de Chile
Alameda 340
Fono: 6862720 - Fax: 2225515
Email: ninestr@genes.bio.puc.cl

Dr. Nibaldo Inestrosa

Dr. Víctor Cifuentes Secretario Facultad de Ciencias Universidad de Chile Las Palmeras 3425 Fono: 6787346 - Fax: 2727363 Email: voifuent@uchile.cl

Dr. Héctor Toledo

Tesorero
Facultad de Medicina
Universidad de Chile
Independencia 1027
Fono: 6786053
Fax: 7355580
Email: htoledo@machi.med.uchile.cl

Dr. Luis Felipe Sierra

Director

Facultad de Medicina

Universidad de Chile
Independencia 1027

Fono: 6786059

Fax: 7353510

Email: fsierra@machi.med.uchile.cl

Dr. Yedy Israel Director
Facultad de Ciencias Química y Farmacéuticas
Universidad de Chile
Olivos 1007
Fono: 6782943 - Fax: 7377291
Email: yedy.israel@mail.tju.edu

Presidentes Sociedades Afiliadas

Dr. Pablo Marquet
Sociedad de Ecologia de Chile
P. Universidad Católica de Chile
Alameda 340
Fono: 6862639 - Fax: 6862621
Email: pmarquet@genes.bio.puc.cl

Dr. Ariel Orellana Sociedad de Biologia Celular de Chile Facultad de Ciencias Universidad de Chile Las Palmeras 3425 Fono: 6787325- Fax: 2712983 Email:aorellana@uchile.cl

Dra. Pilar Carvallo Sociedad de Bioquimica de Chile P. Universidad Católica de Chile Alameda 340 Fono: 6862705 - Fax: 6862693 Email: pcarvall@genes.bio.puc.cl

Dr. Enrique Castellón
Sociedad Chilena de Reproducción y
Desarrollo
Facultad de Medicina
Universidad de Chile
Independencia 1027
Fono: 6786472 - Fax: 6786012
Email: ecastell@machi.med.uchile.cl

Dr. Francisco Squeo
Sociedad de Botánica de Chile
Departamento de Biología
Facultad de Ciencias
Universidad de La Serena
Casilla 599 - La Serena
Fono: 51-202369 - Fax:51-204383
Email:fsqueo@userena.cl

Dr. Gonzalo Bustos

Sociedad de Farmacología de Chile
Facultad de Ciencias Biológicas
P. Universidad Católica de Chile
Santiago
Fono:6862656 - Fax:6862660
Email:gbustos@genes.bio.puc.cl

Dr. Enrique Jaimovich
Sociedad Chilena de Ciencias
Fisiológicas
Facultad de Medicina
Universidad de Chile
Independencia 1027 - Santiago
Fono: 6786310 - Fax: 7776916
Email: ejaimovi@machi.med.uchile.cl

Dr. Guillermo Figueroa
Asociación Chilena de Microbiología
Inta
Universidad de Chile
Fono:6781475 - Fax:2214030
Email:gfiguero@uec.inta.uchile.cl

Dr. Manuel Santos Sociedad de Genética de Chile Facultad de Ciencias Biológicas P. Universidad Católica de Chile Alameda 340 Fono:6862835 - Fax:2225515 Email: nsalgado@canela.med.uchile.cl

Dr. Juan Carlos Aguillón Sociedad Chilena de Inmunología Facultad de Medicina Universidad de Chile Independencia 1027 Fono: 6786724 - Fax: 7353346 Email: jaquillo@machi.med.uchile.cl

Presidentes Agrupaciones Regionales

Dr. Manuel Roncagliolo Agrupación Regional Valparaíso Facultad de Ciencias Universidad de Valparaíso Valparaíso Fono: 32-508058 - Fax: 32-281949 Email: mronca@uv.cl

Dr. Oscar Goicoechea Agrupación Regional Valdivia Universidad Austral de Chile Casilla 563 - Valdivia Fono:63-221203 - Fax:63-221203 Email:ogoicoec@uach.cl

Dr. Claudio Palma
Agrupación Regional Coquimbo
La Serena
Departamento de Biología
Universidad de La Serena
Casilla 599 - La Serena
Fono: 51-204322 - Fax: 51-204303
Email: cpalma@userena.cl

Dr. Luis Sobrevia
Agrupación Regional Concepción
Universidad de Concepción
Casilla 160-C - Concepción
Fono: 41-254226 - Fax:41-245975
Email:lsobrev@udec.cl

Secciones

Dr. Alan Neely Presidente
Sección Biofísica
Universidad de Valparaíso
Casilla 92-V - Valparaíso
Fono: 32-508054 - Fax:32-283320
Email: Alan.Neely@uv.cl

Dr. Juan Carlos Ortiz

Presidente
Sección Zoología
Universidad de Concepción
Casilla 160-C - Concepción
Fono:41-204152 - Fax:41-243379
Email: jcortiz@udec.cl

Biological Research

2002 - vol. 35 - nº 3-4

- 320 Editorial Colaboración en investigación entre Chile y la Unión Europea
- 321 BR SABE
 Ramón Latorre De La Cruz, Premio Nacional de Ciencias Naturales 2002
 Pablo Valenzuela, Premio Nacional de Ciencias Aplicadas y Tecnológicas 2002
- 328 Ciencia y Sociedad I Reunión regional de la red SciELO XVI Reunión Anual de la Sociedad de Biología Celular de Chile Biological Research Factor de Impacto 1,154

Articles

- 333 M. RIOS, A. VENEGAS and H. B. CROXATTO In vivo expression of β-galactosidase by rat oviduct exposed to naked DNA or messenger RNA
- J. ILLANES, A. DABANCENS, O. ACUÑA, M. FUENZALIDA, A. GUERRERO, C. LOPEZ and D. LEMUS
 Effects of betamethasone, sulindac and quinacrine drugs on the inflammatory neoangiogenesis response induced by polyurethane sponge implanted in mouse
- M. GÖTTE and A. STADTBÄUMER
 Heterologous Expression of Syntaxin 6 in Saccharomyces cerevisiae
- 359 C. R. SOTO, J. ARROYO, J. ALCAYAGA
 Effects of bicarbonate buffer on acetylcholine-, adenosine 5'triphosphate-, and
 cyanide-induced responses in the cat petrosal ganglion in vitro
- 365 M. GALINDO, M J. GONZALEZ AND N. GALANTI Echinococcus granulosus protoscolex formation in natural infections
- 373 X. ORTEGA, R. POLANCO, P. CASTAÑEDA, L. M. PEREZ Signal transduction in lemon seedlings in the hypersensitive response against Alternaria alternata: participation of calmodulin, G-protein and protein kinases

- H. CAMPOS-DE QUIROZ
 Plant genomics: an overview
- L. M. PÉREZ, X. BESOAÍN, M. REYES, G. PARDO and J. MONTEALEGRE
 The expression of extracellular fungal cell wall hydrolytic enzymes in different
 Trichoderma harzianum isolates correlates with their ability to control
 Pyrenochaeta lycopersici
- M. CANALS M, C. ATALA, R. OLIVARES, F. F. NOVOA, M. ROSENMANN
 Departures from the physical optimality in the bronchial tree of rats (*Rattus norvegicus*)
- M. P. NAIR, C. KANDASWAMI, S. MAHAJAN, H. N. NAIR*, R. CHAWDA, T. SHANAHAN and S. A. SCHWARTZ

 Grape seed extract proanthocyanidins downregulate HIV-1 entry coreceptors, CCR2b, CCR3 and CCR5 gene expression by normal peripheral blood mononuclear cells
- J. L. CÓRDOVA, J. ASTORGA, W. SILVA and C. RIQUELME
 Characterization by PCR of Vibrio parahaemolyticus isolates collected during the
 1997-1998 Chilean outbreak
- Short Communication
 F. BAPTISTA and M. AVEZUM ALVES DE CASTRO-PRADO

 uvsZ1 mutation shows epistatic relations with uvsD153 and uvsJ1 mutations
 without any involvement with checkpoint control in Aspergillus nidulans
- Resúmenes

 XLV Reunión anual de la Sociedad de Biología de Chile

XLV REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE

XXV REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR DE CHILE

XIV REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE BOTANICA DE CHILE

XI REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE ECOLOGIA DE CHILE

VII REUNION ANUAL DE LA SOCIEDAD DE INMUNOLOGIA CHILENA

12 al 16 de Noviembre 2002 Puyehue, Chile

SOCIEDADES AFILIADAS

Asociación Chilena de Microbiología
Sociedad Chilena de Ciencias Fisiológicas
Sociedad Chilena de Inmunología
Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo
Sociedad de Biología Celular de Chile
Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular de Chile
Sociedad de Botánica de Chile
Sociedad de Ecología de Chile
Sociedad de Farmacología de Chile
Sociedad de Genética de Chile

Auspiciadores

ANDES IMPORTADORA Y EXPORTADORES

BIOSONDA

BIOSCHILE

EQUILAB

GENESEXPRESS

GENESYS CHILE LTDA.

FERMELO S.A.

SUDELAB

T.C.L. LTDA-

IVENS

POLYSCIENCE

Patrocinantes

CONICYT

CENTRO DE ESTUDIOS AVANZADOS EN ECOLOGIA Y BIODIVERSIDAD

DID, UNIVERSIDAD DE CHILE

DEPARTAMENTO DE CS. ECOLOGICAS, FACULTAD DE CIENCIAS, U. DE CHILE

D.R.I.-CONICYT

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS, P. UNIVERSIDAD CATOLICA DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS, UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE CHILE

FUNDACION CHILENA PARA BIOLOGIA CELULAR

FUNDACION PARA ESTUDIOS BIOMEDICOS AVANZADOS (FEBA)

INSTITUTO MILENIO DE BIOLOGIA FUNDAMENTAL Y APLICADA (MIFAB)

ICBM, UNIVERSIDAD DE CHILE

RELAB

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION

CAF... MORUMBI, ADELCO LTDA.

CERVEZA KUNSTMANN

Conferencias

CONFERENCIA INAUGURAL

ANALYSIS OF DIFFERENTIAL PROTEIN EXPRESSION, THE PHOSPHOPROTEOME, PROTEIN-PROTEIN INTERACTIONS, AND THE HISTONE CODE BY FOURIER TRANSFORM AND ION TRAP MS. Donald F. Hunt, Departments of Chemistry and Pathology, University of Virginia, Charlottesville, Virginia 22901

Protein expression in bacteria under environmental pressure can now be measured directly by mass spectrometry. To detect proteins differentially expressed in nutritionally starved E. coli, cells were grown in the presence and absence of a nitrogen source, ammonium chloride, lyzed and extracted proteins were digested with trypsin. The resulting mixtures of approximately 60,000 tryptic peptides in each sample were then analyzed separately by nanoflow chromatography and electrospray ionization on a home built Fourier transform mass spectrometer. This latter instrument operates at a resolution of 40,000, measures masses to three decimal places, and detects peptides at the low attomole level (1). Subtractive analysis of the two data sets with in house software identified candidate peptides unique to the sample grown in the absence of ammonium chloride. Sequence information on these peptides was obtained by employing nanoflow chromatography, peak parking technology, and electrospray ionization on an ion trap mass spectrometer (1). Parent proteins were identified by searching the resulting collision activated dissociation mass spectra against the E. coli data base with SEQUEST software. The above approach has also been employed to identify proteins uniquely expressed in sporulating bacteria, peptides presented to the immune system from turberculosis infected cells (2), class II peptides presented to the immune system in multiple sclerosis, and proteins found uniquely on the surface of cancer cells. Methodology has also been developed that facilitates: (a) identification of phosphoproteins on a genome wide scale (3), (b) protein protein interactions (4), and (c) the histone code of postranslational modifications that control gene expression and gene silencing (5).

- Sub-Femtomole MS and MS/MS Peptide Sequence Analysis Using LC-Nano-ESI Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry. S.E. Martin, J. Shabanowitz, D.F. Hunt, and J.A. Marto, Anal. Chem., 2000, 72, 4266-4274.
- Identification by Mass Spectrometry of CD8+ T-Cell Mycobacterium tuberculosis Epitopes within the Rv0341 Gene Product, D.C. Flyer, V. Ramakrishna, C. Miller, H. Myers, M. McDaniel, K. Root, C. Fluornoy, V.H. Engelhard, D.H. Canaday, J.A. Marto, M.M. Ross, D.F. Hunt, J. Shabanowitz and F.M. White, Infection and Immunity, 2002, , 2926-2932.
- 3.- Phosphoproteome Analysis by Mass Spectrometry and Its Application to Saccharomyces cerevisiae, S.B. Ficarro, M.L. McCleland, P.T. Stukenberg, D.J. Burke, M.M. Ross, J. Shabanowitz, D. F. Hunt, and F.M. White, Nature Biotechnology, 2002, 20, 301-305.
- 4.- The U3 Processome is a Large Nucleolar Ribonucleoprotein Required for 18S rRNA Biogenesis, F. Dragon, P.A. C. Post, J.E.G. Gallagher, B.M. Mitchell, K.A. Porwancher, K.A. Wehner, R.E. Settlage, J. Shabanowitz, Y. Osheim, A.L. Beyer, D.F. Hunt, and S.J. Baserga, Nature, 2002, 417, 967-970
- 5.- Site-Selective Histone Methylation in Chromatin, S.D. Briggs, T. Xiao, Z.-W. Sun, J.A. Caldwell, J. Shabanowitz, D.F. Hunt, C.D. Allis, B.D. Strahl, Nature, 2002, 418, 498..

IMPACTO DE LA BIOTECNOLOGÍA EN LA SALUD PUBLICA: LA EXPERIENCIA EN CUBA (Impact of Biotechnology in Public Health: The Cuban Experience). Gavilondo, J.V. Lab. Anticuerpos Recombinantes, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba. El programa de introducción de la biotecnología en Cuba comenzó en 1981 y se extendió explosivamente en instituciones científicas y productivas, y a la formación de nuevos recursos humanos. Unos 1000 millones de dólares se invirtieron en la construcción de centros y plantas, tales como los Centros de: Investigaciones Biológicas, Ingeniería Genética y Biotecnología, Inmunoensayos, Biopreparados, Producción de Animales de Laboratorio, Inmunología Molecular, además del Instituto Finlay, el Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí, y las plantas de la Industria Farmacéutica. El producto modelo inicial fue el interferón natural, seguido por: interferón alfa recombinante, vacuna contra la meningitis meningocóccica BC, vacuna recombinante para la Hepatitis B, estreptokinasa recombinante, sistemas diagnósticos SUMA para T4, AFP, VIH y Hepatitis B y C, anticuerpos monoclonales para controlar el rechazo del trasplante renal y el diagnóstico de cáncer colorectal, vacunas contra tétanos y leptospira, eritropoyetina, G-CSF e interferón gamma recombinantes. Entre los desarrollos en curso se encuentran nuevas vacunas, formulaciones nasales y combinadas para enfermedades infecciosas, vacunas terapéuticas para cáncer, la Hepatitis C y el VIH, anticuerpos recombinantes contra tumores, péptidos anti-inflamatorios y citoprotectores, y muchos sistemas diagnósticos. Se ejecuta también un programa nacional de desarrollo de la bioinformática y se hacen esfuerzos ya con resultados en el campo de la proteómica.

PLANTAS TOLERANTES E HIPERACUMULADORAS DE METALES: LO QUE SE CONOCE DE ELLAS EN AMÉRICA LATINA Y LOS RIESGOS ASOCIADOS A SU SOBREVIVENCIA POR LA ACTIVIDAD MINERA (Metal tolerant and hyperaccumulator plants: what we know about them in Latin America and the associate risks for their survival due to mining activities). Ginocchio, R. Departamento de Ecología, P. Universidad Católica de Chile.

La actividad minera metálica ha sido muy importante en América Latina desde tiempos pre-hispánicos. Sin embargo, la casi total inexistencia de regulaciones ambientales para el sector hasta hace unas pocas décadas en la mayor parte de los países de la región, se tradujo en diversos e importantes problemas medio ambientales. Aunque la región es rica en depósitos de minerales, se han descrito pocas especies tolerantes e hiperacumuladoras de metales en comparación con otras regiones del mundo. Sin embargo, esto podría deberse tanto a la escasez de estudios científicos sobre la vegetación nativa que se ha desarrollado sobre mineralizaciones superficiales o en suelos enriquecidos antrópicamente con metales como a la falta de métodos biogeoquímicos de prospección de minerales, más bien que a la ausencia real de este tipo de especies vegetales en la región. Latinoamérica es, sin embargo un área con grandes potenciales para la presencia de este tipo de especies vegetales, no sólo por el gran número de mineralizaciones presentes, sino que por su gran y única diversidad vegetal, la que ha sido pobremente evaluada, estudiada y protegida. Si no se logra estudiar las comunidades vegetales presentes sobre mineralizaciones antes de que los procesos de extracción de minerales se lleven a cabo, podrían perderse para siempre especies o ecotipos claves para ser usados en la mitigación de problemas ambientales relacionados con el propio sector minero (fitoextracción, fitoestabilización y fito-minería).

Proyectos Fondecyt 1000750 y CIMM-ICA.

CATCHING EVOLUTION IN THE ACT: *DROSOPHILA* SUBOBSCURA IN THE NEW WORLD. (Capturando la evolución en el momento: *Drosophila subobscura* en el nuevo mundo). **Huey, R.B.**¹, Gilchrist, G.², Balanya J.³, Pascual, M³, & Serra, L.³

College of William & Mary, Williamsburg, VA 23187 USA; ³Department of Genetics, Faculty of Biology, University of Barcelona, Diagonal 645, Barcelona 08071 Spain

Biologists have long debated the speed and predictability of evolutionary change. However, such patterns can be evaluated on a geographic scale only from time-series data on replicate sets of populations. Drosophila subobscura is an ideal system for such studies. This Old World fly was introduced into the New World just over two decades ago and spread rapidly. Rapid and predictable evolution would be demonstrated if these invaders are evolving clines that are converging on those of the native populations. Biologists from Chile & Spain immediately capitalized on this opportunity and detected incipient clines in chromosomal inversion frequencies that were generally in the same direction as in the Old World, but found no evidence of clines in body size. Our recent surveys show that body size clines have now evolved and remarkably parallel to Old World cline, but that clines in wing shape differ among continents. Remarkably, the inversion clines have seemingly ceased converging on Old World clines. This time-series of evolution shows that micro-evolution can be extremely fast, slow, or episodic as well as predictable or idiosyncratic. [Supported by N.S.F.]

CONFERENCIA DR. OSVALDO CORI

PROTEOMIC STRATEGIES IN CANCER. Julio E. Celis. Institute of Cancer Biology and Danish Center for Human Genome Research, Copenhagen, Denmark

Without doubt the sequencing of the human and other important genomes has paved the way to the revolution in biology and medicine that we are experiencing today. We are rapidly moving from the study of single molecules to the analysis of complex biological processes and the current explosion of new and powerful technologies within proteomics and functional genomics promises to accelerate the application of basic discoveries into daily clinical practice, through translational research.

Cancer, which affects a significant fraction of the population, has become a prime target for the new technologies. Indeed, tools for the high throughput analysis of genes, proteins and their complex networks are being used to identify potential targets for drug discovery as well as markers for early detection, recurrence, progression, response to treatment and development of novel therapies.

Here I will review the current status of the proteomic technologies and I will present our strategies for studying bladder and breast cancer using fresh tissue biopsies.

CONFERENCIA PREMIO BIOS-CHILE-SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE

EXPRESION DIFERENCIAL Y SINERGISMO FUNCIONAL ENTRE TRANSPORTADORES DE VITAMINA CY GLUCOSA. MODELOS FUNCIONALES PERIFERICOS APLICADOS A CELULAS NORMALES Y TUMORALES DEL SISTEMA NERVIOSO.

(Differential expression and functional synergism between vitamin C and glucose transporters. Peripheral and functional models associated with normal and tumoral cells of the nervous system). **Nualart, Francisco**. Laboratorio de Neurobiología, Depto. Histología-Embriología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Email: fnualart@udec.cl

Las células normales y tumorales expresan transportadores de glucosa y vitamina C. Se han clonado 13 isoformas de transportadores de hexosas o GLUTs. Análisis in vitro han propuesto que en células tumorales los GLUTs son sobre-expresados como una respuesta a las necesidades metábolicas de las células transformadas. Nuestros datos indican que la alta expresión no es un fenómeno general en tumores humanos in situ y que solamente está asociada al tipo de crecimiento tumoral, grado de diferenciación y muerte celular. En tumores de mama, con crecimiento nodular, las células se especializan generando "canales nutricionales" donde se localizan los GLUTs. Estos tumores inducen un menor nivel de apoptosis y presentan un alto grado de proliferación. La vitamina C puede estar en los tejidos en su forma reducida como ácido ascórbico (AA) o en su forma oxidada como ácido deshidroascórbico (DHA). El AA se incorpora a través de transportadores de vitamina C y sodio (SVCTs), de los cuales se han clonado dos isoformas (SVCT1 y SVCT2). El DHA es incorporado por medio de transportadores de glucosa (GLUT1, GLUT3 y GLUT4). En diferentes células tumorales hemos determinado que predomina la captación de vitamina C a través de GLUTs, situación que se potencia cuando estos transportadores son sobre-expresados y cuando se genera un ambiente oxidativo capaz de producir concentraciones elevadas de DHA en el tumor. En algunos tumores cerebrales hemos observado que el transportador SVCT está localizado predominantemente intracelular. De esta forma, las células tumorales periféricas como del sistema nervioso, se adaptan para preoxidar la vitamina C y captarla a través de transportadores de glucosa.

FONDECYT 1010843. UDEC-GIA 201-034-006-1.4.

CONFERENCIA Dr. HERMAN NIEMEYER Y MEDALLA H. NIEMEYER

CELULAS TRONCALES (CT) ADULTAS Y SUS OP-CIONES TERAPEUTICAS (ADULT STEM CELLS). Jose J. Minguell. Programa de Terapias Genicas y Celulares, Inta, Universidad de Chile.

Durante muchos años, la CT hematopoyética fué el paradigma de una CT. Se estudió su biología y por extensión la de otras CT y además se abrió un camino de utilización clínica, a partir de los 70's en el mundo desarrollado y desde fines de los 80's en Chile. En los últimos 10 años, nos sorprendemos al conocer que "fibroblastos" o CFU-F de medula ósea, correspondían a otro tipo de CT adultas, las CT mesenquimáticas (MSC). La multipotencia de estas, para generar fenotipos mesenquimáticos planteó su uso inmediato en terapias celulares. A fines de los 90's, el mundo de las CT nuevamente se sorprende con dos hallazgos: la "derivación" a partir de tejidos embrionarios humanos de CT y el conocimiento de la "plasticidad" de las CT adultas. Esto desencadena un enorme esfuerzo por conocer mejor las propiedades de las CT adultas y embrionarias, y por ende su aplicación en el emergente mundo de las terapias celulares. En esta presentación se analizarán las bases biológicas que sustentan, en particular, el uso clínico de CT adultas y se tratará de responder algunas preguntas, entre otras: estamos preparados e interesados en este país tercermundista para desarrollar terapias con CT y ofrecerlas a nuestros enfermos?, será mejor "comprarlas" ?, que hemos realizado para motivar en estos temas a las nuevas generaciones de biólogos y clínicos?

CONFERENCIA DR. SEVERO OCHOA

LA HUELLA BIOENERGETICA DEL CANCER. (The bioenergetic signature of cancer). José M. Cuezva. Departamento de Biología Molecular, Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa", U.A.M.-C.S.I.C., Universidad Autónoma de Madrid, 28049 Madrid, España.

En los últimos años se ha producido un renovado interés por caracterizar los mecanismos que regulan la biogénesis y función mitocondrial en células de mamífero. Este redescubrimiento de la mitocondria está motivado por su implicación en apoptosis así como en otras manifestaciones de la patología humana. Se entiende por biogénesis de la mitocondria el conjunto de procesos celulares que resultan en un aumento del número y/o de la actividad mitocondrial en la célula. La biogénesis mitocondrial necesita de la expresión coordinada de dos sistemas genéticos que se encuentran físicamente separados en la célula. Poco se conoce sobre los mecanismos que regulan la expresión coordinada de estos dos sistemas genéticos en células de organismos superiores. Menos aún, de su operatividad durante el desarrollo y la diferenciación celular y en aquellas situaciones patológicas que conducen a la expresión de un fenotipo mitocondrial aberrante. En esta presentación resumiremos los mecanismos celulares que regulan la proliferación y diferenciación mitocondrial durante el desarrollo del hígado. Se hará énfasis en los mecanismos que regulan la localización subcelular y la traducción de mRNAs que codifican proteínas de la mitocondria, en concreto del mRNA de la subunidad catalítica β de la H+-ATP sintasa, puesto que juegan un papel decisivo en la regulación de la diferenciación y función mitocondrial. Por último, mostraremos que la alteración de la función bioenergética de la mitocondria es una característica común a muchos tipos de cáncer.

¿CUAN BIEN PROTEGIDA ES LA FLORA DE CHILE CENTRAL-II?) Mary T. Kalin Arroyo. (How well protected is the flora of central Chile – II?). Arroyo, M.T.K. CMEB, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Chile central ha sido ubicado en la categoría de "Biodiversity Hotspot for Conservation Priority" (Nature 403: 853-858. 2000). Exploración de las áreas protegidas del SNASPE (Sistema Nacional de Areas Protegidas del Estado) ha permitido un análisis de sus bondades y falencias. A pesar de que la superficie protegida es pequeña, la gran mayoría de las especies arbóreas se hallan en por lo menos un área protegida. Sin embargo, los primeros análisis de la flora más representativa de la zona sugieren que el grado de protección de la flora total estaría muy deficiente. Las especies endémicas no gozan de una mayor protección que las no endémicas, en tanto que la flora herbácea nuevamente suele ser subrepresentada. Análisis cuantitativos de la eficiencia de las reservas en albergar la biodiversidad demuestran que ésta es alta para algunas unidades del SNASPE, pero muy baja para otras. El grado de protección actual de muchas especies de plantas en las V-VII Regiones sería insuficiente como para asegurar su supervivencia a largo plazo. Si bien los resultados disponibles hasta la fecha, sugieren la necesidad de establecer algunas unidades de SNASPE adicionales, parece importante, fomentar el establecimiento de una red de reservas de pequeño tamaño al largo y ancho de Chile central. Cátedra Presidencial en Cien-

FONDECYT 1980795, ICM P99-103-F-ICM, IBOY.

CONFERENCIA PABMB

A DECADE-LONG ADVENTURE IN GENE HUNTING. Mari. C. Sogayar; Mario H. Bengtson; Cleber G. Vedoy, Áurea Folgueras-Flatschart; Roberto B. Flatschart, Christian Colin; Carlos A. M. Aita, Karin Krogh; Sandro R. Valentini; Luciana O. Cruz; Theri L.Degaki; Leonardo O. Rodrigues, Fernanda Festa. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, Departamento de Bioquímica, CP 26.077, São Paulo 05513 SP, Brasil (mcsoga@iq.usp.br)

We have pursued the molecular basis for cell growth control and neoplasia and of the anti-tumor activity of chemotherapeutic/ differentiation-inducing agents, such as glucocorticoid hormones (GC) and all-trans retinoic acid (ARA), by searching for genes, which are differentially expressed in normal versus tumor tissue and untreated versus GC- or ARA-treated cells. Subtractive cDNA libraries were generated by Suppressive Subtraction Hybridization (SSH) and Representational Difference Analysis (RDA) in order to isolate genes which are associated with: a) cell cycle control; b) the transformed/ tumoral phenotype; c) the transformed to normal phenotypic reversion of the ST1 rat glioma cell line. Therefore, we are seeking to reveal new growth-inducing genes, putative tumor suppressor genes and tumor markers. All of the isolated genes were characterized by DNA sequencing and Bioinformatics analysis. The functional role played by some of these gene products was examined by cloning and overexpressing the fulllength cDNA, in the sense and antisense directions, in appropriate cell lines. In addition to revealing the molecular mechanisms underlying cell growth control, drug resistance and carcinogenesis, these genes constitute powerful tools for diagnosis, prognosis, drug design and gene therapy. Support: FAPESP, CNPq, FINEP, ICGEB and PRP-USP.

Simposios

EL NIÑO CAUSAS Y CONSECUENCIAS SOBRE PATRONES ECOLÓGICOS EN EL TIEMPO Y EL ESPACIO

Coordinadores: Julio Gutierrez & Francisco A. Squeo

FENOMENOS EL NIÑO Y LA NIÑA Y SUS IMPACTOS SOBRE LA VARIABILIDAD CLIMATICA EN CHILE. (El Niño and La Niña phenomena and their impacts on rainfall variability in Chile) Aceituno, P. Departamento de Geofísica - Universidad de Chile

Resultados de diversas investigaciones realizadas en los últimos 20 años han permitido mejorar considerablemente el conocimiento de los impactos climáticos de los fenómenos El Niño y La Niña en Chile, y de los mecanismos que los explican. Durante los veranos que coinciden con episodios de El Niño la precipitación tiende a ser deficitaria en el Altiplano de los Andes centrales (regiones I y II en Chile), así como también en la X Región. Por otra parte, la misma condición anómala en el Pacífico ecuatorial se asocia con lluvias más abundantes que lo normal en Chile central hasta los 35°S (Curicó) durante el invierno, y entre 35°S y 38°S (Temuco), durante la primavera. La presencia del fenómeno La Niña, caracterizado por aguas anormalmente frías en el Pacífico ecuatorial, se lo relaciona con anomalías pluviométricas de signo opuesto al descrito para el evento El Niño. Estas señales pluviométricas son manifestaciones locales de teleconexiones atmosféricas que se propagan desde el Pacífico ecuatorial central, sin que tenga una influencia significativa las anomalías de temperatura del mar frente a la costa de Chile. Es interesante destacar que la ocurrencia de una condición neutra en el Pacífico ecuatorial no asegura que el régimen pluviométrico sea normal. Por el contrario, son estas ocasiones las que generalmente se asocian a una máxima dispersión de escenarios pluviométricos.

IMPACTOS DE EL NIÑO EN AMBIENTES MARINOS COSTEROS EN RELACION A LA ESTABILIDAD DE SISTEMAS POBLACIONALES Y COMUNITARIOS, (El Niño impacts on coastal marine environments in regard with the stability of population and community systems) Camus, P.A. Facultad de Ciencias, Universidad Católica de la Ssma. Concepción; Center for Advanced Studies in Ecology & Biodiversity.

Estamos aún lejos de entender biológicamente los efectos de El Niño/La Niña en sistemas marinos ya que los estudios propiamente ecológicos son pocos, y la información acumulada es básicamente descriptiva, en general acotada en tiempo y espacio, y orientada principal y comprensiblemente a las pesquerías v su impacto socioeconómico. Pese a ello, los datos son suficientes para identificar efectos o vías de impacto recurrentes, permitiendo algunas generalizaciones tentativas: (a) la mayoría de los efectos deriva de un impacto negativo en la base de las tramas tróficas que se propaga de modo ascendente; (b) la propagación del impacto induce eventos de migración o cambios transitorios en los niveles poblacionales de sobrevivencia y/o reclutamiento; (c) lo anterior resulta en variaciones en la abundancia y distribución de poblaciones, usualmente taxa dependientes; y (d) tales variaciones pueden modificar en forma indirecta la organización, estructura y diversidad a nivel comunitario. Por otra parte, muchos efectos son episódicos y locales pero otros podrían propagarse a mayor escala espacio-temporal o incluso ser irreversibles. Esta fenomenología no permite establecer la resistencia y elasticidad de poblaciones y comunidades ante impactos interanuales o interdecadales, pero sugiere que tales propiedades sólo pueden inferirse a largo plazo.

RECLUTAMIENTO, DIVERSIDAD Y ABUNDANCIA DE PECES INTERMAREALES DE LA COSTA DE CHILE CENTRAL: EL EFECTO DE EL NIÑO Y LA NIÑA (Recruitment, diversity and abundance of intertidal fishes in the central Chilean coast: the effect of El NIÑO and La NIÑA) Ojeda, F. Patricio. Centro de Estudios Avanzados en Ecología y Biodiversidad, Depto. Ecología, P. Universidad Católica de Chile. Casilla 114-D, Santiago, Chile.

Desde el verano de 1997 y hasta la fecha hemos estado estudiando la composición, diversidad y abundancia de peces intermareales en 10 pozas de la costa de Chile central. Durante este tiempo en el Pacífico Suroriental han ocurrido dos eventos climáticos: un fenómeno de El Niño (entre el verano de 1997 al otoño de 1998) seguido inmediatamente de un evento La Niña (entre el invierno de 1998 al verano del 2001). Durante la fase cálida (El Niño 97-98) la abundancia y la riqueza de especies de peces intermareales fue muy baja con no más de 300 individuos y 4 especies en todo el sistema estudiado. Tanto el número de especies como la abundancia se incrementaron significativamente con el enfriamiento de las aguas observado a partir del invierno de 1998 (evento La Niña), lo que se explicaría por la aparición de especies transitorias que ocupan estas pozas estacionalmente y por sucesivos eventos de reclutamiento de las especies residentes. El hecho de que el Indice de Oscilación del Sur (IOS) se relacione positivamente con la riqueza de especies en su fase negativa y sea constante (saturado) en su fase positiva sugiere que la regulación de estos ensambles es fuertemente afectado por factores ambientales relacionados con el fenómeno de El Niño (profundización de la termoclina y empobrecimiento de la capa superficial). Por otra parte, la saturación de especies observada durante La Niña indicaría que la regulación ocurriría por efecto de interacciones biológicas va que el enfriamiento de las aguas tiene como efecto neto el enriquecimiento del sistema costero. Todo esto indica que, a diferencia de lo que sucede en los sistemas terrestres, durante La Niña se manejaría un control bottom-up de estos sistemas. Financió proyecto Fondap-Fondecyt 1501-0001 CASEB (Programa 5).

EL PAPEL DE EL NIÑO EN LA REGENERACION DE COMUNIDADES VEGETALES DE ZONAS ARIDAS (The role of El Niño in the regeneration of arid plant communities). Gutiérrez, J.R., Squeo, F.A., Meserve, P.L., Holmgren, M. Universidad de La Serena, Northern Illinois University, USA, Wageningen University, Holanda.

El incremento de las precipitaciones durante un evento El Niño/Oscilación del Sur(ENOS) es crucial para el reclutamiento y productividad de ecosistemas áridos y semiáridos. Aunque la germinación masiva de las anuales es el efecto más espectacular, las hierbas perennes, los arbustos y árboles también tienden a mostrar incrementos significativos en crecimiento, floración y producción de frutos. Un experimento de campo de gran escala conducido en el Parque Nacional Fray Jorge, Chile por 14 años (desde 1989), ha mostrado que la cobertura de arbustos y plantas perennes se puede incrementar significativamente cuando se excluye los roedores herbívoros o cuando se permite que los depredadores (rapaces y zorros) tengan acceso a los herbívoros. Los eventos lluviosos de ENOS podrían causar, de manera importante, efectos de larga duración en la vegetación árida, así como pueden abrir raras ventanas de oportunidad para el reclutamiento de árboles y arbustos. Se da a conocer un proyecto que intenta evaluar si una reducción de los herbívoros, en conjunto con los incrementos en disponibilidad de agua asociados a los eventos ENOS, se puede usar para estimular la regeneración de árboles y arbustos nativos en ecosistemas áridos degradados de Chile y Perú.

Financia FONDECYT 1000041, 1000035 y ICA4-CT-2001-100051 EFECTOS ECOLOGICOS DE EL NIÑO EN ECOSISTEMAS TERRESTRES DE SUDAMERICA OCCIDENTAL (Ecological effects of El Niño in terrestrial ecosystems of western South America) Jaksic, FM. Center for Advanced Studies in Ecology & Biodiversity, Chile.

Realizo una revisión sobre cómo El Niño determina condiciones atmosféricas y oceanográficas peculiares en Sudamérica occidental, afectando los patrones de precipitación en masas terrestres advacentes, con efectos sobre organismos tanto marinos como terrestres. En lo referente a ecosistemas terrestres, presento las siguientes respuestas bióticas asociadas a El Niño: (1) La vegetación responde en cobertura inmediatamente en el caso de hierbas pero no de arbustos. (2) El banco de semillas se recupera inmediatamente en plantas efímeras, pero en perennes se recupera un año más tarde. (3) Los micromamíferos pequeños muestran una explosión numérica dentro de pocos meses, pero los más grandes toman un año entero antes de incrementarse. (4) Los números de predadores aumentan con un año de retraso en relación a los micromamíferos, y los predadores más pequeños son los que reaccionan más rápido, tanto funcional como numéricamente. Considerando estas respuestas, ofrezco un modelo simplificado de control ascendente («bottom-up») en ecosistemas terrestres de Sudamérica occidental, mediado por El Niño. Aparte de las conexiones directas ya mencionadas, existe también una retroalimentación entre el compartimento vegetal (follaje y semillas) y sus herbívoros, donde la productividad primaria es la fuerza de empuje y parece poco afectada por la herbivoría. Otra retroalimentación conecta a los predadores con los herbívoros de que se alimentan y su intensidad es variable entre especies.

RESPUESTAS FISIOLÓGICAS Y MOLECULARES DE LAS PLANTAS A ESTRÉS BIÓTICO Y ABIÓTICO

Coordinadores: Luz María Pérez & Luis Corcuera

PAPEL DEL ACIDO SALICILICO EN INDUCIR DEFENSAS ANTIOXIDANTES Y DESTOXIFICANTES EN CONDICIONES DE ESTRES EN PLANTAS (Role of salicylic acid in the induction of antioxidant and detoxifying defenses in stress in plants). Holuigue L, Garretón V, Uquillas C, Blanco C, González L, Salinas P, Letelier I. Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Salicylic acid (SA) plays a crucial role in activating defense genes for stress resistance in plants. One class of genes early activated by SA is GSTs coding for glutathione S-transferases. In plants, GSTs play a key role in detoxification of xenobiotics, secondary products and reactive oxygen species. A defined SA-responsive element (named as-1) has been found in the promoter of several SA-inducible GSTs, such as GNT35 from tobacco and GST6 from Arabidopsis thaliana. However, the mechanism by which SA activates transcription of these genes is still not clear. Here we provide evidence-indicating participation of oxidative species. This evidence was obtained by evaluating the effect of antioxidants and pro-oxidative conditions on SA-activated expression of GNT35 and (as-1) / GUS genes, and binding of nuclear proteins to the as-1 sequence. We also determined that the activation of this pathway by SA is NPR1-independent. NPR1 was previously described as an essential protein for SA activation of late defenses genes (as PR genes). This result indicates that SA uses different pathways for early activation of GST genes than for late activation of PR genes. We further characterize the group of early genes that are co-regulated with GST6 in Arabidopsis, using the cDNA-AFLP technique. This will allow us to determine the role of as-1 and other promoter sequences in the concerted activation of early genes by SA. This work was supported by research grants 8980005 and 12020593 from Fondecyt.

ADAPTACIONES FISIOLOGICAS Y METABOLICAS DE LAS PLANTAS A LA DEFICIENCIA DE FOSFORO (Physiological and metabolic adaptation to phosphorus deficiency in plants). Peñaloza, E.¹, Corcuera, J.L.², Martínez, J.² y Muñoz, G.¹¹INIA Carillanca, Temuco, Chile. ²Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

Phosphorus (P) is one of the most important but least available nutrients required for plants. Low availability is due to its rapid immobilization by soil organic and inorganic compounds. Plants have evolved adaptations in response to this stress, which are directed to recycle phosphate (Pi) from intracellular stores and to mobilize it from organic P sources in the soil. Some species exhibit an additional strategy that allows them to further mobilize Pi from inorganic P stores by releasing organic acids from roots. Since the ability to withstand P stress will finally depend on Pi acquisition efficiency, our research has focused on the physiological and molecular aspects of the P deficiency-induced organic acid release. By using white lupin (Lupinus albus) as model, we have shown that the carboxylate release which occurs through specialized proteoid root clusters, it is preceded by carboxylate accumulation, where phosphoenolpyruvate carboxylase seems to play an important role. Molecular studies on such root tissue have provided information regarding gene expression implicated in this adaptive trait. Altogether, these studies would allow identifying possible targets for plant improvement, and are based on the fact that P mobilization from soils plays a mayor role in the adaptation of plants to P deficiency.

Funding: FIA (BIOT 01-A-36), FONDECYT (2990040) and INIA (219-16).

LAS PROTEINAS ANTICONGELANTES MODIFICAN EL CRECIMIENTO DEL HIELO IN PLANTA. (Antifreeze Proteins Modify the Growth of Ice In Planta) Griffith M, Department of Biology, University of Waterloo, Waterloo, ON N2L 3G1, Canada

Antifreeze proteins (AFPs) bind to the surface of ice and change its shape during freezing. However, AFPs isolated from fish and insects have been reported to cryoprotect proteins and membranes. To better understand the role of AFPs in plants, we extracted AFPs from winter rye leaves and determined if they protected rabbit lactate dehydrogenase (LDH) activity and the volume of spinach thylakoids subjected to freeze-thaw cycles. LDH activity was higher after freezing and thawing in solutions containing rye AFPs, but the protection was no greater than that observed in the presence of bovine serum albumin and was due to the nonspecific effects of increased protein concentration. Spinach thylakoids frozen and thawed in the presence of rye AFPs lost the ability to stack after adding Mg²⁺. In this case, the presence of rye AFPs during freezing and thawing was injurious. In cold-acclimated rye plants, AFPs accumulate in the apoplast where ice forms during freezing, so we examined the freezing of rye leaves by infrared thermography. After nucleating with ice on the leaf surface, nonacclimated rye leaves froze continuously. In contrast, cold-acclimated rye leaves that had accumulated AFPs froze at a lower temperature. We conclude that the rye AFPs are not cryoprotective in plants, rather they influence the initial freezing process in the tissues by interacting

Funded by the Natural Science and Engineering Research Council of Canada.

DESHIDRINAS INDUCIDAS POR FRÍO: ¿TIENEN UN PAPEL CRIOPROTECTOR? (Cold-induced dehydrins: Do they have a cryoprotective role?) Bravo, L. A. Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción. E-mail: lebravo@udec.cl

P-80 is a cold-induced 80 KDa dehydrin from barley. This protein has the same apparent molecular mass as Dhn5, a previously described dehydrin from barley cv Himalaya. P-80 was immunolocalized in the vicinity of vascular cylinders and in the epidermis of leaves and stems. Both tissues have been reported to be sites of early ice nucleation during controlled freezing. It is proposed that this protein cryoprotects macromolecules and frost sensitive structures. In this work, P-80 and Dhn5 were purified with the purposes of demonstrating their cryoprotective activity in vitro, and comparing both proteins. The RT-PCR picked a major band when using Dhn5 specific primers in four cold acclimated barley cultivars. Both proteins have similar amino acid composition. The analysis of proteolytic fragments of Dhn5 and P-80 by reverse phase chromatography showed nearly the same pattern. Furthermore, both proteins were able to cryoprotect LDH against freeze/thaw inactivation, showing a similar shape dependence upon concentration and almost the same PD₅₀. There is only one cryoprotective dehydrin with higher activity than P-80 and Dhn5. Further research is necessary to establish if the observed in vitro cryoprotective activity of this protein is important for cryoprotection in vivo. The importance of the K consensus repeat in cryoprotective activity of dehydrins will be discussed.

Fondecyt 1980552

TOLERANCIA AL ESTRES ABIOTICO EN PLANTAS: PEPEL DE LAS PROTEINAS TEMPRANAS INDUCIBLES POR LUZ (ELIPS) Y DE ALDEHIDO DESHIDROGENASAS (ALDHS) (Abiotic Stress Tolerance in Plants: The Role of Early Light-inducible Proteins (ELIPS) and Aldehyde Dehydrogenases (ALDHS)). Wood, A.J., Department of Plant Biology, Southern Illinois University, Carbondale, IL, 62901-6509 USA. wood@plant.siu.edu; FAX (618) 453-5609

Research in my laboratory has used the desiccation-tolerant moss Tortula ruralis in order to understand the molecular and biochemical mechanisms of abiotic stress-tolerance in plants. Our efforts have focused upon those inducible gene products that serve to protect the cell from damage induced by a variety of stresses including salinity, UV-exposure, severe waterdeficit and desiccation. We have employed analysis of expressed sequence tags (ESTs) to discover a suite of genes that may mediate vegetative desiccation tolerance in T. ruralis and have subsequently identified 4 full-length cDNAs: two early light-inducible protein (ELIP) homologues designated Elipa & Elipb, and two aldehyde dehydrogenase (ALDH) homologues designated Aldh7B6 & Aldh21A1. ELIPs are postulated to act as transient pigment-binding proteins and protect the chloroplast from light-induced damage that results from the presence of "free" chlorophyll. ALDHs represent an important pathway for the detoxification of osmotic- and oxidative-stress-induced aldehydes by oxidation to their corresponding carboxylic acids. We postulate that ELIPs and ALDHs play a fundamental role in the vegetative desiccationtolerance of plants. The structure, function and expression of these genes will be discussed in detail, and a molecular model for abiotic stress-tolerance in plants will be presented.

ENFOQUES MOLECULARES Y CELULARES EN INMUNOTERAPIA MODERNA

Coordinadores: Juan C. Aguillón & Flavio Salazar

ANTICUERPOS MEJORADOS ANTI-FACTOR DE NECROSIS TUMORAL (TNF) EN ARTRITIS REUMATOIDE: INFLUENCIA DEL POLIMORFISMO –308 DEL PROMOTOR DE TNF. (Improved anti-TNF-α antibodies in rheumatoid arthritis: Influence of the –308 TNF promoter polymorphism). Aguillón, JC¹, Cuchacovich, M². ¹Programa de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina. ²Sección Reumatología, Hospital Clínico JJ. Aguirre. Universidad de Chile.

Hemos investigado la influencia del polimorfismo mononucleotídico (SNP)–308 del promotor de TNF en la respuesta clínica a la administración del anticuerpo monoclonal anti-TNF quimérico (Infliximab) y los niveles circulantes de TNF en pacientes con artritis reumatoide (AR).

Reclutamos 20 pacientes, 10 G/A y 10 G/G. La genotipificación se realizó por PCR-RFLP. Todos los pacientes recibieron 3 mg/kg de infliximab al inicio del estudio (semana 0) y a las semanas 2 y 6. Ambos grupos mostraron una mejoría con el tratamiento respecto a todas las variables estudiadas. El análisis de mejoramiento del dolor del paciente (PAP) mostró una diferencia significativa entre grupos, luego de la segunda (p = 0.09) y tercera dosis (p = 0.009). Los niveles promedios totales de TNF aumentaron respecto a los basales (p < 0.01) en la mayoría de los 19 pacientes después del tratamiento con infliximab (15.4 \pm 22.6 pg/ml basal, 72.7 \pm 55.7 después de la primera, $101.4 \pm 80.2 \text{ pg/ml}$, segunda, y $154.2 \pm 145.6 \text{ pg/ml}$ tercera dosis, respectivamente). Nueve pacientes que alcanzaron ACR20 post primera dosis, lograron ACR50 después de dosis subsecuentes, mientras los niveles promedios de TNF también aumentaron (p = 0.037).

FINANCIAMIENTO: Fondecyt 1990936, DID-U.Chile-ENL-02/13 y Schering-Plough.

ANTICUERPOS RECOMBINANTES TERAPEUTICOS (Therapeutic Recombinant Antibodies). Gavilondo, J.V. Lab. Anticuerpos Recombinantes, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba.

Desde la década pasada, los anticuerpos se han consolidado como una exitosa plataforma de agentes terapéuticos. Además de los 12 anticuerpos terapéuticos ya registrados, existen unos 200 en ensayos clínicos, y se estiman en unos 700 aquellos en desarrollo para el tratamiento del cáncer, de las enfermedades vasculares, neurológicas, autoinmunes, inflamatorias, infecciosas, alérgicas y respiratorias, de los desórdenes sanguíneos, y para la facilitación del trasplante de órganos y tejidos. A ello ha contribuido la ingeniería genética, con la introducción de procedimientos de "humanización" de anticuerpos murinos, la creación de fragmentos de inmunoglobulinas con mayor penetrabilidad tisular y de anticuerpos fusionados a moléculas con actividad biológica, la obtención de bibliotecas de anticuerpos y animales transgénicos para los loci de las inmunoglobulinas, que permiten obtener anticuerpos monoclonales totalmente humanos y, en el primer caso, manipular la afinidad y, por último, el desarrollo de nuevas alternativas productivas, como la expresión de inmunoglobulinas recombinantes activas en leche de mamíferos, en huevos de aves, y en tejidos vegetales. En consonancia con estos avances, el mercado mundial de anticuerpos recombinantes debe llegar a mediados de la presente década a unos 7 000 millones de dólares, sin contar el impacto de los anticuerpos recombinantes en el sector diagnóstico, y en las técnicas asociadas a la genómica y la proteómica. La presentación tocará estos temas, ilustrándolos con avances en el desarrollo y aplicación de estas tecnologías en Cuba.

IMMUNIZATION WITH DENDRITIC CELLS GENERATED IN THE PRESENCE OF GM-CSF AND IL-13 LOADED WITH AN ALLOGENEIC MELANOMA CELL LYSATE: A PHASE ISTUDY IN PATIENTS WITH METASTATIC MELANOMA*. Margarita Salcedo. IDM (Immuno-Designed Molecules), Paris, France.

Objective: The objective of this study was to evaluate the safety of immunizations with autologous D@ pulsed with a lysate derived from the allogeneic melanoma cell line M17 in patients with advanced melanoma, and to assess the immune and clinical responses induced after vaccination. We have standardized a clinically compatible process to generate a large quantity of monocyte-derived dendritic cells referred to as Dendritophages (Data) which are differentiated in serumfree medium containing GM-CSF and IL-13. Design and methods: Sixteen stage III or IV melanoma patients were included in the study. Vaccinations were performed at days 0, 22, 43 and 85 with an average of 4.4 x 107 D47, injected subcutaneously, intradermally and intranodally. Half of the cells were loaded with a tumor cell lysate and half with the control antigens hepatitis B surface protein and tetanus toxoid. Results: No severe adverse events related to the vaccination were observed. Preliminary results have shown the presence of specific immune responses against both control and tumor antigens in treated patients after vaccination. These responses have been detected ex-vivo in peripheral blood by IFN-ELISPOT. Objective clinical responses have been observed after completion of the treatment in 2 out of 8 evaluable patients. Conclusion: These results indicate that this type of vaccination is safe and suggest that vaccination with $D \oplus may$ induce tumor specific immune responses and have an antitumor effect in vivo.

*Study financed by an EU grant. Contract BIO4-97-2216 "Cellular Vaccines"

INMUNOLOGIA ANTI TUMORAL Y DISEÑO DE INMUNOTERAPIAS CONTRA EL CANCER. Salazar-Onfray, F. Programa Disciplinario de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina. Universidad de Chile. Santiago.

Los linfocitos T reconocen antígenos asociados a tumores procesados y presentados en asociación con las moléculas MHC. La gran mayoría de los antígenos asociados a tumor (TAA) son péptidos derivados de proteínas normales asociadas a cierto fenotipo tisular. En melanoma existen antígenos como MART-1, gp100, tirosinasa, derivados de proteínas involucradas en la síntesis de melanina y expresadas tanto en el tumor como en los melanocitos. Nosotros hemos identificado y analizado la distribución de un nuevo antígeno de melanoma, el Receptor Melanocortina 1 (MC1R), evaluando la expresión de este receptor en diferentes tejidos y hemos demostrado la existencia de linfocitos T citotóxicos dirigidos contra epitopos de esta proteína. Por otra parte, la paradoja entre la existencia de células anti-tumorales y la progresión sistemática de la enfermedad, sugieren la existencia de mecanismos mediados por el tumor para evadir la respuesta inmune. Estas estrategias van desde la secreción por parte del tumor de factores inmunoinhibidores, hasta mutaciones de moléculas relacionadas con la presentación antigénica, especialmente las moléculas MHC. En estudios recientes hemos descrito el papel que juega la citoquina IL-10 en la regulación de la presentación antigénica y en el escape de los tumores al reconocimiento por el sistema inmune. Finalmente, nos encontramos realizando las primeras experiencias de vacunas basadas en células dendríticas cargadas con extractos tumorales para el tratamiento del melanoma maligno en Chile. Estos estudios permitirán el desarrollo de inmunoterapias anti cáncer como tratamientos alternativos.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1000888

INVASIONES BIOLOGICAS EN CHILE

Coordinador: Ramiro Bustamante

INVASIONES BIOLOGICAS: UNA MIRADA RETROS-PECTIVA Y AL FUTURO. (Biological invasions: a retrospective view and to the future) Eduardo H. Rapoport. Universidad Nacional del Comahue, CRUB, Bariloche/ CONICET.

Se hace una revisión de los temas investigados en Bariloche, Londres y Ciudad de México desde 1972. Una primera estimativa de la contaminación por especies polución, sensu stricto) hecha en 1976 sobre la base de 41.000 especies de la fauna y flora mundial dio un valor de 14% de especies alienígenas transportadas por el hombre. El fenómeno se analiza a nivel micro-, meso- y macrogeográfico.

Desde el momento en que el proceso de mescolanza se ha venido incrementando los últimos cinco siglos, sin visos de disminuir, y menos aún de interrumpir, es previsible un mundo futuro más abigarrado que el actual, con mayor biodiversidad a nivel local pero con un bagaje genético empobrecido a nivel regional y mundial.

Para el caso especial de las plantas invasoras, se adelantan algunas propuestas para su aprovechamiento y convivencia. Se presentan también datos recientes sobre la relación entre agresividad, amplitud geográfica y comestibilidad.

CAMINOS COMO CORREDORES DE DISPERSION PARA PLANTAS EXOTICAS EN AREAS PROTEGI-DAS DEL CENTRO-SUR DE CHILE: EL ROL DE LA ALTITUD, EL USO DE LA TIERRA Y EL CONTEXTO TERRITORIAL. (Roads as dispersal corridors for alien plants in protected areas of south-central Chile: the role of elevation, land-use and landscape context). Pauchard, A. y Alaback, P. B. University of Montana. Missoula, EEUU.

La invasión de plantas exóticas es una amenaza para las áreas protegidas. Sin embargo, existe poca información sobre los factores que determinan, a escala de paisaje, estas invasiones. Se estudiaron las plantas exóticas en orillas de caminos y bordes bosque-camino en los Parques Nacionales Villarrica y Huerquehue. Usando transectos de 500 m, todas las especies exóticas y su abundancia fueron registradas en 21 km de caminos dentro de los parques y 22 km en las matrices de los parques. En bordes bosque-camino se establecieron 15 transectos y registraron todas las especies de plantas vasculares y su abundancia. De las 66 especies exóticas encontradas, 61 estaban presentes fuera de los parques y 39 dentro de ellos. En orillas de caminos, la riqueza de especies exóticas se correlacionó negativamente con la altitud ($R^2=0.56$, p<0.001). Altitud, uso de la tierra y su interacción explicaron 74% de la variación en la riqueza de especies exóticas en orillas de caminos. No encontramos un efecto de borde significativo en las especies nativas y exóticas. Nuestros resultados sugieren quelos caminos actúan como corredores de dispersión de especies exóticas y que altitud, uso de la tierra y contexto territorial influyen en los procesos de invasión.

EFECTO DE LA VEGETACION NATIVA SOBRE LA RI-QUEZA DE ESPECIES INTRODUCIDAS EN COMUNIDA-DES VEGETALES DEL CENTRO-SUR DE CHILE (Effects of native vegetation on alien species richness in plant communities of central-south of Chile). Becerra, P. Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La abundancia y riqueza de especies autóctonas de una comunidad y el grado de perturbación que presente puede afectar su invasibilidad. En este trabajo, se analiza cómo se relaciona la riqueza de especies introducidas con la cobertura y riqueza de especies nativas, cobertura de especies arbóreas (utilizada como indicador del grado de perturbación), y con el tamaño del pool de especies introducidas disponible en cada comunidad. Se utilizaron diferentes comunidades de bosque y praderas antropogénicas del centro-sur de Chile.

En un análisis por comunidad, la cobertura de especies arbóreas y cobertura de especies nativas estuvieron negativamente relacionadas con la riqueza de especies introducidas. En un análisis global, la cobertura arbórea y el pool de especies introducidas se relacionaron significativamente con la riqueza de especies introducidas, en forma negativa y positiva respectivamente. Sin embargo, al considerar sólo las comunidades de bosque, solamente el pool de especies introducidas se relacionó con la riqueza de éstas, indicando que sólo al disminuir significativamente el dosel arbóreo la invasión aumenta. Además, la riqueza de especies introducidas fue significativamente mayor en bosques decíduos que en siempreverdes. Esto sugiere que la periodicidad del follaje de las especies arbóreas dominantes puede ser un factor importante en el grado de invasibilidad de los bosques nativos.

BECARIO CONICYT

FRAGMENTACION E INVASION DEL BOSQUE MAULINO COSTERO: ¿RESISTIRAN LOS FRAGMENTOS LA INVASION POR PINUS RADIATA? . (Fragmentation and invasión of the Coastal Maulino forest: will fragments resist invasión by Pinus radiata?) Bustamante, R.O. & Simonetti, J.A.Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago.

Pinus radiata es una especie invasora. Chile posee la mayor superficie plantada de P. radiata del mundo. Estas plantaciones actúan como una matriz en donde permanecen inmersos fragmentos de bosque nativo. Si P. radiata invade los fragmentos de bosque, éstos podrían modificar su biodiversidad. Nosotros evaluamos si P. radiata estaría invadiendo fragmentos de bosque Maulino costero. Primero, estimamos la distribución y abundancia de plántulas en un sector de bosque maulino continuo y en fragmentos con diferente grado de perturbación. Luego, analizamos experimentalmente la probabilidad de germinación y establecimiento de plántulas de P. radiata en borde e interior de fragmentos y bosque continuo y además en las plantaciones de pinos.

Las plántulas son más abundantes en fragmentos perturbados (menor cobertura arbórea) e inexistentes en el bosque continuo. En fragmentos menos perturbados, las plántulas se ubican preferentemente en los bordes. Este patrón es consistente con las probabilidades de germinación y reclutamiento. Las semillas germinan y reclutan más en los bordes de los fragmentos. No existe reclutamiento de plántulas ni al interior del bosque continuo ni en los fragmentos menos perturbados. Esto sugiere que los fragmentos de bosque Maulino serían resistentes a la invasión por *P. radiata* en la medida que mantengan una cobertura arbórea densa. Fondecyt 1010852

HYPOXIA AND FETAL VASCULAR DYSFUNCTION

Coordinador: Luis Sobrevia

MODULATION OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR-B AND HEME OXYGENASE SIGNALLING IN VASCULAR CELLS BY OXIDATIVE STRESS AND HYPOXIA. Richard CM Siow. Centre for Cardiovascular Biology & Medicine, GKT School of Biomedical Sciences, King's College, University of London, Guy's Hospital, London, UK.

Increased levels of reactive oxygen species (ROS) and low oxygen tension at the vessel wall contribute to vascular diseases. The stress protein heme oxygenase-1 (HO-1) is induced by both ROS and hypoxia. HO-1 catabolises heme to generate the antioxidant bilirubin and vasodilator carbon monoxide, which can protect against vascular injury. Transforming growth factor-β1 (TGF-β1) promotes migratory and proliferative responses in smooth muscle cells (SMC) in vascular diseases such as atherosclerosis and restenosis. Hypoxia and reoxygenation can result in release of reactive oxygen species and alter TGF-β signalling. It is therefore possible that modulation of TGF-β1 signalling may play a role in vascular dysfunction through interactions with the HO-1 and nitric oxide pathways. We have investigated whether the oxidative stress agents or hypoxia induce TGF-\(\beta\)1 and HO-1 expression in human aortic SMC. TGFβ-1 signalling was attenuated by over expression of the endogenous inhibitor, Smad7 using an adenoviral vector. Hypoxia and oxidative stress agents induce HO-1 expression and release of TGF-β1 from SMC. Induction of HO-1, but not TGF-\(\beta\)1 release, was attenuated in cells transfected with smad7. We have demonstrated for the first time that TGF-\$1 signalling can modulate HO-1 induction by ROS and hypoxia, thus providing further insights in to mechanisms involved in SMC dysfunction in vascular diseases.

Supported by the British Heart Foundation (UK).

CHRONIC HYPOXIA AND INTRAUTERINE GROWTH RETARDATION, TWO MODELS OF ENDOTELIAL DYSFUNCTION ASSOCIATED WITH LOWER ACTIVITY OF L-ARGININE/NITRIC OXIDE PATHWAY IN HUMAN FOETAL ENDOTHELIUM. Paola Casanello^{1,2} & Luis Sobrevia¹, 'Celular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL), Faculty of Biological Sciences & ²Department of Obstetrics and Gynaecology, Faculty of Medicine, University of Concepcion, Chile.

Intrauterine growth restriction (IUGR) is associated with vascular complications, chronic foetal hypoxia, altered foetal development and adult vascular disorders. In pregnancies complicated by IUGR both the uteroplacental and fetoplacental circulation resistance are increased. Endothelial regulation of fetoplacental vascular tone becomes abnormal. We have studied the effect of hypoxia and IUGR on the activity, expression and regulation of the L-arginine/nitric oxide (NO) pathway in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs). HUVECs from IUGR pregnancies cultured under normoxia or in HUVECs from normal pregnancies cultured under hypoxia (2% O₂, 5% CO₂, 93% N₂, 24 hours) L-arginine transport and NO synthesis are reduced, an effect associated with membrane depolarisation. L-arginine transport is transstimulated (8-9 fold) by L-lysine in both normal and IUGR HUVECs. In IUGR as well as normal HUVECs under hypoxia, lower levels of mRNA for hCAT-1 and hCAT-2B, and higher levels for endothelial NO synthase (eNOS) mRNA and protein were detected. The NO donor SNAP reverted the effect of hypoxia and IUGR on L-arginine transport, NO synthesis and membrane depolarisation. cDNA microarray experiments suggest the involvement of PKC, CATs and ERK1/2 in hypoxia and IUGR. Thus, the L-arginine/NO pathway alterations could be crucial in the pathophysiology involved in the aetiology of IUGR in human pregnancies associated to foetal hypoxia. Supported by FONDECYT 1000354 & 7000354, DIUC 201.084.003-1, University of Concepcion, Chile, and The Wellcome Trust, U.K.

ENDOTHELIAL CELL BIOLOGY: RECENT ADVANCES. Jeremy D Pearson. Centre for Cardiovascular Biology & Medicine, King's College London. UK.

Over the last 25 years, as isolation and culture of endothelial cells became more straightforward, the previous view that vascular endothelium forms a passive blood-compatible semipermeable barrier between the vascular lumen and extravascular tissues has been overturned. We now recognise that endothelial cells are actively involved in the regulation of all aspects of vascular homeostasis, including control of blood clotting, platelet activation, vascular tone, and leukocyte traffic and altered permeability during inflammation. This is due to the ability of endothelium to modulate its phenotype either rapidly and transiently (e.g. by the secretion of powerful vasoactive mediators such as NO) or more slowly and in a longer-lasting manner (e.g. by upregulation of surface-expressed leukocytebinding adhesion molecules). More recently, genetic manipulation has led to substantial novel insights into the processes of embryonic vasculogenesis (initial development of blood vessels) and angiogenesis (extension and growth of existing blood vessels), both of which critically involve responses to hypoxia, driven primarily by the endothelial cellspecific mitogen VEGF, and the subsequent maturation of the vessels by the endothelial cell directed recruitment of pericytes and smooth muscle cells. The latest discovery, with potential for therapeutic exploitation, has been that bone marrow-derived endothelial cell precursors exist in the circulation in adults, that their numbers can be enhanced, and that these cells contribute significantly to angiogenesis in response to tissue injury or ischaemia. This presentation will provide a brief overview of endothelial cell biology with the emphasis on recent findings, as a background to the following presentations in this symposium.

THE FETAL AND NEONATAL LLAMA (LAMA GLAMA). A HIGHLANDER POINT OF VIEW OF HYPOXIA. Llanos JA^{1,6}, Riquelme RA², Sanhueza EM¹, Herrera EA¹, Pulgar VM¹, Reyes VR¹, Giussani DA³, Blanco CE⁴, Hanson MA⁵. ¹Programa Fisiopatología, ICBM, Facultad Medicina, ²Departamento Bioquímica Biología Molecular, Facultad Ciencias Químicas Farmacéuticas, ⁶INCAS, U Chile, ³Department Physiology, U Cambridge, ⁴Department Pediatrics, U Maastricht, ⁵CFOAD, U Southampton.

The llama, has dwelled in the Andean altiplano for millions of years. We hypothesise that a pool of genes has been selected in the llama that express efficient mechanisms to withstand hypoxia. The responses of the fetal and neonatal llama to acute hypoxia are different from that found in lowland species. The fetal and neonatal llama respond with an intense peripheral and pulmonary vasoconstriction which is greater than fetal and neonatal sheep. While bilateral sectioning of the carotid sinus nerve did not affect the intense vasoconstriction during fetal hypoxia, there was a marked increase in fetal plasma concentrations of vasoconstrictor hormones, such catecholamines, neuropeptide Y and vasopressin. Furthermore, blocking the α-adrenergic receptors during hypoxia, not only abolished the peripheral vasoconstriction, but prevented the fetal survival. The response of isolated small femoral arteries from newborn llama to phenylephrine was much greater than neonatal sheep. These findings suggest a vital upregulation of α-adrenergic mechanisms in high altitude species. Local endothelial factors, such as nitric oxide, also provide an important vasodilator tone in the systemic and pulmonary circulations in the fetal and neonatal llama. The latter mechanism counteract the intense vasoconstrictor tone observed in the perinatal period in the llama

(FONDECYT1010636, The Wellcome Trust).

INTERACTIONS OF ADENOSINE AND NITRIC OXIDE IN SKELETAL MUSCLE IN SYSTEMIC HYPOXIA.

Janice Marshall. Department of Physiology, The Medical School, Birmingham, B15 2TT, UK.

Vasodilatation induced in skeletal muscle by systemic hypoxia is largely mediated by adenosine, which acts on adenosine A₁ receptors in a nitric oxide (NO)-dependent manner. This adenosine-induced dilatation is also dependent on prostaglandin (PG) synthesis. By using an NO electrode on arteries ex vivo, we recently showed that A₁-stimulated release of NO is attenuated by PG synthesis inhibition, or adenylcyclase inhibition, and that PGI2 can stimulate NO synthesis (NOS). Thus, A₁-evoked NO release is dependent on PGI₂ generation and cAMP-mediated stimulation of NOS. Our intravital microscopy showed the hypoxia-induced dilatation of proximal arterioles that regulate gross muscle blood flow, was attenuated by NOS inhibition, but restored by infusion of NO donor: this response was also adenosinemediated. Thus, adenosine continues to be released by hypoxia during NOS inhibition and dilates proximal arteriolar smooth muscle, providing NO is present. By contrast, hypoxiainduced dilatation of terminal arterioles that distribute O₂ through capillaries, is attenuated by NOS inhibition, but not restored by infusion of NO donor, suggesting their dilatation requires increased NO synthesis. This dilatation of terminal arterioles is critically important: it allows muscle O2 consumption to remain constant except in severe systemic hypoxia. Our most recent studies indicate adenosine is released from endothelial cells in systemic hypoxia and that this is NOdependent. We propose that because NO competes with O2 for the binding site on mitochondrial cytochrome oxidase, tonically-generated NO increases the sensitivity of cytochrome oxidase to falls in O₂ tension within the physiological range: adenosine is released when endothelial ATP generation fails.

MÉTODOS Y APROXIMACIONES PARA EL DISEÑO DE UNA RED DE ÁREAS DE CONSERVACIÓN PARA EL BOSQUE TEMPLADO CHILENO

Coordinadores: Dr. Juan Armesto & Dr. Pablo A. Marquet

The symposium is aimed at discussing conceptual and methodological approaches to design an interconnected system of protected areas, with emphasis on Temperate forests of Chiloé and the Lake District in Southern Chile. We will attempt to bring together well-known experts from the academic community as well as relevant actors from the private and public sectors. Our focus will be the Valdivian forest Ecoregion as a target to make recommendations about conservation priorities, identify the main gaps in knowledge, explore effective ways to achieve a better protection of biodiversity, and propose a theoretical framework that supports alternative scenarios for conservation and management. A central focus of this exercise will be biological connectivity between coastal and Andean Parks through the currently unprotected central depression.

THE TEMPERATE FOREST LANDSCAPES IN CHILE: WHAT IS LEFT AND WHERE IS IT?. (Los paisajes de bosque templado en Chile: ¿Qué es lo que queda y dónde está?) Lara A.¹, Neira E.¹, Echeverría C.¹ Rutherford P.², Solari, M.E³. Instituto de Silvicultura, ¹Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Ĉhile. ²Instituto de Geociencias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia. ³Instituto de Ciencias Sociales, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia.

Forest vegetation mapping of Chile was completed for the entire country in 1997, creating a GIS database, containing 641 maps, most of them at 1:50,000 scale with a minimum mapping unit of 6.25 ha. This study allowed the assessment of the cover, location, structure, dominant tree species and degree of human disturbance of native forests. This powerful database was analyzed with historical documentary data by an interdisciplinary team for the reconstruction of the original forest cover, prior to the European settlement (c. 1550), developing a new GIS database at a 1:500,000 scale for the forests of the Valdivian rainforest Eco-region (35° - 48° S). In the Maule Region (35°-36° 30 S), the present cover of native forest is 21% of the pre-European settlement forest, due to extensive forest clearing for agriculture and pasturelands. Conversely, In the Lake region (39° 30'-43° 50' S) forest clearing was not as extensive, and this region keeps 77% of the original forests. The Sclerophyllous forests dominated by Quillaja saponaria, Cryptocarya alba, Lithraea caustica, and Acacia caven was the most dramatically destroyed forest-type, with only 3% of the pre-settlement cover remaining today.

Finantial Support provided by CONAF, CONAMA, BIRF, WWF, Iniciativa Científica Milenio de Mideplan.

HABITAT CONNECTIVITY AND CONSERVATION OF ENDEMIC BIRDS IN CHILOÉ (Conectividad del habitat y la conservación de las aves endémicas en Chiloé). Willson, M.F. (University of Alaska), Darnell, T.M. and Sieving, K.E. (University of Florida).

Chilean rainforest supports a number of endemic bird species, which are subject to habitat loss and fragmentation as a result of extensive deforestation. Although endemic tapaculos can nest quite successfully in fragmented forest, habitat connectivity has important influences on their movement through the landscape. Playback experiments and experimental releases of radio-tagged chucao tapaculos showed that densely vegetated pathways (either wooded corridors in ravines, streamsides, and fencerows or shrubby successional fields) greatly facilitate movement among forest fragments. As a result of impaired movement through the landscape, banding studies showed that territorial male chucaos often lack mates and juvenile dispersal is restricted in isolated fragments. In order to maintain recruitment to all available habitat and prevent inbreeding, existing connections among fragments need to be maintained and, in some cases, augmented. In the present landscape of northern Chiloé, a network of woodlots with good understory habitat could be interconnected via ravines and second-growth woodlands to the extensive seacliffs, which are unusable by agriculture but offer dense vegetation, nest sites, and travel corridors for tapaculos. By this means, conservation of tapaculo populations in the region would be enhanced.

CONSERVATION OF BIODIVERSITY IN SOUTH AMERICAN TEMPERATE FORESTS: WHERE DO WE GO FROM HERE? (Conservación de la biodiversidad en los bosques templados de América del Sur: hacia donde vamos ahora?) Armesto, J.J. * & Smith-Ramírez, C. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias, Fundación Senda Darwin y * Center for Advanced Studies in Ecology and Biodiversity

The protection of biodiversity in the temperate forest region of southern South America is seriously hampered by the concentration of National Parks and Reserves in high-latitude, lower diversity areas, and the severe lack of protection of biologically- rich coastal and lowland forests. In the Lake District (39-43° S), 43,000 ha are protected in the Coastal Range in Chiloé, only 12,000 ha in the mainland vs. >500,000 ha in the Andes, mostly above 600 m elevation. Habitat protection is completely lacking in the central depression. A new conservation initiative, at a regional scale, is proposed to prevent the loss of species expected in remnant Coastal Range forests and to connect Andean Parks and Reserves with lowland and coastal ecosystems. Presently, Andean and coastal forests are separated by an 80-100 km gap of pastures and plantations of exotic trees. This conservation initiative consists of the design and development of a regional network of protected areas, both public and private, connecting coastal and Andean forests through the central depression. This "conservation corridor" should enhance conservation of coastal and lowland areas and facilitate the flow of organisms and genes across the central depression, increasing landscape "connectivity". Examples are discussed that support the value of this proposal.

FONDAP-Fondecyt 1501-001, Millennium Nucleus P99-103FICM, WWF, Biocores (European Union).

NETWORK THEORY FOR LANDSCAPES: APPLICATIONS TO CHILEAN TEMPERATE RAINFOREST FRAGMENTS (Teoría de redes para paisajes: Aplicaciones a fragmentos del bosque templado lluvioso). Keitt, T.H., Section of Integrative Biology, University of Texas, Austin, TX 78712 USA.

Spatial relationships in landscapes are conveniently represented by a network. Graph theory deals with networks, and there are a number of concepts in graph theory that can be applied to spatial analysis of landscapes. I consider several of these including shortest paths, minimum spanning tree and maximum flow calculations. The object of these analyses is to identify major dispersal routes in landscapes that may play a role in the maintenance of gene flow and metapopulation dynamics. I illustrate these methods with data on distribution of forest fragments in central Chile.

NURTURING ADAPTIVE CAPACITY FOR ECOLOGICAL SUSTAINABILITY: A PROPOSED CHILOÉ CASE STUDY. (Desarrollando capacidad adaptativa para la sustentabilidad ecológica: Chilóe como un caso de estudio propuesto.) Sieving, K. E.& Cumming, G. Department of Wildlife Ecology and Conservation, University of Florida, Gainesville FL 32611-0430 USA.

Human-dominated landscapes function as integrated social-ecological systems in studies of sustainable development and environmental change. Approaches to environmental management often lack true interdisciplinary integration. By contrast, the developing theory of social-ecological resilience, or panarchy, offers insights into understanding and identifying the dynamics of linked social-ecological systems and their responses to perturbations. Social-ecological resilience is conceived as (1) the capacity of a linked system to absorb disturbances without changing its essential structure or controls, (2) the system's ability to self-organize, and (3) the degree to which the system can learn and adapt. A central hypothesis of panarchy theory is that social-ecological resilience will reflect both the ecological and social sustainability of human systems.

We present a case-based proposal to study how road developments, and consequent changes in economic and social connectivity, will affect social-ecological resilience and adaptive capacity in 2 principal regions dominated by forest ecosystems: Chiloé Island in southern Chile (bridge extension of the coastal road project); and southwest Amazonia, at the juncture of the states of Madre de Dios (Peru), Acre (Brazil), and Pando (Bolivia). The Amazonian study will focus on the "Trans-oceanic" highway linking the Pacific and Atlantic coasts. One fundamental component of the proposed study design is scenario-building with stakeholders, including residents, regional, and national institutional representatives, because intentionality, reflexivity and wisdom in human systems are key components of adaptive capacity. Crossscale aspects of study design and projected study outcomes will be explained using the Chiloé case study, and related to planning for ecological sustainability in the central Depression between the coastal and Andean parks of Region X.

CLIMA EN UN CONTEXTO ECOLÓGICO Y EVOLUTIVO

Coordinador: Francisco Bozinovic

CLIMA EN UN CONTEXTO ECOLOGICO Y EVOLU-TIVO. (Climate in an ecological and evolutionary context). Bozinovic, F. Centro de Estudios Avanzados en Ecología & Biodiversidad, P. Universidad Católica de Chile, Santiago.

El Clima, definido como: meteorological conditions resulting from the combined effect of clouds, precipitation, temperature, humidity, visibility, wind velocity, and atmospheric pressure. Climate is weather conditions prevalent in an area over a period of time the long-term average weather... y sus patrones de variación son componentes importantes de cualquier hábitat natural. Consecuentemente, entender el rol del clima sobre los diferentes procesos biológicos que operan en el ámbito de los individuos y poblaciones representa un problema central en ecología y evolución.

En este simposio se discutirán tópicos contemporáneos orientados a entender el rol del clima sobre fenómenos ecológicos y evolutivos incluyendo aspectos de organización a nivel individual (conducta y fisiología), poblacional (dinámica), biogeográficos e históricos.

Financiado por FONDAP (CASEB Programa 1) No. 1501-001

BEHAVIOR AS A BUFFER OF CLIMATE CHANGE. (La conducta como un tampón al cambio climático). Huey, R.B., Hertz P.E., & Sinervo B., Department of Zoology Box 351800, University of Washington, Seattle, Washington 98195-1800 USA; Department of Biology, Barnard College, Columbia University, New York, New York 10027 USA; Department of Ecology and Evolution, University of California, Santa Cruz, California 95064 USA

Discussion of the ecological consequences of climate change usually assume that organisms will passively accept changes in their environments. Thus if climate warms, then an organism's body temperatures will also increase. However, many ectotherms routinely use behavioral adjustments (e.g., changing time of activity, habitat selection) to buffer daily and seasonal changes in the thermal environment. How effective might behavior be as a buffer against climate warming? To answer this question, we develop and apply a null model that evaluates whether plastic regulatory behaviors (e.g., thermoregulatory behaviors) can inhibit selection for evolutionary shifts in thermal physiology with altitude (spatial climate change). Our approach requires information on predicted shifts in body temperature with altitude of real and of hypothetical non-regulating lizards, and of the impact of temperature on performance. Our analysis shows that thermoregulatory behaviors indeed help buffer selection along a climate gradient: non-regulating lizards would experience much greater declines in T_b and in performance with altitude than do real lizards, which thermoregulate carefully.

NON-LINEAR AND NON-ADDITIVE CLIMATIC FORCES IN POPULATION DYNAMICS: SMALL RODENT FLUCTUATIONS IN SOUTH AND NORTH AMERICA AS AN EXAMPLE (Forzamiento climático nolineal y no-aditivo en la dinámica de poblaciones: fluctuaciones de pequeños roedores en America del Sur y Norte). Mauricio L., Center for Advanced Studies in Ecology and Biodiversity, Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

Understanding the role of interactions between intrinsic feedback loops and external climatic forces is one of the central challenges within the field of population ecology. Nevertheless, the interaction between seasonality, climate, density-dependence, and predators has been generally ignored. Here we analyze the effects of climate variation and seasonal structure on population dynamics of rodent exhibiting large and irregular, fluctuations in population numbers in South and North America. We used Generalised Additive Models (GAM) to determine the best model for describing feedback structure and climate influences by using a Ricker nonparametric discrete logistic model. Additive and non-additive climate effects, non-linear effect of predators, and non-linear first-order feedback embedded in a seasonal structure, appear to be key elements underlying the emerging population dynamic patterns in some of the examples. Recent climatic changes seem to account for dramatic perturbations of the rodent's dynamics. Indirect climatic effects and their nonlinear structure are likely to result - through the food web and recent climate-induced changes in the population dynamics. Assuming such interactions to be typical of ecological systems, we conclude that appropriate predictions of the ecological consequences of climate and global change will depend on having an in-depth understanding of the community-weather system.

FONDAP (CASEB Program 2) 1501-001

LONG-TERM CLIMATE FLUCTUATIONS INFLUENCING RATES OF EVOLUTION AND EXTINCTION. (Fluctuaciones climáticas de largo alcance afectando tasas de evolución y extinción). Stenseth N. Chr. University of Oslo, Norway

Recent studies have documented profound ecological effects of climate fluctuations a topic which is by way of introduction briefly summarized. Building on this ecological insight, the paper proceeds to discuss some evolutionary consequences of climatic fluctuations (on a longer time scale). Two case studies are discussed: 1) We recently showed that phylogeographic signals within the hartebeest complex were highly correlated in time between different geographic regions, strongly suggesting that changes in the physical environment act as a major determinant of evolutionary events (Flagstad et al. 2001; Proc. R. Soc. Lond. B 268, 667-677). The findings of this study is summarized and discussed. 2) Building on this specific study, the paper will proceed to discuss recent (and unpublished results) attempting to incorporate a climate proxy as a covariate in models for turnover, extinction and speciation using the fossil record of mammals (and in particular bovideae) from Africa. The paper closes with a general discussion on the more general effects of climate on ecological and evolutionary processes and how to go about studying them empirically.

CRONOLOGIAS, TASAS Y MAGNITUD DE CAMBIOS VEGETACIONALES Y CLIMATICOS DURANTE LA ULTIMA TRANSICION GLACIAL-INTERGLACIAL EN EL SUR DE CHILE (Timing, rates, and magnitude of vegetation and climate changes through the last glacial-interglacial transition in southern Chile). Moreno, P.I. Departamento de Biología, Universidad de Chile.

Palynological and stratigraphic studies in the Chilean Lake District (40°-41°S) reveal prominent vegetation/climate changes during and since the Last Glacial Maximum (=LGM, ~20 kyr, kyr= 10³ years BP). The record indicates extreme glacial climate (ΔT: -6.5°C, ΔPp: ~2000 mm/yr) between 25-17.5 kyr, followed by an abrupt expansion of North Patagonian taxa through successive warming events between 17.5-15.5 kyr. Conditions approaching modern climate prevailed between 15.5-15 kyr, followed by expansion of cold-resistant trees at 15 and 13.5 kyr, and subsequent warming at 12 and 10.2 kyr. Extreme warm/dry conditions are evident between 10.2-7.5 kyr, as shown by the predominance of the Valdivian trees Eucryphia/Caldcluvia. Cold-resistant North Patagonian taxa re-expanded through a series of steps between 7.5-5.5 kyr, and reached maximum abundance between 5-3 kyr. Modern conditions were established at 2 kyr, following a warm/dry phase between 3-2 kyr.

These results suggest that vegetation changed at ecological timescales (10¹-10² years) in response to climate forcing at millennial timescales since the LGM. The rates-of-change associated with large-scale climate changes are similar to succession processes at small spatial and temporal scales, highlighting the nonlinearity of the climate system and its ability to jump from one mode of operation to another in a matter of decades.

Fondecyt#1000905 y Núcleo Milenio P99-103F ICM

MUERTE CELULAR: DESDE LA APOPTOSIS A LA NECROSIS

Coordinador: Jenny Fiedler

CORTICOIDES: ¿PREVIENEN O INDUCEN APOPTOSIS EN CEREBRO? (Do Corticoids prevent or induce apoptosis?). ¹Cárdenas, SP., ¹Bravo, JA., ¹Greiner, M., ¹Parra, C., ²Morales P., ¹Lara, HE., ²Herrera-Marschitz, M., ¹Fiedler, JL. Laboratorio Neurobioquímica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.². Programa de Farmacología Molecular y Clínica. ICBM. Universidad de Chile. (Proyectos Memorias 2000, 2001)

Estudios clínicos sugieren que los esteroides adrenales modifican el comportamiento, emociones y aprendizaje mediante cambios morfo-funcionales del hipocampo. Alzas de corticoides inducidas por estrés se asocian a depresión y daño neuronal en la región CA3 del hipocampo. En contraste, la adrenalectomía (ADX) induce apoptosis en el giro dentado (GD), sugiriendo una influencia trófica de los corticoides en la sobrevida neuronal. Hemos propuesto que los corticoides regulan la viabilidad neuronal en el hipocampo modulando la familia génica bcl-2, determinando si una célula muere o no por apoptosis. Mediante RT-PCR observamos que ADX reduce los niveles de mRNA para el gen antiapoptótico bcl-2 y proapoptótico bax en hipocampo total de rata. Empleando hibridación in situ determinamos que los niveles de bax y bcl-2 aumentan en GD. La inducción de bax explicaría la apoptosis en GD, mientras que el aumento de bcl-2 sugiere la expresión de un factor neuroprotector. Además ADX induce la expresión del factor neuroprotector TGF-B1 en hipocampo. Utilizando un antisentido para TGF-B1 encontramos que aumenta la apoptosis inducida por ADX, sin cambios en bcl-2. Esto sugiere que frente a la ADX se gatilla muerte celular y además se activa un sistema de neuroprotección ejercido por TGF-B1.

PROPIEDADES ELECTROFISIOLOGICAS DE LAS PROTEINAS DE LA FAMILIA Bcl-2. (Electrophysiological Properties of the Bcl-2 Family Proteins). García, C. (*), Aneiros, E. (#), Valencia, I. (*), Cortés-Gutierrez, M. (*), McColl, K. (&), Distelhorst, C.W. (&), Vélez, P. (*). (*) Centro de Neurociencia Celular y Molecular, Universidad de Valparaíso; (&) School of Medicine, Case Western Reserve University, Cleveland, OH, USA; (#) Dept. of Physiology, University of Saarland, Homburg, Germany.

Los miembros de la familia Bcl-2 regulan positiva o negativamente el proceso de muerte celular programada mediante un mecanismo desconocido. Estudios cristalográficos revelaron que las Bcl-2 son homólogos estructurales de la toxina de a difteria y las colicinas, que ejercen su acción tóxica formando poros. Basados en esto, varios grupos han demostrado que las Bcl-2 funcionan como canales iónicos in vitro. Aunque estos estudios sugieren que la acción de las Bcl-2 podría relacionarse con una modulación de la permeabilidad a iones y/o metabolitos de las membranas en las cuales estas proteínas se distribuyen, no se ha demostrado que las Bcl-2 formen poros in vivo. Por otro lado, todos los estudios previos han utilizado versiones de Bcl-2 sin ~20 aminoácidos C-terminales, el cual parece ser importante en la interacción de las Bcl-2 con las membranas lipídicas. Adicionalmente, el extremo C-terminal podría ser determinante en las propiedades de poro de Bcl-2. En este trabajo, nosotros discutimos el significado fisiológico de nuestros hallazgos al estudiar las propiedades de canal iónico de Bcl-2 de largo total incorporado en bicapas lípidicas planas. Fondecyt 1020927 & ICM P99-037-F

CANALES IONICOS: SON NECESARIOS PARA LA APOPTOSIS Y LA NECROSIS? (Are ion channels needed for apoptosis and necrosis?). Simon F., Varela D., Eguiguren A.L., Pedrero A., Riveros A., Torres R., Stutzin, A. ICBM, Facultad de Medicina Universidad de Chile, Santiago-6530499, Santiago, Chile.

Los procesos de muerte celular, apoptosis y necrosis, están íntimamente relacionados a cambios en el volumen celular. Así, la apoptosis requiere de la disminución del volumen; la necrosis, en cambio, se asocia a un aumento del mismo. Estos cambios de volumen ocurren bajo condiciones de normotonicidad y los cambios en el agua intracelular están acoplados a la alteración de los gradientes iónicos. La participación de canales de K+ y de Cl- en la apoptosis ha sido reportada y estudiada con cierto detalle¹. En contraste, sólo recientemente se ha reportado la posibilidad que canales catiónicos no selectivos estén involucrados en la necrosis2. Estos hallazgos sugieren que las alteraciones metabólicas (disminución del ATP y aumento del Ca2+, por ejemplo) asociadas a este tipo de muerte celular no sólo afectan los mecanismos de transporte dependientes de energía, sino también, son capaces de activar conductancias catiónicas que permitirían explicar la incapacidad de balancear el aumento del volumen y, en consecuencia, llevar al estallido celular. La identificación de canales que participan en la necrosis abre la posibilidad de investigar eventuales bloqueadores que permitan modificar el destino de células sometidas a condiciones isquémicas o de estrés oxidativo.

¹Maeno, E. *et al.* (2000) PNAS 97: 9487-9492. ²Barros, L.F. *et al.* (2001) Hepatology 33: 114 -132. Fondecyt 1010994, FONDAP 15010006.

EVENTOS TEMPRANOS EN LA MUERTE CELULAR OXIDATIVA: UNA CONVERSACIÓN IONICA ENTRE CITOSOL, ORGANELOS Y EL ENTORNO CELULAR. (Early events in oxidative cell death: an ion crosstalk between cytosol, organelles and the extracellular milieu). Barros, L.F., Castro, J., Bittner, C.X. Centro de Estudios Científicos CECS, Arturo Prat 514, Valdivia, Chile. fbarros@cecs.cl. http://www.cecs.cl

Las células de mamífero sometidas a un estímulo intenso reaccionan con una sucesión de respuestas, algunas de las cuales son adaptativas y otras autodestructivas. El balance resultante determina recuperación, proliferación, apoptosis o necrosis, condiciones que afectan la homeostasis tisular en forma muy distinta. En los primeros minutos tras el estímulo se define la suerte que correrá la célula y muchos laboratorios están abocados a entender los substratos moleculares de la decisión. Entre los diversos parámetros celulares afectados por el daño, la carga energética y las concentraciones de iones Ca2+, Na+, K+ y H+ en los distintos compartimientos están apareciendo como factores decisivos. Estos parámetros a su vez dependen de la activación e inactivación de proteínas transportadoras situadas en las membranas que delimitan los organelos. Esta presentación examinará evidencia reciente obtenida en nuestro laboratorio y otros, con énfasis especial en la muerte celular inducida por radicales libres y el papel que en ella cumplen canales catiónicos no selectivos, transportadores de glucosa y canales de K+.

Financiado por Fondecyt 1020648, Fundación Andes.e Iniciativa Científica Milenio.

RETROVIRUS

Coordinador: Oscar León

HIV-1 AND THE PRION: MOLECULAR MIMICRY BETWEEN VIRAL GAG PROTEIN AND CELLULAR PRION PROTEIN AND FUNCTIONAL INTERACTIONS. Darlix Jean-Luc, Caroline Gabus and Pascal Le Blanc.LaboRetro, unité de Virologie Humaine INSERM#412, Lyon, FRANCE. E-mail: jldarlix@ens-lyon.fr

HIV-1 is a member of the lentiviridae family of Retroviruses and the causal agent of AIDS. HIV-1 virion formation proceeds through a series of concerted events that take place at the plasma membrane, and release of newly formed infectious virions occur by budding from the infected cell. Gag encodes the major structural proteins of the virion (Matrix p17, Capsid p24, Nucleocapsid p7 and Late p6) and is necessary and sufficient for the assembly and release of viral particles, albeit non infectious. Gag targeting to the plasma membrane by Matrix, Gag oligomerization by Matrix, Capsid and Nucleocapsid and Gag interacting with the genomic RNA as mediated by Nucleocapsid all are required for proper virion assembly. The budding process is controlled by Late p6.(reviewed by Cimarelli & Darlix, 2002).

The function of PrPc is still a matter of debate. But studies suggest that PrPc is implicated in signal transduction, Cu2+ metabolism and cell apoptosis. PrP plays a critical role in transmissible spongiform encaphalopathies (TSE) that are fatal neurodegenerative diseases, characterized by the accumulation of the cellular prion protein (PrPc) in a partially protease resistant form (PrPres or PrPsc). PrPc interacts with and accumulates at the plamsa membrane, can oligomerize and possesses strong nucleic acid binding and chaperoning properties similar to NCp7 of HIV-1 (Gabus et al., JBC 2001). In addition, PrPc can fully replace NCp7 in reconstituted HIV-1 replication systems in vitro. More recently we have found that co-expression of HIV-1 and PrPc in human cells cause a drastic reduction of virus production and infectivity. Our current model proposes that PrPc mimics Gag, and acts as a trans-dominant negative mutant of Gag during assembly at the plasma membrane.

Work supported by INSERM, ANRS and GIS Prions (France) and by European Community.

TRANSLATION OF P57GAG AND TWO NOVEL ISOFORMS OF THE GAG POLYPROTEIN ARE DRIVEN BY INTERNAL RIBOSOMAL ENTRY SEGMENTS (IRES) ON THE HIV-2 GENOMIC RNA. Herbreteau, C., Decimo, D., Prevot, D., Darlix, Jl., and Ohlmann, T. Laboretro, ENS-Lyon, France . E-mail: tohlmann@ens-lyon.fr

Translation of the HIV-2 genomic RNA within infected cells generates a large polyprotein that is cleaved to yield structural proteins and enzymes required for generation of new progeny virions. Protein synthesis of the closely related HIV-1 and SIV viruses was previously shown to occur by internal entry of ribosomes onto the genomic RNA. This prompted us to look for the mechanism of translation utilized by the HIV-2 virus. By using standard bicistronic assays in the reticulocyte lysate and in cultured cells, we were able to show the presence of a functional IRES element in the 5' leader of the HIV-2 genomic RNA driving the synthesis of the gag polyprotein (p57). In the course of our study, we have also detected two new isoforms of p57gag which result from alternative translation at downstream AUG codons located in the coding region for the matrix gene. These two isoforms have an apparent molecular weight of 50 and 44 kDa and are produced by expression of a second IRES element entirely located in the coding region of the HIV-2 genomic RNA. Finally, viral production in the presence of protease inhibitors revealed that both the p50 and p44 isoforms were present in the immature viral particle suggesting a role for these proteins in HIV-2

This work is supported by grants from ARC and ANRS

HIGH AFFINITY LIGANDS OF HIV-1 INTEGRASE AS TOOLS FOR THE STUDY OF THE ENZYME ACTIVITY AND THE SEARCH OF SPECIFIC INHIBITORS . V. Parissi, V., Richard de Soultrait, C., Calmels, M. Andréola, C. Desjobert, C-H. Dupont, M. Fournier, L. Tarrago-Litvak and S. Litvak UMR-5097 REGER CNRS. Université Bordeaux 2. 146 rue Léo Saignat. 33076 Bordeaux cedex. France. Email= vincent.parissi@reger.u-bordeaux2.fr

HIV-1 integrase (IN) plays a crucial role in the retroviral cycle and as such is an excellent potential therapeutic target. IN is part of a functional multiprotein, the preintegration complex (PIC), whose composition is not yet known. We have used genetic and biochemical strategies to isolate and characterize cellular IN-interacting proteins. Two-hybrid and affinity column methods allowed us to identify (i) human proteins interacting with IN. These proteins are involved in transcription and translation steps, (ii) cytoskeleton components and (iii) the chaperonin hHSP60 as a potential cellular IN partner. We have described previously that IN expression in some yeast strains leads to a lethal phenotype. Using an IN-GFP fused protein expressed in yeast strains we found that the IN protein is preferentially localized in a region coinciding with the spindle pole body (SBP). HIV IN is then imported in the yeast nucleus via the cytoskeleton. This nuclear import can be improved by co-expression of HIV-1 vpr and IN suggesting its function in this mechanism. HIV-In protein as well as its cellular partners involved in the enzyme activity and/or its nuclear import were used as therapeutical targets. Two-hybrid and SELEX approaches allowed us to define peptide and oligonucleotide agents inhibiting strongly and specifically the IN. The function of the selected proteins in the integration step and the inhibitory effect of the anti-IN defined agents will be discussed.

This work was supported by the ANRS (Agence National de Recherche contre le Sida) and SIDACTION.

RECOGNITION OF THE tRNA PRIMER BY AN ISOLATED RNASE H DOMAIN OF HIV-1 REVERSE TRANSCRIPTASE. (León, O ¹., Guaitiao, J.P¹., Zuñiga, R.¹, Smith,C². and Roth, M. ²). ¹Programa de Virología, ICBM. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ²Department of Biochemistry, RWJMS University of Dentistry of New Jersey. E-mail: Oleon@machi.med.uchile.cl

HIV-1 reverse transcriptase is a heterodimer (p66/p51) that catalyzes the synthesis of a double strand DNA from the genomic RNA(+) viral strand. Subunit p66 contains a RNase H domain which is required for removal of the viral RNA, primer formation for the synthesis of the DNA (+) strand and specific removal of the primer tRNA used in the synthesis of the DNA (-) strand.

During viral replication, the RNase H domain of HIV-1 RT catalyzes the cleavage of the RNA on RNA:DNA hybrids in a polymerase dependent or independent fashion. The use of an active RNase H domain allows examination of the requirements for specificity of the recognition of the cognate RNA:DNA hybrid during the specific removal of the tRNA primer. Also, features such as the orientation of the nucleic acid and amino acids involved in binding/recognition can be studied by cross-linking and site directed mutagenesis, under no influence of the polymerase domain.

Using a substrate mimic that models the intermediate after strong-stop DNA synthesis we determined several ribonucleotides that are important for recognition. The results indicated that the region corresponding to the terminal eight ribonucleotides of the acceptor stem contains the recognition elements. Within this region, positions +4 and +6 were important for the specificity of cleavage by HIV-1 RNase H. Lysine directed cross-linking utilizing a bifunctional reagent attached to a base located in the DNA strand at the cleavage site (position +1), resulted in crosslinking of a peptide containing Lys 476. Mutation of Lys 476 to Cys results in the loss of cross-linking and a 10-15 fold reduction in activity. Since the Km did not show significant changes, these results indicate that the catalytic activity is affected, probably due to an effect on the substrate orientation. These results are discussed in the context of RT-nucleic acid complexes.

This work was supported by subcontract 1RO1 CA90174-01 NIH.

Incorporaciones

INCORPORACIONES I

LA HORMONA LIBERADORA DE TIROTROFINA COMO MEDIADOR CENTRAL DE LA VÍA AUTONO-MICA QUE CONTROLA LA FUNCION OVARICA.

(Thyrotropin-releasing hormone as a mediator in the central autonomic pathway controlling ovarian function). *Luza, S., Arancibia, S. y Lara, HE. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile y Universidad de Montpellier, Francia.

Estudiamos el efecto de la administración intracerebroventricular (icv) de Hormona liberadora de tirotrofina (TRH) sobre la actividad de neuronas simpáticas en el ovario de ratas. La administración de TRH en dosis diarias de 25 ng/ kg por 5 días, produjo un aumento en el contenido de Noradrenalina (NA) en el ovario. Sin embargo, al aumentar la dosis de TRH hasta un rango de 500 ng/kg, el contenido de NA en el ovario disminuyó en forma dosis-dependiente. En el ganglio celiaco (donde se originan las neuronas simpáticas que se proyectan al ovario) hay una acumulación de NA concomitante con una disminución en la actividad de Tirosina hidroxilasa. Los efectos obtenidos a altas dosis de TRH icv son los mismos obtenidos al exponer las ratas a estrés por frío (64 h a 4° C) o al administrar TRH intravenoso. En contraste al aumento de T₃ plasmático obtenido por la exposición al estrés por frío, ninguna de las dosis de TRH icv usadas produce cambios en los niveles de T₃, esto sugiere fuertemente que el efecto sobre la actividad simpática de TRH icv es mediado por un efecto a nivel central actuando como un putativo activador de nervios simpáticos ováricos.

Fondecyt 102-0581; ECOS CO1SO1

de miocardio

INFLUENCIA DE LOS GENOTIPOS DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA-I (ECA) EN LA HIPERTENSION ARTERIAL Y FIBROSIS CARDIACA EN RATA. (Influence of ACE genotypes on hypertension and cardiac fibrosis in rat). Ocaranza M^{1,2}, Jalil J², Lavandero S¹. ¹Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de

Chile y ²Facultad Medicina. P. Universidad Católica Chile.

Los niveles plasmáticos de ECA están determinados genéticamente pero se desconoce su relación con la hipertensión arterial (HTA) y fibrosis miocárdica (FM). En este trabajo se evaluó la influencia de los genotipos BB y LL del gen ECA (asociados a mayor y menor actividad ECA, respectivamente) en el desarrollo de HTA (modelo Goldblatt, Gb) y de FM (modelo por sobrecarga \(\beta\)-adrenérgica) en rata macho. Los genotipos de ECA y actividad de esta enzima se determinaron por PCR y fluorometría, respectivamente, mientras que los niveles plasmáticos y tisulares de angiotensina II (Ang II) por HPLC-RIA y los mRNAs de ECA y del receptor tipo 1 para Ang II (RAT1) por RT-PCR. La fracción volumétrica de colágeno (FVC, marcador de fibrosis) se determinó en cortes

Los resultados mostraron que el genotipo BB determinó: a) una mayor y precoz respuesta hipertensiva crónica en ratas Gb (F=239,6, p<0,01), con una relación directa con niveles de Ang II circulante (r=0,58, p<0,01) y b) mayor FM secundaria que correlacionó con la actividad cardíaca de ECA (r=0.66, p<0.002). Sin embargo, este genotipo no determinó mayor desarrollo de hipertrofia ventricular izquierda ni tampoco diferentes niveles de los mRNAs de ECA y del RAT1. FONDECYT 2970021 y 1961065

RECLUTAMIENTO DE COACTIVADORES TRANS-CRIPCIONALES CON ACTIVIDAD REMODELADORA DE CROMATINA EN PROMOTORES DE GENES VI-RALES DURANTE INFECCION DEL HSV-1. (Recruitment of chromatin-modifying coactivators to viral gene promoters during HSV-1 infection). Herrera, FJ y Triezenberg, SJ. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Michigan State University, MI, USA. Patrocinio: Eyzaguirre, J. y Valenzuela, P.

La proteína viral 16 (VP16) ha sido ampliamente utilizada como modelo en el estudio de los activadores de la transcripción en eucariontes. El dominio de activación de VP16 (VP16AD) interactúa con varios factores de transcripción basales (GTFs), mediadores y coactivadores con actividad remodeladora de cromatina. Dado que la mayoria de estos estudios han sido realizados in vitro o en sistemas heterólogos usando la proteína de fusión Gal4-VP16AD, la relevancia fisiológica de estas interacciones no ha sido determinada. En su contexto natural, VP16 estimula la transcripción de los genes inmediatos (IE) del virus del herpes simple (HSV-1). Inmunoprecipitaciones de complejos proteínas-ADN (ChIP) fueron usadas para detectar factores de transcripción en los promotores virales activados por VP16 durante infección del HSV-1 en células en cultivo. Nuestros resultados indican que la presencia de TBP y TFIIF en promotores de genes IE es dependiente del VP16AD y en genes tardíos (DE y L) dependiente de la síntesis de proteínas. Dos tipos de coactivadores con actividad remodeladora de cromatina fueron detectados en los promotores de los genes IE: las histona acetiltransferasas CBP y p300 y el complejo remodelador de cromatina dependiente de ATP SWI/SNF. Interesantemente, el ADN viral no es nucleosomal durante el ciclo de infección lítica. El papel del VP16AD en el reclutamiento de coactivadores, y la posible función de estos coactivadores en la expression de los genes IE está siendo investigado.

ESTUDIOS DE REGULACION DE LA ACTIVIDAD DE LA PROTEINAQUINASA CK2 (Studies on the regulation of activity of CK2). Romero-Oliva, F., Jacob, G y Allende, J.E. †ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile. (FONDECYT 2960040 y 1000264; the Wellcome Trust. Beca doctoral CONICYT de Francisco Romero-Oliva)

CK2 es normalmente un heterotetrámero $(\alpha_2\beta_2)$, compuesto por dos subunidades catalíticas (α/α') y dos subunidades reguladoras (β) . Este trabajo resume nuestros estudios sobre posibles mecanismos que regulen la actividad de CK2, a través de: 1) interacción con p21^{war1/Cip1} y 2) el efecto de moléculas policatiónicas.

- 1). Previamente se describió que la proteína $p21^{Waf1/Cip1}$, a través de la interacción con $CK2\beta$, inhibe la holoenzima CK2. Nuestros estudios indican que los primeros 44 aminoácidos de $CK2\beta$ interactúan especifica y establemente con $p21^{Waf1/Cip1}$, que CK2 fosforila a $p21^{Waf1/Cip1}$, sugiriendo que la inhibición de CK2 por $p21^{Waf1/Cip1}$, representa una competencia entre sustratos, pues la inhibición ocurre cuando la concentración de $p21^{Waf1/Cip1}$ y del sustrato alternativo son similares. Finalmente, la inhibición no depende de la unión p21- $CK2\beta$, pues se observa incluso, en ausencia de $CK2\beta$.
- 2). En esta comunicación demostramos que, al usar cantidades limitantes de seis sustratos distintos, polilisina e histona-H1, estimulan la actividad de la holoenzima ($\alpha_2\beta_2$), pero inhiben fuertemente a CK2 α , libre de CK2 β . Este efecto inhibidor es específico para polilisina e histona-H1, pues no se observa con poliarginina ni con espermina.

El efecto dual de polilisina y de histona-H1, provoca que $CK2\beta$ estimule sobre 250 veces la actividad de $CK2\alpha$. Los datos sugieren que esta modulación de actividad de $CK2\alpha$, tendría relevancia fisiológica.

POSITIVE CORRELATION BETWEEN SINGLE OR COMBINED GENOTYPES OF CYP1A1 AND GSTM1 IN RELATION TO PROSTATE CANCER IN CHILEAN PEOPLE.. Quiñones L., **Acevedo C., *Iturrieta J, **Cabezas J, **Huidobro C. *Laboratory of Chemical Carcinogenesis and Pharmacogenetics, Program of Molecular and Clinical Pharmacology, ICBM, Faculty of Medicine, University of Chile, Santiago, Chile. **Corporación Nacional del Cáncer (CONAC), Chile.

Prostate cancer is a slowly progressing disease that begins decades prior to diagnosis and may be influenced by genetics and environmental factors.

It has been suggested that there might be differences in suceptibility due to genetic polymorphisms in metabolic activation enzyme genes.

The present work evaluated the association between CYP1A1 and GSTM1 polymorphisms and prostate cancer in Chilean healthy controls and cancer patients. In the Chilean healthy group, frequency of CYP1A1 m2 variant allele of Msp1 polymorphism was 0.262 and for GSTM1(-) was 0.227 versus 0.377 and 0.363 respectively, in patients. The estimated relative risk (OR) for prostate cancer associated with a rare genotypes in CYP1A1 were 2.01 (p = 0.014) for m1m2 and 2.35 (p = 0.053) for m2m2, while the OR for the association with GSTM1(-) was 1.94 (p = 0.023). The estimated relative risk was higher for individuals carrying combined CYP1A1 and GSTM1 rare genotypes (m1m2/GSTM1(-), OR = 2.46, p = 0.022; m2m2/GSTM1(-), OR= 8.54, p= 0.023) in relation to individuals carrying CYP1A1 or GSTM1 alone. In order to control the confounding factors, we applied a multivariate logistic regression model, considering only those factors which individually had an association (m2, GSTM1(-), age, digital examination and PSA antigen). The results shown an even higher risk for individuals carrying m2m2 genotype (OR=3.99, p=0.018), GST(-) genotype (OR=2.75, p=0.008)and m2m2/GST(-) genotype (OR= 16.63, p = 0.016). Taken together, these findings suggest that Chilean people carrying single or combined GSTM1 and CYP1A1 polymorphisms are more susceptible to prostate cancer.

Financiado por Proyecto Fondecyt 3020043

INCORPORACIONES II

LOS PATELOGASTROPODOS DEL CLADO Scurria: VARIACIONES DENTRO DEL RANGO GEOGRAFI-CO (Patellogastropod distribution and abundance patterns from Scurria clade: variations within the geographic range). Espoz C & Marquet PA. Departamento de Ciencias Básicas,

PATRONES DE DISTRIBUCION Y ABUNDANCIA DE

from Scurria clade: variations within the geographic range). Espoz C & Marquet PA. Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Santo Tomás. Centro de Estudios Avanzados en Ecología & Biodiversidad, Departamento de Ecología, Pontificia Universidad Católica de Chile

El estudio de los patrones de distribución y abundancia que presentan las especies dentro de su rango geográfico se ha centrado principalmente en aves y mamíferos. En este trabajo se ponen a prueba algunas de las hipótesis generadas en especies terrestres en patelogastrópodos intermareales del clado Scurria. El análisis se basa en datos provenientes de un muestreo latitudinal realizado a lo largo de la costa rocosa de Perú y Chile, entre los 5°S y 54°S. Los resultados muestran que la abundancia poblacional de patelogastrópodos no decrece desde el centro hacia los límites del rango geográfico. Tampoco se registra una relación entre variabilidad poblacional y localización de las poblaciones dentro del rango geográfico. Asimismo, las condiciones bióticas que definen los sitios donde las especies son más abundantes son similares a los sitios donde las especies están ausentes. En especies del clado Scurria, los patrones de abundancia y distribución probablemente responden a factores que ocurren a escala local y en forma no autocorrelacionada espacialmente, a diferencia de lo descrito para especies terrestres.

Fondecyt N°2970076, N°4990017

ANALISIS CLADISTICO Y BIOGEOGRAFICO DE LAS ESPECIES DE Acaena (ROSACEAE) EN SUDAMERICA

AUSTRAL (Cladistic and biogeographic analyses of Acaena (Rosaceae) species in southern South America). Marticorena, A. y Cavieres, L.A. Departamento de Botánica, Universidad de Concepción, Casilla 160-C. Concepción, Chile.

El género Acaena en Sudamérica Austral comprende 24 especies, las cuales han sido divididas en secciones basada en el tipo de inflorescencia y las espinas de la cupela. Las especies que crecen en esta área pertenecen a seis secciones; Acaena, Acrobyssinoideae, Ancistrum, Patagonica, Pleurocephala v Subtuspapillosae. El presente estudio tiene como objetivo determinar las relaciones filogenéticas entre las especies usando análisis cladístico. El análisis cladístico fue hecho utilizando 29 caracteres morfológicos tales como el tipo de inflorescencia, morfología de las hojas, y micromorfología de las células de la cupela, entre otros. La polaridad de los caracteres fue determinada por el método de comparación con el outgroup, usando Sanguisorba minor como outgroup. El análisis generó 4 árboles más parsimoniosos, con una longitud de 96 pasos, índice de consistencia de 0,44 y de retención de 0,72. Los árboles soportan la división infragenérica clásica, con excepción de la sección Acaena que aparece como parafilética. Un análisis biogeográfico sugiere que los grupos ancestrales se distribuyeron en la zona de Patagonica Austral, mientras que los grupos más recientes se localizaron hacia el norte, y luego al este y al oeste. Se presenta una discusión sobre las relaciones filogenéticas entre especies y el posible centro de dispersión.

Agradecimientos Fondecyt 1000364

PATRONES DE SEMILLACION EN ESPECIES ABOREAS DEL BOSQUE DE SAN MARTIN (DECIMA REGION, CHILE). (Seeds patterns in tree species of San Martín forest (Tenth Region, Chile)) Briones, M.& Murúa, R.Universidad Austral de Chile, Instituto de Ecología y Evolución

Analizamos la producción de semillas de especies arbóreas en un fragmento de bosque siempreverde (San Martín, X Región), su estacionalidad, existencia de ciclos y periodicidad junto con la asociación existente con las variables climáticas precipitación y temperatura. Se colectaron semillas mensualmente desde 1980 a 2001 en 75 estaciones, con una superficie de colección total de 9,375 m². Se analizaron Aextoxicon punctatum, Gevuina avellana, Podocarpus saligna, Nothofagus obliqua, Laureliopsis philipiana, Laurelia sempervirens, Amomyrtus luma y Lomatia dentata. Todas ellas exhibieron una producción de semillas con grandes variaciones interanuales. La tendencia de todas las especies fue a disminuir su semillación, con la excepción de Nothofagus obliqua y Laureliopsis philipiana. La producción intra anual de semillas siguió un patrón estacional claro, caracterizado por un máximo de producción en las estaciones de verano y otoño. Se encontraron ciclos bianuales en las especies Aextoxicon punctatum y Gevuina avellana y ciclos de ocho años en la conífera Podocarpus saligna, quedando abierta la posibilidad de periodicidad verdadera en estas especies. Por otra parte todas la especies presentaron semillaciones dependientes de variables climáticas, especialmente la temperatura promedio de los meses de inicio de yemas y floración y de la precipitación.

Agradecemos a Nilde Barría, Freddy Mondaca, Pedro Muñoz, Carlos LeQuesne y Cecilia Smith.

Financiamiento: proyectos DID/UACh S-198117 y S-200127.

MICROSITIOS DE REGENERACION Y COEXISTENCIA DE ESPECIES ARBOREAS EN BOSQUES TEMPLADO LLUVIOSOS DE LA ISLA DE CHILOE, CHI-

LE. (Regeneration microsites and tree species coexistence in temperate rain forests of Chiloé Island, Chile) **Christie**, **D.A.** duncan@sendadarwin.cl, Armesto, J.J.^{1,2}, 'Laboratorio de Sistemática y Ecología Vegetal, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, y Fundación "Senda Darwin", Ancud. ²CASEB, P. Universidad Católica de Chile.

En el presente trabajo estudiamos el rol de los troncos caídos y la capa de hojarasca en el establecimiento de especies arbóreas, en bosques antiguos y sucesionales intermedios de la Isla de Chiloé.

Se seleccionaron dos rodales de cada estado sucesional. En cada uno de ellos se ubicaron 250 puntos de muestreo al azar, en los cuales se clasificó el sustrato como "tronco" o "suelo". En un área de 0,25m² se registró el número de plántulas y juveniles, y en los puntos "suelo" se midió el espesor de la capa de hojarasca.

Los rodales antiguos presentaron una mayor cantidad de residuos leñosos que los sucesionales intermedios. Se determinó que Drimys winteri, Eucryphia cordifolia, Laureliopsis philippiana, Pseudopanax laetevirens, Saxegothaea conspicua, Tepualia stipularis, Weinmannia trichosperma y Nothofagus nitida, regeneran preferentemente sobre troncos caídos, y que la abundancia de sus plántulas fue afectada negativamente por la hojarasca. Sólo Podocarpus nubigena se estableció preferentemente sobre el suelo, y la abundancia de sus plántulas no se vió afectada por el aumento en el espesor de la hojarasca.

Una relación inversa fue encontrada entre el tamaño de semilla de las especies y su proporción de plántulas establecidas sobre troncos.

Agradecimientos: Núcleo Milenio P99-103FICM, y FONDAP-FONDECYT 1501-0001.

ACTIVIDAD TERMOPROTECTORA DE P-80, UNA DESHIDRINA INDUCIDA POR FRÍO EN CEBADA (Hordeum vulgare L.). Gallardo, J¹., Olave-Concha N., Bravo, L.A²., 1 Instituto de Agroindustria. Universidad de la Frontera. 2 Departamento Botánica Universidad de Concepción.

Las deshidrinas son proteínas inducidas por deshidratación celular. Una deshidrina de 80 KDa es acumulada en la vecindad del tejido vascular de cebada aclimatada al frío. Se ha postulado que las deshidrinas protegen macromoléculas y estructuras sensibles al congelamiento. En este trabajo se postula que P-80 es inducida por frío en cebada y que posee actividad crioprotectora in vitro. Se estudió su actividad crioprotectora midiendo la recuperación de la actividad de una enzima termolábil LDH (E.C.1.1.12.27). El análisis Northern blot mostró una banda mayoritaria asociada al evento de exposición al frío, estableciéndose que los mensajeros para esta deshidrina se acumulan en una fase temprana durante la aclimatación (8h). En estudios in vitro, P-80 crioprotegió a la enzima LDH recuperándose el 50% de la actividad LDH después de cinco ciclos de congelamiento/descongelamiento en presencia de P-80 a una concentración de 3µg/ml. La máxima actividad crioprotectora se alcanzó a una concentración de P-80 de 30µg/ml, recuperando un 108% de la actividad LDH. Este resultado fue un 92% mayor que el observado con BSA a la misma concentración. Sin embargo, a concentraciones mayores su efecto crioprotector disminuyó. P-80 está entre las deshidrinas inducidas por frío con mayor actividad crioprotectora con un PD₅₀ de 48 nM. Mayor investigación se requiere para dilucidar el papel de P-80 in vivo.

INCORPORACIONES III

PRESENTACION INDIRECTA DE ANTIGENOS DE DONANTE INDUCE AGOTAMIENTO CLONAL DE CELULAS T ALO-REACTIVAS Y PREVIENE EL RECHAZO A TRANSPLANTES. (Pre-emptive clonal T cell exhaustion induced by indirect presentation facilitates DST-induced allograft longevity). Quezada, S.A., Fuller, B. and Noelle, R.J. Micro & Immuno dept., Dartmouth Medical School, 1 medical center drive, Lebanon NH03766, U.S.A. Patrocinio: Alfredo De Ioannes.

Injecting a donor specific transfusion of spleen cells in the context of a blocking anti-CD154 antibody prior to graft transplantation is a well-established experimental model of tolerance induction. CD4+T cells are crucial for this tolerance induction, yet the mechanism of action of donor specific transfusion and anti-CD154 in inhibiting the activity of alloreactive CD4+ T cells has not been fully resolved. To answer those questions we developed a transgenic model for skin graft rejection. The Data presented demonstrate that DST and anti-CD154 inhibit the alloreactivity of CD4+ T cells, and further suggest that anti-CD154 alone inhibits the local and systemic accumulation, and graft infiltration by alloreactive CD4+ T cells. Furthermore, the indirect presentation of the donor specific transfusion antigens by host antigen presenting cells (APCs) induces rapid systemic proliferation of alloreactive CD4+ T cells. This rapid expansion precedes proliferation caused by skin alloantigens, inducing clonal exhaustion and preventing efficient priming. Thus, the indirect presentation of donor specific transfusion antigens by host APCs in the context of CD40 blockade prolongs graft survival by inducing clonal exhaustion and inhibiting infiltration and effector function of alloreactive CD4+ T cell.

LA GLIA EPENDIMARIA HIPOTALAMICA EXPRESA EL TRANSPORTADOR DE GLUCOSA GLUT2, UNA MOLECULA INVOLUCRADA EN EL MECANISMO SENSOR DE GLUCOSA. (Hypothalamic glial ependymal cells express the glucose transporter GLUT2, molecule involved in glucose sensing). García, MA, Nualart F. Depto. Biología Molecular, Depto. Histología-Embriología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

En el sistema nervioso central se han descrito diferentes áreas comprometidas en la detección de los niveles de glucosa. Moléculas involucradas en el mecanismo sensor períferico, presentes en células β-pancreáticas, han sido encontradas a nivel cerebral. Existen evidencias de la presencia del mensajero para GLUT2, glucoquinasa y canales de K+ sensibles a ATP. El transportador de glucosa/fructosa de baja afinidad, GLUT2, es fundamental para acoplar los niveles de glucosa extracelular al mecanismo sensor intracelular. Estudios de hibridación in situ han sugerido que el mensajero para GLUT2 se encuentra expresado en células ependimarias ventriculares y en neuronas del tronco cerebral e hipotálamo. Los tanicitos son células gliales especializadas presentes en el hipotálamo, que pueden contactar el líquido cefalorraquídeo, la sangre y las neuronas. Hemos realizado un análisis detallado de la expresión de GLUT1 y GLUT2 en la región del hipotálamo. Establecimos cultivos primarios de tanicitos hipotalámicos y demostramos la presencia de ambos transportadores. Los parámetros cinéticos obtenidos son consistentes con la expresión de dos transportadores con Kms y sensibilidades a inhibidores correspondientes a GLUT1 y GLUT2. Nuestros datos nos permiten postular que los tanicitos hipotalámicos pueden participar en el mecanismo sensor de glucosa a nivel cerebral.

FONDECYT 1010843 y DIUC 202.031.089-1.0, 201.034.006-1.4.

INTERACCIONES MOLECULARES REGULADORAS DE LA SINAPSIS INMUNOLOGICA ENTRE LA CÉLULA DENDRITICA Y EL LINFOCITO T. IMPLICACIONES EN LA INMUNIDAD ANTITUMORAL. Molecular interactions that modulate the immunological synapse between the Dendritic cell and the Tlymphocyte. Implications on anti-tumor immunity. Alexis M. Kalergis. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Laboratory of Molecular Genetics and Immunology, The Rockefeller University. AKM es becario de la Helen Hay Whitney Foundation.

La sinapsis inmunológica entre el linfocito T y la célula dendrítica presentadora de antígeno es esencial para la respuesta inmunidad anti-tumoral. Su formación requiere que la célula dendrítica proporcione simultáneamente al linfocito T dos señales moleculares en su superficie, la señal 1 o antígeno y la señal 2 o co-estimulación.

La señal molecular 1 corresponde a la interacción entre el receptor del linfocito T (TCR) y el complejo péptido-MHC (pMHC) para el cual este es específico. La activación del linfocito T ocurre solamente dentro de un rango de vida media $(T_{1/2})$ para la interacción TCR:pMHC (señal 1).

A su vez, el nivel de señal 1 en la superficie de la célula dendrítica es aumentada por la captura y presentación de antígeno unidos a γ -globulinas (complejos inmunes). Estos complejos inmunes pueden unirse a receptores activadores o inhibidores de baja afinidad para el fragmento Fc de la molécula de γ -globulina (Fc γ R). El Fc γ RIII (activador) transduce señal a través de quinasas activadoras, mientraes el Fc γ RIIB (inhibidor) lo hace a través de fosfatasas inhibidoras. Estos estudios muestran que, aunque las células dendríticas expresan estos dos tipos de Fc γ R, el inhibidor Fc γ RIIB es el que predomina en su superficie.

Cuando los complejos inmunes se unen exclusivamente al receptor activador FcyRIII, la célula dendrítica sufre un proceso de maduración consistente en el aumento de moléculas co-estimuladoras (señal 2) en la superficie. Este proceso las transforma en potentes estimuladoras de linfocitos T, lo que se ve reflejado en la capacidad de generar inmunidad contra un melanoma altamente metastático en el ratón.

EXPRESION DE MULTIPLES TRANSCRITOS PARA EL FACTOR NEUROTROFICO DERIVADO DE CEREBRO (BDNF) EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.

(Expression of multiple transcripts for Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in the central nervous system). Aliaga, E.¹, Arancibia, S.², y Tapia-Arancibia, L.². ¹Instituto de Ciencias Biológicas y Químicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Chile. ²Laboratoire de Plasticité Cérébrale, UMR 5102 CNRS, Université de Montpellier 2. Patrocinio: Roncagliolo, M. y Neely, A.

BDNF es una neurotrofina implicada en diferenciación, protección y plasticidad neuronal. Su gen da origen a 8 transcritos diferentes que codifican el mismo prepropéptido. Aunque se ha demostrado una regulación diferencial tejido y estímulo específico (Ejm. Aliaga y col. 1998, 1999), el significado fisiológico de tal diversidad es desconocido.

Hemos estudiado mediante hibridación in situ la expresión de tales transcritos en respuesta al estrés osmótico (EO) (Aliaga y col., 2002). El EO incrementa la expresión del exón I en el núcleo supraóptico (NSO) y el exón II en el núcleo paraventricular del hipotálamo. Este efecto precede y se superpone espacialmente al aumento de la inmunoreactividad para arginina-vasopresina (AVP) en el NSO, sugiriendo un rol auto o paracrino de la neurotrofina en la respuesta al EO. Estos estudios han sido continuados in vitro en un cultivo de neuronas hipotalámicas, donde la expresión del ARNm de BDNF es robusta, de localización somato-dendrítica y contrasta con la discreta expresión del péptido. La estimulación con NMDA produce una rápida disminución del ARNm de BDNF a nivel dendrítico seguida de un aumento de inmunoreactividad BDNF en dicho compartimiento. Por otro lado, los exones I a III son excluidos del compartimento dendrítico, mientras que se observa una fuerte expresión dendrítica del exón IV. Además, hemos encontrado evidencia de la expresión de la hebra antisentido correspondiente al exón III en estos cultivos in vitro y en el tejido adulto.

El conjunto de estos resultados corroboran la regulación diferencial de los distintos exones de BDNF y sugieren una regulación postranscripcional diferencial exón-específica, que podría involucrar fenómenos de localización subcelular, regulación local de la síntesis proteica y expresión de hebras antisentido.

INCORPORACIONES IV

LA EXPRESION EN ASPERGILLUS DE LA LACASA DE CERIPORIOPSIS SUBVERMISPORA PRODUCE UNA APOPROTEINA ACTIVADA POR COBRE Y PATRONES DE ISOENZIMAS COMPLEJOS. (Aspergillus Expression of Ceriporiopsis subvermispora Laccase Yields Copper Activated Apoprotein and Complex Isozyme Patterns). Larrondo¹ L., F., Salas¹ L., Cullen² D. y Vicuña¹ R. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada, Santiago, Chile. 2 USDA Forest Products Laboratory, Madison, Wisconsin.

El análisis de clones genómicos que codifican para lacasa en cepas homocarioticas de Ceriporiopsis subvermispora llevó a la identificación de una variante alélica del previamente descrito gen lcs-1. El cDNA correspondiente a ese gen fue expresado heterólogamente en Aspergillus nidulans y en Aspergillus niger. Ensayos enzimáticos así como de western blot mostraron que ambos hospederos secretan lacasa activa. Respecto a las isoenzimas observadas en C. subvermispora, la enzima producida en A. niger presentó una masa molecular mayor y entregó solo una banda en geles de isoelectroenfoque (IEF). En contraste, los transformantes de A. nidulans secretaron varias isoenzimas, con un patrón notablemente similar al del sistema nativo. En conjunto con datos previamente reportados de Southern blot y secuencia de N-terminales, la expresión en A. nidulans apoya la idea que C. subvermispora posee un solo gen para lacasa, y que múltiples isoenzimas se pueden originar producto de modificaciones postraduccionales. Por otra parte, distintas líneas de evidencia sugieren fuertemente que bajo condiciones limitantes de cobre, A. nidulans secreta apoproteína la cual puede ser reconstituida mediante una corta incubación con Cu(I), y en menor medida con Cu(II).

Trabajo financiado por FONDECYT 2000076, 8990004 e Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada.

L.F.L es Becario de Fundación Andes

ESTUDIOS DE LA OXIDACION DE HIERRO y TIOSULFATO EN Acidithiobacillus ferrooxidans (Studies of iron and thiosulfate oxidation in Acidithiobacillus ferrooxidans). Levican, G¹., Guacucano, M¹., Jedlicki, E¹. y Holmes, D². ¹ICBM, Facultad de Medicina, U. de Chile. ²Laboratorio de Bioinformática y Biología Genómica, Universidad de Santiago.

A. ferrooxidans es una bacteria capaz de oxidar hierro y compuestos de azufre reducido. Se caracterizó una región de su genoma. Contenidos en el operón pet están los genes cycA, nad-I y petABC, que codifican para un citocromo c_4 , una deshidrogenasa y las subunidades del complejo bc₁: una proteína Rieske, un citocromo b y un citocromo c_1 respectivamente. Río abajo se ubica el operón res que inluye a resB, resC y un gen hipotético. Se postula una asociación funcional entre las proteínas Res y los citocromo c codificados en esta región génica. Durante la oxidación de Fe²⁺, el complejo bc₁ participa en el transporte de electrones hacia el NAD(P). Utilizando técnicas espectrofotométricas y medición del consumo de oxígeno junto al uso de inhibidores específicos del complejo bc_I hemos determinado que este complejo también está presente durante la oxidación de tiosulfato y participaría en el flujo directo de electrones entre el tiosulfato y O2. Bajo estas condiciones la bacteria posee otras vías quinol oxidasa alternativas que podrían jugar un papel en el metabolismo oxidativo de la bacteria. Se discutirá la implicancia de estos hallazgos en el modelo general de oxidación de hierro y tiosulfato. Fondecyt 1010623.

POSIBLE ROL DE LA HDL EN DEFENSA PRIMARIA EN LA PIEL DE CYPRINUS CARPIO. (A possible role for HDL in primary defense in the skin of Cyprinus carpio). Concha, M.I., Villanueva, J y Amthauer, R. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

El mucus cutáneo que recubre la piel de los peces ejerce una función vital en la defensa primaria frente a patógenos. Dicha función es mediada en parte por la acción de diferentes proteínas y péptidos constituyentes de esta secreción. Recientemente demostramos que apoA-I, la principal apolipoproteína constituyente de la lipoproteína HDL, se expresa en la epidermis de *C. carpio* para luego secretarse al mucus como una partícula de tamaño inferior a la HDL plasmática. Adicionalmente detectamos mediante análisis inmunohistoquímico la presencia de abundante marca contra apoA-II en las mismas células que expresan apoA-I en la epidermis de la carpa.

Entre las funciones defensivas que se han descrito en mamíferos para HDL y sus principales apolipoproteínas, apoA-I y A-II, se destacan su actividad antioxidante y antimicrobiana. A pesar de la divergencia a nivel de secuencia aminoacídica que existe entre las apolipoproteínas de mamíferos y las de vertebrados inferiores se determinó que la HDL aislada del plasma de la carpa posee una actividad bactericida sobre una cepa de *E. coli* no patogénica (CMB 0,2 - 0,8 µg/µl). Estos resultados sugieren que HDL y sus apolipoproteínas cumplirían un rol en la defensa primaria de la piel de los peces. Proyecto DID-UACH S-200005 y 200211

CARACTERIZACION DIPOLAR DE LAS MOLECULAS DE AGUA DE LA INTERFACE PROTEINA – SOLVENTE: PREDICCION DE ZONAS DE CONTACTO PROTEINA-PROTEINA. (Dipolar characterization of water molecule in protein-solvent interface: Prediction of protein-protein contact zone). González F. y Cuevas R. Universidade Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología, Casilla 40, Correo 33, Santiago, Chile. email: fgonzale@lauca.usach.cl

Técnicas de simulación molecular son utilizadas en este trabajo para investigar las propiedades estructurales de las moléculas de aguas de hidratación de una proteína. Para analizar las moléculas de agua de la interface proteínasolvente es utilizado un índice que caracteriza la orientación dipolar de una molécula de agua respecto a su entorno, este índice dipolar (I_D) permite identificar las regiones fuertemente solvatadas. De esta misma forma, las regiones con menor solvatación pueden ser caracterizadas como posibles zonas de contacto para formar complejos proteicos cuya región de contacto está estabilizada preferentemente por interacciones no enlazantes tipo van der Waals. Esta metodología es aplicada a un sistema modelo dado por la proteína lactina hepática de rata (PDB: Imsb) en donde es satisfactoriamente identificada la zona de contacto proteína-proteína.

Agradecimiento: Proyecto DICYT-USACH 020141 GN

Comunicaciones Orales

FISIOLOGIA - NEUROCIENCIA

BANDA 3 ERITROCITARIA EN EL DESCENSO DES-DE PUTRE (3600 m) AL NIVEL DEL MAR (ARICA). SUSCEPTIBILIDAD A PROTEOLISIS (SP) Y CAPACI-DAD ANTIOXIDANTE PLASMATICA (CAOX). (Erythrocyte band 3 protein on descending from Putre (3600 m) to sea level (Arica). Protease susceptibility and plasmatic antioxidant capacity). Benitez, DA¹.; Araneda, OF¹.; Penco, V¹., Viola, T¹., Celedón, G²; González, G³ y Behn, C¹. ¹Lab.Amb.Extremos, PDFB, Fac. Med. ICBM, Univ. Chile. ²Fac. Ciencias, ICBQ. Univ. Valparaíso, ³Inst.Química, Univ. Católica Valparaíso.

La SP de banda 3 de eritrocitos humanos aumenta por efecto de agentes oxidantes (Celedón et al., 1997; Celedón et al., 2001) v altura simulada de 4500 m (Celedón et al., 1998). Se estudia SP, CAOX y concentración plasmática de ácido úrico (UP) en 7 conscriptos que descienden desde Putre a Arica. SP fue 24.4 \pm 18.3 % y 18.2 \pm 11.5 % en Putre y Arica, respectivamente (n.s), CAOX, en umoles de equiy, Trolox, fue 230.9 ± 37.8 en Putre v 5.62 ± 0.93 en Arica (n.s). SP es abolida por el inhibidor de proteasas PMSF solamente en Arica, indicando que en Putre, la banda 3 es fragmentada por mecanismos independientes de proteasas. SP en Putre y Arica, en conjunto, correlaciona con CAOX (r = 0.76; p < 0.002) y UP (r =0.58: p < 0.02). CAOX correlationa con UP (r = 0.79: p < 0.002). Aumentos de SP pueden resultar de la acción de prooxidantes (H₂O₂ y O₂-) generados en la formación de ácido úrico por la xantino oxidasa.

Financiado por FONDECYT 1000858.

NEURONAS SENSORIALES DE GANGLIO NODOSO PRESENTAN CONEXONES FUNCIONALES. (Sensory neurons of nodosal ganglia present functional conexons). Retamal M*., Garcés G*., Alcayaga J**., Sáez J.C*. (*)Departamento de Fisiología, Pontificia Universidad Católica de Chile. (**)Laboratorio de Fisiología Celular, Universidad de Chile

Los conexones o hemicanales están formados por proteínas denominadas conexinas (Cxs). Los hemicanales en la membrana plasmática forman canales de las uniones en hendidura (UH) o hemicanales libres. Las neuronas sensoriales expresan Cxs, pero no forman UH. Proponemos que las Cxs que expresan dichas neuronas forman hemicanales funcionales. Se obtuvieron ganglios nodosos (GN) de gatos adultos de ambos sexos. Las células disociadas se cultivaron por 5-25 días. La presencia de Cxs se determinó mediante inmunotransferencia e inmunofluorescencia. Se utilizó colorantes fluorescentes (amarillo de Lucifer(LY), PM:457(-2), bromuro de etidio(BrE), PM:394(+1) y 4',6-Diamidino-2-Fenilindol(DAPI), PM:350(+2)) para determinar el estado funcional de las UH (transferencia intercelular) y la abertura de hemicanales (captación del medio extracelular).

En cortes de GN se detectó Cx26 en neuronas y Cx43 en células satélites. La presencia de Cx43 se ratificó mediante inmunotransferencia. En cultivos, un 30% de las neuronas y un 90% de las glías presentaron acoplamiento a LY, mientras un 20% de neuronas capto LY pero no BrE o DAPI. La captación y el traspaso de colorante fueron bloqueados por inhibidores de UH (octanol y ácido 18-β-glicirretínico). Actualmente se está estudiando el efecto dichos inhibidores de las UH sobre la resistencia de entrada

Estos resultados indican que algunas de las neuronas del GN presentan hemicanales funcionales selectivos a aniones.

INTERACCION DE PEPTIDOS B-AMILOIDE CON MEMBRANAS CELULARES Y SU RELACION CON LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER (Interaction of B-Amyloid Peptides with Cell Membranes and its Relation with the Alzheimer's Disease) Hernández, P.L., Suwalsky, M., Villena, F., Sotomayor, C.P.* Facultad de Ciencias Químicas y Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, *Instituto de Química, Universidad Católica de Valparaíso. Patrocinio: Puchi, M.

enfermedad de Alzheimer se caracteriza histopatológicamente por el depósito extracelular de péptidos β-amiloide (PβA) a la forma de agregados fibrilares en las placas seniles del cerebro. Estos péptidos son el producto de degradación de una proteína precursora del amiloide que se ubica en la membrana celular. Los PβA poseen una porción polar y otra hidrofóbica, característica que les confieren la propiedad de interactuar entre sí formando los agregados v con los componentes de las membranas originando alteraciones estructurales y funcionales. Se piensa que estos péptidos serían tóxicos solamente a la forma de multímeros. Este trabajo presenta los resultados obtenidos al hacer interactuar los PBA(1-40) y PBA(1-42) al estado monomérico con membranas de eritrocitos humanos y fantasmas así como con modelos de membrana constituidos por multibicapas de fosfatidilcolina (DMPC) y fosfatidiletanolamina (DMPE) y vesículas unilamelares grándes de DMPC. Las técnicas utilizadas fueron microscopía electrónica de barrido para los eritrocitos humanos, difracción de rayos X para las multibicapas fosfolipídicas y espectroscopía de fluorescencia para vesículas y fantasmas de eritrocitos. Nuestros resultados muestran que estos péptidos al estado monomérico también alteran la estructura de las membranas celulares. Agradecimientos: Provectos FONDECYT 1020476.

Agradecimientos: Proyectos FONDECYT 1020476, CONICYT-CNR(Italia) 2000.5.02.099.

ERK1/ERK2 MEDIAN EL EFECTO AGUDO DE D-GLU-COSA SOBRE EL TRANSPORTE DE L-ARGININA EN ENDOTELIO FETAL HUMANO (ERK1/ERK2 mediate the acute effect of D-glucose on L-arginine transport in human fetal endothelium). Yori, A., Roa, J., Sobrevia, L. Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL), Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile.

El tono vascular es modulado por la actividad y expresión de sistemas de transporte de L-arginina y la sintasa del NO endotelial (eNOS). Alta D-glucosa aumenta la expresión y actividad de los sistemas y+/CAT-1 e y+/CAT-2B, eNOS y la fosforilación de ERK1/ERK2 en endotelio de vena umbilical humana (HUVECs). Determinamos si el efecto de D-glucosa sobre el transporte de L-arginina está asociado a cambios en la actividad de ERK1/ERK2. La incubación de HUVECs con D-glucosa 25 mM (2 minutos) aumenta la fosforilación de ERK1/ERK2, asociado con aumento del transporte de Larginina. El efecto de D-glucosa fue inhibido por N^G-nitro-Larginina metil éster (L-NAME, inhibidor de eNOS), PD-98059 (inhibidor de MAP kinasa kinasa 1/2, MEK1/2) y KT-5823 (inhibidor de PKG). S-Nitroso-acetil-L,D-penicilamina (SNAP, donador de NO) y dbcGMP aumentan la fosforilación de ERK1/ERK2 y el transporte de L-arginina en forma similar a alta D-glucosa. Así, el efecto agudo de alta D-glucosa sobre el transporte de L-arginina involucra activación de ERK1/ ERK2, eNOS, PKG y guanilil ciclasa soluble en endotelio

Financiado por FONDECYT (1000354 & 7000354), DIUC-Universidad de Concepción (202.033.095-1 & 201.084.003-1)(Chile) y The Wellcome Trust (UK).

EXPRESION DE GUANILILCICLASA Y HEMOXIGENASA EN PULMON Y ARTERIA PULMONAR DE RECIEN NACIDOS DE OVEJA Y DE

LLAMA (Guanylate cyclase and hemoxygenase expression in lung and pulmonary arteries from newborn sheep and llama). ¹Reyes R, ¹Ebensperger G, ²Parra R, ¹Herrera E, ¹Pulgar VM, ⁴ Riquelme RA, ¹ Sanhueza EM, ¹.₃Llanos AJ. ¹Programa de Fisiopatología, ICBM, Facultad de Medicina, ³Centro Internacional de Estudios Andinos (INCAS), ⁴Departamento de Bioquímica-Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, ²Departamento de Biología y Salud, Facultad de Ciencias, Universidad de Tarapacá.

La llama (Lama glama) ha evolucionado en las grandes altitudes del altiplano andino, seleccionando mecanismos muy eficientes para tolerar la hipoxia. El recién nacido de llama desarrolla una marcada hipertensión pulmonar al someterse a hipoxia aguda, superior a la observada en ovejas frente a hipoxia equivalente. Esta diferente respuesta de la circulación pulmonar en hipoxia podría deberse a diferencias en el equilibrio entre factores vasodilatadores y factores vasoconstrictores entre ambas especies. Para dilucidar este punto, comparamos la expresión de dos enzimas involucradas en la producción de agentes vasodilatadores: la guanililciclasa soluble (NO y CO) y la hemoxigenasa-2 (CO) en arteria pulmonar y pulmón en recién nacidos de llama y oveja. La expresión de guanililciclasa es similar en llama y oveja, sin embargo, la expresión de hemoxigenasa-2 es significativamente mayor en pulmón y arteria pulmonar de recién nacidos de llama. La mayor expresión de hemoxigenasa-2, probablemente refleje una mayor producción de CO en la llama, que permita compensar el fuerte tono vasoconstrictor que esta especie presenta en la circulación pulmonar. FONDECYT 1010636-1020599.

CONTRIBUCION DE RECEPTORES AMPA Y KA EN EL DESARROLLO DE EXCITOXICIDAD EN RETINA DE PEZ CEBRA (Contribution of AMPA and KA receptor in excitotoxicity in zebrafish retina). García-Olivares; J.; Neely, A. Centro de Neurociencias Celular y Molecular de Valparaíso. Facultad de Ciencias. Universidad de Valparaíso. Patrocinio: Iniciativa Científica Milenio. Mideplan # P99-037-F.

Para evaluar la participación de los diferentes tipos de iGluR en la excitoxicidad de la retina del pez cebra se realizaron inyecciones intravitreales de agonistas (NMDA, AMPA y KA) y antagonistas AMPA/KA (CNQX, GYK52466, JST) y se midieron sus efectos en la viabilidad celular (método MTT) en tratamientos de 24h, 48h y 72h. El agonista NMDA fue el menos efectivo con una sobrevida de 79,9%±4,5% en 72h. La inducción de excitoxicidad con AMPA mostró patrones de sobrevida dependiente de dosis (67,7%±5,2% en 72h). Con 25 y 50 μM de KA se encontró en 24h ≈80% de sobrevida, la que disminuyó significativamente (59,2%±4,7%) en los tratamientos de 48h. Mientras que con 100 µM de KA se obtuvo solo 67,0%±3,5% de sobrevida en 24h. CNQX protege ≈20% de la toxicidad producida por 50 µM de KA en 48h y 72h de tratamiento pero no en 24h. Los antagonistas GYKI52466 y JST protegen significativamente en 24h pero no disminuyen el efecto del KA en los tratamientos de 48h y 72h. Nuestros resultados sugieren que en la retina del pez ocurren dos tipos de procesos, uno rápido (dentro de 24h) mediado principalmente por receptores AMPA y un proceso lento (48h-72h) inhibido por CNQX que nos sugiere la participación de receptores KA.

ELECTROFISIOLOGIA DE LAS NEURONAS DE CA1 EN REBANADAS DE HIPOCAMPO DEL MUTANTE taiep. (Electrophysiology of CA1 pyramidal neurons in hippocampal slices in the mutant taiep rat). Bonansco, C., Fuenzalida, M., Roncagliolo, M. Departamento de Fisiología. Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.

La interacción neurona-glía parece tener un importante papel en la maduración de las propiedades de excitabilidad neuronal y transmisión sináptica durante el desarrollo. Hemos reportado que las motoneuronas del mutante de glía taiep, no manifiestan los cambios madurativos esperados en sus propiedades eléctricas y presentan, además, potenciales postsinápticos evocados asincrónicos. Para establecer si la aparición de estas alteraciones se correlaciona con el período de maduración del circuito, se registró, en rebanadas de hipocampo (patch clamp; fijación de corriente/voltaje), neuronas piramidales de CA1, cuya maduración es posterior a la de motoneuronas espinales. Las neuronas controles y taiep no muestran diferencias en su potencial de reposo (≈ -60mV) y exhiben rectificación de entrada en respuesta a la inyección de pulsos hiperpolarizantes. En ambos grupos se observó una disminución de la resistencia de entrada con la edad. En presencia de picrotoxina, la estimulación de las colaterales de Schäffer produjo, tanto en control como en taiep, corrientes postsinápticas excitatorias (EPSC_e) rápidas, de corta latencia, sensibles a APV y CNQX. En ratas taiep de mayor edad (P>25), las EPSC_e iniciales fueron seguidas de corrientes sinápticas adicionales, asincrónicas, con latencias variables, entre 20 y 120 ms, similares a las observadas en motoneuronas espinales. Estos resultados preliminares sugieren que taiep presenta una severa alteración en los mecanismos implicados en la sincronización de transmisión sináptica, los cuales estarían asociados a la maduración de los circuitos neurales. (Fondecyt 1991004, DIPUV 28/2002)

LA HIPERTENSION INDUCIDA POR DESNUTRICION PRENATAL EN LA RATA ES PREVENIDA POR ADMINISTRACION NEONATAL DE CAPSAICINA (Prenatal malnutrition-induced hypertension is prevented by neonatal capsaicin administration). Pérez, H.¹, Ruiz, S.²¹Laboratorio de Hormonas y Receptores, INTA, Universidad de Chile; ² Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Santo Tomás.

Existen evidencias que el retardo del crecimiento fetal inducido por desnutrición prenatal está asociado con desarrollo de hipertensión en la vida adulta. Para investigar la contribución de las fibras C sensoriales cardiovasculares en estos estados hipertensivos, se estudió las variaciones de presión arterial en ratas jóvenes que fueron sometidas durante la gestación a malnutrición prenatal y tratadas al nacimiento con capsaicina, neurotóxico específico de fibras C. Los resultados muestran que la desnutrición materna resulta en déficits de peso corporal y cerebral de las crías junto con el desarrollo de hipertensión. El tratamiento con capsaicina no modificó el peso corporal y cerebral de las crías, pero fue capaz de prevenir el desarrollo de hipertension. En contraste, en el grupo de animales normales, capsaicina no indujo cambios en los parámetros cardiovasculares. Los resultados indican que la elevación de la presión arterial en ratas sometidas a desnutrición prenatal depende de la actividad de algunas fibras sensoriales no mielinizadas C involucradas en el control cardiovascular. (Financia Laboratorio de Hormonas y Receptores, INTA).

BOTANICA I

PREFERENCIAS DE HOSPEDERO DE LA LIANA Hydrangea serrata EN EL PARQUE NACIONAL PUYEHUE (Host preferences of the liana Hydrangea serrata in Puyehue National Park) Jiménez-Castillo M. y Lusk C. Laboratorio de Ecología Forestal, Departamento de Botánica, Universidad de Concepción.

Las lianas son plantas que producen muy poco tejido xilemático, por lo que no pueden mantenerse erectas por si mismas y son dependientes de un soporte mecánico para alcanzar el dosel del bosque y obtener luz. El árbol hospedero, sobre el cual trepa la liana, sufre daño mecánico y un fuerte estrés que disminuye su tasa de crecimiento, masa foliar y capacidad reproductiva. Si las lianas treparan con mayor frecuencia sobre algunas especies, podrían llegar a tener incidencias a nivel comunitario al disminuir "selectivamente" la capacidad competitiva de alguna especie en particular, pudiendo llegar a tener relevancia en la estructuración de la comunidad arbórea del bosque. En el parque Nacional Puyehue, Hydrangea serrata es la liana dominante y está presente en el 50% de los árboles del dosel. El objetivo de este trabajo fue saber si H. serrata tiene preferencia por algún hospedero en particular y los motivos de esta preferencia. Se muestrearon 533 árboles al azar que incluyeron 12 especies arbóreas. Se encontró que H. serrata tendría preferencia por un hospedero, Laureliopsis philippiana, la que mostró una frecuencia de infestación mucho mayor a la esperada por azar; y por el contrario, Nothofagus dombeyi y Luma apiculata, tuvieron una frecuencia de infestación mucho menor a la esperada por azar. Se discuten las causas de la preferencia de hospedador por parte de H. serrata y las posibles implicancias que esta liana podría tener en el ecosistema forestal del Parque Nacional Puyehue.

Agradecimientos: FONDECYT 1000367, Carolina Apablaza y María Moreno

VARIACIONES DE ESTRES Y ASOCIACIONES DE ESPECIES VEGETALES EN EL MATORRAL DE CHI-LE CENTRAL (Stress variation and plant species associations in the Matorral of central Chile) Badano, E.I. & Cavieres, L.A. Laboratorio de Biogeografía-Ecológica, Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción. Casilla 160-C, Concepción, Chile. Email: ebadano@udec.cl. Patrocinio: Ernesto Gianoli

Sobre un gradiente de condiciones limitantes para el establecimiento y supervivencia, las interacciones positivas entre organismos tienden a incrementarse a medida que estas condiciones se tornan más restrictivas. En el matorral mediterráneo de Chile Central existe un gradiente de condiciones limitantes entre laderas de distinta exposición a la radiación, donde las laderas de exposición sur son mésicas, mientras las de exposición norte presentan características más xéricas. Sobre este gradiente deberían observarse patrones de distribución que reflejen un incremento en las interacciones positivas (mayor asociación entre especies) a mayor aridez. En este trabajo se consideraron dos laderas de exposición norte y dos laderas de exposición sur y en cada ladera se evaluó la intensidad relativa de la asociación entre especies. Se observó que las asociaciones entre especies de plantas son más frecuentes en las laderas de exposición norte, mientras que en las laderas de exposición sur estas asociaciones poseerían una menor relevancia. A partir de estas observaciones se concluye que los patrones de distribución en el matorral coinciden con el postulado de un incremento en las interacciones positivas a mayor intensidad de las limitaciones para el establecimiento y la supervivencia.

Agradecimientos: E.I. Badano agradece al proyecto MECESUP UCO-9906.

FOTOSINTESIS NETA EN INDIVIDUOS ADULTOS Y JUVENILES DE DOS ESPECIES ARBOREAS DE LA SELVA NUBLADA DE VENEZUELA. (Photosynthetic rates in young and adult individuals of two tree species from the Venezuelan "selva nublada"). Piper, FI.¹, Cavieres, I.A.¹, Rada, F.² & Cabrera, H.M.³, ¹Departamento de Botánica, Universidad de Concepción, casilla 160-c, Concepción, Chile. Instituto de Investigaciones Ecológicas, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. ³Instituto de Biología, Universidad Católica de Valparaíso, Chile. E-mail: fpiper@udec.Cl

En árboles se ha observado una reducción en la tasa de fotosíntesis neta y conductancia estomática asociada con la edad. El incremento en la resistencia hidráulica y el tamaño del individuo con la edad reducirían el suministro de agua para transpiración, limitando la conductancia estomática y la fotosíntesis neta. Sin embargo, la productividad de sitios con árboles viejos, poco densos, puede ser mayor que la de sitios con similar composición de especies y condiciones, pero más densos y con árboles jóvenes. En varias especies se ha demostrado que la eficiencia en el uso de agua aumenta con la edad. Además, la disponibilidad de agua sería mayor con la edad si las raíces de árboles más grandes alcanzan fuentes de agua más profundas posibilitando así mayores tasas de fotosíntesis neta. Se estudiaron las variaciones diarias en fotosíntesis neta, conductancia estomática y radiación en individuos jóvenes y adultos de dos especies de la selva nublada venezolana: Podocarpus oleifolius y Alnus jorullensis. En A. jorullensis se observó mayor fotosíntesis neta en individuos jóvenes (0,94 umol.M⁻².S⁻¹) en comparación a los adultos (0,82 umol.M⁻².S⁻¹ 1), lo cual podría explicarse por la hipótesis de la conductividad hidráulica. En P. oleifolius en cambio, la mayor fotosíntesis neta ocurrió en individuos adultos (0,76 vs. 0,34 µmol.M⁻².S⁻¹). Además, se observaron mayores valores de radiación para estos individuos. Dado que P. oleifolius se ubica preferencialmente en el centro de la selva húmeda, los individuos adultos podrían tener mayor profundidad radicular y consecuentemente mayor disponibilidad hídrica para la fotosíntesis. Se discuten otras posibles explicaciones a los resultados.

EL BANCO DE SEMILLAS BAJO Y ENTRE EL DOSEL DE Porlieria chilensis (Zygophyllaceae) Y SU RELACION CON LA EMERGENCIA DE ESPECIES HERBACEAS EN UNA ZONA ARIDA DEL NORTE-CENTRO DE CHILE. (The seed bank underneath and outside Porlieria chilensis (Zygophyllaceae) canopy and its relationship with the emergence of herbaceous species in the arid zone of northcentral Chile). Cea, A.P. & Gutiérrez, J.R. Universidad de La Serena. Patrocinio: Julio Gutiérrez.

En todas las regiones del mundo en que las especies anuales son un grupo dominante los bancos de semillas son abundantes y heterogéneos. Los bancos de semillas, debido a sus particulares requerimientos para la germinación y dispersión, dan como resultado una distribución de las plantas en forma de parches. Los distintos parches en la Quebrada de las Vacas, Parque Nacional Fray Jorge, están dados principalmente por la especie arbustiva Porlieria chilensis (guayacán), la cual exhibe un 30 % de cobertura. Los micrositios entre y bajo el dosel de Porlieria chilensis difieren en humedad, sombra, nutrientes, resguardo y/o posible atrapamiento de semillas afectando la composición de especies anuales. A fin de abordar ésta temática se han colectado muestras de suelo para determinar la composición y número de semillas entre Abril y Diciembre de 2001, se colectó las semillas directamente de las plantas herbáceas al final de la temporada de crecimiento, y se censó la vegetación herbácea, para establecer la relación entre el banco de semillas en el suelo, la fracción germinativa y la composición de especies que ocupan los distintos micrositios. Financia: FONDECYT 1000041.

GRUPOS FUNCIONALES Y RELACIONES HÍDRICAS EN ARBUSTOS DEL DESIERTO COSTERO DE COQUIMBO, CHILE. (Functional groups and water relations in shrubs from the coastal desert of Coquimbo, Chile). Squeo, F.A., Depto. Biología, Universidad de La Serena, Casilla 599, La Serena, Chile. f_squeo@userena.cl

La dinámica de la vegetación en el desierto costero de la Región de Coquimbo está fuertemente influenciada por la variación interanual en las precipitaciones asociadas a eventos ENOS (El Niño - Oscilación del Sur), que determina cambios abruptos de productividad entre años lluviosos (El Niño) y secos (La Niña). Nuestros estudios en la Quebrada Romeral (29°43'S - 71°41'O, 300 m) realizados desde 1996 al presente, nos ha permitido describir distintos grupos funcionales en base a su hábito (deciduo / siempre-verde) y su arquitectura radicular (superficiales, dimórficos y profundos). Además, estos grupos funcionales difieren en sus capacidades de utilizar diferentes fuentes de agua. Suponemos que las interacciones ecológicas entre especies de un mismo grupo funcional deberían ser más estrechas que entre especies de diferente grupo funcional. Sin embargo, el levantamiento hidráulico (redistribución de agua a través de las raíces) puede modificar las interacciones competitivas entre plantas al proveer agua a las especies con sistemas radiculares superficiales durante los períodos de sequía, en una interacción de facilitación entre distintos grupos funcionales. En este trabajo se integran diversos resultados de relaciones hídricas entre y dentro de grupos funcionales y se plantea un modelo de interacciones que se producen entre especies de distintos grupos funcionales.

Proyecto FONDECYT 1.000.035 y Compañía Minera del Pacífico (CMP)

DINAMICAS DEL BANCO DE SEMILLAS GERMINABLES EN EL MATORRAL DE CHILE CENTRAL. (Seed bank dynamics in matorral of Chile central) Figueroa, JA., Teillier, S & Jaksic, FM. Centro de Estudios Avanzados en Ecología & Biodiversidad, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Escasos estudios reconocen el banco de semillas de herbáceas del matorral de Chile central. Estudiamos, en un año, el efecto de la edad y del dosel de la vegetación leñosa sobre la abundancia de semillas en el suelo. Para registrar la riqueza y densidad de semillas se reconocieron todas las plántulas germinadas en 120 muestras de suelo a finales del invierno, primavera y verano, para 3 parches de distinta edad y en dos microhábitats. Las muestras de suelo fueron regadas en invernadero durante dos meses. Se identificaron en el suelo alrededor de 70 especies entre hierbas y leñosas. En primavera y verano, Bromus berterianus y Vulpia bromoides representaron > 60% del total de semillas y en invierno < 30%. Durante primavera y verano se acumularon veinte veces más semillas germinables que en invierno y principalmente fuera del dosel. La densidad de semillas fue pequeña bajo el dosel de parches antiguos. Esta dinámica puede ser explicada por la variabilidad en semillas de gramíneas. Por el contrario, excluyendo las gramíneas, no encontramos mayor acumulación fuera del dosel y el máximo de semillas germinables se alcanzó a finales del verano. Los resultados muestran la gran riqueza y abundancia del banco de semillas de hierbas para Chile central y grandes fluctuaciones temporales según la fenología de las especies.

ECOFISIOLOGIA Y ESTRES EN ARBOLES MEDITERRANEOS: LAS KAGENECKIAS EN LOS ANDES DE CHILE CENTRAL. (Ecophysiology and stress in Mediterranean trees: Kageneckias of Chile). ¹Cabrera H.M., Rioseco T., Marín J., Román O., Matus M.V., Garay D. y ²Arroyo M.T.K.. 1. Inst.Biología (Botánica), Fac. Cs. Bás. Mat., UCV, Brasil 2950, Valpo.. hcabrera@ucv.cl 2. Milenio EAEIB, Fac. Cs.. U. de Chile, Casilla 653, Chile.

En los ecosistemas mediterráneos, múltiples estrés determinarían límites altitudinales de vegetación y distribución de especies. Se estudió el efecto del estrés hídrico, térmico y lumínico en fotosíntesis, tolerancia a frío y balance hídrico en árboles siempreverdes (*Kageneckia oblonga*), y semideciduos (*K. angustifolia*) entre los 1200 a 3100 m en los Andes mediterráneos de Chile central (33°).

La fotosíntesis, similar en K. a. y K. o., es limitada por un control estomático en verano y otoño (potenciales hídricos más bajos del año). Sin embargo, no estarían afectadas por la luz, como lo sugieren resultados de la fluorescencia y concentración de pigmentos fotoprotectores. Análisis foliares (N y P) muestran una relación con las diferencias interespecíficas, como conductancias y transpiración mayores entre las especies. No se encontró una fotoinhibición crónica por sequía (verano) o frío (invierno) aunque estacionalmente varía el consumo fotoquímico y no-fotoquímico. En los árboles se presentaría superenfriamiento. Estos estrés afectarían de manera distinta a las formas de vida diferentes y en la distribución de las especies, se estaría reflejando la interacción en estos factores y otros procesos.

CMEAB-MTKA, Fond 3990039, UCV-FID y 122.755/00, 122.763/01, 122.772/02

¿CAMBIOS EN LA VEGETACION DEBIDO A LA EX-CLUSION DE GANADO EN LAS ISLAS JUAN FERNANDEZ? (Vegetation changes due to cattle exclusion in the Juan Fernández Islands?) Cuevas, J. Fundación Senda Darwin, Las Palmeras no. 3425, Santiago, Chile.

El ganado doméstico dentro de áreas silvestres protegidas es un problema que afecta al Parque Nacional Juan Fernández. La herbivoría puede restringir la regeneración de especies endémicas y conducir a su extinción local o global. En el año 2000, se efectuaron exclusiones que impiden su entrada al bosque nativo a lo largo de 8,2 km. Durante 27 meses se monitoreó la composición y abundancia florística en 12 parcelas permanentes de 25 m² cada una, dentro y fuera de las exclusiones, para verificar los siguientes efectos esperados en las exclusiones: 1) mayor crecimiento en altura de las plantas, 2) incremento en cobertura vegetal y 3) cambio de la flora hacia especies propias del bosque. Hasta ahora, no hubo diferencias en altura de las plantas, pero han ocurrido cambios menores de composición y abundancia. La cobertura vegetal aumentó dentro y fuera de la exclusión. Sólo fuera de ella se detectó la aparición de nuevas especies de pradera. Los cambios son modestos debido al poco tiempo transcurrido, a la disminución de la carga animal previa a la construcción del cerco, a la presencia de otros herbívoros como conejo, a la acentuada dominancia local de Acaena argentea y a la variabilidad estacional de las abundancias de las especies.

Financiamiento: 1) Proyecto de Cooperación Internacional Chile-Gobierno de los Países Bajos; 2)FONDAP-Fondecyt 1501-0001.

BIOLOGIA CELULAR -BIOLOGIA DEL DESARROLLO. MORFOLOGIA

IgGs EN FRACCIONES SUBCELULARES DE CAPA GERMINAL DE QUISTES HIDATÍDICOS FERTILES E INFERTILES DE BOVINO. (IgGs in subcellular fractions of germinal layer of bovine fertile and unfertile hydatid cysts). Cabezón, C. y Galanti, N. Programa de Biología Celular y Molecular, I.C.B.M., Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La hidatidosis es una zoonosis causada por el platelminto Echinococcus granulosus, que utiliza a herbívoros y al hombre como hospederos intermediarios. En ellos se forman quistes hidatídicos fértiles o infértiles. A partir de la capa germinal de quistes fértiles, a diferencia de los infértiles, segeneran protoescólices (estado larval), que al ser ingeridos por los hospederos definitivos (carnívoros), continúan el ciclo biológico del parásito.

Estudios anteriores identificaron por microsecuenciación y Western Blot, fragmentos de inmunoglobulinas unidas fuertemente a la capa germinal en ambos tipos de quistes. Un fragmento de cadena liviana de IgG sólo se encontró en quistes infértiles.

Con el objetivo de estudiar la localización subcelular de las IgGs en las células de la capa germinal de quistes bovinos, se realizó un fraccionamiento subcelular por centrifugación diferencial. Proteínas de fracciones nuclear, mitocondrial, microsomal y citosol fueron separadas por SDS-PAGE. La identificación de las IgGs se realizó mediante Western Blot. Los resultados indican que las cadenas pesadas y livianas de IgG se encuentran localizadas en todas las fracciones subcelulares obtenidas, tanto para quistes fértiles como infértiles. Sin embargo, se encontró mayor concentración en la fracción enriquecida en núcleos, en ambos tipos de quiste. Nuestros resultados demuestran que las inmunoglobulinas se encuentran preferentemente en la fracción nuclear, indicando que penetran las células de la capa germinal.

Financiamiento: Proyectos FONDECYT Nº 1010817 y SIDA/SAREC Network.

DETECCION Y SEGUIMIENTO DE MOVIMIENTOS OCULARES INDUCIDOS POR ESTIMULOS INTERFERENTES EN UNA PRUEBA DE ATENCION SOSTENIDA. PROPUESTA DIAGNOSTICA PARA EL SINDROME DE DEFICIT ATENCIONAL. (Detecting and tracking eyes movement induced by interfering stimuli during a sustained attention task. A diagnostic proposal for the attention deficit syndrome) J. Kreither², V. López², J. López^{1,2}, R. Ortega¹, P. Millán¹,R. Rosas², F. Aboitiz^{1,2}. Departamento de Psiquiatría y Centro de Investigaciones Médicas¹, Escuela de Psicología², Pontificia Universidad Católica de Chile.

El Síndrome de Déficit Atencional (SDA) tiene alta incidencia mundial (2-9.5% de la población infantil) por lo que es importante mejorar la precisión diagnóstica y el tratamiento farmacológico, atenuando el sobrediagnóstico y los falsosnegativos. En este sentido, proponemos un método de evaluación computacional, para medir el grado de incapacidad de sostener la atención sobre objetos relevantes, mediante el seguimiento de la desviación de la mirada hacia elementos distractores visuales que aparecen fuera del foco atencional primario. Con este fin registramos los movimientos oculares asociados a la aparición aleatoria de elementos distractores periféricos, en una prueba de atención sostenida clásica. Hemos desarrollado un sistema eye-tracker para medir dichos movimientos. Paralelamente, registramos la actividad EEG mediante un sistema Geodesic de 64 canales. Esta prueba está montada en un paradigma P300 con el propósito de evaluar la actividad eléctrica cerebral evocada, tanto en la situación de atención como de distracción. Nuestros resultados preliminares apoyan la utilización de P300 como indicador de disminución atencional en niños con SDA sin fármacos. Fondecyt 1010816

Millenium Nucleus for Integrative Neurosciences

REMODELACION DE LOS AXONES Y ACOPLAMIEN-TO DE LOS PITUICITOS EN EL LOBULO NEURAL (Neurosecretory Axon remodelling and pituicyte coupling in the neural lobe). **Krsulvic**, **J.** Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.

El stress osmótico severo provoca significativos cambios histológicos en la neurohipófisis que involucran a los cuerpos de Herring y "gap junction" de los axones y las células gliales, respectivamente, Ratas Sprague Dawley sanas y mutantes "taiep" (con daños neurológicos progresivos) machos de tres años de edad; se subdividieron en seis grupos: controles sanos; sanos deshidratados; sanos deshidratados-rehidratados; taiep controles; taiep deshidratados; taiep deshidratadosrehidratados. Las hipófisis fueron extraídas rápidamente y los lóbulos neurales (LN) procesados para microscopia electrónica e inmunocitoquímica. Se utilizan anticuerpos para visualizar: neurofisina, neurohormonas y conexinas. En los axones de las ratas deshidratadas no se aprecian los antígenos propios de los gránulos neurosecretorios, pero los cuerpos de Herring, de gran tamaño y forma ramificada, permanecen completamente inmuno-reactivos. Cuando la deshidratación es seguida por 4 días de rehidratación, los axones aparecen cargados de gránulos neurosecretorios, pero los cuerpos de Herring no se observan más. Este hecho es más notorio en los mutantes. Estos resultados indicarían que, en condiciones experimentales, en el LN acontece una notoria remodelación. El análisis ultraestructural refuerza estas observaciones y revela la existencia de "gap junction" entre los pituicitos, lo cual a su vez es confirmado por las reacciones inmuno positivas de conexina-43, que aparecen como puntos ampliamente distribuidos en el tejido glandular, sugiriendo la posibilidad de un acoplamiento funcional.

Proyecto DIPUV 14/2001

RAC1 MEDIA EL ESTIMULO DE TGF-β1 SOBRE LA MIGRACION SIN AFECTAR LA PRODUCCION uPA Y MMP-9 DE QUERATINOCITOS TRANSFORMADOS. (Rac1 mediates the TGF-β1 stimulus on migration without affecting uPA and MMP-9 production of transformed keratinocytes). Santibañez J.F. Laboratorio de Biología Celular. INTA, Universidad de Chile.

Durante el proceso de progresión maligna las células tumorales adquieren un aumento de la migración con pérdida de la adhesión cel-cel y aumento de la expresión de uPA y MMP-9. En queratinocitos transformados PDV el factor de crecimiento transformante β1 (TGF-β1) ha mostrado ser un potente estimulador de la migración y de la pérdida de la adhesión cel-cel dependiente de Cadherina-E (Cad-E), fenómenos en los cuales se ha descrito que proteínas de la familia Racl juegan un importante papel. En este trabajo hemos tenido como objetivo determinar si Rac1 media la migración y la producción de uPA y MMP-9 estimulada por TGF-β1 en PDV. En esta línea celular el tratamiento con TGF-β1 estimula la capacidad migratoria (medida por ensayos de herida), la deslocalización de Cad-E (observadas por IF) y producción de uPA y de MMP-9 (determinadas por zimografías), para analizar el papel de Rac1 se transfectaron establemente PDV con una forma mutacionalmente activa (ARAC) y dominante negativo (DNRAC) de esta gen. Las células ARAC mostraron fuertes cambios fenotípicos acompañados de un reordenamiento cortical de F-actina y una gran capacidad migratoria, respondiendo al estimulo de TGF-β1 sobre la producción de uPA y MMP-9 y en forma similar a las células parentales sin mostrar cambio aparentes en los niveles basales de expresión de ambas proteasas, estas células a su vez mostraron altos niveles de activación de ERK1,2 similares a la activación de estas quinasas por TGF-β1 en PDV, el tratamiento con el inhibidor de MEK1,2 PD98059 produjo una significativa disminución de la migración de ARAC con una recuperación de la adhesión cel-cel dependiente de Cad-E. Por su parte las células DNRAC no mostraron cambios fenotípicos significativos, en cambio la migración inducida por TGF-β1 fue significativamente reducida y no mostraron cambios en el citoesqueleto de actina bajo el tratamiento con el factor, aunque respondieron al estímulo de TGF-\(\beta\)1 sobre la producción de uPA y MMP-9 en forma similar a PDV. Los resultados obtenidos nos permiten sugerir que Rac1 mediaría la migración de PDV en respuesta a TGF-β1 en parte por la capacidad de modificar el citoesqueleto de actina y activar ERK1,2 sin modificar la producción de uPA y MMP-9. Financimiento: Proyecto FONDECYT 3000045.

LOCALIZACION IN SITU DE SINTESIS DE DNA Y PROTEINAS DURANTE LA FORMACION DE PROTOESCOLICES DE Echinococcus granulosus. (In situ localization of DNA and protein synthesis during Echinococcus granulosus protoscolex formation). Paredes, R.; Galindo, M.; Marchant, C.; Miño, V. y Galanti, N. Programa Biología Celular y Molecular, I.C.B.M., Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Los protoescólices, formados a partir de la capa germinal de quistes hidatídicos, son la forma infectiva de E. granulosus en cánidos. La mayoría de las células de la capa germinal no proliferan; aún cuando existen grupos de células proliferando en sectores que no presentan yemas ni protoescólices en formación. Las yemas se desarrollan a partir de la multiplicación celular de estos sectores y tempranamente ambas poblaciones celulares se separan. Posteriormente, la elongación de la yema involucra a células en proliferación presentes en la base de las mismas. En yemas tardías y protoescólices unidos a la capa germinal, el número de células en fase S disminuye abruptamente, sugiriendo que la proliferación está orientada a diferenciación y mantenimiento tisular. Finalmente, protoescólices libres muestran algunas células en proliferación, fundamentalmente en el cuerpo de la larva. Estas células participarían en el proceso de elongación conducente a la formación del gusano, que comienza en el intestino canino. La síntesis de proteínas es muy activa en células de yemas tempranas, coincidente con las poblaciones proliferativas. En protoescólices con diferentes estadios de desarrollo, se encuentra principalmente cerca de territorios celulares donde la diferenciación celular es evidente. En protoescólices libres, la síntesis de proteínas ocurre en la larva completa con mayor proporción a nivel de cuerpo y cuello.

Financiamiento: Proyectos FONDECYT Nº 1010817 y SIDA/SAREC Network.

AMPc MODULA LA EXPRESION DE PROTEINAS REGULADAS POR ESTROGENO Y PROGESTERONA EN LA MAMA Y EL ENDOMETRIO. (cAMP modulates the expression of estrogen and progesterone regulated proteins in breast and endometrium). Pinto M., Noé G. Unidad de Reproducción y Desarrollo. Facultad de Ciencias Biológicas. P. U. Católica de Chile.

Estudios clínicos han demostrado que el uso de terapia hormonal de reemplazo (estrógeno (E) y progesterona (P)) aumenta la incidencia de cáncer de mama, pero no la de cáncer endometrial, sugiriendo la existencia de un efecto paradójico de las hormonas ováricas entre la mama y el útero.

Postulamos que este efecto paradójico es causado por una "conversación cruzada" tejido-específica entre las vías de los receptores de estrógeno y progesterona y otras vías de transducción de señales tales como AMPc/PKA. Usando líneas celulares de mama (ZR-75, MCF-7) y de endometrio (Ishikawa) estudiamos los efectos de E y P, por separado y junto con 8-Br-AMPc sobre la expresión de proteínas importantes para la proliferación y diferenciación celular (ER, PR, STAT5, Bcl-2 y Tissue Factor (TF)).

Encontramos que la expresión de TF aumenta en respuesta a E y AMPc. Este aumento ocurre solamente en la línea celular Ishikawa. También en Ishikawa AMPc aumenta la expresión de PR. Basados en los resultados obtenidos sugerimos la existencia de una conversación cruzada tejido específica que explicaría, en parte, los efectos paradójicos de las hormonas ováricas.

Próximos estudios evaluarán la influencia de estos tratamientos sobre la fosforilación de proteínas involucradas en proliferación, diferenciación y apoptosis.

(FONDECYT 1020715)

EL OXIDO NÍTRICO REGULA LA ACTIVIDAD CILIAR OVIDUCTAL (Nitric oxide regulates ciliary activity in the oviduct) Kerr, B. y Villalón, M.J. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

El epitelio oviductal expresa las tres isoformas de la óxido nítrico (NO) sintasa. Además, resultados obtenidos en el laboratorio indican que el tratamiento con progesterona aumenta la expresión de la NOs tipo II, la producción de NO en el epitelio oviductal y atenúa el aumento de la frecuencia del batido ciliar (FBC) inducido por ATP; lo que sugiere la participación del NO en el control de la FBC oviductal. Objetivo: determinar la participación de la vía del NO en el control de la FBC oviductal. Para esto, se determinó la FBC mediante fotodensitometría y la [Ca+2]i por espectrofotometría. Resultados: El tratamiento con un inhibidor de la NOS (100µM L-NAME) desincroniza la FBC basal que presenta un grupo de células en contacto directo. Además en presencia del inhibidor, el aumento de la FBC y la [Ca+2]i inducido por ATP es significativamente mayor y sostenido en el tiempo. Por el contrario, el tratamiento de las células con un dador de NO, (10µM SNAP) atenúa y acorta el aumento de la FBC inducida por ATP. Los resultados obtenidos nos permiten postular al NO como una señal paracrina y/ o autocrina que mantiene una sincronía en la FBC entre células vecinas y como un modulador negativo de los cambios en la actividad ciliar inducidos por ATP. Proyecto DIPUC 2756-06.

LA VIA DE SEÑALIZACION NOTCH Y LA HOMEOPROTEINA XIRO1 INDUCE CRESTAS NEURALES POR REPRESION DE BMP4 EN EMBRIONES DE XENOPUS. Notch signaling and the homeoprotein Xiro1 induce neural crest by repressing BMP4 in Xenopus embryos. Glavic, A, Silva, F, Aybar, MJ, Mayor, R. Núcleo Milenio Biología del Desarrollo, Facultad de Ciecias, Universidad de Chile.

Los mecanismos que controlan la especificación de crestas neurales no han sido dilucidados. Se sabe que BMP participa en la inducción en pollo, Xenopus y pez cebra, se sugiere que mientras en pollo altos niveles de BMP incrementan las crestas neurales, en Xenopus y pez cebra una disminución de BMP produce inducción de dicho tejido. Se demostró que la vía Notch/Delta en pollo induce crestas neurales, aumentando BMP. Analizamos la participación y mecanismo por el cual Notch y la actividad de Xiro1, otro factor involucrado en la regulación de BMP, regulan la inducción de las crestas neurales en Xenopus. Analizamos la expresión del marcador de crestas neurales Xslug en comparación a Xirol y los ligandos de Notch: Deltal y Serrate. Demostramos que Xirol se sobrepone con la expresión de Xslug en gastrula temprana y que Delta y Serrate se expresan adyacentes a Xslug. Usamos además dominantes negativos y construcciones activadoras de Delta, Xirol y sobreexpresamos Hairy2A para analizar su función en la inducción de crestas neurales. Nuestros resultados muestran que Xirol y la activación de Notch/Delta conduce a un aumento del territorio de las crestas neurales, reprimiendo la transcripción de BMP. La inhibición de la activación de estas moléculas produce reducción de las crestas neurales e incremento en la expresión de BMP. La sobre expresión de Hairy 2A y experimentos de rescate muestran que la inducción de las crestas neurales mediada por Notch es dependiente de Hairy2A, reprimiendo la expresion de BMP4 en los pliegues neurales.

BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR I

SELECCION DE CELULAS DE CARCINOMA DE COLON HT29 POR RESISTENCIA AL ANALOGO DE NEOMICINA G418 PRODUCE UN AUMENTO EN LA EXPRESION DE CAVEOLINA-1 (Selection of HT29 human colon carcinoma cells for resistance to the Neomycin analog G418 leads to up-regulation of caveolin-1 expression). Montoya, M., Leyton, L, and Quest, A.F.G.. ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Independencia 1027, Santiago, Chile. Email: aquest@machi.med.uchile.cl

Tumor promoting phorbol esters, like tetradecanoyl phorbol acetate (TPA), induced morphological transformation, anchorage independent growth and down regulation of PKCδ in NIH3T3 cells. Furthermore, conditions that promoted loss of PKCδ protein/activity also correlated with loss of the tumor suppressor protein Caveolin-1. Since levels of both PKCδ and Caveolin-1 are low, the human colon carcinoma cell line HT29 was selected to investigate the role of PKCo in the control of cell proliferation, tumorigenesis and Caveolin-1 expression. HT29 cells were transfected either with a plasmid (pEFneo) permitting the constitutive expression of a dominant negative (PKC&K/W), or a constitutively active form of PKCδ (A/E) mutant. As expected, expression of PKCδ (A/E) resulted in decreased proliferation compared with PKCδ (K/W) or the vector alone (mock transfected). However, this effect was only observed in the first month after transfection, during selection with G418. Surprisingly, stably transfected clones obtained from all transfections experiments expressed elevated levels of Caveolin-1 without detectable changes in PKCδ. Thus, development of HT29 resistance to G418 is linked to up regulation of Caveolin-1 in a PKCδ-independent manner.

Supported by Apoyo Tesis Doctoral 2002 Conicyt, Fondecyt 1990893, 1020585 and Fondap 15010006.

INTERACCION DE Gαs y Gαq CON SINEMBRINA. (Gαs and Gαq interaction with synembryn). Olate, J, Montecino, M. Hinrichs, M.V y Klattenhoff, C. Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción. Patrocinio: Martín Montecino.

Las proteínas G heterotriméricas transducen señales desde receptores heptahelicoidales a diferentes sistemas efectores, regulando diversas y complejas vías intracelulares. En el cerebro, la depolarización inducida por la liberación de neurotransmisores y que facilita la transmisión sináptica es mediada en parte por Gas y Gaq. Con el propósito de identificar proteínas blanco para la subunidad Ga, analizamos una genoteca de cDNA de cerebro humano por la técnica de doble híbrido, utilizando como "bait" la proteína Gas(QL) humana. Producto de este análisis fué la identifición de una proteína que pertenece a la familia de las sinembrinas. Ampliando nuestro estudio a otras subunidades Gα, encontramos que Gαq tambien interactúa con sinembrina. Estas interacciones fueron confirmadas in vitro por análisis de "pull down" e in vivo por microscopía confocal, utilizando líneas celulares neuronales. Se observó además que sinembrina trasloca a la membrana en respuesta a carbacol e isoproterenol. Nuestros resultados apoyan fuertemente hallazgos recientes realizados en C. elegans, donde a través de estudios genéticos se demostró que sinembrina, en conjunto con Gaq, regula la liberación de neurotransmisores (1). Basado en estos antecedentes, proponemos que sinembrina estaría cumpliendo un rol similar en células neuronales humanas.

(1) Miller y cols. (2000) Neuron 27,289-299. Financiado por Proyecto FONDECYT Nº 1000359

EL OXIDO NÍTRICO REGULA LA ACTIVIDAD CILIAR OVIDUCTAL (Nitric oxide regulates ciliary activity in the oviduct) Kerr, B. y Villalón, M.J. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

El epitelio oviductal expresa las tres isoformas de la óxido nítrico (NO) sintasa. Además, resultados obtenidos en el laboratorio indican que el tratamiento con progesterona aumenta la expresión de la NOs tipo II, la producción de NO en el epitelio oviductal y atenúa el aumento de la frecuencia del batido ciliar (FBC) inducido por ATP; lo que sugiere la participación del NO en el control de la FBC oviductal. Objetivo: determinar la participación de la vía del NO en el control de la FBC oviductal. Para esto, se determinó la FBC mediante fotodensitometría y la [Ca+2]i por espectrofotometría. Resultados: El tratamiento con un inhibidor de la NOS (100µM L-NAME) desincroniza la FBC basal que presenta un grupo de células en contacto directo. Además en presencia del inhibidor, el aumento de la FBC y la [Ca+2]i inducido por ATP es significativamente mayor y sostenido en el tiempo. Por el contrario, el tratamiento de las células con un dador de NO, (10µM SNAP) atenúa y acorta el aumento de la FBC inducida por ATP. Los resultados obtenidos nos permiten postular al NO como una señal paracrina y/ o autocrina que mantiene una sincronía en la FBC entre células vecinas y como un modulador negativo de los cambios en la actividad ciliar inducidos por ATP. Proyecto DIPUC 2756-06.

LA VIA DE SEÑALIZACION NOTCH Y LA HOMEOPROTEINA XIRO1 INDUCE CRESTAS NEURALES POR REPRESION DE BMP4 EN EMBRIONES DE XENOPUS. Notch signaling and the homeoprotein Xiro1 induce neural crest by repressing BMP4 in Xenopus embryos. Glavic, A, Silva, F, Aybar, MJ, Mayor, R. Núcleo Milenio Biología del Desarrollo, Facultad de Ciecias, Universidad de Chile.

Los mecanismos que controlan la especificación de crestas neurales no han sido dilucidados. Se sabe que BMP participa en la inducción en pollo, Xenopus y pez cebra, se sugiere que mientras en pollo altos niveles de BMP incrementan las crestas neurales, en Xenopus y pez cebra una disminución de BMP produce inducción de dicho tejido. Se demostró que la vía Notch/Delta en pollo induce crestas neurales, aumentando BMP. Analizamos la participación y mecanismo por el cual Notch y la actividad de Xirol, otro factor involucrado en la regulación de BMP, regulan la inducción de las crestas neurales en Xenopus. Analizamos la expresión del marcador de crestas neurales Xslug en comparación a Xiro1 y los ligandos de Notch: Delta1 y Serrate. Demostramos que Xiro1 se sobrepone con la expresión de Xslug en gastrula temprana y que Delta y Serrate se expresan adyacentes a Xslug. Usamos además dominantes negativos y construcciones activadoras de Delta, Xirol y sobreexpresamos Hairy2A para analizar su función en la inducción de crestas neurales. Nuestros resultados muestran que Xirol y la activación de Notch/Delta conduce a un aumento del territorio de las crestas neurales, reprimiendo la transcripción de BMP. La inhibición de la activación de estas moléculas produce reducción de las crestas neurales e incremento en la expresión de BMP. La sobreexpresión de Hairy2A y experimentos de rescate muestran que la inducción de las crestas neurales mediada por Notch es dependiente de Hairy2A, reprimiendo la expresion de BMP4 en los pliegues neurales.

BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR I

SELECCION DE CELULAS DE CARCINOMA DE CO-LON HT29 POR RESISTENCIA AL ANALOGO DE NEOMICINA G418 PRODUCE UN AUMENTO EN LA EXPRESION DE CAVEOLINA-1 (Selection of HT29 human colon carcinoma cells for resistance to the Neomycin analog G418 leads to up-regulation of caveolin-1 expression). Montoya, M., Leyton, L, and Quest, A.F.G., ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Independencia 1027, Santiago, Chile. Email: aquest@machi.med.uchile.cl

Tumor promoting phorbol esters, like tetradecanoyl phorbol acetate (TPA), induced morphological transformation, anchorage independent growth and down regulation of PKCδ in NIH3T3 cells. Furthermore, conditions that promoted loss of PKCδ protein/activity also correlated with loss of the tumor suppressor protein Caveolin-1. Since levels of both PKCδ and Caveolin-1 are low, the human colon carcinoma cell line HT29 was selected to investigate the role of PKC δ in the control of cell proliferation, tumorigenesis and Caveolin-1 expression. HT29 cells were transfected either with a plasmid (pEFneo) permitting the constitutive expression of a dominant negative (PKC&K/W), or a constitutively active form of PKC δ (A/E) mutant. As expected, expression of PKCδ (A/E) resulted in decreased proliferation compared with PKC8 (K/W) or the vector alone (mock transfected). However, this effect was only observed in the first month after transfection, during selection with G418. Surprisingly, stably transfected clones obtained from all transfections experiments expressed elevated levels of Caveolin-1 without detectable changes in PKCδ. Thus, development of HT29 resistance to G418 is linked to up regulation of Caveolin-1 in a PKCδ-independent manner.

Supported by Apoyo Tesis Doctoral 2002 Conicyt, Fondecyt 1990893, 1020585 and Fondap 15010006.

INTERACCION DE Gαs y Gαq CON SINEMBRINA. (Gαs and Gαq interaction with synembryn). Olate, J, Montecino, M. Hinrichs, M.V y Klattenhoff, C. Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción. Patrocinio: Martín Montecino.

Las proteínas G heterotriméricas transducen señales desde receptores heptahelicoidales a diferentes sistemas efectores, regulando diversas y complejas vías intracelulares. En el cerebro, la depolarización inducida por la liberación de neurotransmisores y que facilita la transmisión sináptica es mediada en parte por Gas y Gaq. Con el propósito de identificar proteínas blanco para la subunidad Gα, analizamos una genoteca de cDNA de cerebro humano por la técnica de doble híbrido, utilizando como "bait" la proteína Gαs(QL) humana. Producto de este análisis fué la identifición de una proteína que pertenece a la familia de las sinembrinas. Ampliando nuestro estudio a otras subunidades Gα, encontramos que Gαq tambien interactúa con sinembrina. Estas interacciones fueron confirmadas in vitro por análisis de "pull down" e in vivo por microscopía confocal, utilizando líneas celulares neuronales. Se observó además que sinembrina trasloca a la membrana en respuesta a carbacol e isoproterenol. Nuestros resultados apoyan fuertemente hallazgos recientes realizados en C. elegans, donde a través de estudios genéticos se demostró que sinembrina, en conjunto con Gaq, regula la liberación de neurotransmisores (1). Basado en estos antecedentes, proponemos que sinembrina estaría cumpliendo un rol similar en células neuronales humanas.

(1) Miller y cols. (2000) Neuron 27,289-299. Financiado por Proyecto FONDECYT Nº 1000359

VIAS DE TRANSDUCCION ALTERNATIVAS EN LA RESPUESTA DE HIPERSENSIBILIDAD DE Citrus limon (Alternative signaling in the hypersensitive response of C. limon) Ortega, X.^{1,2}, Pérez, LM¹. Laboratorio de Bioquímica, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello y ²Universidad de Chile. lperez@unab.cl

Las plántulas de limonero desarrollan una respuesta de hipersensibilidad (HR) contra A. alternata que incluye inducción de la vía fenilpropanoide y síntesis de escoparona. Una respuesta semejante se observó en plantas tratadas con los activadores de proteína G toxina cólera y mastoparán. En la HR se observan cambios en los niveles de IP₃ a los 7 y 25 minutos post-inoculación fúngica; estos no se producen en respuesta a los activadores de proteína G. Los inhibidores de proteína tirosina quinasa (PYK) lavendustina A y DHMC impiden la HR en respuesta al hongo. Con el fin de determinar si los cambios de IP3 producidos en respuesta a A. alternata dependen de una actividad de PYK, se cuantificó este segundo mensajero en plántulas de limonero inoculadas con el hongo, en presencia y ausencia de tratamientos con lavendustina A o DHMC. Los resultados mostraron que no se alteran los niveles basales de IP3 al tratar las plántulas de limonero con inhibidores de PYK, y no se produce HR. El conjunto de observaciones sugieren la existencia de una vía dependiente de PYK y otra dependiente de proteína G para el desarrollo de la HR en plántulas de C. limon.

Financiado por FONDECYT 2990090 y DI 75-00 UNAB.

IGF-1 AUMENTA CALCIO INTRACELULAR Y ACTIVA ERK EN EL CARDIOMIOCITO MEDIANTE UNA PROTEINA G (IGF-1-dependent calcium increase and ERK activation in cardiomyocyte is mediated a G protein) Carrasco L, Ibarra C, Adasme T, Estrada M, Jaimovich E, Lavandero S. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

IGF-1 activa las vías transduccionales ERK (MAP kinasas) y fosfatidilinositol 3-kinasa (PI3-K)- proteína kinasa B (PKB) en el cardiomiocito, participando en sus efectos prohipertróficos y antiapoptóticos, respectivamente. Recientemente hemos descrito que IGF-1 aumenta los niveles de IP₃ y del Ca²⁺ intracelular (Ca²⁺i) en el cardiomiocito. Sin embargo, se desconoce si existe una relación entre Ca²⁺i y la vía ERK.

Los resultados mostraron que el aumento del área del cardiomiocito (parámetro hipertrófico) estimulado por IGF-1 (2,2 veces) fue inhibido por BAPTA-AM (quelante del Ca 2+i) y toxina pertusis (TPX, inhibidor de proteína G). La activación de ERK y PKB por IGF-1 no se modificó por ciclosporina (Cs) y KN-62, inhibidores específicos de calcineurina (CnA) y calmodulina kinasa (CaMK), respectivamente. Sin embargo, TPX, U73122 (inhibidor de fosfolipasa C) y BAPTA-AM inhibieron la fosforilación de ERK1/2 pero no de PKB. IGF-1 aumentó los niveles intracelulares de IP3, efecto que fue totalmente bloqueado por TPX mientras que genisteína (inhibidor inespecífico de tirosinas kinasas) lo inhibió parcialmente. Este misma acción se observó sobre los transientes de Ca2+i dependientes de IGF-1. Se concluye que IGF-1 activaría las vías de Ca2+i/IP3 y ERK mediante una proteína G sensible a PTX.

FONDECYT 1010246. Beca Apoyo Tesis Doctoral 2002. LC es becaria CONICYT.

IGF-1 MODULA LA EXPRESION DE INTEGRINAS Y COLAGENO EN FIBROBLASTOS CARDIACOS (IGF-1 modulates integrin and collagen expression in cardiac fibroblasts). . Díaz-Araya G, Carver W, Borg TK. Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile y School of Medicine, University of South Carolina, SC, USA. Patrocinio: Lavandero S.

La interacción entre el fibroblasto cardiaco y la matriz extracelular es dinámica, regulando los procesos de migración, adhesión, proliferación y diferenciación. En este trabajo, cultivos de fibroblastos fetales y neonatos de rata se estimularon con IGF-1, estudiándose su adhesión a matrices de colágeno (CO), laminina (LA) y fibronectina (FN), la contracción de geles de colágeno, y expresión y secreción de colágeno e integrinas por Northern y Western blots, respectivamente.

Los resultados mostraron que IGF-1 incrementó la contracción de geles de colágeno por fibroblastos fetales (27 y 46% a las 24 y 48 h, respectivamente), mientras que no hubo efecto sobre fibroblastos neonatos. IGF-1 incrementó la adhesión de los fibroblastos fetales a CO, LA y FN (1,3; 1,3 y 1,5 veces sobre el control, respectivamente), mientras que redujo la de fibroblastos neonatos (0,7; 0,7 y 0,5 veces sobre el control, respectivamente). IGF-1 también aumentó los niveles de mRNA para colágeno (1,4 y 7 veces) y la secreción de colágeno (2,6 y 3,2 veces) para ambos tipos celulares. IGF-1 aumentó sólo los niveles de las integrinas $\alpha_1\beta_1$ en fibroblastos fetales (1,9 veces).

En conclusión, IGF-1 indujo cambios en el comportamiento celular en fibroblastos relacionados con la etapa del desarrollo y dependientes de las integrinas y colágeno. FONDECYT 1020587

LAS CININAS AUMENTAN CON LA EDAD EN RATAS FISHER 344. (Kinin levels Increase with age in Fisher 344 rats). Pérez V *; Velarde V®, Walter R*#, Sierra F*#. *Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad de Chile, ®Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, # Lankenau Institute for Medical Research, Wynnewood, PA, USA.

Las cininas son péptidos vasoactivos generados de los cininógenos, que participan en la regulación de la presión arterial y en procesos de inflamación y dolor. En nuestro laboratorio hemos encontrado que el Cininógeno-T (T-KG) aumenta durante el envejecimiento en ratas. Desconocemos si los niveles de cininas también se modifican. Por este motivo, utilizamos RIA para medir los niveles de cininas en suero de ratas Fisher 344 jóvenes (6 meses), adultas (15 meses) y viejas (22-24 meses), en condiciones basales y luego de un estímulo inflamatorio con LPS. Los resultados indican que los niveles basales de cininas aumentan progresivamente con la edad, y disminuyen durante un proceso inflamatorio en todos los grupos etarios. Sin embargo, sólo los animales jóvenes y adultos tienden a recuperar sus niveles basales posteriormente al estímulo con LPS, no así los viejos. Podemos concluir que en ratas viejas los niveles de cininas están aumentados y que frente a un estimulo inflamatorio presentan una cinética alterada en relación a los individuos jóvenes. A partir de estos resultados pueden elaborarse estrategias que expliquen algunos fenómenos asociados con el envejecimiento, como por ejemplo, el aumento del umbral del dolor.

Proyectos Fondecyt 2000038, 1010615 y 1000660.

INHIBIDORES DE TIROSINAS QUINASAS Y D-GLU-COSA SE UNEN A SITIOS DIFERENTES EN EL TRANS-PORTADOR DE GLUCOSA GLUTI (Tyrosine kinase inhibitors and D-glucose do bind to different sites of the glucose transporter GLUT1). Pérez, A. y Reyes, A. M. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia (email: areyes@uach.cl).

Inhibidores de tirosinas quinasas, tanto naturales como sintéticos, inhiben el transporte de hexosas mediado por GLUT1 (Vera et al. Biochemistry 40, 777-790, 2001). Estos inhibidores pueden catalogarse en dos tipos, dependiendo de sus efectos sobre el transporte en ensayos en condiciones de entrada: los de tipo I bloquean en forma competitiva la actividad de transporte de GLUT1, mientras los de tipo II lo hacen en forma no competitiva. Estas diferencias pueden explicarse por interacción selectiva de los distintos inhibidores a sitios de unión endo- o exo-faciales en GLUT1. En esta comunicación probamos la capacidad de los inhibidores de competir con la unión del sustrato natural, D-glucosa, en una preparación del transportador purificado desde eritrocitos humanos y reconstituido en proteoliposomas. En estas condiciones inhibidores de tipo I como genisteína y quercetina, perturbaron el espectro de fluorescencia de manera dependiente de la concentración y saturable, en forma similar a D-glucosa. Sin embargo, al probar el apagamiento de la fluorescencia intrínseca de GLUT1 con KI, D-glucosa protegió mientras quercetina y genisteína promovieron el efecto de KI. Estos resultados sugieren que quercetina y genisteína se unen de manera distinta y, por ende, a sitios diferentes en el transportador GLUT1 reconstituido

(Financiado por proyecto FONDECYT 1020908)

LISIS DE E. COLI INDUCIDA POR EXPRESION HETEROLOGA DE porA DE N. MENINGITIDIS B:4:NT SE RELACIONA CON EL LOOP# 4 DE LA PORINA PorA. (E. colì lysis induced by heterologous expression of the N. meningitidis B:4:NT porA gene is due to the loop #4 of PorA porin). Tobar J., Bruce E., Venegas A. Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. Alameda 340, Santiago.

Estudios previos durante el clonamiento del gen porA de N. meningitidis B.4:NT revelaron que al inducir este gen se afectaba el crecimiento por lisis bacteriana. Esto contrastaba con ausencia de lisis al expresar por A de la cepa B:15:P.1.3. En ambos casos PorA se detectó en membrana externa y se comprobó diferencias de crecimiento a pH 5,4. Se intercambió entre ambos genes una región de 430pb que incluye el loop #4 (y regiones aledañas con escasa diferencia aminoacídica) observándose que el efecto detrimental sobre el crecimiento y la lisis están vinculados al fragmento con el loop#4 de B:4:NT. La diferencia fundamental entre ambas PorA está en el loop #4, que en el caso de la cepa B:4:NT contiene 4 aminoácidos consecutivos con cargas positivas y negativas. Un análisis comparativo de varias secuencias de PorA reveló que la presencia de residuos cargados y consecutivos en el loop #4 es infrecuente. Se propone que esto causaría un cambio estructural en el poro, en la estabilidad de la proteína ensamblada o en su interacción con otros componentes, gatillando lisis bacteriana.

Financiamiento: FONDECYT #1000730.

BIOLOGIA INTEGRATIVA

RELACIONES FILOGENETICAS ENTRE LAS SUBESPECIES CHILENAS DE CAMELIDOS (ARTIODACTYLA: CAMELIDAE) BASADAS EN LAS SECUENCIAS DEL GEN MITOCONDRIAL PARA CITOCROMO B. (Phylogenetic relationships among Chilean subspecies of Camelids (ARTIODACTYLA: CAMELIDAE) based on sequences of the gene for mtDNA cytochrome b) Marín, J.C.¹; Gonzalez, B.² y Spotorno, A.¹ ¹Laboratorio de Citogenética Evolutiva, Facultad de Medicina, U. de Chile; ²Departamento de Zootecnia, Facultad de Agronomía; P. Universidad Católica de Chile.

Los camélidos habitan hoy el Viejo y Nuevo Mundo. Esta dicotomía biogeográfica concuerda con la taxonomía del grupo, que los clasifica en las tribus Camelini y Lamini, respectivamente. Cuatro son los representantes Sudamericanos de este grupo: guanacos, vicuñas, llamas y alpacas. Basados en sutiles diferencias morfológicas, se reconocen 4 subespecies de Lama guanicoe: L. g. cacsilencis, L. g. huanacus, L. g. guanicoe y L. g. voglii. Un mejor documentado número de caracteres morfológicos diferencian dos subespecies de V. vicugna: V. v. mensalis, V. v. vicugna. Sin embargo, y a pesar de las diferencias morfológicas, son principalmente diferenciados por su rangos de distribución geográfica.

En este estudio presentamos secuencias nucleotídicas del gen para citocromo b (1200 pb). Considerando todo rango de distribución en Chile de estos taxa, se analizan las secuencias de tres subspecies de guanaco, dos de vicuña y las diferentes variedades de ambas formas domésticas, se evalúan las relaciones de parentesco (con parsimonia, distancia y máxima verosimilitud). Las secuencias publicadas de Camelus bactrianus y C. dromedarius son usadas como outgroups. (Beca de Apoyo a Tesis Doctoral, CONICYT)

ANALISIS MOLECULAR DE **PLANTAS** TRANSGENICAS A. thaliana TRANSFORMADAS CON GENES DE D. antarctica ASOCIADOS CON TOLERAN-CIA AL CONGELAMIENTO. (Molecular analyses of A. thaliana transgenic plants expressing D. antarctica genes associated with freezing tolerance). ¹Salinas, M.; ¹Orellana. M.; 'Gutiérrez, H.; 'García, P.; 'Destefano-Beltrán, L.; ²Corcuera, L.; ²Bravo, L.; ³Alberdi, M.; ^{1*}Gidekel, M. (1)Laboratorio de Fisiología y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Instituto de Agroindustria, Universidad de La Frontera, Temuco. (2) Dpto. de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción. (3)Instituto de Botánica, Facultad de Ciencias Universidad Austral de Chile. *mgidekel@ufro.cl. Patrocinio: Dra. Gloria León R.

Deschampsia antarctica es una gramínea, que ha colonizado extensas áreas de la antártica marítima y peninsular. Posee una alta tolerancia al frío, constitutiva a bajas temperaturas. Presenta una expresión diferencial de genes durante su aclimatación, dos de estos genes corresponden a Glutarredoxina y a Poliubiquitina, los cuales son inducidos específicamente por bajas temperaturas. Se evalúa molecularmente la transformación de Arabidopsis thaliana usando estos genes. Se realizó la clonación de los genes Grx y B1 de D. antarctica bajo el promotor CAMV35S del vector binario pCAMBIA 1304. La transformación de A. thaliana se llevo a cabo en flores (Floral dip) mediante dos metodologías, una por contacto y otra infiltración al vacío. Las transformantes fueron seleccionados en medio MS con higromicina. Para analizar la integración del DNA foráneo en las plantas transformadas, estas fueron evaluadas mediante análisis de tipo Southern. En este póster se analiza la expresión de las diferentes líneas

DIFERENCIACION DE CLONES DE VID MEDIANTE EL USO DE MARCADORES MOLECULARES (Clonal grapevine diferentiation using molecular markers) Moncada X., Muñoz L.,*Merdinoglu D., Hinrichsen P., Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Unidad de Biotecnología CRI La Platina, *INRA-Colmar, Laboratoire de Genetique et d'Amelioration des Plantes, Francia.

mediante análisis de tipo Northern. Proyecto FONDECYT 1000610

RESUMEN: El desafío actual en la caracterización genética de la vid (Vitis vinifera) se orienta a la identificación de clones de cepas de vino. La diversidad clonal se considera principalmente de origen genético, aunque también se señalan causas epigenéticas, patologías virales y otras. Las mutaciones somáticas que dan cuenta de la diversidad clonal se pueden analizar mediante marcadores moleculares.

En el presente trabajo se estudió la diversidad clonal de muestras de Cabernet Sauvignon provenientes de Chile y Francia. Mediante el análisis de 56 marcadores de microsatélites, se encontró sólo un polimorfismo alélico con el marcador VMC5g7 que diferenció las muestras francesas y chilenas. Además se encontraron polimorfismos por la presencia de un tercer alelo con algunos marcadores.

El alto grado de homogeneidad genética detectado con microsatélites se ha confirmado con el uso de marcadores dominantes de tipo RAPD y AFLP. Más de 50 partidores de RAPD y sobre 15 combinaciones de AFLP diferenciaron principalmente a algunos clones chilenos, los que a su vez presentan diferencias morfológicas.

Esta información permite estimar las relaciones de similitud genética entre clones chilenos y europeos de C. Sauvignon, a la vez que establece las bases para desarrollar métodos de diferenciación de clones, tema de gran importancia en su comercialización.

Financiamiento: FONDEF D00I-1138

RELACIONES FILOGEOGRAFICAS Y VARIABILIDAD GENETICA ENTRE POBLACIONES DEL ROEDOR Oligoryzomys longicaudatus DE BOSQUES RELICTOS Y TEMPLADOS DEL SUR DE CHILE (Phylogeographic relationships and genetic variability between populations of the rodent O. longicaudatus of relict and temperate forests of southern Chile). Boric-Bargetto, D & Palma, R. E. Centro de Estudios Avanzados en Ecología y Biodiversidad, Pontificia Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago.

Se evaluaron las relaciones intraespecíficas, así como la variabilidad genética entre poblaciones del roedor sigmodontino Oligoryzomys longicaudatus entre bosques relictos y templados del sur de Chile, mediante secuenciación de la región hipervariable I del d-loop (mtDNA). Para ello secuenciamos 50 especímenes de 28 localidades a lo largo del rango de distribución de la especie (30 a 45° S aproximadamente). Las secuencias fueron analizadas filogenética y poblacionalmente usando los programas MEGA y NTSYS. Los resultados obtenidos permiten establecer la ocurrencia de agrupamientos poblacionales acordes con la distribucion geográfica en el gradiente latitudinal. Las topologías obtenidas a través de análisis de máxima parsimonia y distancia distinguieron dos agrupamientos principales, que corresponden a poblaciones de Oligoryzomys del Sur y Centro-Norte de Chile. Las poblaciones de bosques relictos presentan mayor afinidad con poblaciones aledañas que con aquellas de bosques templados. Los resultados de variabilidad genética diferencian las poblaciones del norte y sur, siendo las transversiones las causantes de la mayor variabilidad nucleotídica. Financiado por FONDAP-CASEB.

¿QUE INFORMACIONES NOS ENTREGAN LOS MAR-CADORES MOLECULARES SOBRE EL JUREL EN EL PACIFICO SUR ORIENTAL? (What kind of information do molecular markers give us on the Chilean jack mackerel?) Poulin E., Cárdenas L., Ojeda F. P. Centro de Estudios Avanzados en Ecología & Biodiversidad, Departamento de Ecología, P. Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago

El jurel Trachurus murphyi, también llamado Trachurus symmetricus murphyi por su supuesto parentesco con el jurel de la zona Pacífica norte, es una especie pelágica de amplia distribución geográfica. En Chile, la pesca del jurel se desarrolla desde la I a la II región y desde la V a la IX región, existiendo 2 unidades principales de pesquería. Para determinar el patrón de variabilidad genética a lo largo de la costa chilena, utilizamos dos marcadores moleculares complementarios: (1) el polimorfismo de secuencias de la Región de Control del ADN mitocondrial y (2) la variabilidad de loci microsatélites, ambos siendo actualmente reconocidos como los más apropiados para estudios genéticos a nivel intraespecífico. A partir de estos resultados, se concluye acerca de la estructura genética del jurel en el Pacifico sur oriental, así como también acerca de la historia demográfica de la especie. Financiado por CORPESCA SA y CASEB

CARACTERIZACION GENETICO MOLECULAR DE LA POBLACION DE PAPOSO, ULTIMO REDUCTO CHANGO EN CHILE (Molecular genetic characterization of the population of Paposo, last Chango redoubt in Chile) Henríquez, H.; Moraga, M.; Llop, E. y Rothhammer, F. Programa de Genética Humana, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Como parte de la caracterización genética de la población chilena, se analizó la población de Paposo, ubicada en la costa del Desierto de Atacama y que según antecedentes etnohistóricos correspondería a uno de los últimos reductos de los ya extintos indígenas Changos. Los Changos serían descendientes de los pueblos de tradición marítima pescadores y recolectores que habitaron la costa del Norte Grande de Chile durante el período arcaico. Para esto, se realizó el análisis de polimorfismos de restricción de DNA mitocondrial (mtDNA) por PCR-RFLP y de dos marcadores nucleares polimórficos, los grupos sanguíneos AB0 por la técnica de PCR-RFLP y Duffy por la técnica de PCR alelo específico (PCR-ASP), lo que constituye la primera experiencia de tipificación molecular en Chile de grupos sanguíneos clásicos. Se estudiaron 40 individuos no emparentados de la comunidad de Paposo determinando en ellos la presencia de los cuatro Haplogrupos Fundadores de mtDNA (A, B, C y D) característicos de las poblaciones aborígenes americanas. Para DNA mitocondrial, un 2.5 % de los individuos pertenece al haplogrupo A; 42.5 % al B; 15 % al C y 27.5 % al D, porcentajes cercanos a los encontrados en indígenas Aymaras. Un 12.5 % de los individuos no pertenece a ningún haplogrupo, correspondiendo probablemente a individuos con mezcla mitocondrial caucasoide. Para el grupo sanguíneo AB0 se encontraron frecuencias génicas de 0.39 para el alelo 001, 0.53 para el alelo 002 y 0.08 para el alelo A, destacando el alto valor de la variante molecular 002, descrita como muy frecuente en dos poblaciones sudamericanas. El grupo sanguíneo Duffy exhibe una frecuencia génica de 0.58 para el alelo Fy a y 0.42 para el alelo Fy b, valores próximos a los de otros pueblos de tradición costera, no detectándose el alelo nulo Fy característico de poblaciones negroides. FONDECYT 1010131, DID ETN 02/1-2.

GENETICA -BIOINFORMATICA -MICROBIOLOGIA

ASOCIACION DE CROMOSOMAS DURANTE MEIOSIS EN HIBRIDOS F-1 Y SUS DERIVADOS DE POLINIZACION ABIERTA ORIGINADOS DEL CRUZAMIENTO ENTRE Vaccinium darrowi CAMP Y V. arboreum MARSH. (Meiotic studies in Vaccinium darrowi x V.arboreum F-1 hybrids and their open-pollinated derivatives). San Martín, J. y Lyrene, P. INIA, Casilla 24-0 Osorno.

V. darrowi y V. arboreum son dos especies nativas del sudeste de Norteamérica que están siendo utilizadas en el fitomejoramiento de arándano (V. corymbosum L.). Más de 100 híbridos F-1 originados del cruzamiento entre V. darrowi x V. arboreum (ambos diploides) fueron cultivados durante 5 años en un campo que también contenía plantas de V. corymbosum (tetraploide) y V. ashei (hexaploide). Los híbridos F-1 florecieron abundantemente, sin embargo, la cantidad y grado de tinción del polen y la producción de semillas fue muy baia.

Del análisis de células madres de polen durante meiosis en 5 híbridos F-1, todos resultaron ser diploides, con predominio de univalentes durante Metafase I y presencia de cromosomas rezagados y puentes de cromatina durante Anafase I. De ocho individuos producidos por polinización abierta de híbridos F-1, siete fueron tetraploides y uno pentaploide. La progenie tetraploide probablemente se origino cuando gametos no reducidos en híbridos F-1 se unieron con gametos normales de especies tetraploides. Aun cuando la fertilidad de polen y apareamiento de cromosomas fue mayor en la progenie tetraploide que en los híbridos F-1, fue posible observar las mismas anormalidades durante meiosis.

A pesar de los problemas en el apareamiento de los cromosomas, es posible la introgresión de genes desde *V. arboreum* a arándano cultivado.

EFECTOS DE LA DOMESTICACION EN Cavia porcellus SOBRE LA VARIACION DE LA FORMA DEL CRANEO: ANALISIS DE MORFOMETRIA LINEAL Y GEOMETRICA (Effects of domestication on the skull shape variation of *C. porcellus*: a lineal and geometric morphometric analysis) Manríquez, G1. M. Kunz², A. Fernández², F. González³ y A. Spotorno¹.1Programa de Genética Humana, Facultad de Medicina, 2Facultad de Ciencias Veterinarias, 3Hospital Clínico JJ Aguirre (Universidad de Chile)

ANTECEDENTES Y PROBLEMA. Las cepas de *C. porcellus* (andinas y europeas o de laboratorio), eventualmente se originaron a partir de un evento único de domesticación en los Andes centrales, y tuvieron como especie hipotética ancestral a *C. tschudii*. No se conocen las consecuencias biológicas de este proceso.

HIPOTESIS. Aumento progresivo del síndrome de domesticación (variación neoténica de la forma calvaria) en la dirección (C. tschudii, N=19) (porcellus andino (N=28) (porcellus europeo (N=23).

RESULTADOS Y CONCLUSION. El análisis de las curvas de crecimiento log/log de ambas cepas de porcellus mostró diferencias significativas en la variación de la forma total sensu Bookstein (distintos valores del intercepto a iguales pendientes, ANCOVA). El análisis de morfometría geométrica para 21 hitos anatómicos en vista lateral (relative warp analysis) mostró la contracción de los vectores calvarios del neurocráneo de las cepas europeas de porcellus en comparación a la cepa andina y a la especie silvestre C. tschudii. Estos resultados sugieren que uno de los efectos de la domesticación del cuy es la neotenización de la forma del cráneo en la dirección tschudii → porcellus andino → porcellus europeo. Proyecto Fondecyt N° 1011052

POLIFOSFATOS INORGANICOS EN Acidithiobacillus ferrooxidans. POSIBLE ROL EN LA TOLERANCIA A METALES PESADOS (Inorganic polyphosphates in Acidithiobacillus ferrooxidans. Possible role in heavy metals tolerance). Alvarez, S.A. y Jerez, C.A. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Departamento de Biología e Instituto Milenio CBB, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Los polifosfatos (poliP) inorgánicos son polímeros lineales de muchos residuos de ortofosfato unidos por enlaces fosfoanhídrido. Por su carácter polianiónico, se ha propuesto que podrían funcionar quelando iones metálicos tóxicos para la célula. Se postula además que los iones metálicos promoverían la hidrólisis de los poliP, mediada por la enzima exopolifosfatasa (PPX), siendo excretados junto al fosfato liberado, desintoxicando así el ambiente intracelular. Esta función sería de gran relevancia para Acidithiobacillus ferrooxidans, que crece normalmente a altas concentraciones de iones metálicos. Nuestro objetivo fue determinar el efecto del cobre sobre los niveles de poliP y la actividad PPX en A. ferrooxidans ATCC 19859.

Observamos que concentraciones altas de CuSO₄ disminuyen los niveles de poliP, sin afectar el crecimiento y aceleran la degradación de los poliP cuando A. ferrooxidans se somete a carencia de fosfato. Al analizar el genoma A. ferrooxidans parcialmente secuenciado, encontramos un marco abierto de lectura con una alta identidad con las PPX bacterianas, el que se clonó, secuenció y sobreexpresó. Se determinó la expresión de este gen mediante Western blot y RT-PCR. Nuestros resultados apoyan la hipótesis que los poliP tendrían un rol en la tolerancia de A. ferrooxidans a los iones metálicos. Financiamiento: Proyecto Fondecyt 1000-679, ICM P99-031-

F e ICGEB (Project CRP/CHI004-04/01/001).

ANALISIS DEL REGULON FUR EN Acidithiobacillus ferrooxidans. (Analysis of the Fur regulon in Acidithiobacillus ferrooxidans). Quatrini¹ R., Veloso¹ F., Inostroza C¹., Jedlicki² E. y Holmes¹ D. 1. Laboratorio de Bioinformática y Biología Genomica, Universidad de Santiago y 2. ICBM, Universidad de Chile.

La disponibilidad ambiental de hierro constituye una importante señal reguladora que afecta la expresión génica global en bacterias.

El regulador transcripcional Fur, utilizando Fe²⁺ como correpresor, controla la expresión de un gran número de genes en virtud de su actividad de unión a la secuencia operadora Fur. En los últimos años se han descrito homólogos de Fur en varios microorganismos, capaces de complementar la deficiencia de fur en E.coli, sugiriendo no sólo mecanismos funcionales semejantes para el represor, sino también conservación a nivel de las secuencias operadoras. Estos antecedentes sustentan el empleo de estrategias de estudio cruzadas tanto in vivo como in silico.

Dada la importancia del hierro en la fisiología de A. ferrooxidans y a la abundancia de hierro soluble que enfrenta esta bacteria estamos caracterizando su regulón Fur mediante dos aproximaciones complementarias, bioinformática y experimentalmente. Se presentan los resultados de una búsqueda global de cajas Fur a lo largo del genoma de A. ferrooxidans, basándonos en la información posicional de un conjunto de operadores ya caracterizados en otras bacterias. Por otro lado, utilizando una genoteca de A. ferrooxidans hemos efectuado un ensayo de titulación del represor Fur de E. coli en la cepa reportera H1717. Esta aproximación identificó un total de 103 clones positivos, cuyo análisis se discute.

Proyecto FONDECYT 1010623.

TRANSFERENCIA DE GENES CROMOSOMALES ENTRE Ralstonia eutropha Y Pseudomonas putida MEDIADA POR EL PLASMIDIO CATABOLICO pJP4. (Chromosomal genes transfer between R. eutropha and P. putida mediated by the pJP4 catabolic plasmid). De la Iglesia, R., González, B. Depto. Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La transferencia lateral de genes es clave en el flujo de información entre bacterias, aumentando su adaptabilidad frente a cambios ambientales. Una modalidad de transferencia, descrita pero poco explorada, es la movilización de genes cromosomales mediada por plasmidios. En este trabajo se estudió si el plasmidio pJP4, de 88 kb, conjugativo y de amplio rango de hospedero, tiene esta capacidad. El pJP4, que codifica para la degradación de diversos contaminantes cloroaromáticos, ha sido secuenciado, encontrándose varios elementos que podrían promover transferencia génica. Para este estudio se introdujo un marcador (Km^r) en el cromosoma de R. eutropha (pJP4), por inserción al azar. Estas cepas, R. eutropha::Kmr (pJP4), fueron conjugadas con P. putida. Bajo estas condiciones la frecuencia de conjugación de pJP4 resultó de 10⁻¹ (por célula receptora), observándose que Km^r apareció con una frecuencia de 10-5 - 10-8. Esto indica que una fracción importante de los plasmidios transferidos movilizó Km^r, dependiendo de su ubicación en el cromosoma. Haciendo cruces entre P. putida Km^r (pJP4) y E. coli, se observó que Km^r se mantuvo en pJP4. Estos resultados sugieren cómo pJP4 puede adquirir nuevas funciones y poseer así bloques de secuencias de distinto origen filogenético.

Financiado por proyecto FONDECYT 8990004.

FROM GEOCYCLES TO GENOMES AND ENZYMES: MICROBIAL METABOLISM OF TOXIC HEAVY METALS Simon Silver, Department of Microbiology and Immunology (M/C 790). University of Illinois College of Medicine at Chicago 835 S. Wolcott Ave., Chicago, Illinois 60612-7344 USA

Microbes dominate global geocycles for toxic heavy metals, much as they dominate global geocycles for carbon, nitrogen, oxygen, phosphorus and iron. The arsenic geocycle relies heavily on bacterial transformations of arsenic oxidation states. The ars operon that determines resistances to arsenate [As(V)], arsenite [As(III)], and antimonite [Sb(III)] is found widely in bacteria, and also in Archaea and yeast. The arsC gene encodes arsenate reductase that converts As(V) to As(III). The crystal structures of three different arsenate reductases have lead directly to understanding their evolutionary origins and their reaction mechanism. On the other hand, bacterial oxidation of As(III) to the less toxic As(V) confers arsenite resistance. Arsenite oxidase from Alcaligenes faecalis is a molybdenum-containing iron-sulfur protein. Its crystal structure was solved and we have begun the genetics for the its large (asoA) and small(asoB) subunits plus a third upstream gene. An N-terminal TAT (Twin Arginine Translocation) leader sequence is encoded by the gene for the small subunit, which is now predicted to be exported to the periplasm after cytoplasmic assembly and insertion of molybdenum pterin and iron-sulfur cluster cofactors.

For mercury, Hg(II) is reduced to Hg(0) by bacterial mercuric reductase and oxidized from Hg(0) to Hg(II) by catalase. Hg is methylated and demethylated by microbial processes. The methylmercury of concern in human toxicology is ultimately of microbial origin and microbial processes can be harvested for bioremediation of polluted sites.

Additional information: http://www.uic.edu/depts/mcmi/silver.html

EN Acidithiobacillus ferrooxidans EXISTEN DOS GLUTAMIL-tRNA SINTETASAS, UNA DISCRIMINANTE Y OTRA NO DISCRIMINANTE. (A. ferrooxidans has two glutamyl-tRNA synthetases). Salazar, J, Lefimil, C., Zúñiga, R., Soll, D. y Orellana, O. Programa Biología Celular y Molecular, ICBM, Fac. Medicina, Universidad de Chile. Dept. Molecular Biophysics and Biochemistry, Yale University.

En bacterias, arqueas y organelos la formación de Glutaminil-tRNA y Asparraginil-tRNA puede ocurrir por una vía directa con la participación de la GlnRS o por una vía indirecta en la que participan una GluRS o una AspRS no discriminante (ND) y una amidotransferasa dependiente de tRNA. Mediante estudios bioinformáticos se determinó que en el genoma de A. ferrooxidans no existen genes que codifican para la GlnRS ni para la AsnRS, pero sí se encuentran presentes los genes para la amidotransferasa dependiente de tRNA. Estudios bioquímicos y de genética molecular confirmaron que en este microorganismo, la formación de glutaminil-tRNA y asparraginil-tRNA ocurre por la vía indirecta. Adicionalmente se detectó en el genoma los genes para dos posibles GluRS (gltX1, gltX2) y para una AspRS (aspS).

En este trabajo se estudió las propiedades de las dos posibles Glutamil-tRNA sintetasas codificadas en el genoma de A. ferrooxidans.. Se clonaron los genes en un vector de expresión y se determinó que tanto gltX1 y gltX2 rescatan una mutación termosensible en el gen gltX de E. coli. Para determinar el carácter D/ND de las GluRS codificadas por gltX1 y gltX2, se diseñó un sistema genético que se basa en el rescate de una mutación en el gen de la triptofano sintetasa (trpA) de E. coli que reemplaza el glutámico 49 por glutamina. Según este sistema, gltX1 codifica para una GluRS discriminante y gltX2 para una no discriminante. Se concluye que la GluRS2, que es ND participa en la biosíntesis de proteínas. Se discutirá la posible función de la GluRS1 (D). Financiado por Fondecyt y NIH.

BUSQUEDA DE MOTIVOS CONSERVADOS EN LA REPLICASA DE ROTAVIRUS. (Search of conserved motifs in the rotavirus replicase). Vásquez-Del Carpio, R., Morales J. y Spencer, E. Laboratorio de Virología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. Alameda #3363.

El gen 1 de rotavirus codifica a la replicasa viral (VP1), una proteína de 119 kDa encargada de realizar los dos eventos de síntesis de ácidos nucleicos necesarios en el ciclo viral: la síntesis de la hebra positiva para producir los mRNA's virales y la síntesis de la hebra negativa involucrada en la formación del genoma de doble hebra. Esta replicasa viral es una RNA polimerasa RNA dependiente (RpRd) y su gran tamaño ha dificultado su estudio. En el presente trabajo se realizó una aproximación bioinformática con el fin de encontrar posibles motivos descritos previamente en otras polimerasas, los cuales se encuentran en el dominio "palma" y están involucrados en la actividad catalítica de estas enzimas. En VP1 estos motivos se encuentran en la parte media de la polimerasa (palma), bajo un contexto estructural bien definido y muestran gran conservación a nivel de estructura secundaria con respecto a otras RpRd's de virus RNA de doble hebra y hebra positiva. El grado de conservación disminuye hacia los extremo amino y carboxi terminal que corresponderían a los otros dominios de la polimerasa (dedos y pulgar) y no se observa conservación alguna en el resto de la proteína. Este tipo de estudios sirven para tener una idea de donde buscar las otras posibles funciones de la proteína mediante una aproximación experimental, para lo cual se realizo el clonamiento de los distintos dominios de la polimerasa y su posterior expresión en células eucarióticas. Financiado por proyecto Fondecyt No. 1010603

ECOLOGIA I

FILOGEOGRAFIA INTRAESPECIFICA EN EL RATON «COLILARGO» Oligoryzomys longicaudatus (RODENTIA, SIGMODONTINAE) A LO LARGO DE SU RANGO DE DISTRIBUCION EN CHILE Y ARGEN-TINA (Intraspecific phylogeography of the rodent «colilargo» Oligoryzomys longicaudatus (Rodentia, Sigmodontinae) along its distributional range in Chile and Argentina. Meynard, A.P1; Yates, T.L2; Pardiñas, U. F. J3., Rivera-Milla, E4. & Palma, R. E1. Centro de Estudios Avanzados en Ecología y Biodiversidad¹, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago; Department of Biology, The University of New Mexico, Albuquerque, NM, USA2; CENPAT-CONICET3, Argentina; Department of Biology, University of Konstanz, Alemania4

Luego de obtener secuencias del gen mitocondrial citocromo b de 24 poblaciones de Oligoryzomys longicaudatus dentro de todo su rango de distribución en Chile, y de 4 poblaciones argentinas, estas se analizaron filogeográficamente utilizando el programa PAUP 4.0b, MEGA y NTSYS. Los árboles generados de acuerdo a distintos criterios filogenéticos concordaron, agrupando las poblaciones de la IX y X region de Chile y de la misma latitud en Argentina (Neuquén) en un primer clado, el cual se separa de aquél de la zona mediterránea chilena, y de un tercer clado de la XI región de Chile y de la Provincia de Buenos Aires. En los arboles filógenéticos, esta última agrupación se ubicó en una posición basal. fundamentando así un origen austral de los taxa chilenos de Oligoryzomys longicaudatus, mientras que los más derivados corresponderían a las poblaciones del centro-norte de Chile. Dada la escasa distancia nucleotídica entre todas las poblaciones se confirma el carácter monoespecífico de los representantes de Chile y Argentina del ratón colilargo. Financiado por NIH-ICIDR 1 U19 AI45452-01 USA.

VARIACION GEOGRAFICA CLINAL EN RASGOS DE HISTORIA DE VIDA: INTERACCION CON EL META-BOLISMO (Clinal geographic variation in life-history traits: interaction with metabolic rate) Lardies, M.A. & Bozinovic, F. Centro de Estudios Avanzados en Ecología & Biodiversidad, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

La variación intraespecífica en rasgos de historia de vida es evidente, tanto en plantas como en animales, cuando se comparan poblaciones a lo largo de una clina latitudinal. Sin embargo las causas funcionales de esta variación han sido pocas veces examinadas. En ectotermos con una amplia distribución geográfica, tal variación entre fenotipos puede ser causada por las diferencias en mantención del metabolismo de los individuos. En el isópodo oniscoideo Porcellio laevis se estimaron los siguientes rasgos en cuatro poblaciones a lo largo de Chile; volumen de los huevos (VH), tamaño de camada, tamaño de la cría, rendimiento reproductivo(RO), talla mínima de reproducción (TMH)y la tasa metabólica (TM). Los resultados demostraron diferencias significativas en todos los rasgos de historia de vida y fisiológicos estudiados. VH, RO, TMH y el tamaño de la cría, decreció desde altas hacia bajas latitudes, mientras TM y el tamaño de camada incrementó desde altas a bajas latitudes, exhibiendo un claro compromiso con VH. Por otro lado, existe una clara correlación negativa significativa entre TM y RO. Se concluye que la diferencia TM entre poblaciones de P. laevis contribuye en gran proporción a las diferencias clinales en rasgos de historia de vida.

Tesis doctoral CONICYT 2002 (MAL), FONDAP 1501-001.

HEREDABILIDAD DEL METABOLISMO EN UN MA-MÍFERO SILVESTRE, PHYLLOTIS DARWINI. (heritability of metabolism in a field mammal, P. darwini). Nespolo RF, Bacigalupe LD & Bozinovic F. Centro de Estudios Avanzados en Ecología y Biodiversidad, P. Universidad Católica de Chile.

La Selección Natural actúa sobre la variación heredable. Esta última es representada por la varianza de los valores de cría, también conocida como varianza genética aditiva (VA). En las últimas décadas, el estudio de las adaptaciones fisiológicas en vertebrados se ha centrado en las comparaciones interespecíficas y no en el análisis intraespecífico de la varianza fenotípica (V_p). Es así como no existe una idea clara de cuán heredable es el fenotipo fisiológico, ni menos si tiene potencialidad de respuesta a la selección. En este trabajo determinamos la potencialidad de microevolución del metabolismo energético y variables asociadas (BMR, NST, MMR, C, T_b) en endotermos, usando como modelo al roedor múrido Phyllotis darwini. Para ello, determinamos a través de un protocolo de medios hermanos, la razón entre VA y VP conocida como heredabilidad en sentido estricto (h2). Los estimadores se calcularon a través de un modelo animal y máxima verosimilitud restringida, y sugieren que los rasgos bioenergéticos presentan muy baja h² (estadísticamente no distinta de cero). Sin embargo, la conductancia térmica y la temperatura corporal presentaron altos valores de h^2 ($h^2 > 0.5$, P < 0.05) así como también algunos rasgos morfológicos. Estos serían los únicos componentes del metabolismo energético con potencialidad de respuesta a la Selección Natural. FONDAP 1501-001, DIPUC (MA).

ESCALA DE LA REGULACION AMBIENTAL DE PRO-CESOS ECOLOGICOS (Environmental scales of ecological regulation). BR Broitman, S Navarrete & SD Gaines. Department of Ecology, Evolucion & Marine Biology, University of California, Santa Barbara. Departamento de Ecología, P. Universidad Católica de Chile, CASEB & ECIM

La creciente evidencia de cambio climático hace necesario entender sus posibles efectos ecológicos, los cuales están íntimamente ligados a la escala de acoplamiento entre patrones biológicos y físicos. Estas escalas son conocidas como mesoescalas (menos de un mes y cientos de km). Al igual que en sistemas terrestres corresponden a zonas en las cuales es posible esperar una respuesta biológica a patrones climáticos. Mediante el estudio de variables físicas y biológicas a escala local y regional en la costa de Chile centro-sur. El patrón observado corresponde a tres zonas de acoplamiento a mesoescala. Estas se localizan entre tres zonas: Los Molles, el Golfo de Arauco y al norte del Canal de Chacao. Los patrones de llegada de larvas y abundancia de adultos (invertebrados) identifican la escala de acoplamiento entre variables físicas y biológicas. El impacto biológico del cambio climático será coherente con las escalas identificadas. Mellon Foundation, Fondecyt, PISCO.

CORRELACION ENTRE SOMBRA-TOLERANCIA Y LONGEVIDAD FOLIAR PARA ANGIOSPERMAS DEL BOSQUE VALDIVIANO. (Correlation between shade-tolerance and leaf longevity for angiosperms of the Valdivian rainforest). Villegas-Delgado, P. & Lusk, C. Laboratorio de Ecología Forestal, Departamento de Botánica, Universidad de Concepción. Casilla 160-C

Algunos estudios muestran que existiría una relación entre longevidad foliar y sombra-tolerancia de las especies. Esta correlación sería una consecuencia de adaptación a diferentes niveles lumínicos.

Una alta longevidad foliar se encuentra habitualmente asociada a especies que habitan sitios donde la ganancia de carbono es difícil a causa de bajas intensidades lumínicas, esto es, especies sombra-tolerantes. Con hojas de larga vida, los individuos "evitan" construir cohortes completas de hojas cada temporada con lo cual ahorran carbono, siempre escaso en estos ambientes.

Una gran parte de estos estudios se han llevado a cabo en angiospermas tropicales y se han hecho en plántulas faltando estudios en etapas más avanzadas. Se pretende determinar si existe tal correlación entre sombra-tolerancia y longevidad foliar en angiospermas del Bosque Valdiviano.

El estudio se realizó en el parque Nacional Puyehue, se utilizaron métodos retrospectivos y dinámicos para la determinación de longevidad en hojas de sol y se utilizó el porcentaje de apertura del dosel en aquellos sectores con mayor densidad de individuos de cada especie como índice de sombra-tolerancia. Se estudiaron nueve especies angiospermas dominantes de este bosque.

Los resultados muestran una correlación negativa menor entre ambas variables, con un R²=0,38. Esto apoya la hipótesis inicial de encontrar una correlación entre ambas variables. Gracias a FONDECYT 1000367.

HERBIVORIA EN BOSQUES FRAGMENTADOS: CRE-CIMIENTO Y SOBREVIVENCIA DE PLANTULAS DE ARISTOTELIA CHILENSIS (Herbivory in fragmented forests: growth and survival of Aristotelia chilensis seedlings). Simonetti, J.A., R.O. Bustamante, A.A. Grez & J.L. Celis. Facultades de Ciencias y Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago.

La herbivoría sobre plántulas en fragmentos de bosque maulino es menor que en el bosque continuo. Esta diferencia podría afectar la dinámica de regeneración arbórea, si los cambios en herbivoría afectan la adecuación biológica de las plántulas. Nosotros evaluamos experimentalmente los efectos de la diferencia en herbivoría sobre el crecimiento y la sobrevivencia de plántulas de Artistotelia chilensis. Plántulas de vivero fueron colocadas en un bosque continuo(Reserva Nacional Los Queules) y cuatro fragmentos aledaños. La mitad de las plántulas fueron protegidas contra insectos herbívoros mediante aplicaciones de Fastac 10EC ®. Luego de una estación de crecimiento, analizamos la magnitud de la herbivoría, la tasa de crecimiento y la sobrevivencia de las plántulas. La herbivoría fue mayor en el bosque continuo que en los fragmentos. Las plántulas protegidas con insecticida tuvieron menos pérdida de superficie foliar, particularmente en el bosque continuo. Las diferencias en herbivoría no se tradujeron en cambios en crecimiento, pero sí en sobrevivencia. Las plántulas expuestas a herbívoros mueren más que las plántulas protegidas contra insectos en el bosque continuo pero no en los fragmentos. La fragmentación influiría en la regeneración del bosque maulino mediante aumentos en la sobrevivencia de plántulas via reducción en la tasa de herbivoría en los fragmentos.

Fondecyt 1010852

EFECTOS DE LAS DISPONIBILIDADES DE RECURSOS ENERGETICOS ESTRUCTURALES Y DE PROTECCION SOBRE LAS ABUNDANCIAS DE COPEPODOS Y CLADOCEROS ZOOPLANCTONICOS LACUSTRES CHILENOS. (Availability effects of energetic, structural and protection resourses on copepoda and cladocerans abundances in Chilean lakes). De los Ríos P., & Soto D. Universidad Austral de Chile, Instituto de Acuicultura, Casilla 1327, Puerto Montt, Chile.

Se pretendió determinar la asociación entre nutrientes (nitrógeno y fósforo) como recursos energéticos, calcio (como recurso estructural) y profundidad del sitio como protector como protector contra la predación visual y la penetración de la radiación ultravioleta "B". En el zooplancton lacustre de América del Sur predominan los copépodos Calanoideos, respecto a cladóceros Daphnidae. Los cladóceros Daphnidae son abundantes en bajo valor de la razón Nitrógeno / Fósforo, mientras que los copépodos Calanoideos presentan la característica contraria. Los cladóceros Daphnidae, requieren de mucho calcio para su caparazón, y al ser de mayor tamaño corporal, son más vulnerables a la predación y a la radiación ultravioleta.

Se trabajó entre 18 y 51 grados sur de latitud, y se consideraron Área, Profundidad, Grosor de la Capa de Ozono, Nitrógeno, Fósforo, Calcio y zooplancton. El zooplancton se trabajó en porcentajes de abundancias de "cladóceros Daphnidae", "cladóceros chicos", "copépodos Calanoideos" y "copépodos Ciclopoideos" y número de especies por sitio. Primero, se aplicó la prueba de Mann-Whitney en función de la presencia o ausencia de peces. Posteriormente, se aplicó la prueba de regresión múltiple considerando como variables independientes las condiciones geográficas y químicas, y como variables independientes, datos de zooplancton.

Los copépodos Calanoideos fueron menos abundantes en sitios con peces. Los cladóceros Daphnidae tuvieron una relación inversa entre el grosor de la capa de ozono y directa con la profundidad.

En lagos con peces, situados entre los 38 y 51 grados de latitud sur, se observó una relación directa entre la abundancia de cladóceros Daphnidae con las disponibilidades de Calcio y Nitrógeno, e inversa con la razón Nitrógeno / Fósforo y Grosor de la Capa de Ozono. Los copépodos calanoideos tuvieron una relación directa con la razón Nitrógeno / Fósforo e inversa con las concentraciones de Calcio y nutrientes.

Agradecimientos: Financiados IAI, DID-UACH, y CONICYT.

CONSUMO DE ALGAS A LA DERIVA POR EL ERIZO Tetrapygus niger EN EL INTERMAREAL DE CHILE CENTRAL: EFECTOS A NIVEL POBLACIONAL Y COMUNITARIO (Consumption of drift kelp by the sea urchin Tetrapygus niger in the intertidal of central Chile: effects at population and community levels). Rodriguez, S.R. Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Santo Tomás. Centro de Estudios Avanzados en Ecología & Biodiversidad, Departamento de Ecología, P. Universidad Católica de Chile.

Las algas a la deriva son una importante fuente de alimento para muchos organismos intermareales. Este estudio cuantifica la tasa de arribo de algas a la deriva en la zona intermareal de Chile central y analiza su rol nutricional en poblaciones del erizo Tetrapygus niger. Se evalúa también el efecto de este recurso sobre el desarrollo gonadal de esta especie. Lessonia nigrescens fue el alga a la deriva más frecuentemente observada en la zona intermareal. Sus patrones de depósito mostraron importantes variaciones espaciales y temporales. En zonas con alta disponibilidad de algas a la deriva, Lessonia sp. fue el alimento más importante en la dieta de T. niger. En zonas donde el depósito de este recurso exógeno fue bajo o nulo, el alimento más utilizado fueron algas verdes y crustosas. El consumo de algas a la deriva aparece como un factor importante en determinar el desarrollo gonadal en poblaciones de esta especie. A partir de los resultados obtenidos se proponen dos escenarios de estructuración comunitaria en pozas intermareales, dependiendo de la disponibilidad de algas a la deriva. Financiado por FONDECYT 2960015

BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR I

LA SECUENCIA DE ADN DETERMINA EL PATRON DE REMODELACION NUCLEOSOMAL EN EL PRO-MOTOR DEL GEN DE OSTEOCALCINA DE RATA. (The DNA sequence determines the nucleosome remodeling pattern in the promoter of the rat osteocalcin gene). Gutiérrez, J., Imschenetzky, M., Montecino, M. Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. FONDECYT 1000361; FONDECYT 2990066.

El promotor activo del gen de osteocalcina (OC) de rata presenta marcadas diferencias en su estructuración cromatínica con respecto al promotor inactivo. Diversos estudios han puesto de relieve el hecho de que el promotor activo contiene un nucleosoma entre la región proximal y la región distal. Se ha propuesto que este nucleosoma permitiría el acercamiento de ambas regiones del promotor, contribuyendo así a la formación del complejo de preiniciación. ¿Qué determina que este nucleosoma no sea excluido del promotor en la transición desde el estado inactivo al activo de éste? Para abordar esta pregunta hemos realizado diversos estudios en mononucleosomas reconstituidos in vitro sobre distintos segmentos del promotor de OC. Nuestros resultados demuestran la presencia de una secuencia posicionadora entre las regiones proximal y distal. Además, revelan la presencia de una región con muy baja tendencia a estructurarse como nucleosoma, entre la secuencia posicionadora y el promotor proximal. La presencia de estas secuencias en distintos segmentos del promotor de OC determina patrones de remodelación diferenciales, lo que es indicativo de distintos eventos de remodelación que podrían producirse in vivo en la transición desde un estado inactivo a uno activo de este promotor.

INTERACCION ENTRE EL COREPRESOR TRANSCRIPCIONAL COREST Y LA CHAPERONA MOLECULAR HSP/HSC70. (Interaction between the transcriptional corepressor CoREST and the molecular chaperone Hsp/Hsc70) Gómez, A. y Andrés, M.E. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile.

REST es un represor transcripcional con dos dominios independientes que median la represión. Su función es el silenciamiento de genes que otorgan características típicas del fenotipo neuronal en células no neuronales. CoREST es una proteína de 482 aminoácidos descubierta en interacción con REST y necesaria para la actividad represora del dominio Cterminal de este factor. CoREST es una proteína altamente conservada, cuyos homólogos en Drosophila y Xenopus ya han sido caracterizados. La purificación de CoREST muestra que este factor es parte integral de un complejo deacetilador de histonas, sugiriendo que su función es más amplia que la de corepresor de REST. En la búsqueda de otras proteínas que pudieran interactuar con CoREST y estar relacionadas con su función, se realizaron rastreos mediante la técnica de doble híbrido en levaduras, los cuales arrojaron como posible proteína asociada la chaperona molecular inducida por calor Hsp70 y su isoforma constitutiva Hsc70. Nosotros hemos caracterizado la interacción de CoREST con Hsc70 en levaduras determinando los dominios de interacción de ambas proteínas. Además, hemos comprobado in vivo esta interacción, mediante ensayos de coinmunoprecipitación de extractos totales de células HEK-293. Ahora nos enfocamos a determinar la importancia funcional de esta interacción.

Fondecyt # 1000722

LA EXPRESION DE mRNA DE RPS14 ES DIFERENCIALMENTE REGULADA EN Arabidopsis thaliana. (RPS14 mRNA expression is differentially regulated in Arabidopsis thaliana). Elorza, A., Gomez, I., and Jordana, X. Departamento de Genética Molecular y Microbiología . P. Universidad Católica de Chile

La proteína mitocondrial RPS14 es esencial para la síntesis de proteínas organelar, por lo cual resulta interesante estudiar su mecanismo de regulación y expresión. En plantas superiores, la función mitocondrial debe ser regulada durante su desarrollo de manera tal de satisfacer las demandas energéticas de sus diferentes tejidos. La fosforilación oxidativa en los diferentes tipos de células vegetales varía dependiendo de la función fisiológica de éstas, su competencia fotosintética y su acceso al oxígeno entre otros factores.

Experimentos de tipo northern y RT-PCR multiplex muestran que la expresión del mRNA de RPS14 en plantas adultas es mayor en flores, inflorescencias y raíces con respecto a hojas y tallos. Durante el crecimiento vegetativo, la expresión es mayor en raíces que en la parte aérea; y durante la germinación, existe una baja expresión a las cuatro horas post-imbibición (PI), la cual aumenta en el día uno PI para luego mantenerse estable hasta el día 5 PI. Hibridación in situ sobre órganos florales, mostró que los transcritos se concentran principalmente en los meristemas florales, tapetum, pollen y óvulos.

Deleciones seriadas del promotor de *RPS14* fusionadas a GUS mostraron que 100 pb río arriba del sitio de inicio de la transcripción contienen todos los elementos necesarios para regular su expresión.

FONDECYT 2000073 y 1020930

CAMBIOS EN LA EXPRESION DE TGF-β₁ INDUCIDA POR ADRENALECTOMIA Y SU ACCION NEUROPROTECTORA EN HIPOCAMPO DE RATA. (Changes in TGF-β₁ expression induced by adrenalectomy and its neuroprotective action in rat hippocampus) ¹Bravo, JA., ¹Parra, C., ²Morales, P., ¹Cárdenas, SP., ¹Lara, HE., ²Herrera-Marschitz, M., y ¹Fiedler, JL. ¹Laboratorio de Neurobioquímica, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. ²Programa de Farmacología ICBM, Facultad de Medicina. Universidad de Chile. (Financiado por Memorias 2001)

El Hipocampo es una estructura involucrada en procesos de memoria y aprendizaje, cuya densidad neuronal, a nivel de Giro Dentado (GD), es modulada por glucorticoides. La reducción de estas hormonas por adrenalectomía (ADX), aumenta tanto la neurogénesis como la apoptosis neuronal. En respuesta a la ADX hemos demostrado un aumento en la expresión de genes proapoptóticos (Bax) y antiapoptóticos (Bcl-2) que darían cuenta de la apoptosis y de la sobrevida neuronal respectivamente. Postulamos que la inducción de Bcl-2 por ADX sería consecuencia del aumento de TGF-β₁, que tiene atribuidos efectos neuroprotectores. Por hibridación in situ evaluamos el efecto de ADX en la expresión de TGF- β_1 y Bcl-2 como modelo de neuroprotección in vivo. También se estudió la expresión del ARNm de Bcl-2 y la apoptosis tras la aplicación de un antisentido para tgf-β₁ (AStgf- β_1), administrado intracerebroventricularmente. A pesar de no observar cambios en bcl-2 por la administración de AStgf-β₁, hay un aumento en la apoptosis. Esto sugiere que TGFβ₁ en sus acciones neuroprotectoras gatillaría una vía antiapoptótica independiente de Bcl-2.

ESTUDIO DE LA VIA DE SEÑALIZACION TEMPRA-NA DE ACIDO SALICÍLICO UTILIZANDO AFLP-TRANSCRIPT PROFILING EN ARABIDOPSIS THALIANA (Study of the early signaling pathway of SA using AFLP-transcript profiling in Arabidopsis thaliana) Blanco,M.F. y Holuigue,L. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

En nuestro laboratorio estamos interesados en la identificación del grupo de genes que definen la respuesta temprana al aumento del ácido salicílico (SA), hormona esencial para la reacción celular de defensa a estrés en plantas. Esta respuesta temprana se caracteriza por la inducción transiente de genes con función antioxidante y destoxificante, tales como glutatión S-transferasas (por ej. GST6) y glicosil transferasas (GT). En este trabajo hemos utillizado la técnica AFLP-TP, versión modificada de la técnica cDNA-AFLP, que permite aislar e identificar grupos de genes cuya expresión que se ve influenciada (represión o activación) por un determinado tratamiento en Arabidopsis thaliana. Con esto hemos realizado un análisis completo de los niveles de RNA en plántulas de Arabidopsis silvestre después de tratamientos a tiempos cortos con SA. Tomando como modelo la cinética de activación del gen GST6, hemos querido definir el grupo de genes que se activa o reprime en forma simultánea por el tratamiento con SA. Hasta la fecha se han aislado e identificado 20 genes que participarían en la vía temprana gatillada en la planta por SA. La cinética de expresión de estos genes ha sido confirmada por análisis de tipo Northern.

Este trabajo fue financiado por el proyecto Fondecyt Nº 1020593.

DIFERENCIAS GENETICAS EN LA DESHIDRO-GENASA ALDEHÍDICA MITOCONDRIAL (ALDH2) DE RATAS ABSTEMIAS (UChA) Y BEBEDORAS (UChB). (Genetic differences in mitochondrial aldehyde dehydrogenase between low and high ethanol-consumer rats). Valle A, Sapag A, Tampier L, Quintanilla ME, Moncada C, Israel Y. Laboratorio de Farmacoterapia Génica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Facultad de Medicina e Instituto Milenio CBB, Universidad de Chile.

En ratas UChA el consumo de etanol es bajo (< 0,5 g/kg/d) y la ALDH2 presenta una Km alta para NAD+. En ratas UChB el consumo de etanol es alto (> 5 g/kg/d) y la ALDH2 presenta una K_m baja para NAD+. Las diferencias entre las K_m para NAD+ de la ALDH2 de ratas UChA y UChB podrían ser producto de cambios aminoácidos. Hemos clonado y secuenciado el cDNA de Aldh2 de 10 ratas UChA $(K_m: 125-250 \mu M)$ y 10 ratas UChB $(K_m: 38-42 \mu M)$. Se identificaron 3 alelos diferentes: (a) Aldh2*1 (presente en algunas ratas UChA y UChB) que es idéntico al cDNA de ratas Sprague Dawley y Lewis, (b) Aldh2*2 (presente sólo en ratas UChA) que codifica el cambio aminoacídico Gln67Arg; y (c) Aldh2*3 (presente sólo en ratas UChB) que codifica los cambios Gln67Arg y Glu479Lys. La genotipificación por digestión con Hgal de un producto de PCR obtenido a partir de DNA genómico mostró una fuerte correlación (p< 0.0001) entre la presencia del alelo Aldh2*2 y la designación UChA (8/10) y la presencia del alelo Aldh2*3 y la designación UChB (8/10). (Financiamiento: FONDECYT 1010873)

DETECCION DE MUTACIONES EN EL GEN BRCA2 EN PACIENTES CHILENAS CON CANCER DE MAMA HEREDITARIO. (BRCA 2 gene mutation detection in Chilean patients with hereditary breast cancer). ¹Silva, A, ¹Elgueta, R., Berríos C.G., ²Alvarez, M., ¹Carvallo, P. ¹Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, ²Centro de Cáncer, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El cáncer de mama es la segunda causa de muerte en Chile para la población femenina. En estudios previos realizados en Estados Unidos se observó que aproximadamente un 5 a 10% de los casos de cáncer de mama son del tipo hereditario. Los genes BRCA1 y BRCA2, han sido identificados como los genes más importantes responsables del cáncer de mama y/u ovario en familias. El gen BRCA2 se mapeó en el cromosoma 13q12 y codifica para una proteína de 3418 aminoácidos. Se ha descrito una alta heterogeneidad de la frecuencia en que este gen se encuentra mutado en poblaciones de diferentes orígenes. La frecuencia de mutaciones para BRCA2 varía entre un 2% y un 90%, describiéndose hasta ahora más de 500 mutaciones. En este trabajo se estudió la estructura molecular del gen BRCA2 en pacientes de 5 familias chilenas, de un total de 40 que han sido estudiadas en nuestro laboratorio. Para el estudio se utilizaron las técnicas de SSCP (conformómeros de simple hebra) y de heterodobletes, con posterior secuenciación de algunos fragmentos. En este estudio se detectó una mutación no descrita antes en el gen BRCA2. Esta mutación provoca un cambio de serina por un codón de término.. Esta mutación junto con otras 2 encontradas previamente en nuestro laboratorio indican una baja frecuencia (12%) de mutaciones para el gen BRCA2 en familias Chilenas. (FONDECYT 1011076)

NUEVA MUTACION EN SITIO DE SPLICING DE LA PROTEINA STAR CAUSA HIPERPLASIA SUPRARRENAL LIPOIDE. (A novel splicing junction mutation in the gene for the StAR protein causes lipoid adrenal hyperplasia) González A, Reyes L¹, Baquedano P¹, Carvajal C, Fardella C. Dptos: Endocrinología y Pediatría¹ Pontificia Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: Carmen Campino)

La proteína reguladora de la esteroidogénesis (StAR) es la responsable de mediar la transferencia de colesterol desde la membrana externa hacia la membrana interna de la mitocondria. Se ha descrito que mutaciones en el gen de la StAR causan hiperplasia suprarrenal lipoide (HSL). Objetivo: Evaluar la presencia de mutaciones en el gen de la StAR en un paciente con HSL. Paciente: Fenotipo femenino (edad: 1 año) con insuficiencia suprarrenal. Cariograma XY, la biopsia gonadal confirma testículos. Mineralocorticoides, glucocorticoides y esteroides sexuales indetectables. ACTH y renina muy elevadas. Métodos: Se amplificó por PCR el gen completo de la proteína StAR del paciente, sus padres y un hermano. Los fragmentos amplificados se secuenciaron automáticamente. Mutaciones en sitios de splicing se confirmaron por la enzima de restricción Hph I. Resultados: En el paciente se detectó la mutación homozigota en el sitio splice donor del intrón 1(IVS1+1G>T). La digestión del fragmento certificó la condición de heterocigocidad en ambos padres y un hermano. Cinco sujetos sanos no mostraron la mutación. Conclusión: La HSL de ésta paciente se debería a una mutación no descrita en el sitio splice donor del intrón 1(IVS1+1G>T), la cual afectaría el normal splicing del premRNA de la proteína StAR. (FONDECYT 101-1035)

BOTANICA II

NUEVO HALLAZGO DE FLORA MESOZOICA EN **CABO** SHIRREFF, ISLA LIVINGSTONE, ARCHIPIELAGO SHETLAND DEL SUR, ANTARTICA. New findings of Mesozoic flora in Shirreff Cape, Livingstone Island, South Shetland Islands, Antarctica. Leppe, M.1, Moisan, Ph.², Fernandoy, F.³ y S. Palma-Heldt³. 1.-Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile. E-mail: mleppe@udec.cl. 2.-Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile. E-mail: fmoisan@udec.cl. 3.-Departamento Ciencias de la Tierra, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile. E-mail:sypalma@udec.cl. Patrocinio: Dr. Oscar Matthei Jensen

El estudio de la evolución del margen occidental del Gondwana triásico puede ser efectivamente abordado desde un punto de vista paleobotánico. Existen pocos estudios a este respecto en la Isla Livingstone, Archipiélago de las Shetland del Sur, Península Antártica. Se describe por primera vez la flora fósil del Cabo Shirreff (62°28'S-60°47'W), que corresponde a restos fragmentarios de frondas y hojas en rocas transportadas por una morrena glacial. Los taxa más importantes se pueden separar en dos grupos de edades distintas: uno de unos 200 m.a. (Triásico Superior) dominado por Cladophlebis, Taeniopteris, Dicroidium, Coniopteris y Linguifolium; y otro asignado al Cretácico dominado por coníferas de la familia Araucariaceae. Estas floras presentan claras semejanzas con afloramientos triásicos del sur argentino, pero manifiestan poca afinidad con las asociaciones del margen costero de Chile centro-sur, lo que podría cuestionar los modelos paleolatitudinales propuestos para la Península Antártica durante el Triásico Superior. Agradecimientos: Instituto Antártico Chileno y Proyecto Fondecyt 2010105.

DIVERGENCIA GENETICA EN DRIMYS (CANELO)EN CHILE, MEDIANTE ANALISIS CON RAPD. (RAPD analysis of genetic divergence of Chilean Drymys (canelo)). Jara, P.(1), Squeo, F.A.(1), Hershkovitz, M. (2).(1) Universidad de La Serena, Facultad de Ciencias. Benavente 980, La Serena. (2)Universidad de Chile, Facultad de Ciencias. Las Palmeras 3425, Santiago.

Canelo se distribuye, como muchas especies arbóreas, de la zona templada de Chile, desde los bosques subantárticos, disminuyendo hacia el norte hasta la IV Región. Se postula que la población de Fray Jorge tiene un origen diferente de las poblaciones de la zona mediterránea/semidesértica. Se analizaron 20 poblaciones incluyendo a D. andina y D.fernandeciana. Existe divergencia genética relacionada con distancias geográficas (regiones adyacentes D=0,1-0,2 y extremas D=0,25-0,45). Excepciones, son la población de Isla Teja (X Región), con mayor cercanía a las de la IV Región (D=0,1), o El Durazno (VII Región) relacionada con las de la IV y V (D=0,15-0,26) que con las de Concepción (D=0,32-0,34). Fray Jorge, es casi divergente de la asociación IV y V Región (D=0,23-0,35) como de las del resto de Chile (D=0,28-0,45). Las divergencias entre D.andina y D.fernandeciana (D=0,26-0,29) y ambas con D.winteri de Argentina (D=0,19-0,32), son menores que las que existentes entre poblaciones de D. winteri en Chile. En estas actuales poblaciones de D.winteri, aparentemente existe diversidad genética producto de la diversidad biogeográfica o de un gradual rango de expansión, con ocasionales flujos génicos. La divergencia en Fray Jorge podría relacionarse con su carácter relictual o con una fuerte selección. Financiamiento Minera Los Pelambres.

POSICION FILOGENETICA DE ESPECIES RARAS Y COMUNES EN *Tropaeolum* (Phylogenetic position of rare and common *Tropaeolum* species). Hernández-Pellicer, C., Kalin, MTK. & Hershkovitz, M. Laboratorio Biología de la Reproducción, Facultad de Ciencias Universidad de Chile, Casilla 653, Santiago, Chile. clapeher@icaro.dic.uchile.cl

Para establecer si existen restricciones históricas para ocupar un determinado hábitat y considerar este aspecto cuando se definen prioridades de conservación, se caracterizó la rareza y si existe alguna relación entre esta condición y la posición filogenética, dentro del género *Tropaeolum*. La rareza representa la condición de un organismo, que por una combinación de factores está restringido, en número de individuos o en área de distribución.

El género *Tropaeolum* (Tropaeolaceae) endémico de Sudamérica, está representado en Chile por 18 especies, distribuidas principalmente en la zona mediterránea de Chile.

Se caracterizó la rareza considerando distribución y abundancia y se consideran especies raras a T. hookerianum ssp. pilosum, T. jilessi, T. beuthii, T. looseri y T. hookerianum ssp. austropurpureum.

Se construyó una filogenia molecular usando secuencias ITS (ADN), con el objetivo de corroborar si existe alguna relación entre rareza y posición filogenética. Los resultados muestran que las especies raras se distribuyen en la zona norte del país y aquellas especies de mayor antigüedad (T. hookerianum ssp. austropurpureum, T. beuthii y T. hookerianum ssp. pilosum) se ubican a un nivel altitudinal medio o en la costa y aquellas de antigüedad intermedia (T. jilessi y T. looseri) en lugares de mayor altura.

Agradecimientos: Fondecyt 1980705, 1000364, 1000909, Beca PG/18/00 y Núcleo Milenio P99-103-F ICM

DIVERSIFICACION ECOLOGICA DE PORTULACACEAE DE AMERICA OCCIDENTAL. (Ecological diversification of western American Portulacaceae) Hershkovitz, Mark A. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Aunque evidencias paleoecológicas documentan cambios históricos en las condiciones ambientales en áreas habitadas por comunidades vegetales actuales, la ecología de los ancestros de especies vegetales actuales permanece pobremente estudiada. La literatura clásica da a entender que los ancestros de especies actuales de angiospermas de ambientes más extremos (e.g., alpinos, xerofíticos) vivieron en ambientes menos extremos. Estoy aplicando análisis filogenético de secuencias de ADN con el objetivo de inferir ambientes ancestrales de angiospermas que existen en comunidades actuales de origen relativamente reciente, en particular aquellos xerofíticos, alpinos y mediterráneos de América del Sur templada. Actualmente, estoy analizando datos de secuencias de ADN ribosomal y de cloroplastidio de ca. 150 especies de Portulacaceae de América occidental, las cuales se han diversificado extensamente en zonas xerofíticas, alpinas y mediterráneas en América del Norte y del Sur. Los resultados muestran numerosas transiciones filogenéticas entre esos ambientes, pero son menos claros con respecto a la dirección de transición. Sin embargo, los grupos externos de las especies mediterráneas son generalmente especies xerofíticas o alpinas, y los grupos hermanos de algunos clados de ambientes diversos son exclusivamente alpinos. La importancia de estos resultados debe ser evaluada en el contexto de datos de otros taxa de la misma región geográfica tomando en cuenta modelos que consideren la diversidad y tasa de diversificación autóctona en cada ambiente.

Agradecimientos: FONDECYT 1000909, Fundación Mellon, Núcleo Milenio P99-103

DISTRIBUCION Y CONSERVACION DE LOS TILLANDSIALES DE TARAPACA (Distribution and conservation of *Tillandsia* lomas formations in Tarapacá). Pinto, R¹ y P.A. Marquet². ¹Dalmacia 3251, Iquique raquelpinto@entelchile.net, ² Centro Estudios Avanzados Ecología y Biodiversidad, Departamento Ecología, P. Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago, pmarquet@puc.cl

Asociadas a la cordillera de la costa y valles transversales del Desierto Costero del Perú y norte de Chile, se desarrollan extensas comunidades de Bromeliaceas epífitas del género Tillandsia, formando un típico patrón de bandas dependientes del aporte de las neblinas costeras. Hasta ahora se desconoce cuales son los factores que determinan su extensión y desarrollo así como su distribución y composición específica en el área. Se presenta los resultados de 2 años de expediciones durante los cuales se realizaron relevamientos de estas comunidades. Se detectó la presencia de 10 grandes sistemas de tillandsiales formados principalmente por Tillandsia landbeckii. Estos ecosistemas de niebla ocupan vastas extensiones en planicies y laderas arenosas de exposición principalmente sur oeste formando unidades continuas o praderas aisladas entre 950 y 1200 m de altitud. Nuestros resultados indican que tanto el ancho como la altura de la banda se correlacionan significativamente con la orientación e inclinación del sustrato en tanto que la extensión del sistema está negativamente relacionada con la inclinación. Se discute el estado de conservación de estas formaciones en el área de estudio y la necesidad de su monitoreo en el largo plazo. Agradecemos a la Fuerza Aérea de Chile el apoyo en la

prospección aérea. Nor Oeste Pacífico Generación Energía I (da : Bondecy)

Nor Oeste Pacífico Generación Energía Ltda.; Fondecyt 1010801

RAPIDA PROPAGACION DE PLANTAS Y PRODUCCION DE MICROTUBERCULOS IN VITRO EN ULLUCUS TUBEROSUS (FAM. BASELLACEAE). (Rapid in vitro propagation and microtuber production in Ullucus tuberosus, Fam. Basellaceae). Jordan, M., Amenábar, A. y Roveraro, C. Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Casilla 114-D, Santiago, Chile. Email: mjordan@genes.bio.puc.cl

Un método conducente a una rápida multiplicación de plantas y generación de microtubérculos bajo condiciones in vitro fue desarrollado para Ullucus tuberosus, una especie comestible de la región altiplánica y andina distribuida entre Venezuela y Perú, con potencial productivo y económico en zonas de altura. Sus propiedades alimenticias son semejante a la papa a pesar que la especie no cuenta con trabajos referidos a mejoramiento genético. El método de micropropagación aquí descrito consistió en inducir, en presencia de fithohormonas, la formación de brotes múltiples a partir de secciones nodales de 3 a 4 yemas, con lo que pueden originarse hasta 18.3 nuevos brotes/explante finalizados 15 días de cultivo. Los nuevos brotes son observables finalizada una semana de cultivo usando el medio de Murashige & Skoog (1962), suplementado con ác. naftalenacético (NAA), ác. giberelico (AG3) y benziladenina (BA) o zeatina (Z). La segunda fase de subcultivo individual de los nuevos brotes permite la obtención de raíces y microtubérculos, los cuales se generan dentro de los 15 y 60 días siguientes, respectivamente. Los niveles máximos de tuberización (83% de los explantes con 1-2 microtubérculos / plántula) se obtuvieron en presencia de NAA (0.3 mg/l), BA (0.1 mg/l) y AG3 (0.01 mg/l).

RELACION ENTRE LA CONCENTRACION DE PO-LEN EN EL AIRE Y LA SENSIBILIDAD ALERGICA EN ALGUNAS CIUDADES DE CHILE. Relationship between aerial pollen concentration and allergic sensibility in the population of some Chilean cities. Rojas G. Mus.Nac.Hist.Nat.Casilla 787,Santiago. Chile. grojas@mnhn.cl.

Se hizo un recuento del contenido aeropolínico de cuatro ciudades del país, determinándose su concentración y origen, para compararlos con la positividad al polen encontrado en los test cutáneos, con el objetivo de averiguar que relación existe entre concentración de polen y polínicos.

Se usó captadores de polen tipo Hirst dispuestos en la azotea de edificios de 5 o 7 pisos, según normas de REA(Red Europea de Aeropalinología, se instalaron dos en Santiago, uno en cada una de las otras ciudades (Antofagasta, Concepción y Valdivia).

Se recolectó 3000 test cutáneos realizados en Santiago y se graficó la sensibilidad al polen según la taxa de éstos, anotando la fecha. En el caso de las otras ciudades se utilizó información entregada por especialistas.

Los resultados encontrados en los recuentos de granos de polen muestran que si bien es cierto que tanto en las ciudades de Santiago, Concepción y Valdivia la flora urbana es similar en las especies, las concentraciones de polen registrados son diferentes entre sí y muy inferiores a Santiago. Antofagasta presentó evidentemente diferencias en las especies encontradas, y sus concentraciones de polen fueron inconspicuas. Los resultados del análisis muestran que la positividad de los test cutáneos están en estrecha relación con las concentraciones de polenes; y en el caso de la ciudad de Santiago, la positividad se manifiesta, incluso, con las variaciones encontradas durante la floración de las diferentes especies.

FONDECYT 1960005, Schering Plough.

FLORA BOSCOSA Y PRATENSE Y MATERIA ORGANICA DEL SUELO. (Forest and prairie flora and soil organic matter). Ramírez, C., Ellies, A. y Mac Donald, R. Institutos de Botánica y de Ingeniería Agraria y Suelos, Universidad Austral de Chile.

Se comparó la composición florística y el contenido de materia orgánica en el suelo de tres rodales del bosque de Roble-Laurel-Lingue (Nothofago-Perseetum linguae) ubicados en las provincias de Cautín, Valdivia y Llanquihue. El primero sobre un suelo rojo arcilloso de la serie Metrenco, el segundo, en un trumao de la serie Pemehue y el tercero en un rojo-arcilloso de la serie Fresia.

En cada lugar se levantaron censos de vegetación y se tomaron muestras de suelo, para determinar materia orgánica, tanto en rodales del bosque como también en praderas adyacentes.

No hubo grandes diferencias en el número de especies vegetales de los bosques, aunque el número fue mayor en aquellos de suelos rojos arcillosos. El manejo pratense simplifica y homogeniza la cubierta vegetal. En todas las praderas domina el elemento alóctono y en el espectro biológico, las hierbas perennes. Las plantas anuales aumentaron hacia el norte con el máximo en el trumao. El suelo Metrenco presentó poca variación de la materia orgánica en profundidad, en cambio en los otros, disminuyó en forma significativa. La mayor cantidad de materia orgánica se presentó en el suelo Pemehue y la menor, en el Metrenco. En el suelo Fresia el manejo pratense aumentó la materia orgánica del suelo, en los otros, la disminuyó.

(Proyecto FONDECYT 1010160)

ECOLOGIA II

EFECTO DEL NITROGENO INORGANICO DISUELTO SOBRE LA FIJACION NO SIMBIOTICA DE N₂ EN LA HOJARASCA DE UN BOSQUE TEMPLADO LLUVIOSO NO CONTAMINADO (Effect of dissolved inorganic nitrogen on non-symbiotic N₂ fixation in litter of an unpolluted temperate rainforest). Carmona, M. R. & Armesto, J. J. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile & Fundación "Senda Darwin". Patrocinio: J. J. Armesto

La fijación no-simbiótica de N₂ (FNS) es un vector de ingreso de nitrógeno en ecosistemas forestales primarios. El proceso es realizado por bacterias diazótrofas asociadas al detritus forestal, portadoras del complejo enzimático nitrogenasa. La biosíntesis de nitrogenasa es inhibida por nitrógeno inorgánico disuelto (NID=NO₃+NH₄+) extracelular. Postulamos que la adición de NID a hojarasca de un bosque no contaminado disminuye drásticamente la FNS. Se colectó hojarasca de un bosque del Parque Nacional Chiloé (especies dominantes: Nothofagus nitida, Drimys winteri, Podocarpus nubigena), y se dividió en submuestras dentro de frascos, agregándoles 20 ml de solución de NO₃NH₄ con 6 niveles de concentración entre 0 y 1M (8-15 submuestras/nivel). Se estimó la FNS por reducción de acetileno en laboratorio (20°C). La inhibición de la tasa de reducción de acetileno (nmolesC₂H₄(g secos)-1día-1) fue significativa sólo a partir del tratamiento 0.01M. Esta concentración es 2 órdenes de magnitud mayor que la de la precipitación de sitios contaminados del hemisferio norte. Sugerimos que la hojarasca de un bosque no contaminado es resistente a eventos discretos de contaminación con NID. FONDECYT 2000022, A. W. Mellon Foundation, FONDAP-Fondecyt 1501-0001.

EFECTO DE EL NIÑO Y LA NIÑA SOBRE EL CRECI-MIENTO SOMATICO DE PECES COSTEROS RESI-DENTES DE UN ECOSISTEMA DE SURGENCIA (Effect of El Niño and La Niña upon somatic growth rates of fishes inhabiting an upwelling marine ecosystem) Hernández E.H., Ojeda F.P. Centro de Estudios Avanzados en Ecología & Biodiversidad, Departamento de Ecología, P. Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago

El estudio de la ocurrencia, dinámica y fuerza de los eventos El Niño y La Niña han sido ampliamente estudiados y discutidos en los últimos años. Esto tanto en sus aspectos meteorológico-oceanográficos, como biológicos. Sin embargo, pocos son los estudios en los que se han utilizado individuos capturados y recapturados, realizando un seguimiento en el tiempo, evaluando su comportamiento en el medio durante el paso de estos eventos antagónicos. En el presente estudio, evaluamos la respuesta fisiológica de peces residentes de un ecosistema de surgencia, como función de las tasas de crecimiento somática de cohortes sucesivas entre enero de 1997 y enero del 2002. Nuestros resultados indican que independiente del nivel trófico al que pertenecen los individuos, durante El Niño éstos decrecen sus tasas de crecimiento, mientras que durante La Niña, las tasas se ven incrementadas. Los resultados son discutidos en términos de un modelo de asignación de recursos individual y sus posibles consecuencias a nivel poblacional. Financiado por FONDECYT 1990154 y FONDAP 1501-001 (CASEB)

FORRAJEO EN PICAFLORES: ENERGIA VS. NUTRIENTES. (Foraging in hummingbirds: energy vs. nutrients). López-Calleja, M. V. & Fernández, Ma. J. Centro de Estudios Avanzados en Ecología & Biodiversidad, Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La mantención del balance de energía y nutrientes depende tanto de los requerimientos del organismo como de las características de sus recursos tróficos. Cuando la energía y los nutrientes no se obtienen del mismo recurso, surge un compromiso para satisfacer ambos requerimientos y mantener así un balance total positivo. Los picaflores (aves, troquilidae), presentan altos requerimientos energéticos asociados a su reducido tamaño corporal, baja capacidad de reserva de energía, y costosa estrategia de forrajeo. Estas aves se han especializado en consumir néctar floral, por su alto valor energético, pero deben ingerir artrópodos para satisfacer sus requerimientos proteicos. Pero los artrópodos también son ricos en energía, y podrían ser una fuente energética alternativa al néctar. Aquí presentamos información de campo en dos especies de picaflores (Sephanoides sephaniodes y Patagona gigas), comparando el efecto sobre conducta de forrajeo y consumo de artrópodos y néctar de: 1) ambientes con oferta diferencial de estos recursos, y 2) periodos contrastantes del año - con requerimientos energéticos diferentes. Se encontró que 1) S. sephaniodes ajusta el consumo de artrópodos a la calidad y abundancia diaria del néctar, y 2) P. gigas aumenta el consumo de artrópodos y modifica su presupuesto de tiempo en el periodo reproductivo, aunque la oferta floral no cambia respecto a invierno.

Financiado por Fondecyt 3000047

INTERACCIONES ENTRE LUZ, METABOLITOS SE-CUNDARIOS Y HERBIVORIA EN UN FRAGMENTO DE BOSQUE EN LA ISLA DE CHILOE (Interactions among light, secondary metabolites and herbivory in a forest fragment in Chiloe Island). Chacón, P. Departamento Biología, Facultad Ciencias, Universidad de Chile y Fundación "Senda Darwin".

En plántulas de Gevuina avellana (Proteaceae), se evaluó (1) si la disponibilidad de luz afecta la producción de metabolitos secundarios carbonados (MSC), (2) si éstos cumplen un papel defensivo contra los herbívoros, y (3) si el daño foliar disminuye el crecimiento y sobrevivencia de las plántulas. En un fragmento de bosque en Chiloé, se realizó un experimento considerando los factores: disponibilidad de luz en tres hábitats (interior, claros y borde del bosque), y exclusión o libre acceso de insectos herbívoros. La disponibilidad de luz tuvo un efecto positivo significativo sobre la concentración de MSC sin embargo, éstos no cumplieron un papel defensivo, pues las plántulas del claro y borde sufrieron más daño foliar que aquellas bajo el dosel cerrado. Además, no se observaron diferencias significativas en daño foliar entre plántulas con y sin herbívoros. El nivel de daño foliar no tuvo efectos sobre el crecimiento y sobrevivencia de plántulas, pero sí la disponibilidad de luz. Se discuten estos resultados en el contexto de las hipótesis de defensa en plantas.

Financiamiento: FONDECYT 2010008 y FONDAP-FONDECYT 1501-0001. P. Chacón es becaria CONICYT.

EFECTO DE LA HERBIVORIA FLORAL Y POLINIZACION SOBRE EL EXITO REPRODUCTIVO EN Mimulus luteus var. luteus (Effect of floral herbivory and pollination on the reproductive success in Mimulus luteus var. luteus.) Carvallo, G., Pohl, N. y Medel R. Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. E-mail: gocarval@puc.cl

Numerosos estudios han evaluado el efecto de la herbivoría y de la polinización sobre la producción de semillas de manera independiente, pero pocos han establecido el efecto conjunto de estos factores. Mimulus luteus es una planta herbácea visitada por el picaflor Oreotrochilus leucopleurus y por varias especies de himenópteros. Se evaluó la producción de semillas (PS) en un diseño factorial de 2 x 2 con exclusión de picaflores y daño floral artificial. Los resultados revelaron efectos significativos de cada factor por separado y en interacción. No se detectó diferencias significativas en la PS de flores no perforadas en presencia y ausencia de picaflores. No obstante lo anterior, el efecto del daño fue contingente a la presencia de los picaflores. Mientras las flores dañadas disminuyeron su PS en presencia de O. leucopleurus, su ausencia anuló las diferencias observadas. Estos resultados sugieren que los polinizadores evitarían las flores dañadas en condiciones naturales. Información adicional reveló que a diferencia de los pétalos laterales, el daño en el pétalo de aterrizaje disminuye significativamente la PS. Toda la evidencia sugiere que la interacción herbivoría x polinización es relevante para explicar el éxito reproductivo de M. luteus.

Agradecimientos: Milenio P99-103F ICM, FONDECYT 1010660, DID TNAC 16-02/01

VARIACION ESPACIAL EN LA COMPOSICION Y ESTRUCTURA DE UN GREMIO TROFICO DE DEPREDADORES INTERMAREALES. (Spatial variation in the composition and structure of an intertidal predators guild). Soto, R.E.. Departamento de Ecología. Pontificia Universidad Católica de Chile. Casilla 114-d. Santiago. Chile.

En el presente trabajo se analiza la variación espacial de un gremio trófico conformado por siete especies de invertebrados marinos en las que se cuentan tres gastrópodos(Acanthina monodon, Concholepas concholepas y Crassilabrum crassilabrum), dos decápodos (Acanthocyclus gayi y A. hassleri) y dos asteroideos (Heliaster helianthus y Stichaster striatus).

Para caracterizar la composición, abundancia y tamaño corporal de los depredadores que habitan en el intermareal rocoso se realizaron muestreos en trece sitios del norte y centro de Chile (entre los 28° y 34° S de latitud). Por otra parte, se realizó en cada uno de los sitios una evaluación de la oferta y del reclutamiento de los principales tipos de presas consumidas nor los depredadores.

De los sitios evaluados tan sólo uno presentó las siete especies de depredadores. La densidad promedio de los depredadores mostró diferencias significativas entre los distintos sitios, tanto para la abundancia total como para el análisis específico. Los tamaños corporales de los distintos depredadores presentaron diferencias significativas entre sitios. La estructura gremial presentó diferencias entre sitios, las cuales estuvieron principalmente asociadas a la presencia de los distintos depredadores.

Se discute acerca del efecto de las diferencias en la oferta y abastecimiento de las presas sobre la variabilidad espacial en la composición de los gremios tróficos.

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT 3010045

VARIACION TEMPORAL DE LA DISTRIBUCION ES-PACIAL Y DISPERSION DE COCCINELIDOS EN AM-BIENTES FRAGMENTADOS (Temporal variability of the spatial distribution and dispersal of ladybeetles in fragmented environments). Grez, A.A.¹, Zaviezo, T.², Maureira, L.¹, Cid, G.¹ y Ortega, R.².¹ Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, ² Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La fragmentación de la vegetación puede afectar la distribución y abundancia de insectos a través de modificar su dispersión entre diferentes hábitats. Estos efectos son dinámicos, variando en función de las condiciones y el uso del hábitat a través del tiempo. En este trabajo mostramos evidencia de lo anterior, usando como modelo coccinélidos asociados a alfalfa. En diciembre y marzo, se estudió la distribución espacial de las abundancias de estos insectos, su dispersión y mortalidad en parches de alfalfa fragmentados, con 55 y 84% de pérdida de hábitat y con fragmentos alejados 2 y 6 m. La matriz quedó constituida por alfalfa cortada. En diciembre la mayor abundancia de coccinélidos adultos fue en el control y la menor en el paisaje 84% - 2 m, siendo tres veces más abundantes en los fragmentos que en la matriz. En marzo las abundancias fueron menores en todos los tratamientos y sin diferencias entre fragmentos y matriz. La inmigración, emigración, el porcentaje de mortalidad y la calidad de fragmentos y matriz en el tiempo explican los patrones de distribución de estos insectos.

FONDECYT 1011041

EVALUACION EXPERIMENTAL DE EFECTOS INDI-RECTOS DE LAGARTIJAS Y AVES INSECTIVORAS SOBRE INTERACCIONES ENTRE POLINIZADORES Y PLANTAS. (Experimental evaluation of indirect effects of lizards and insectivorous birds on pollinator-plant interactions). Muñoz A.A. & Arroyo M.T.K. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, CHILE.

Evaluamos los posibles efectos directos e indirectos de lagartijas y aves sobre la visita de polinizadores, y producción de semillas en la especie arbustiva autoincompatible Chuquiraga oppositifolia (Asteraceae) a través de un experimento de exclusión de lagartijas y/o aves, y un experimento natural (plantas aledañas a rocas vs. alejadas) dentro del matorral subandino (2550 m.s.n.m.), Chile central, caracterizado por presentar altas densidades de lagartijas y vegetación arbustiva baja mezclada con rocas, que son ocupadas por lagartijas como sitios de termorregulación y refugio, y por aves insectívoras. El tiempo promedio de permanencia de polinizadores fue mayor (30 seg.) sobre plantas sin lagartijas que sobre plantas con acceso a lagartijas (12 seg.) en el experimento de exclusión. En el experimento natural, la tasa de visita sobre plantas alejadas de rocas fue mayor (1,84 visitas / 10 min.) que aquella sobre plantas aledañas a rocas (0,90). El porcentaje de capítulos florales que produjeron semillas fue mayor sobre plantas sin lagartijas (37,6%) que sobre aquellas con acceso a lagartijas (17,0%) en el experimento de exclusión, y mayor en plantas alejadas de rocas (66,7%) que en plantas junto a rocas (24,4%). Estos resultados sugieren que depredadores, como lagartijas, pueden producir modificaciones importantes en las interacciones entre polinizadores y plantas.

Agradecimientos: FONDECYT 2010032 (A.A. Muñoz) y P99-103-F₇ICM (M.T.K. Arroyo).

BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR

HEXOQUINASA CONTROLA EL FLUJO EN LA SÍNTESIS DE GLICOGENO IN VIVO. (Hexokinase controls the flux of glycogen synthesis in vivo). Kessi, E., Báez, M., Preller, A. y Ureta, T. Fac. de Ciencias Veterinarias y Pecuarias y Fac. de Ciencias, Universidad de Chile.

Tradicionalmente se considera a la glicógeno sintasa como enzima limitante de la vía de síntesis de glicógeno. La aplicación del Análisis del Control Metabólico a sistemas in vivo permite investigar esta afirmación. Los datos experimentales disponibles son escasos, pues se requiere de una vía bien caracterizada cuya actividad sea cuantificable in vivo. El modelo de síntesis de glicógeno en oocitos de rana satisface ambas condiciones. En este trabajo se pretenderá dilucidar qué enzimas controlan efectivamente el flujo por esta vía en oocitos de rana. Por una parte, la glicógeno sintasa in vivo es activada alostéricamente por glucosa-6-P (concentraciones intracelulares de 15 µM producen 50% de activación). Además, cuando se impide la desfosforilación de la enzima por microinyección de ácido okadaico, la síntesis de glicógeno se inhibe 50%. Ello demuestra regulación de la actividad enzimática por fosforilación-desfosforilación. Estudios de control de flujo mediante microinyección de hexoquinasa comercial muestran que ésta, la primera enzima de la vía, presenta un coeficiente de control igual a 0,616 (de un máximo posible de 1). Ello indica que el control del flujo por la vía depende mayoritariamente de hexoquinasa, y no de glicógeno sintasa. Las propiedades regulatorias de esta última permitirían adaptar la actividad de la enzima al flujo controlado por hexoquinasa.

IMPORTANCIA DE LA TRANSFERENCIA DE INFOR-MACION EN VIAS METABOLICAS. (Importance of information transfer in metabolic pathways) Cárdenas, M.L. y Cornish-Bowden, A., BIP-IBSM, CNRS, BP 71, 13402 Marseille, Francia. cardenas@ibsm.cnrs-mrs.fr

Las vías metabólicas presentan algunas reacciones con constante de equilibrio elevada en que no hay datos de parámetros cinéticos de la reacción inversa: ésto induce en estudios de simulación a tomarlas como irreversibles. ¿Qué consecuencias tiene ésto para la fisiología del modelo simulado? Se analizaron por computación varios modelos de vías metabólicas desde el punto de vista de variación de concentraciones y de flujos de metabolitos, y se estimó el impacto de tomar o no en cuenta un pequeño grado de reversibilidad. Se observó que para que un modelo metabólico sea capaz de alcanzar un estado de régimen estacionario en un rango amplio de condiciones, es esencial permitir el flujo de información sobre la concentración de metabolitos, desde el final del modelo hacia el principio; el tipo de mecanismo es menos importante, pero el grado de eficiencia varía. La reversibilidad es un mecanismo posible de conexión, pero hay otros y la retroinhibición es el mejor; si existe se pueden considerar etapas irreversibles. La inhibición por producto de cada enzima en la vía es eficiente para regular flujos, pero muy ineficiente para regular la concentración de intermediarios. Modelos en que la vía está desconectada, porque hay etapas irreversibles y se ha ignorado la inhibición por producto, pueden no ser viables y por tanto en la naturaleza no existirían enzimas esclavas.

IMUNO-LOCALIZACION DE FBPASA Y PEPCK EN TEJIDOS DE RATA Y HUMANO (Immuno-localization of FBPase and PEPCK in human and rat tissues). Yañez, A.J., *Nualart, F., Droppelmann C., Bertinat, R., Brito, M., Concha, I.I., y Slebe, J.C. Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile y *Departamento de Fisiología, Universidad de Concepción.

Tejidos que expresan la isoenzima hepática de fructosa-1,6bisfosfatasa (FBPasa) y la carboxiquinasa fosfoenolpirúvica (PEPCK) poseen varios tipos celulares con diferentes funciones. Por lo tanto, la determinación de la distribución celular de estas enzimas en los tejidos puede ayudar a dilucidar la función de ellas. En este trabajo se compara la localización celular de estas dos enzimas, mediante análisis inmunohistoquímico. La FBPasa se encuentra en tejidos en los cuales se había demostrado actividad enzimática (hígado, riñón e intestino delgado), y además, en tejidos en los cuales no se había demostrado actividad bisfosfatásica (próstata, glándula suprarrenal, estómago, corazón y páncreas). En otros tejidos como cerebro, músculo, tiroides, bazo y ovario, se obtuvo una reacción celular negativa. Por otra parte, se encontró que FBPasa y PEPCK colocalizan en los túbulos proximales del riñón, en las células apicales del intestino delgado y epiteliales de la próstata, en los neumocitos II en el pulmón y en los hepatocitos periportales. Es interesante que FBPasa se expresa fuertemente en páncreas y en células de la corteza y médula de la glándula adrenal, órganos importantes en el control del metabolismo de los carbohidratos, pero PEPCK presenta una reactividad positiva solo en glándula adrenal. Los resultados muestran que estas enzimas se expresan coordinadamente en varias células especializadas de diversos tejidos, diferentes a riñón e hígado. (FONDECYT 1010720; DID-UACH 200178).

SINTESIS DE GIBERELINAS LACTONICAS EN GIBBERELLA FUJIKUROI. (Lactonic gibberellin synthesis in Giberella fujikuroi). ¹Rojas,M.C., ²Tudzynski, B. y ³Hedden, P. ¹Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. ²Instituto de Botánica, Universidad de Münster, Alemania.. ³IACR, Dep.of Agricultural Sciences, University of Bristol, UK.

La oxidación del carbono 20 de las giberelinas es una reacción clave en su biosíntesis puesto que genera la función lactónica esencial para la actividad biológica. En Gibberella fujikuroi 7 genes codifican para las enzimas de la biosíntesis de giberelinas. La disrupción específica del gen P450-2 eliminó la reacción de oxidación del carbono 20. Investigamos la función de la monooxigenasa P450-2, expresando el gen en una mutante de Gibberella fujikuroi que carece de los genes de la síntesis de giberelinas. Las transformantes oxidan el metilo 20 hasta CO₂ o alternativamente hasta ácido carboxílico tanto desde el precursor 3β-hidroxilado (GA₁₄) como desde el precursor no hidroxilado (GA₁₂). Las giberelinas con el carbono 20 al estado de alcohol no fueron utilizadas en tanto que el aldehido fue transformado en el producto tricarboxilado. La mutante SG138, que tiene una citocromo P450 reductasa no funcional, acumula intermediarios con el C20 al estado de alcohol o de aldehido y no sintetiza las giberelinas lactónicas sugiriendo más de una fuente de electrones para la monooxigenasa P450-2. Estos resultados evidencian importantes diferencias genéticas y bioquímicas entre los sistemas vegetales y Gibberella fujikuroi, con respecto a la biosíntesis de giberelinas.

Trabajo financiado por FONDECYT 1020140 y DID ENL 2001/02

EFECTO DE LIGANDOS EN EL MOVIMIENTO DE DOMINIOS Y LA ESTRUCTURA CUATERNARIA DE FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE E. COLI. (Effect of ligands on domains motion and quaternary structure of phosphofructokinase-2 from E. coli). 'Cabrera, R., 'Fischer, I., 'Trapani, S., 'Craievich, A. F., 'Garratt, R. C., 'Guixé, V. y 'Babul, J. 'Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, 'Instituto de Fisica, Universidade de São Paulo, 'Instituto de Fisica de São Carlos, Universidade de São Paulo.

La dispersión de rayos-X en bajo ángulo (SAXS, Small Angle X-ray Scattering) es una técnica sensible a la forma y estado de agregación de las proteínas en solución. Se colectaron datos en la línea de SAXS del Laboratorio Nacional de Luz Síncrotron (Campinas, Brasil) para la Pfk-2 en ausencia y en presencia de los ligandos, fructosa-6-P y MgATP, observándose patrones distintos en cada caso. Para explicar estas diferencias se modificó el modelo de Pfk-2, generado por homología, mediante rotaciones de dominios equivalentes a los observados en estudios cristalográficos con proteínas homólogas (riboquinasa y adenosina quinasa). El mejor ajuste con los datos experimentales de la proteína con fructosa-6-P unido se obtuvo para conformaciones cerradas. En el caso de MgATP se modeló el empacamiento y la conformación de los dímeros en el tetrámero, ajustando simultáneamente la distancia y la inclinación relativa entre los dímeros y el grado de apertura de los dominios. Los modelos refinados coinciden con estructuras a 11,5 Å de resolución, generadas ab initio, obtenidas independientemente a partir de las curvas de SAXS experimentales. Fondecyt 1010645.

ESTUDIO TEORICO SOBRE EL EFECTO DEL MICROENTORNO EN EL pKa DE Lys213 DE LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRUVICA DE Saccharomyces cerevisiae. (Theoretical study on the effect of micro-environment on pKa of Lys213 of Saccharomyce cerevisiae phosphoenolpyruvate carboxykinase). Yévenes, A., González, D. F. y Cardemil, E. Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología, Casilla 40, correo 33, Santiago Chile.

La estructura cristalina de la carboxiquinasa fosfoenolpirúvica de Escherichia coli muestra que la Lis213 es un ligando de Mn2+ (Tari, L. W., Matte, A., Goldie, H., and Delbaere, L. T. J. Nat. Struct. Biol.. 4, 990-994, 1997). La coordinación directa de Mn^{2+} al N^{ϵ} de Lis213 es interesante y sugiere un bajo pKa para este residuo. Este trabajo muestra, a través de un estudio teórico, como el microentorno afecta el estado de protonación de la Lis213. A partir de los datos cristalográficos de la enzima de E. coli se construyó un modelo por homología de la enzima de Saccharomyces cerevisiae (47 % identidad de secuencia), el cual fue validado estructuralmente por PROCHECK (Factor G= -0,86). Utilizando dinámica molecular y la aproximación de dipolos de Langevin (PDLD), incluidos en el programa Molaris, se pudo determinar que dos residuos hidrófobos, Fen216 y Fen416, además de Glu284, un residuo cargado negativamente, contribuyen a modular el pKa del grupo N^ϵ de Lis213. (Financiado por Proyectos Fondecyt 1000756 y 2010041. Dicyt 020141GN)

IDENTIFICACION DE LOS DETERMINANTES MOLECULARES DE LAS GLUTAMIL-tRNA SINTETASAS NO DISCRIMINANTES. (Non-discriminating Glutamyl-tRNA synthetases: molecular determinants). Orellana, O y Soll, D. Programa Biología Celular y Molecular, ICBM, Fac. Medicina, Universidad de Chile. Dept. Molecular Biophysics and Biochemistry, Yale University.

El reconocimiento específico del tRNA por las aminoacil-tRNA sintetasas es crucial para asegurar la fidelidad del mensaje genético. Sin embargo, la formación del Glutaminil-tRNA por la vía indirecta requiere de una Glutaminil-tRNA sintetasa no discriminante (GluRS ND), que aminoacila con glutámico los tRNA ^{Gln} y tRNA ^{Gln} (además de una amidotransferasa dependiente de tRNA, que transforma el Glu-tRNA ^{Gln} en Gln-tRNA ^{Gln}). La GluRS ND constituye una excepción entre las aminoacil-tRNA sintetasas puesto que reconoce con alta eficiencia dos especies de tRNA. Conocer los requisitos moleculares que determinan si una GluRS es D o ND aportará información crucial para definir las bases moleculares de la interacción entre estas enzimas y el tRNA. Esta información podría permitir la identificación de los eventos moleculares que han determinado la evolución de estas enzimas.

Mediante estudios filogenéticos, comparación de secuencias de aminoácidos y modelaje de la estructura terciaria se identificaron los residuos que distinguen los dos tipos de GluRS. Con el empleo de mutagénesis sitio dirigida se reemplazó en la GluRS de *B. subtilis* (que es ND) la arginina 373, que interacciona con el anticodón del tRNA, por glutamina. Mediante un sistema genético que distingue entre una GluRS D y una ND se determino que la enzima mutante se trasformo en D. Estos resultados indican que la R373 es esencial para el carácter ND de las GluRS.

Financiado por Fondecyt y NIH

POTENCIALES DE FUERZA MEDIA MULTI-DIMENSIONALES Y SU FUTURA APLICACION A LA PREDICCION DE LA ESTRUCTURA TRIDIMENSIO-NAL DE PROTEÍNAS EN GENOMAS COMPLETOS (Multidimensional mean force potentials and its upcoming application to the prediction of three-dimensional protein structures in whole genomes) Melo, F., Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Laboratorio de Bioquímica, Alameda 340, Santiago, Chile.

En este trabajo se presenta el desarrollo de una nueva gama de potenciales de fuerza media multidimensionales y su aplicación en la predicción de la estructura tridimensional de proteínas en gran escala (i.e. genomas completos). Estos novedosos potenciales, además de la identidad atómica y la tradicional distancia Euclideana que separa dos átomos en los potenciales clásicos, permiten introducir nuevas variables tales como ángulos simples, ángulos dihedros, hidrofobicidad, exposición a solvente, estructura secundaria, etc. De esta forma, un mayor contenido de información es considerado, lo cual se traduce en un aumento de su poder discriminatorio y así de su valor predicitivo.

El análisis de las interacciones atómicas en las proteínas cuya estructura ha sido resuelta experimentalmente revela que la introducción de variables adicionales permite dilucidar la existencia de claras preferencias en la conformación de los aminoácidos para ciertas interacciones, las cuales son totalmente invisibles a los potenciales clásicos. Los potenciales multidimensionales introducen estas preferencias explícitamente, presentando así un mayor valor predictivo. Estos potenciales serán implementados en los métodos de predicción de la estructura tridimensional de proteínas en genomas completos. Proyecto #13600/4 financiado por Fundación Andes.

INMUNOLOGIA

MODULACION DEL SISTEMA DEL COMPLEMENTO POR CALRETICULINA DE TRYPANOSOMA CRUZI.

(Modulation of the complement system by *Trypanosoma cruzi* calreticulin). **Ferreira, V.**(1); Valck, C.(1); Molina, MC.(1); Sanchez, G.(2); Tzima, S.(3); Gringas, A.(3); Ramirez, G.(1); Aguilar, L.(1); Rojas, A.(1); Schwaeble, W.(3); Ferreira, A.(1). (1) Programa de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Independencia 1027, Independencia, Santiago Chile. (2) Programa de Biología Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Independencia 1027, Independencia, Santiago Chile. (3) Department of Microbiology and Immunology, School of Medicine, University of Leicester, University Road, Leicester LE1 9HN, UK. Financiado por: Proyectos FONDECYT N°1010930 y 2010069.

Trypanosoma cruzi (T. cruzi) es el agente etiológico de la enfermedad de Chagas, mal endémico e incurable que afecta 18 millones de personas en Latino America. Humanos y mamíferos pueden ser reservorios del parásito. Recientemente, hemos clonado, secuenciado y expresado el gen de calreticulina de *T. cruzi* (TcCRT). TcCRT es dimórfica, de 45 KDa, 50% idéntica a calreticulina humana(HuCRT). HuCRT tiene funciones chaperonas, reguladoras de la actividad lítica de las perforinas T y NK, moduladoras de presentación antigénica e inhibitorias del complemento. Si bien tanto epi como tripomastigotes resisten la vía clásica del complemento (por mecanismos aún no definidos), los epimastigotes sucumben ante la vía alterna. Aquí mostramos que TcCRT se une específicamente a las moléculas de reconocimiento del complemento, tanto de la vía clásica (C1q), como de la vía de las lectinas (MBL), mediando una fuerte inhibición de la primera. Además, hemos localizado TcCRT en la superficie de tripomastigotes viables, mediante FACS inmunofluorescencia indirecta (IFI). Por lo tanto, TcCRT podría mediar estrategias del parásito para evadir un importante brazo efector de la respuesta inmune. Por otra parte, hemos demostrado que TcCRT nativo y recombinante son inmunogénicos en humanos, conejos y ratones. Más aún, en IFI, los anticuerpos generados reconocen a TcCRT nativa en tripo y epimastigotes. En síntesis, por su inmunogenicidad, accesibilidad en la superficie del parásito y capacidad para modular el sistema del complemento, nuestros resultados sugieren que TcCRT podría ser un blanco racional para un inmunógeno protectivo.

CARACTERIZACION DE GENES INDUCIDOS CON INTERFERON GAMMA MEDIANTE MICROARRAYS: IFN-γ INDUCE LA EXPRESION DE CATEPSINA C Y ZYXIN.(Characterization of genes induced with gamma interferon by microarray analysis: IFN-γ induced the expresión of cathepsin C and zyxin). Cortés C*, Munroe D^Q, Gangi L^Q, Rosemblatt M[®] y Bono MR*. *Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Las Palmeras 3425, Ñuñoa, Santiago Chile. *Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada. ^Q Laboratory of Technology, Maryland, USA. FONDECYT: 2000-062, 800011 y Fundación Andes.

El tratamiento con IFN-γ induce una variedad de respuestas fisiológicas importantes que participan en la respuesta inmune. En este trabajo investigamos mediante microarrays y RT-PCR la expresión de genes de varias líneas celulares murinas tratadas con esta citoquina. En particular estudiamos la inducción de los genes en células de origen epitelial (RAG y Ltk-) y derivados de macrófagos (RAW264.7) tratadas con IFNγ por 6, 12, 24 y 48h. En este trabajo se muestra un resumen de los principales genes inducidos en cada tipo celular. Además se confirmó mediante RT-PCR la sobreexpresión de dos nuevos genes inducidos con IFN-γ: zyxin y Catepsina C. El gen zyxin se expresa constitutivamente en todos los tipos celulares estudiados y sólo se sobreexpresa en las células RAW264.7 tratadas con IFN-γ. Además, se determinó que Catepsina C se expresa constitutivamente sólo en las células RAW264.7.y que se sobreexpresa 6 horas después del tratamiento con IFN-γ. En cambio, la expresión de las catepsinas B y S no varían su expresión. Se sabe que la catepsina C participa en el proceso de activación de enzimas importantes en el complejo de ataque en macrófagos, linfocitos T y neutrófilos, por lo tanto, una sobreexpresión de este gen podría tener una función importante en este proceso.

POLIMORFISMO -308 DEL PROMOTOR DEL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL Y EXPRESION DE TNF INDUCIDA POR LIPOPOLISACARIDO EN PACIENTES CON PERIODONTITIS AGRESIVA Y/O DIABETES MELLITUS TIPO 1. (The -308 polymorphism in the tumor necrosis factor promoter and lipopolysaccharide-induced TNF expression in patients with aggressive periodontitis and/or type 1 diabetes mellitus). González, F. (1,2), Pérez, C. (1), Aguirre, A. (1), Pavéz, V. (1), Araya, V. (1), Cuenca, J. (1), Aguillón, JC.(1). (1) Programa de Inmunología, ICBM. (2) Servicio Dento-maxilofacial, Hospital Clínico, Universidad de Chile.

Las periodontitis son respuestas inmuno-inflamatorias mediadas por citoquinas tales como TNF, siendo la Diabetes Mellitus (DM) un factor de riesgo. Se estudió la asociación del polimorfismo mononucleotídico (SNP) -308 de TNF con la susceptibilidad a periodontitis agresiva (PA), PA asociada a DM1 (PAADM1), y DM1. Analizamos también la relación entre el SNP-308 y la expresión de TNF. Se reclutaron 20 individuos PAADM1, 21 DM1, 18 PA y 19 controles. El alelo TNF2 estuvo presente en el 17% de PA, 35% en PAADM1, 5% en DM1 y 16% en controles. El odds ratio (2,87) sugiere una asociación entre el SNP-308 y PAADM1, aunque no fué estadísticamente significativa (p=0.17). El TNF inducido por LPS fue mayor en PA y PAADM1 en comparación con los controles (p=0.0002 y 0.0414 respectivamente). Las concentraciones séricas en todos los grupos fueron 3 veces mayor que el grupo control. No se encontró asociación entre el SNP-308 y los niveles de TNF séricos y ex vivo en PA, PAADM1

Financiamiento: FONDECYT 1990936, DID-ENL-02-13.

DETECCION DE PRECURSORES CTL MELANOMA-ESPECÍFICOS EN PBMC DE PACIENTES TRATADOS CON CELULAS DENDRÍTICAS AUTOLOGAS CARGA-DAS CON EXTRACTOS TUMORALES. (Detection of antimelanoma specific CTL precursors in PBMC from melanoma patients treated with autologous dendritic cells loaded with tumor cell extracts). Escobar, A.*, Ferrada, C.*, López, M.*, Salazar-Onfray, F.*. * Programa de Inmunología, ICBM, Facultad de Medicina. Universidad de Chile. Santiago, Chile. *Hospital Clínico Universidad de Chile, Departamento de Cirugía

OBJETIVO: Las terapias con células dendríticas(DCs) han mostrado ser efectivas en pacientes con linfoma, melanoma y carcinoma renal. Los objetivos de este estudio fueron analizar la toxicidad y la respuesta inmunológica inducida por la administración intradérmica (i.d.) de DCs pulsadas con lisados tumorales en un ensayo clínico fase I. DISEÑO EXPERIMENTAL: Pacientes con melanoma maligno en etapa IV han sido vacunados cuatro veces cada 10 días con 1-2 x 107 de DCs cargadas con lisados tumorales/dosis. Las DCs fueron desarrolladas a partir de células mononucleares de sangre periférica (PBMC). Para la evaluación inmunológica, PBMC fueron obtenidos antes del tratamiento y una semana después de cada vacuna y un mes después de la última inmunización y analizadas usando ELISPOT. RESULTADOS: Hasta ahora 6 pacientes han recibido las 4 vacunas. No observamos toxicidad en grado 3 y 4 asociada con la vacunación o evidencia de autoinmunidad. Usando ELISPOT observamos en 2 de 5 pacientes un aumento de IFN-gamma en respuesta a las líneas de melanoma pero no a líneas tumorales controles, después de la segunda vacunación. Dos pacientes tienen enfermedad estable después de 15 meses, 3 han mostrado progresión lenta y uno falleció. CONCLUSION: La administración de las DCs no es tóxica y es capaz de inducir una respuesta inmunológica contra los antígenos tumorales.

CELULAS EPITELIALES DE LA TROMPA DE FALOPIO EXPRESAN LA MOLECULA INDUCTORA DE APOPTOSIS FasL E INDUCEN APOPTOSIS DE LINFOCITOS TACTIVADOS. (Epithelial cells isolated from the Fallopian tube express FasL and induce apoptosis of activated T cells). Illanes, S.*, González, P.*, Velasquez, L.*, Imarai, M*.

* Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes. Laboratorio de Inmunología, Departamento de Biología. Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

La mucosa de la Trompa de Falopio tiene una importante actividad inmunológica responsable de respuestas protectoras contra infecciones que afectan al tracto reproductor femenino superior. La respuesta inmune en este órgano debe ser regulada para evitar procesos inflamatorios descontrolados que se sabe tienen consecuencias funcionales indeseables como la infertilidad y el embarazo ectópico. Una manera de regular la respuesta inflamatoria es detener la expansión clonal linfocitaria durante la respuesta inmune mediante apoptosis. La presencia de FasL en el tracto reproductor de la mujer sugiere que esta molécula podría gatillar apoptosis de los linfocitos T por unión del ligando al receptor FasR. En este estudio se examinó la expresión y localización de FasL en el oviducto de la mujer y se determinó la capacidad de las células epiteliales oviductales de producir apoptosis en linfocitos T de sangre periférica. La expresión de FasL se verificó mediante inmunofluorescencia indirecta en tejidos y células aisladas y la apoptosis se cuantificó con la técnica de TUNEL y citometría de flujo. Se encontró que FasL se expresa en el epitelio y estroma de la Trompa de Falopio y que las células epiteliales fijadas inducen apoptosis de linfocitos T activados.

Financiamiento: Med 001-02, Universidad de los Andes y Dicyt, Universidad de Santiago.

ANALISIS DE LA ESTRUCTURA DE LA HEMOCIANI-NA DE Concholepas concholepas (CCH) EN RELACION A LOS MECANISMOS DE INMUNOESTIMULACION.

(Structural analysis of *Concholepas concholepas* hemocyanin (CCH) in relation to the mechanisms of immunoestimulation). Moltedo B, De Ioannes P, De Ioannes A.E. **Becker M.I.** BIOSONDA S.A.

Las hemocianinas, glicoproteínas encargadas del transporte de O_2 en moluscos, debido a su origen xenogénico y enorme tamaño son extremadamente inmunogénicas en vertebrados. Han sido usadas como antígeno modelo, como proteína transportadora de haptenos y como agente anti-tumoral para ciertos tipos de cáncer. KLH, la hemocianina proveniente de Megathura crenulata ha sido tradicionalmente utilizada para estos propósitos. CCH que ha mostrado ser una excelente proteína transportadora, podría ser una alternativa a KLH en aplicaciones biomédicas, razón que nos ha llevado a estudiar sus propiedades inmunoterapéuticas bajo la siguiente hipótesis: Su alta inmunogenicidad se debe a que en su estructura posee señales que estimulan simultáneamente la inmunidad innata y la adaptativa.

Los resultados muestran que: 1. CCH está compuesta de dos polipéptidos con epítopos comunes y específicos arreglados repetitivamente, que forman un didecámero de 8 MDa altamente estable, que no requiere Ca⁺² adicional. Ratones BALB/c inmunizados con cada subunidad por separado indican que una de ellas es más inmunogénica. 2. Posiblemente CCH contiene señales de peligro para activar la respuesta innata ya que estimula actividad de células T y NK sin requerir adyuvantes. 3. CCH tiene efecto anti-tumoral en ratones C3H/He desafiados heterotópicamente con células MBT-2, lo cual se explicaría por el aumento de actividad NK, la diferenciación de células T hacia el subset Th1, y la producción de IFγ e IL-2. FONDECYT 199-0258

EL CININOGENO-T (T-KG) INHIBE LA PROLIFERA-CION DE LINFOCITOS MODULANDO LA ACTIVA-CION DE ERK. (T-kininogen [T-KG] inhibits lymphocyte proliferation modulating ERK activation). Elías Leiva-Salcedo*, Alicia Colombo*, y Claudio Acuña-Castillo*. *ICBM, Universidad de Chile.

El T-KG es una proteína sérica que aumenta durante el envejecimiento en ratas. Cuando se sobreexpresa en fibroblastos, esta proteína inhibe la proliferación y la activación de ERK. Coincidentemente, linfocitos provenientes de individuos de edad avanzada presentan una disminución de la actividad proliferativa, asociada a una disminución de la actividad ERK.

Estos antecedentes nos llevaron a pensar que el T-KG sérico podría inhibir la proliferación y activación de ERK en linfocitos. Para probar esta hipótesis, se purificó T-KG, y se evaluó su efecto sobre la proliferación de células Jurkat y esplenocitos de ratas jóvenes. Encontramos que la proliferación inducida por IL-2, proceso mediado principalmente por activación de la vía JAK/STAT, no es afectada por T-KG. En contraste, la proliferación inducida por activación de CD3 (ConA y PHA), es inhibida por T-KG en forma dosis dependiente. Esta inhibición se correlacionó con un 30 a 50% de disminución en la activación de ERK. A fin de disecar a qué nivel el T-KG afecta la vía ERK, indujimos esta vía por activación directa de Raf con CaI/PMA (vía PKC), y observamos que en estas condiciones el T-KG también inhibe la activación de ERK.

Nuestros resultados nos permiten concluir que el T-KG inhibe la proliferación disminuyendo la activación ERK en linfocitos. FONDECYT N 2010071 y 1010615.

PREPARACION DE ANTICUERPOS MONOCLO-

NALES ANTI Flavobacterium psychrophilum. (Preparation of monoclonal antibodies anti flavobacterium psychrophilum). Angulo, C.*, Castro, M.*, Romero, A.* y Folch, H*. *Instituto de Inmunología; *Instituto Bioquímica. Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Flavobacterium psychrophilum es el agente etiológico del Síndrome de la Trucha Arco Iris (Rainbow trout fry syndrome, RTFS). Esta bacteria corresponde a un bacillo filamentoso Gram negativo. El primer caso en Chile se descubrió en el año 1993 y hasta la fecha la enfermedad ha mostrado ser muy insidiosa y de difícil control terapéutico. La bacteria causa principalmente ulceraciones en la piel lo que finalmente termina con el ingreso de otros patógenos al sector lesionado. La metodología empleada consistió en la inoculación de ratones cepa Rockefeller con un preparado de 2 X 109 bacterias resuspendidas en PBS. Una vez seleccionados los ratones con mayor titulo de anticuerpos, se procedió a realizar la fusión de células de bazo de estos animales con células de línea celular de mieloma NSO/2 de ratón. A partir de esta fusión, se obtuvieron 96 clones de los cuales sólo uno mantuvo una inmunoreacción positiva. El anticuerpo producido por este clon corresponde al isotipo IgG 2b. En ensayos de Western blot, utilizando un extracto de proteínas de la bacteria, el anticuerpo reaccionó con una única proteína de bajo peso molecular.

Debido a las importantes pérdidas que produce la enfermedad en la industria salmonera se hace necesario desarrollar métodos rápidos y específicos de diagnóstico para esta identificar el agente causante de esta enfermedad en peces de cultivo masivo.

Fondecyt 1000341.

Paneles 1

FISIOLOGIA

1.- LA FOSFORILACION DE CREB INDUCIDA POR DESPOLARIZACION ES DEPENDIENTE DE PKC EN CELULAS MUSCULARES EN CULTIVO. (CREB phosphorylation is PKC-dependent in depolarized skeletal muscle cells.). Cárdenas C., Buchuk D., Müller M., Quest A.F.G., Pérez F., Jaimovich E. and Carrasco M.A.. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina Universidad de Chile, Casilla 70005, Santiago 6530499 Chile

La despolarización de células musculares esqueléticas en cultivo, produce aumentos lentos de calcio no asociados con la contracción. Este aumento se relaciona con un incremento en la fosforilación de CREB, el cual es suprimido por BIM I y Gö6976, inhibidores (general y especifico) de las PKCs. Se determinará cuál isoforma de PKC participa directamente en la fosforilación nuclear de CREB. Los resultados indican que PKC alpha es la única isoforma que trasloca al núcleo luego de la despolarización con una cinética que se correlaciona con la fosforilación de CREB. Además, ensayos de downregulation en los que solo la isoforma alfa permaneció activa, no hubo disminución en la fosforilación de CREB. Paralelamente se caracterizó la fosforilación de CREB en respuesta a la despolarización, y la presencia de las isoformas de PKCs en la línea celular C2C12. Los resultados muestran que las células C2C12 presentan una cinética de fosforilación similar a la observada en cultivo primario, la que también fue inhibida con BIM I y Gö6976. Se concluye que PKC alpha juega un rol central en la fosforilación de CREB, inducida por despolarización.

Financiamiento: FONDECYT 8980010, FONDAP 15010006.

IND, (3) Cía. Min. DI Collahuasi.

A través de una liberación de protones, el ejercicio podría aumentar la disponibilidad de oxígeno en condiciones de alcalosis respiratoria como ocurre en altura. 24 mineros (35,5 ± 7,8 a.) jugaron «baby futbol» durante 20 min. a 3.850 m. Una semana después jugaron en Iquique, a nivel del mar. Antes y después del ejercicio, se analizaron gases y electrolitos en sangre capilar (Chiron D. 348, I.C.). A 3.850 m, PO2c es 54.0±2.0 mmHg y 57.9±5.3 mmHg, respectivamente (n= 18; p<0.05). El BEecf respectivo es -2.69±1.83 mmol/l y -10.45±3.68 mmol/l (n= 18; p<0.0001). En el postejercicio a 3.850 m, PO2c y BEecf correlacionan inversamente (r=-0.59; p<0.05; n= 18). En Iquique, PO2c pre- y postejercicio es 76.8±7.8 mmHg y 78.9±6.9 mmHg, respectivamente (n= 20;

1950454, 1000858.-

3.- PO2 CAPILAR (PO2c) POST "BABY FUTBOL" A

GRAN ALTURA. RELACION CON EL EXCESO DE BASE EXTRACELULAR (BEecf). (Post "baby soccer" capillary PO2 at high altitude. Relation with base excess

extracellular (BEecf). Jiménez L1, Cajigal J2, Valenzuela C1,

Godoy P¹, Jiménez D³, Osorio J³, Behn C¹. (1) Lab. Amb.

Extremos, PDFB, ICBM, Fac. Med., Univ. Chile, (2) CAR,

n.s). Valores correspondientes de BEecf son -0.78±1.66 mmol/

 $1 \text{ y} - 6.41 \pm 3.13 \text{ mmol/l} (n = 20; p < 0.0001)$. En el postejercicio

a nivel del mar, PO2c no correlaciona con BEecf (r= -0.05;

p>0.05;n= 20). En la altura, un ejercicio mixto aeróbico/

anaeróbico como el "baby futbol" puede aumentar la disponi-

bilidad de oxígeno. Financian Collahuasi y FONDECYT

4.- RECEPTORES DE IP₃ EN MEMBRANA PLASMATICA E INTRACELULARES REGULAN LA ACTIVIDAD CILIAR (Intracellular and plasma membrane IP₃ receptors regulate ciliary activity) Barrera, N. y Villalón, M. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad

Católica de Chile, Santiago, Chile.

Las células ciliadas del oviducto de hámster aumentan la frecuencia del batido ciliar (FBC) en respuesta a ATP. Este efecto es mediado por la fosfolipasa C, que induce activación de los receptores de IP₃, probablemente de los tipos 1 y 3. Utilizando microscopía electrónica y la técnica de inmunooro se observó una distribución subcelular diferencial de los receptores de IP₃ tipos 1 y 3 en células ciliadas oviductales, encontrándose ambos receptores en el núcleo y en el retículo endoplásmico, sin embargo, en la membrana plasmática y nuclear sólo se observaron los receptores tipo 3. Utilizando espectrofotometría, se demostró que ATP e IP3 enjaulado aumentan la [Ca2+] libre intracelular ([Ca2+]i) desde reservorios intra y extracelulares. Utilizando la técnica de radioinmunoreceptor, se cuantificó la producción de IP₃ en células ciliadas, observándose una alta correlación en los cursos temporales de la generación oscilatoria de IP3 y los componentes intra y extracelulares del incremento de [Ca²⁺]i. Mediante la técnica patch clamp en la modalidad de célula completa, se determinó que ATP genera una corriente de entrada de Ca2+ que se bloquea por Xestospongina C, un inhibidor de los receptores de IP3. Estos resultados sugieren que los receptores de IP3 gatillan un aumento en la [Ca2+]i necesaria para el incremento de la FBC inducido por ATP. FONDECYT 2010120.

2.- DETECCION SIMULTANEA DE LOS VENENOS DIARREICO Y PARALIZANTE EN MARISCOS TOXICOS DE LA XI REGION DE CHILE (Simultaneous detection of Diarrheic and Paralytic Shellfish poisons in toxic shellfish from XI region of Chile). Bustamante J, Díaz N, Sfeir A, Seguel M y Córdova JL Fundación Ciencia para la Vida e Instituto Milenio MIFAB Av. Marathón 1943, Nuñoa, Santiago. CERAM, Universidad Austral de Chile, Puerto Montt.

El Veneno Paralizante de los Mariscos (VPM) y el Veneno Diarreico de los Mariscos (VDM) en Chile son producidos por los dinoflagelados Alexandrium catenella y Dinophysis acuta, respectivamente. En la XI región los mariscos tienen VPM y VDM. Yasumoto desarrolló un método de extracción para separarlos. Sin embargo, no siempre es posible separar éstas toxinas. Por lo tanto, se hace necesario evaluar por métodos alternativos para distinguirlas.

Durante el Crucero CÍMAR-FIORDO 8 (Julio 2001) se cosecharon mariscos, que fueron analizados con la técnica Yasumoto modificada para el bioensayo de ratón. Los resultados confirman que el método empleado no permite en todos los casos separar la VPM pues los ratones se mueren con síntomas de VPM. También muestras individuales fueron analizadas mediante dos técnicas: Inhibición de la Aglutinación (IA) y Detección del Aceptor Endógeno de Toxina (DAET) tanto para VPM como para VDM. Estos ensayos si detectan la presencia de ambos complejos tóxicos presentes en los mariscos analizados. Por lo tanto, los consideramos útiles para estudiar mariscos con toxinas múltiples. Financiamiento: Crucero CIMAR-FIORDO 8 y MIFAB.

7

5.- EFECTO DE ALTA D-GLUCOSA Y OXLDL EN LA SINTESIS DE OXIDO NITRICO Y LA EXPRESION DE MARCADORES DE SUPERFICIE EN CELULAS SANGUINEAS MONONUCLEARES HUMANAS (Effect of high D-glucose and oxLDL on nitric oxide synthesis and surface markers expression in blood mononuclear cells).

1.-2 Lamperti, L., 3 Castillo, J.L., 2 González, M. 1 Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL), Facultad de Ciencias Biológicas, 2 Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, 3 Hospital del Trabajador, Concepción, Chile. (Patrocinio: V Silva)*

Linfocitos T y monocitos/macrófagos migran desde el endotelio a la íntima arterial en respuesta a altos niveles de lipoproteínas de baja densidad oxidadas (oxLDL). Linfocitos T CD4⁺ se activan por óxido nítrico (NO). Alta D-glucosa (25 mM, 16 horas) aumentó el transporte de L-arginina ($V_{\text{máx}}$ = $0.14 \pm 0.03 \text{ vs } 0.33 \pm 0.01 \text{ pmol } (\mu \text{g proteina})^{-1} \text{ min}^{-1}), \text{ sin}$ afectar el $K_{\rm m}$ aparente (2.5 \pm 0.2 vs 2.5 \pm 0.3 μ M), y aumentó la síntesis de NO $(25 \pm 7 \text{ vs } 39 \pm 5 \text{ dpm x } 10^4 \text{ (µg proteina)}^{-1} (30 \text{ mg})^{-1})$ min)-1). El efecto de D-glucosa fue inhibido por oxLDL (50 μg ml-1, 16 horas). Alta D-glucosa y oxLDL disminuyen las poblaciones de linfocitos T CD3+-CD4+. Alta D-glucosa estimual la ruta L-arginina/NO en linfocitos T, un efecto que es bloqueado por oxLDL, posiblemente regulando la expresión de proteínas de superficie en linfocitos T humanos. Financiado por FONDECYT (1000354 & 7000354), DIUC-Universidad de Concepción (201.072.025-1)(Chile), y The Wellcome Trust (UK). *Estudio dirigido por L Sobrevia.

6.- DIABETES GESTACIONAL ACTIVA LA RUTA L-ARGININA/OXIDO NITRICO A TRAVES DE p42/p44^{mapk} Y PKC EN ENDOTELIO FETAL HUMANO (Gestational diabetes activates L-arginine/nitric oxide pathway through p42/p44^{mapk} and PKC in human fetal endothelium). Vásquez, G. Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL), Departmento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile.* (Patrocinio: J Roa).

Diabetes gestacional aumenta el transporte de L-arginina y la síntesis de óxido nítrico (NO) en endotelio de vena umbilical humana (HUVECs). Alta D-glucosa induce fosforilación de MAP kinasas p42 y p44 (p42/p44mapk) y aumenta la actividad de PKC en HUVECs. Determinamos la participación de p42/ p44mapk y PKC en el efecto de diabetes gestacional sobre la ruta L-arginina/NO en HUVECs. Celulas de gestaciones afectadas por diabetes presentan mayor fosforilación de p42/ p44^{mapk}, un efecto bloqueado por PD-98059 (inhibidor de MAP kinasa kinasa 1/2), calfostina C (inhibidor de PKC), y Nº-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME). Diabetes aumentó la velocidad máxima del transporte de L-arginina y la síntesis de NO, un efecto asociado con aumento del nivel de mRNA para hCAT-1, y mRNA y proteína eNOS. En conclusión, la activación de la ruta L-arginina/NO inducida por diabetes gestacional es mediada por activación de p42/p44mapk y PKC en endotelio fetal humano.

Financiado por FONDECYT (1000354 & 7000354), DIUC-Universidad de Concepción (201.084.003-1)(Chile) y The Wellcome Trust (UK).*Estudio dirigido por L Sobrevia.

7.- EFECTO DE HIPOXIA SOBRE LA RUTA L-ARGININA/OXIDO NITRICO EN ENDOTELIO DE FETOS CON RESTRICCION DEL CRECIMIENTO INTRAUTERINO (Effect of hypoxia on L-arginine/nitric oxide pathway in endothelium from foetuses with intrauterine growth restriction). Casanello, P. Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL), Facultad de Ciencias Biológicas & Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile (Patrocinio: L Sobrevia).

La restricción del crecimiento intrauterino (RCIU) se asocia con hipoxia fetal crónica, inhibición del transporte de Larginina y síntesis de óxido nítrico (NO) en endotelio de vena umbilical humana (HUVECs). Hypoxia (2% O2, 5% CO2, 93% N₂, 24 horas) induce una disminución en el transporte de L-arginina, despolarización de la membrana plasmática, y menor expresión de los sistemas de transporte de aminoácidos catiónicos y+/hCAT-1 e y+/hCAT-2B. La actividad de la sintasa del NO endotelial (eNOS) está disminuída tanto en células RCIU como normales bajo condiciones de hipoxia, aunque el nivel de mRNA y proteína están aumentados. Ensayos de cDNA micrarray sugieren una sobrexpresión de PKC, CATs y ERK1/ERK2 en RCIU e hipoxia. Así, RCIU e hipoxia alteran en forma similar la actividad y expresión de la ruta L-arginina/NO en endotelio fetal humano, lo que podría ser un factor determinante en la etiología de RCIU. Financiado por FONDECYT 1000354 & 7000354, DIUC-Universidad de Concepcion (201.084.003-1)(Chile) y The Wellcome Trust (UK). P Casanello tiene beca PhD-UdeC.

8.- LA INCUBACION CRONICA CON INSULINA AUMENTA LA EXPRESION DE hCAT1 Y eNOS, PERO DISMINUYE LA EXPRESION DE hCAT2B EN ENDOTELIO FETAL HUMANO (Chronic incubation with insulin increases hCAT-1 and eNOS expression, but decreases hCAT-2B expression in human fetal endothelium). González, M., Sobrevia, L. Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL), Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile.

Insulina aumenta el transporte de L-arginina mediado por transportadores de aminoácidos catiónicos (hCAT) y la síntesis de óxido nítrico (NO) vía la NO sintasa (eNOS) en endotelio de vena umbilical humana (HUVECs). Insulina (0.1 nM, 8 horas) aumenta el nivel de mRNA para hCAT-1 (95 ± 5%). Sin embargo, insulina disminuyó el nivel de hCAT-2B (23 ± 5%). Insulina aumenta la velocidad máxima del transporte de L-arginina, un efecto inhibido por calfostina C (inhibidor de PKC). El éster de forbol PMA e insulina aumentan la actividad de PKC en fracciones de membrana de HUVECs. PD-98059 (inhibidor de MAP kinasa kinasa 1/2) y calfostina C bloquean el aumento del nivel de mRNA para hCAT-1 inducido por insulina. Insulina también aumenta la actividad, mRNA y proteína para eNOS. En resumen, insulina aumenta la expresión y actividad de los componentes de la ruta L-arginina/NO endotelial, un proceso celular que involucra PKC y p42/44^{mapk} en endotelio fetal humano.

Financiado por FONDECYT (1000354 & 7000354), DIUC-Universidad de Concepción (201.084.003-1)(Chile) y The Wellcome Trust (UK).

9.- PARTICIPACION DE PKC, eNOS Y MEK1/2 EN EL EFECTO DE HIPOXIA SOBRE EL TRANSPORTE DE L-ARGININA EN ENDOTELIO FETAL HUMANO (Involvement of protein kinase C, eNOS and MEK1/2 in the effect of hypoxia on L-arginine transport in human fetal endothelium). Estay, D., Sobrevia, L. Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL), Departamento de Fisiologia, Facultad de Ciencias Biológicas & Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile.*

Hipoxia disminuye el transporte de L-arginina y la síntesis de óxido nítrico (NO) en células endoteliales de vena umbilical humana (HUVECs). El objetivo de este estudio fue determinar la participación de PKC, eNOS y MEK1/2 en el efecto de hipoxia sobre el transporte de L-arginina en HUVECs. Hipoxia (2% O₂, 93% N₂, 5% CO₂, 24 horas) disminuye el transporte de L-arginina y la expresión de los sistemas y+/CAT-1 e y+/ CAT-2B, y la síntesis de NO, pero aumenta la expresión de la sintasa del NO endothelial (eNOS). La disminución del transporte de L-arginina inducida por hipoxia es revertida por Snitroso-acetil-L,D-penicilamina (SNAP, un donador de NO), calfostina C (inhibidor de PKC) y PD-98059 (inhibidor de MEK1/2), pero no es afectada por N^G-nitro-L-arginina metil ester (inhibidor de NOS). Así, el efecto de hipoxia sobre el transporte de L-arginina involucra PKC, NO y MEK1/2 en endotelio fetal humano.

Financiado por FONDECYT (1000354 & 7000354), DIUC-Universidad de Concepción (201.084.003-1)(Chile) y The Wellcome Trust (UK). *Estudio en colaboración con P Casanello.

10.- EL AUMENTO DEL TRANSPORTE DE ADENOSINA POR HIPOXIA INVOLUCRA ACTIVA-CION DE ERK1/ERK2 EN ENDOTELIO FETAL HU-MANO (Inhibition of adenosine transport by hypoxia involves activation of ERK1/ERK2 in human fetal endothelium). Rojas, R., Sobrevia, L. Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL), Facultad de Ciencias Biológicas & Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile.*

ERK1/ERK2, óxido nítrico (NO) e hipoxia modulan el transporte de adenosina vía transportadores hENT1 en endotelio de vena umbilical humana (HUVECs). El transporte de adenosina (10 μM, 20 seg, 22°C) en hipoxia (2% O₂, 95% N₂, 3% CO_2 , 24 horas) fue mayor $(0.74 \pm 0.2 \text{ pmol } (\mu \text{g proteina})^{-1})$ min⁻¹) comparado con normoxia (0.38 \pm 0.04 pmol (µg proteina)-1 min-1), un efecto bloqueado (52 ± 5%) por PD-98059 (10 µM, 30 min, inhibidor de MAP kinasa kinasa 1/2). Hipoxia aumenta la fosforilación de ERK1/ERK2 y disminuye el mRNA hENT1 (35 ± 5%). Hipoxia disminuye la formación de L-citrulina (50 ± 5%), pero aumenta el nivel de proteína $(25 \pm 5\%)$ y mRNA $(40 \pm 5\%)$ para la sintasa del NO endotelial (eNOS). El aumento del transporte de adenosina inducido por hipoxia podría resultar de un aumento en la actividad de hENT1 en respuesta a una disminución de la actividad de eNOS. Este efecto de hipoxia sería mediado por activación de ERK1/ERK2.

Financiado por FONDECYT (1000354 & 7000354), DIUC-Universidad de Concepción (201.084.003-1)(Chile) y The Wellcome Trust (UK). *Estudio en colaboración con C Aguayo y P Casanello. 11.- SOBRE EL MECANISMO DE FORMACION DE CANALES POR ANEXINAS (On the mechanism of channel formation by annexins) López, M., López, J., López, D., Bunster, M., de la Fuente, M. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Las anexinas son una familia de proteínas hidrosolubles que en presencia de calcio se unen reversible y superficialmente a membranas. A pesar que las anexinas tienen rasgos estructurales completamente ajenos a los de las proteínas intrínsecas que forman los canales de las membranas, varias de ellas generan canales en liposomas y membranas. Se ha hipotetizado que la unión de las anexinas a las membranas generaría un alto potencial eléctrico a través de la membrana. Se produciría así un poro acuoso en la bicapa que quedaría en serie con el canal central en la estructura de la anexina, lo que permitiría el paso de iones de un lado al otro de la membrana. Esta hipótesis se refrendó con cálculos del potencial producido por la anexina V a través de la membrana, los que mostraron un valor suficientemente alto como para producir electroporación. El propósito de este trabajo fue verificar la predicción que todas las anexinas que forman canales deben producir potenciales suficientemente altos en la membrana. Con este objeto se realizaron cálculos clásicos del potencial eléctrico generado sobre la membrana por todos los átomos cargados que forman parte de la estructura de las distintas anexinas estudiadas, suponiendo que todas se unen externa e individualmente a la membrana por el dominio conservado. Se calculó también el potencial de superficie utilizando cargas parciales de acuerdo a Poisson-Boltzmann. Los resultados indican que la hipótesis de electroporación no se cumple para todas las anexinas. Por lo tanto, la electroporación no puede constituir el único mecanismo de permeabilización de membranas por esta familia de proteínas. Posiblemente otros mecanismos, por ejemplo, la formación de un complejo de moléculas de anexinas que atraviesan la bicapa puedan explicar la formación de canales. Financiado por Fondecyt 1000691

12.- ESTRES OXIDATIVO INDUCE APERTURA DE HEMICANALES DE CONEXINA43. (Oxidative stress induces opening of connexin 43 hemichannels) Sánchez H.A., Riquelme M.A., Sáez J.C. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

La inhibición metabólica (IM) inducida con bloqueadores de la glicolisis (iodoacetato, IA) y del metabolismo oxidativo mitocondrial (antimicina A, AA; o cianuro de potasio, KCN) induce abertura de hemicanales de conexina43 (Cx43) en astrocitos, fenómeno que favorece la muerte celular (PNAS USA 99:495-500,2002). El posible mecanismos molecular que causa dicha abertura no ha sido dilucidado, y podría involucrar defosforilación u oxidación del hemicanal. Se utilizó cultivos de astrocitos de ratas neonatas (Sprague-Dawley) confluentes y de baja densidad (sin contactos celulares) tratados con 0.3 mM IA más 5 ng/ml AA, o IA más 1 mM KCN. De la Cx43 se evaluó: el estado de fosforilación (inmunotransferencia), la distribución subcelular (inmunofluorescencia) y el estado funcional de los hemicanales (captación de bromuro de etidio, BrEt, 0.1 mM). En cultivos confluentes, la IM indujo captación de BrEt y defosforilación de Cx43, que se localizó principalmente en zonas de aposición celular. La captación de BrEt, pero no el estado de fosforilación de la Cx43, fue revertida por el antioxidante trolox (0.1 mM). En cultivos subconfluentes, la IM indujo permeabilización pero sin defosforilación de la Cx43. Estos resultados indican que la IM induce la abertura de hemicanales mediante un mecanismo de oxidación y no de un cambio de fosforilación de Cx43. (FONDECYT 8990008).

9.- PARTICIPACION DE PKC, eNOS Y MEK1/2 EN EL EFECTO DE HIPOXIA SOBRE EL TRANSPORTE DE L-ARGININA EN ENDOTELIO FETAL HUMANO (Involvement of protein kinase C, eNOS and MEK1/2 in the effect of hypoxia on L-arginine transport in human fetal endothelium). Estay, D., Sobrevia, L. Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL), Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas & Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile.*

Hipoxia disminuye el transporte de L-arginina y la síntesis de óxido nítrico (NO) en células endoteliales de vena umbilical humana (HUVECs). El objetivo de este estudio fue determinar la participación de PKC, eNOS y MEK1/2 en el efecto de hipoxia sobre el transporte de L-arginina en HUVECs. Hipoxia (2% O₂, 93% N₂, 5% CO₂, 24 horas) disminuye el transporte de L-arginina y la expresión de los sistemas y⁺/CAT-1 e y⁺/ CAT-2B, y la síntesis de NO, pero aumenta la expresión de la sintasa del NO endothelial (eNOS). La disminución del transporte de L-arginina inducida por hipoxia es revertida por Snitroso-acetil-L,D-penicilamina (SNAP, un donador de NO), calfostina C (inhibidor de PKC) y PD-98059 (inhibidor de MEK1/2), pero no es afectada por N^G -nitro-L-arginina metil ester (inhibidor de NOS). Así, el efecto de hipoxia sobre el transporte de L-arginina involucra PKC, NO y MEK1/2 en endotelio fetal humano.

Financiado por FONDECYT (1000354 & 7000354), DIUC-Universidad de Concepción (201.084.003-1)(Chile) y The Wellcome Trust (UK). *Estudio en colaboración con P Casanello.

10.- EL AUMENTO DEL TRANSPORTE DE ADENOSINA POR HIPOXIA INVOLUCRA ACTIVA-CION DE ERK1/ERK2 EN ENDOTELIO FETAL HU-MANO (Inhibition of adenosine transport by hypoxia involves activation of ERK1/ERK2 in human fetal endothelium). Rojas, R., Sobrevia, L. Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL), Facultad de Ciencias Biológicas & Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile.*

ERK1/ERK2, óxido nítrico (NO) e hipoxia modulan el transporte de adenosina vía transportadores hENT1 en endotelio de vena umbilical humana (HUVECs). El transporte de adenosina (10 μM, 20 seg, 22°C) en hipoxia (2% O₂, 95% N₂, 3% CO₂, 24 horas) fue mayor $(0.74 \pm 0.2 \text{ pmol } (\mu \text{g proteina})^{-1})$ min⁻¹) comparado con normoxia (0.38 \pm 0.04 pmol (µg proteina)-1 min-1), un efecto bloqueado (52 ± 5%) por PD-98059 (10 µM, 30 min, inhibidor de MAP kinasa kinasa 1/2). Hipoxia aumenta la fosforilación de ERK1/ERK2 y disminuye el mRNA hENT1 (35 ± 5%). Hipoxia disminuye la formación de L-citrulina (50 ± 5%), pero aumenta el nivel de proteína (25 ± 5%) y mRNA (40 ± 5%) para la sintasa del NO endotelial (eNOS). El aumento del transporte de adenosina inducido por hipoxia podría resultar de un aumento en la actividad de hENT1 en respuesta a una disminución de la actividad de eNOS. Este efecto de hipoxia sería mediado por activación de ERK1/ERK2.

Financiado por FONDECYT (1000354 & 7000354), DIUC-Universidad de Concepción (201.084.003-1)(Chile) y The Wellcome Trust (UK). *Estudio en colaboración con C Aguayo y P Casanello.

11.- SOBRE EL MECANISMO DE FORMACION DE CANALES POR ANEXINAS (On the mechanism of channel formation by annexins) López, M., López, J., López, D., Bunster, M., de la Fuente, M. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Las anexinas son una familia de proteínas hidrosolubles que en presencia de calcio se unen reversible y superficialmente a membranas. A pesar que las anexinas tienen rasgos estructurales completamente ajenos a los de las proteínas intrínsecas que forman los canales de las membranas, varias de ellas generan canales en liposomas y membranas. Se ha hipotetizado que la unión de las anexinas a las membranas generaría un alto potencial eléctrico a través de la membrana. Se produciría así un poro acuoso en la bicapa que quedaría en serie con el canal central en la estructura de la anexina, lo que permitiría el paso de iones de un lado al otro de la membrana. Esta hipótesis se refrendó con cálculos del potencial producido por la anexina V a través de la membrana, los que mostraron un valor suficientemente alto como para producir electroporación. El propósito de este trabajo fue verificar la predicción que todas las anexinas que forman canales deben producir potenciales suficientemente altos en la membrana. Con este objeto se realizaron cálculos clásicos del potencial eléctrico generado sobre la membrana por todos los átomos cargados que forman parte de la estructura de las distintas anexinas estudiadas, suponiendo que todas se unen externa e individualmente a la membrana por el dominio conservado. Se calculó también el potencial de superficie utilizando cargas parciales de acuerdo a Poisson-Boltzmann. Los resultados indican que la hipótesis de electroporación no se cumple para todas las anexinas. Por lo tanto, la electroporación no puede constituir el único mecanismo de permeabilización de membranas por esta familia de proteínas. Posiblemente otros mecanismos, por ejemplo, la formación de un complejo de moléculas de anexinas que atraviesan la bicapa puedan explicar la formación de canales. Financiado por Fondecyt 1000691

12.- ESTRES OXIDATIVO INDUCE APERTURA DE HEMICANALES DE CONEXINA43. (Oxidative stress induces opening of connexin 43 hemichannels) Sánchez H.A., Riquelme M.A., Sáez J.C. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

La inhibición metabólica (IM) inducida con bloqueadores de la glicolisis (iodoacetato, IA) y del metabolismo oxidativo mitocondrial (antimicina A, AA; o cianuro de potasio, KCN) induce abertura de hemicanales de conexina43 (Cx43) en astrocitos, fenómeno que favorece la muerte celular (PNAS USA 99:495-500,2002). El posible mecanismos molecular que causa dicha abertura no ha sido dilucidado, y podría involucrar defosforilación u oxidación del hemicanal. Se utilizó cultivos de astrocitos de ratas neonatas (Sprague-Dawley) confluentes y de baja densidad (sin contactos celulares) tratados con 0.3 mM IA más 5 ng/ml AA, o IA más 1 mM KCN. De la Cx43 se evaluó: el estado de fosforilación (inmunotransferencia), la distribución subcelular (inmunofluorescencia) y el estado funcional de los hemicanales (captación de bromuro de etidio, BrEt, 0.1 mM). En cultivos confluentes, la IM indujo captación de BrEt y defosforilación de Cx43, que se localizó principalmente en zonas de aposición celular. La captación de BrEt, pero no el estado de fosforilación de la Cx43, fue revertida por el antioxidante trolox (0.1 mM). En cultivos subconfluentes, la IM indujo permeabilización pero sin defosforilación de la Cx43. Estos resultados indican que la IM induce la abertura de hemicanales mediante un mecanismo de oxidación y no de un cambio de fosforilación de Cx43. (FONDECYT 8990008).

13.- MODULACION DE UNIONES EN HENDIDURA POR SUERO FETAL DE BOVINO EN CELULAS DE LA BARRERA HEMATOENCEFALICA. (Modulation of gap junctions by fetal bovine serum in cells of the blood brain barrier). Alviña, K.A., Véliz, L.P., Brañes, M.C., Velarde, V., Boric, M. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

Las células endoteliales (CE) son la primera barrera fisiológica expuesta a factores presentes en el plasma. Estas células se comunican mediante uniones en hendidura (UH) formadas por las conexinas 37, 40 y 43 (Cx37,40,43). El posible efecto del suero fetal de bovino (SFB) sobre las UH fue estudiado en una línea de CE derivadas de la microcirculación de la corteza cerebral de rata (RBE4). El estado funcional se evaluó mediante acoplamiento a amarillo Lucifer (LY) y la distribución de la Cx43 por inmunofluorescencia. La incidencia de acoplamiento (% de células microinyectadas que transfieren colorante, IA) aumentó un 20% en células alimentadas 24h. En células alimentadas 3h no cambió la IA, pero el número de células a las cuales se transfirió LY aumentó al doble. El incremento en el acoplamiento celular se correlacionó con una redistribución de la Cx43 a los sitios de contacto celular. Los niveles de Cx43 y el estado de fosforilación (Inmunoblot) no cambiaron. Experimentos diseñados para dilucidar la via de señalización intracelular que provoca este efecto están en

14.- RESPUESTAS CARDIOVASCULARES A LA HIPOXEMIA EN RECIEN NACIDOS DE OVEJA DE ALTURA Y DE TIERRAS BAJAS, (Cardiovascular responses to hypoxemia in highlands and lowlands newborn sheep). Herrera, EA¹, Riquelme, RA², Pulgar, VM¹, Sanhueza, EM¹, Reyes, VR¹, Ebensperger, G¹, Llanos, AJ^{1,3}. ¹Programa de Fisiopatología, ICBM, Facultad de Medicina, ²Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, ³INCAS, Universidad de Chile.

El recién nacido (RN) de oveja presenta una caída de la resistencia vascular sistémica (RVS) y un importante aumento de resistencia vascular pulmonar (RVP) durante un episodio de hipoxemia aguda a nivel del mar. Como hipótesis planteamos que en corderos RN de tierras altas (RNTA), hay una hipoxemia crónica que lleva a cambios cardiovasculares basales, que se modifican discretamente con una hipoxemia aguda sobreagregada. Comparamos el gasto cardíaco (GC), la presión arterial sistémica (PAS), RVS, presión arterial pulmonar (PAP) y RVP en 5 RNTA, a 3580m de altitud y en 5 RN de tierras bajas (RNTB), a 520m, sometidos a 1 hora de normoxemia, de hipoxemia (PO₂ ~30 mmHg) y de recuperación. Se instalaron catéteres en la arteria pulmonar (Swan Ganz) y femoral.

Basalmente la PO₂ y la RVS fue menor en RNTA, acompañado de un GC y PAP mayor que en RNTB. Durante el episodio de hipoxemia aguda, la PAP y la RVP aumentó en ambos grupos, mientras que la RVS se mantuvo en RNTA. En conclusión, el RNTA presenta importantes cambios cardiovasculares basales, con escasos cambios sistémicos y pulmonares durante un episodio de hipoxemia aguda sobreagregada.

FONDECYT 1010636-Wellcome Trust.

15.- THE INHIBITORY EFFECT OF ETHANOL ON VOLTAGE-GATED Ca2+ CHANNELS OF CAPILLARY ENDOTHELIAL CELLS 1S MODULATED BY EXTERNAL Mg2+. 'Alvarez, R., 'Cortés, M., 'Vinet, R., 'Delpiano, M. A., '3Altura, B. M. Faculty of Pharmacy, University of Valparaíso, Valparaíso, Chile¹. Max-Planck-Institute, Dortmund, Germany². SUNY at Brooklyn, Health Science Center, New York, U.S.A.³.

A link between alcohol intake and predisposition to stroke has been established over the past decade. We have shown that cerebral blood flow is altered by alcohol intake. To further elucidate the vascular effect of alcohol in the brain microcirculation we studied in voltage-clamp experiments the effect of ethanol (EtOH, 5-100 mM) on low voltageactivated Ca2+ channels of rat brain capillary endothelial cells. Ca2+ currents were elicited by test pulses from a holding potential of -80 mV, using NMDG in bath and pipette solutions instead of Na+ and K+ ions. 10 mM Ca2+ was used as a charge carrier. Experiments revealed that 5mM EtOH did not affect the Ca2+ current but 10 and 50 mM depressed reversibly the current by about 15±2.1 and 23±3.2 % (n=6), respectively. The inhibitory effect of EtOH was dosedependant, reaching saturation at a concentration of 100 mM (53%). Lowering external Mg2+ from 1.2 to 0.3 mM, reinforced the EtOH inhibition, i.e., an effect related to a shift in positive charges on the cell surface (Delpiano & Altura, FEBS Lett. 493, 1996). Since T-type Ca2+ channels are low voltage-gated, their inhibition by alcohol could affect blood vessel contractility due to a decreased Ca2+ influx that may lead to changes in cerebral blood flow and contribute to stroke.

16.- ION CHANNELS AND CHANGES IN CYTOSOLIC CALCIUM OF CAPILLARY ENDOTHELIAL CELLS ARE INVOLVED IN THE CEREBRAL HYPOXIA. Delpiano, M. A., 2Walter, S., 2Schäfer, M. Max-Planck-Institute for Molecular Physiology, Dortmund, Germanyl. Justus Liebig University of Giessen, Institute of Physiology, Giessen, Germany2.

Brain hypoxia leads to cerebral vasodilatation and increase of cerebral blood flow by an endothelium-dependent mechanism. Cerebral capillary endothelial cells (ECs) are affected in their cellular permeability and pump activity when exposed to low oxygen partial pressure (pO2). To investigate the intrinsic mechanism by which brain capillary endothelial cells are able to sense hypoxia, electrophysiological and fluorescence studies with the patch-clamp and fura-2 technique were done. When bath pO2 was reduced from 180 Torr (normoxia) to 12 or 8 Torr(hypoxia), glibenclamide-sensitive K+ currents were activated and ECs hyperpolarized while Ca2+ currents were depressed. Measurements of [Ca2+]I under 20 minutes hypoxia revealed complex changes. Initially (0.5-1 min), a fast increase was observed. After about 2 minutes this increase decreased slowly to be followed by a long-lasting increase that after 18 minutes tends to decline. The increase in [Ca2+]I was depressed when external Ca2+ was removed or nitrendipine was applied to the bath. In both cases an initial small decrease in [Ca2+]I was unmasked. Taken together these results demonstrate that hypoxia in the brain activates ATP-dependent K+ channels, depresses voltage-activated Ca2+ channels, hyperpolarizes cells and induces a dual increase in [Ca2+]I. Since glibenclamide blocks the hypoxic-induced activation of the K+ current as well as the hypoxic-induced rise in [Ca2+]i, we suggest that ATP could be the intracellular mediator.

go, Chile.

17.- REGULACION DEL COTRANSPORTADOR NKCC1 POR ESTEROIDES SUPRARRENALES EN MIOCARDIO (Regulation of NKCC1 cotransporter by adrenal steroids in heart tissue) Dünner, N.,Marusic E. y Michea, L. Laboratorio Fisiología Celular y Molecular, Facultad Medicina, Universidad de los Andes. Patrocinio: Elisa T. Marusic.

El cotransportador Na+-K+-Cl- (NKCC) media el influjo neto y electroneutro de iones, modulando el volumen, los gradientes iónicos y el potencial de membrana celular. La isoforma NKCC1 es constitutiva y está ampliamente distribuida. En los últimos años se ha demostrado que aldosterona tiene acciones el en sistema cardiovascular, las cuales son importantes en distintos tipos de hipertensión e insuficiencia cardiaca. Se ha visto que la actividad NKCC1 se ve modificada en respuesta al suministro de mineralocorticoides exógenos en animales de experimentación. En el presente trabajo proponemos que los esteroides suprarrenales regulan la expresión y la actividad de NKCC1 en el miocardio de rata, para lo cual se utilizaron ratas control y adrenalectomizadas, con y sin reposición hormonal de glucocorticoides y mineralocorticoides. Se determinó la expresión de NKCC1 por análisis semicuantitativo del mRNA y de la proteína, por técnicas de RT-PCR y western blot respectivamente. A partir de estos experimentos se estableció que la adrenalectomía aumenta la expresión de NKCC1 a nivel génico y protéico en el miocardio. La reposición hormonal con esteroides suprarrenales restituye la abundancia del mRNA y la proteína NKCC1 a niveles similares al control.

Proyecto Fondecyt 1010185

18.- GLUCOCORTICOIDES NO INHIBEN LA CICLOOXIGENASA-2 INDUCIDA POR INHIBIDORES DE LA ECA. (Glucocorticoids do not inhibit COX-2 induced by ACEi). Rodríguez J, Céspedes C, Vio CP Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Glucorticoides (dexametasona) inhiben la inducción de ciclooxigenasa-2 (COX-2) ante diferentes estímulos (adrenalectomía, lipopolisacárido). Los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (iECA) aumentan la expresión renal de COX-2. El propósito de este trabajo fue estudiar el mecanismo de inducción de COX-2 por iECA. Se estudiaron 8 grupos (n=3) de ratas Sprague Dawley: ADX con o sin dexametasona (1mg/kg/día); ramipril (iECA) (10mg/kg/día) con o sin dexametasona; sham; dexametasona por 7 días. La dexametasona fue administrada desde el 5º día o desde el inicio del tratamiento en los grupos ramipril y ADX. Al término del protocolo se sacrificaron las ratas y se extrajeron los riñones para realizar estudio del RNA mensajero y la proteína COX-2.

Por medio de RT-PCR, Western blot e inmunohistoquímica se evidenció un aumento del mRNA y la proteína de COX-2 renal con ADX o con ramipril, el cual es prevenido si se inyecta dexametasona desde el inicio del tratamiento. Sin embargo, dexametasona sólo revierte el aumento de COX-2 por ADX, pero no el inducido por ramipril.

La ausencia de efecto de dexametasona sobre COX-2 en el tratamiento con iECA, permite postular que su mecanismo de inducción es diferente al de ADX.

Financiamiento Fondecyt 1010373 y Beca apoyo Tesis Doctoral Conicyt

19.- DISMINUCION DEL EFLUJO DE TAURINA INDU-CIDO POR HIPOTONICIDAD EN CELULAS HeLa QUE EXPRESAN UN DOMINANTE NEGATIVO DE PKCα. (Swelling-activated taurine efflux is decreased in HeLa cells expressing a dominant negative PKCα mutant) Olivero P., Hermoso M., Quest A.F.G., Stutzin A. ICBM, Facultad de Medicina Universidad de Chile, Santiago-6530499, Santia-

La regulación del volumen es una propiedad fundamental en células animales. Bajo condiciones de hipotonicidad, las células liberan osmolitos orgánicos (como la taurina), proceso denominado disminución regulada del volumen. Evidencias farmacológicas sustentan la hipótesis que las proteínas quinasas C están involucradas en el eflujo de taurina inducido por hipotonicidad, en particular, las isoformas Ca2+-dependientes. Se generaron líneas estables de células HeLa para mutantes del sitio catalítico de PKCα(K368R) y PKCζ(K275W) con el fin de evaluar su participación sobre el eflujo de [14C]-taurina inducido por hipotonicidad. La expresión de PKCα(K368R) y PKCζ(K275W) se determinó mediante un anticuerpo dirigido contra un epítopo His-6 presente en el carboxilo terminal. El efecto sobre la velocidad máxima de salida de taurina inducida por hipotonicidad fue evaluado para cada mutante observándose una disminución del 33.3 \pm 3.6 % en la línea estable que expresa PKC α (K368R) respecto del control (células transfectadas con el vector vacío). En contraste, no se observó diferencias significativas en la respuesta a hipotonicidad entre el mutante PKC ζ (K275W) y el control. Estos resultados indican que específicamente PKCα participa en la señalización intracelular de la salida de taurina inducida por estrés osmótico.

DID 108-2/2001, Fondecyt 1010994, 1990893 y FONDAP 15010006.

20.- MODULACION POR Ca²⁺ y ATP DEL CANAL CATIONICO NO SELECTIVO EN CELULAS HTC. (Modulation by Ca²⁺ and ATP of the non-selective cation channel in HTC cells). Simon F., Varela D., Eguiguren A.L., Stutzin A. ICBM, Facultad de Medicina Universidad de Chile, Santiago-6530499, Santiago, Chile.

En la linea celular de hígado de rata HTC se ha descrito una conductancia catiónica no selectiva, posiblemente involucrada en la muerte celular necrótica. Esta conductancia presenta la secuencia de permeabilidades relativas Li⁺ > Na⁺ ≈ K⁺ ≈ Rb⁺ \approx Cs⁺>>> Ca²⁺ \approx Mg²⁺ y es bloqueda por fenamatos. Utilizando la técnica de patch-clamp en la configuración inside-out, hemos estudiado la modulación por Ca2+ y ATP de este canal. Los experimentos indican que la probabilidad del estado abierto depende de la [Ca2+] citosólica con una K0.5 de 0.46 mM y un coeficiente de Hill de 1.74. Por otra parte, la conductancia unitaria (γ) varía de 25 pS en 100 μM Ca²⁺ a 18 pS en 5 mM Ca²⁺. El ATP citosólico, por otra parte, reduce la probabilidad del estado abierto con una IC₅₀ de 32 μM y un coeficiente de Hill de 0.72, sin modificar su conductancia. Estos experimentos indican que la actividad de este canal está modulada por estos ligandos de manera compleja, sugiriendo, además, la participación de dos iones Ca2+ y de una molécula de ATP en la modulación de su actividad.

Fondecyt 1010994, FONDAP 15010006.

21.- RESPUESTA CONTRACTIL EN ARTERIAS DE RESISTENCIA MESENTERICAS Y PULMONARES DE FETOS Y ADULTOS DE LLAMA DEL ALTIPLANO.

(Contractile responses in mesenteric and pulmonary resistance arteries from fetal and adult llama from the altiplano). PulgarV.M¹, RiquelmeR.A.², HerreraE.A.¹, Cabello,G.³, Giussani,D.A.⁴, Blanco,C.E.⁵, Hanson, M.A.⁶, Llanos,A.J.¹¹¹Programa de Fisiopatología, ICBM, Facultad de Medicina, ²Departamento de Bioquímica-Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, ²Centro Internacional de Estudios Andinos (INCAS), Universidad de Chiencias, Universidad de Tarapacá, Chile, ⁴Department of Physiology, University of Cambridge, UK, ⁴Department of Pediatrics, University of Maastricht, The Netherlands, ⁶FOAD Centre, University of Southampton, UK.

La redistribución del flujo sanguíneo constituye una de las principales respuestas ante la hipoxia. El feto de llama (Lama glama), especie adaptada a vivir en un ambiente de baja PO2, responde ante la hipoxia aguda con una marcada elevación de catecolaminas plasmáticas y una intensa vasoconstricción periférica. Como hipótesis planteamos que arterias de resistencia mesentéricas y pulmonares de fetos y adultos de llama originarias del altiplano (4.000 m), presentan un alto tono αadrenérgico. Mediante miografía estudiamos la respuesta a noradrenalina y a acetilcolina. Arterias mesentéricas de fetos y adultos de llama muestran una importante respuesta a noradrenalina (NA_{max}=100%K_{MAX}) y relajación a acetilcolina (ACh_{MAX}= 40 y 80%K_{MAX} respectivamente). En arterias pulmonares observamos una marcada respuesta a noradrenalina en arterias fetales y ausencia de relajación dependiente de acetilcolina. Nuestros resultados muestran un significativo tono vasoconstrictor y un menor tono vasodilatador en arterias de resistencia de la llama. Wellcome Trust-FONDECYT 1010636

22.- EFECTO DE CATIONES DIVALENTES SOBRE LA ACTIVIDAD DEL CANAL DE POTASIO ACTIVADO POR CALCIO DE ALTA CONDUCTANCIA. (Effect of Divalent Cations on the Activity of the High-conductance Ca²⁺-Activated K⁺ Channel). Marcoleta, A.; Morera, F.J.; Pezzoli, M.; Wolff, D. y Vergara, C. Laboratorio de Fisiología Celular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Diversos estudios han demostrado que cobre y zinc son liberados durante la actividad sináptica en algunas regiones del sistema nervioso central. Se ha propuesto que estos cationes podrían modular la actividad neuronal, interactuando con receptores y canales activados por potencial.

Con el propósito de dilucidar los mecanismos de acción de cationes divalentes sobre canales iónicos hemos estudiado su efecto, adicionados por el lado extracelular, sobre la actividad del canal de potasio activado por calcio de alta conductancia (BK_{Ca}) , incorporado en bicapas artificiales.

Encontramos que en el rango entre 10 y 100 µM, los cationes Zn²⁺ y Ni²⁺ no inhiben la actividad del canal. En cambio, en el mismo rango de concentraciones, el Cd²⁺ induce fluctuaciones en la actividad del canal, disminuyendo su conductancia aparente debido a un bloqueo rápido.

El Cu²⁺ a concentraciones mayores de 20 μM causa una disminución de la probabilidad de apertura del canal de manera dependiente de la concentración y del tiempo. Este efecto es revertido por el agente reductor de grupos sulfidrilos, ditiotreitol, indicando que este metal induciría un cambio en el estado redox de residuos cisteína involucrados en la apertura y cierre del canal.

Financiado por CIMM/ICA.

23.- INTERCAMBIO DE AMINOACIDOS A TRAVES DEL SISTEMA Y+L: INTERDEPENDENCIA DEL MOVIMIENTO DE DISTINTOS SUSTRATOS DEL SISTEMA. A.M. Rojas, D. Forlivesi, S. Angelo y R. Devés. Programa de Fisiología y Biofísica, Instituto de Ciencias Biomédicas. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

En los últimos se años ha identificado una familia de transportadores de aminoácidos denominados genéricamente "transportadores heterodiméricos". La unidad básica de estos transportadores es un dímero formado por una subunidad reguladora que se asocia a través de un puente disúlfuro a una subunidad catalítica que determina la especificidad. Desde el punto de vista de la translocación de los sustratos, los transportadores heterodiméricos funcionan como intercambiadores, es decir. facilitan el intercambio de aminoácidos presentes en compartimientos opuestos. El mecanismo que subyace a esta forma de operación no se conoce. .El transportador heterodimérico descrito con mayor detalle desde el punto de vista funcional es el sistema y⁺L, identificado originalmente en eritrocitos. El sistema y⁺L transporta aminoácidos catiónicos y neutros, pero su especificidad depende de la composición iónica del medio. En este trabajo se describen las propiedades del intercambio de aminoácidos (L-lisina, L-leucina, L-glutamina, Lmetionina) a través del sistema y+L utilizando como modelo experimental eritrocitos de pollo. Se estudia la dependencia de los flujos de entrada y salida de L-1[14C]lisina de la concentración de distintos análogos localizados en el compartimento opuesto utilizando una preparación de membranas reselladas de eritrocitos. Los resultados indican que el proceso de intercambio es asimétrico y que el sistema funciona más eficientemente como un intercambiador L-lisina interna por L-leucina externa.

Financiado por FONDECYT 1020084

24.- DISCRIMINACION DE DOS FENOTIPOS DE TRANSPORTE DE AMINOACIDOS (SISTEMA Y*L) EN ERITROCITOS DE POLLO UTILIZANDO L-LISINA O L-LEUCINA COMO SUSTRATOS. S. Angelo, A. M. Rojas, C. Contreras, P. Silva, M. Silva, N. Rodríguez, M. Vargas y R. Devés. Programa de Fisiología y Biofísica, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Recientemente se ha demostrado que en pollos pueden identificarse dos grupos de individuos (HT y LT) que se distinguen por la velocidad de transporte de L-lisina a través de la membrana de los eritrocitos. El flujo de entrada de lisina a bajas concentraciones (1µM) en el grupo HT excede aproximadamente 35 veces el flujo en los animales LT (n = 36). El transportador de los eritrocitos LT presenta especificidades similares al transportador y⁺L de eritrocitos humanos (K_{iLEU} = 920 \pm 100 μ M, $K_{iLIS} = 56.0 \pm 7.1$). El transportador HT presenta un patrón de especificidades que no se ajusta a las variantes del sistema y⁺L hasta ahora conocidas (K_{iLEU} = 920 \pm 100 μ M, $K_{iLIS} = 17.8 \pm 1.3 \mu$ M). En otros aspectos, el transportador se comporta en forma similar al sistema descrito en otras células y especies. En este trabajo se demuestra que la capacidad para discriminar entre los dos grupos de animales depende del sustrato utilizado, ya que la diferencia en la velocidad de transporte que se detecta con L-lisina no es apreciable con L-leucina. Este comportamiento se explica a partir de las constantes cinéticas de los transportadores HT y

Financiado por FONDECYT 1020084

25.- ACTIVIDAD DE LA ENZIMA OXIDO NITRICO SINTASA EN CORTEZA CEREBRAL Y ESTRUCTURAS SUBCORTICALES EN GATOS CON EPILEPSIA POR ADMINISTRACION INTRAHIPOCAMPICA DE AMPA. (NOS activity in cerebral cortex and subcortical structures in cats with epilepsy induced by intrahippocampal injection of AMPA) Diaz, M.*, Liberona, M.*, Sanchez, G., Galleguillos, M.*, Motles, E., Infante, C. Fac. CS. Veterinarias y Pecuarias* Programa de Fisiopatología ICBM, Facultad de Medicina U. de Chile

En gatos adultos de ambos sexos, se monitoreó el EEG mediante electrodos implantados en hipocampo amígdala y corteza. Una microinyección de 5µl de AMPA 40mM en el hipocampo derecho se utilizó como agente epileptogénico. La actividad de la NOS en cada estructura, se determinó a través del método de la conversión de arginina tritiada en citrulina. La identificación de las isoformas de la enzima se realizaron por inmunodot blot.

En los controles la actividad de la enzima NOS fue similar entre estructuras homólogas. La actividad en hipocampo fue 12.6 pmoles de citrulina/min./mg, en amígdala 7.6 y en corteza cerebral 4.7. En el grupo experimental sacrificado 5 días después de la inyección de AMPA; en el lado ipsilateral a la inyección, la actividad NOS disminuyó en hipocampo p<0.02 y en corteza p<0.05 pero no en la amígdala. En el lado contralateral la actividad de la NOS disminuyó en hipocampo p<0.001 y en amígdala p<0.01 pero no en la corteza contralateral. En este grupo se detectaron las isoformas: neural nNOS, la inducible iNOS y la endotelial eNOS. La nNOS e iNOS tendieron a aumentar y la eNOS tendió a disminuir.

Asimetrías regionales bilaterales en la actividad de la NOS y de las isoformas, de la enzima, es otro indicador de la complejidad del fenómeno epiléptico.

26.- EXPRESION Y LOCALIZACION SUBCELULAR DE LA ISOFORMA V2b DE RECEPTORES DE VASOPRESINA. (Expression and subcellular localization of the V2b vasopression receptor isoform). Añazco, C.C., Sarmiento, J., Urra, C., Saez, M., González, C.B., Instituto de Fisiología Universidad Austral de Chile, Valdivia. Financiado por Fondecyt 8980002.

El receptor V2 de vasopresina (V2R) pertenece a la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G (GPCR) y se expresa mayoritariamente en el riñón. Mediante RT-PCR con partidores gen específicos para el V2R, en nuestro laboratorio hemos clonado desde riñón de rata un producto de amplificación de aproximadamente 1.1 Kb. La secuenciación demostró que éste cDNA corresponde a una isoforma del V2R que se genera por empalme a un sitio aceptor alternativo dentro del tercer exón. Hemos designado a ésta nueva isoforma como V2b. Recientemente hemos generado clones que expresan establemente esta isoforma como proteína de fusión a la proteína verde fluorescente (GFP) en células MDCK. Estudios de microscopía confocal demostraron que ésta isoforma alcanza la membrana plasmática, puesto que colocaliza con un marcador específico de membrana (Di-8-Anepps) y además, se expresa tanto en el dominio basolateral como en el apical, a diferencia del receptor V1a y V2a, que se localizan fundamentalmente en el dominio basolateral. Por otro lado, anticuerpos específicos contra ésta isoforma muestran una localización, principalmente, apical de éste receptor en células de túbulos distales y colectores del riñón. Estos resultados apoyan la idea que ésta isoforma cumple un rol fisiológico importante en la fisiología tubular renal. Financiado por Fondecyt 8980002.

27.- VASOPRESINA (AVP) ESTIMULA LA ACTIVA-CION TRANSCRIPCIONAL DE GENES TEMPRANOS Y DE CICLINA D1, EN CELULAS A-10. (Stimulation of transcriptional activation of immediate early genes and cyclin D1 by vasopressin in A-10 cells). Reyes C.E., Troncoso S., Perdomo, G., González, CB. Instituto de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.

AVP es una potente hormona vasoconstrictora y mitogénica que ha sido implicada en la generación de algunos tipos de hipertensión arterial esencial. Nuestro interés es estudiar las vías de señalización involucradas en estas acciones. Para ello cultivamos células A-10 derivadas de músculo liso de aorta de rata que expresan el receptor tipo V₁ y fueron estimuladas con AVP. Determinamos MAPK-P por western blot con un anticuerpo específico, la cual muestra un rápido y pasajero aumento en su nivel de fosforilación. Demostramos también que este efecto es dependiente de la activación de PKC. Además, por medio de RT-PCR hemos determinado que AVP produce la activación transcripcional de los genes tempranos c-fos y egr-1 y aumenta también la expresión de ciclina D1, determinada por western blotting. Al estimular las células con AVP en presencia de los inhibidores de PKC; GF109203X y de MAPKK; PD98059, tanto la activación transcripcional de cfos y de egr-1 como la expresión de ciclina D1 se vieron disminuidas. Estos hallazgos sugieren que la posible vía de activación transcripcional de estos genes tempranos y de la expresión de ciclina D1, requieren de la activación de PKC y MAPK.

FINANCIAMIENTO: Proyecto Fondecyt en Líneas Complementarias 8980002.

28.- MODULACION POR Ca²⁺, Mg²⁺ Y ESTADO REDOX DE CANALES DE LIBERACION DE Ca²⁺ (RyR) DE CORTEZA CEREBRAL DE RATA. (Ca²⁺, Mg²⁺ and redox modulation of calcium release channels (RyR) from rat brain cortex). Humeres¹, A., Hidalgo^{1,2}, C., ¹ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago y ²CECS, Valdivia, Chile.

Se caracterizó el canal de liberación de calcio intracelular, receptor de Ryanodina (RyR) de neuronas, y se estudió su modulación por Ca²⁺. Se estudió, además, el efecto del Mg²⁺ en conjunto con agentes redox.

Los experimentos fueron realizados en vesículas de retículo endoplásmico aisladas de corteza cerebral de rata (VREC). En esta preparación se identificaron en Western blots las isoformas de RyR presentes mediante el uso de anticuerpos específicos; se encontró que la isoforma RyR2 (cardiaca) era mayoritaria. La modulación de RyR por los iones Ca²+ (conocido activador fisiológico) y Mg²+ (conocido inhibidor fisiológico) se investigó midiendo unión de [³H]-Ryanodina, que se une solo al canal abierto. Se encontró que el Ca²+ estimula la unión entre 0.1 y 100 µM (con un máximo entre 10 y 100 µM) y la disminuye de 100 µM en adelante.

La unión de [³H]-Ryanodina a las VREC también fue estudiada a 10 µM Ca²+ en presencia de Mg²+, de 0 a 1 mM. Las VREC nativas muestran inhibición de la unión a concentraciones crecientes de Mg²+, mientras las VREC previamente tratadas con un agente reductor (DTT) muestran una inhibición de la unión aún mayor. Las VREC previamente tratadas con un agente oxidante (thimerosal) muestran una inhibición menor a las mismas concentraciones de Mg²+ con respecto a las VREC nativas y/o reducidas.

Estos resultados indican que los RyR neuronales son regulados por Ca²⁺, Mg²⁺ y su estado redox. Se discuten los posibles efectos, en estados fisiológicos y patológicos, de estas modulaciones sobre las señales intracelulares de calcio en neuronas.

(Financiado por FONDECYT 8980009, FONDAP 15010006).

29.- CANALES DE K⁺ DEPENDIENTES DE Ca⁺² EN CILIOS DE NEURONAS OLFATORIAS. (Ca²⁺-dependent K⁺ channels in cilia of olfactory neurons). Castillo, K; Jorquera, O; Saavedra V; Bacigalupo J; Wolff, D. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias e Instituto Milenio CBB, Universidad de Chile.

Existen evidencias que en las neuronas olfatorias participan una conductancia catiónica inespecífica dependiente de AMP cíclico (CNGC) y otra de Cl $^{\circ}$ dependiente de Ca $^{2+}$ en la transducción excitatoria y una conductancia de K $^{+}$ -dependiente de Ca $^{2+}$ ($K_{\rm Ca}$) en la transducción inhibitoria. Estas conductancias de transducción se encuentran en los cilios de estas células. La $K_{\rm Ca}$ ha sido examinada en parches escindidos de cilios, pero esta técnica no permite su caracterización farmacológica. Con este fin optamos por la técnica de incorporación en bicapas planas de fosfolípidos de canales presentes en una fracción purificada de membranas ciliares.

Mediante Western blot de la fracción ciliar demostramos la presencia de adenilato ciclasa III, del canal CNGC, proteínas específicas de la transducción olfatoria, y de un canal de K_{Ca} de 116 KD, lo que indica que la preparación está enriquecida en cilios

Nuestros resultados muestran la incorporación de canales de K^* en bicapas. Hemos identificado un canal K_{Ca} de 210 pS, similar al observado con patch clamp en cilios, y otro de 80 pS que es bloqueado por Ca²*. Estos hallazgos apoyan la existencia de canales K_{Ca} en los cilios, que participarían en la respuesta inhibitoria a odorantes, y abren las puertas para su caracterización farmacológica.

Proyectos Fondecyt 1020964 y MIDEPLAN ICM P99-031-F.

NEUROCIENCIA -FARMACOLOGIA

30.- EFECTO DE ASFIXIA PERINATAL EN LA NEUROGÉNESIS DE HIPOCAMPO: ESTUDIOS IN VIVO E IN VITRO. (Effects of perinatal asphyxia on hippocampal neurogénesis: In vivo and in vitro analysis). Morales P¹, Fiedler JL², Bustamannte D¹, Huaiquún P, González C, and Herrera-Marschitz M^{1,3}. Programa de Farmacología Molecular & Clínica, ICBM, Facultad de Medicina; ²Laboratorio de Neurobioquímica, Facultad Ciencias Químicas & Farmaceúticas, Universidad de Chile; ³Dept of Physiology&Pharmacology, Karolinska Institutet, Sweden.

En los mamíferos la proliferación y migración neuronal se restringe a la etapa gestacional; sin embargo en el giro dentado del hipocampo la generación de nuevas células continúa hasta la adultez. Esta neurogénesis se le ha relacionado como una respuesta al proceso cognitivo, memoria y al daño neuronal.

La asfixia perinatal, un insulto metabólico prominente, induce disfunciones neurológicas a corto y largo plazo. Se propone investigar mediante estudios *in vivo* e *in vitro* los efectos a corto y largo plazo de la asfixia perinatal sobre la neurogénesis del hipocampo de la rata.

La asfixia se induce por inmersión de fetos contenidos en cuernos uterinos, en un baño a 37 °C, durante 0-20 min. Siete días después del insulto, se realizan estudios *in vivo* o bien se preparan cultivos organotípicos de hipocampo, para evaluar efectos de la asfixia sobre la proliferación celular, empleando marcadores de mitosis y fenotipo neuronal y glial. Existe un incremento significativo de la proliferación neuronal en ambos modelos respecto a los controles, indicando que la neurogénesis ejercería un rol protector del SNC frente insultos metabólicos.

Agradecimientos:Fondecyt1000-626

31.- DISECCION FARMACOLOGICA DE LOS RECEPTORES PARA NEUROTRANSMISORES EN LOS CUERPOS FUNGIFORMES DE DROSOPHILA. (Pharmacological Dissection of the Mushroom Bodies Neurotransmitter Receptors). Maureira, C.* y Labarca, P. CECS, Valdivia. *Prog. Doctorado Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

En Drosophila los cuerpos fungiformes (MBs) son estructuras anatómicas del cerebro esenciales para la adquisición y retención de información olfativa. En los MBs se expresan los genes que permiten los cambios conductuales de aprendizaje y memoria. Las propiedades electrofisiológicas de estas estructuras y su funcionamiento durante la adquisición y retención de información olfativa son desconocidas. Hemos realizado estudios electrofisiológicos, in vivo, de los MBs de individuos adultos de Drosophila dirigidos a determinar los neurotransmisores relacionados a los MBs. Intervenciones farmacológicas con agonistas y antagonistas de receptores para neurotransmisores en combinación con la eliminación química de los MBs proporcionan evidencia funcional de los neurotransmisores asociados a estas estructuras. Los resultados muestran: participación funcional de acetilcolina en la transmisión sináptica dependiente de los cuerpos fungiformes. Similarmente, receptores para dopamina participan en la modulación de la actividad eléctrica dependiente de los MBs. La neurotransmisión inhibitoria, mediada por receptores para GABA, ocurre en los MBs pero no es dependiente de ellos. Receptores para glutamato no participan significativamente en la transmisión sináptica dependiente de los MBs. Estos resultados proporcionan una estrategia para realizar investigaciones electrofisiológicas del funcionamiento de los MBs y el establecimiento de un correlato electrofisiológico al aprendizaje y memoria en Drosophila.

Agradecimientos: Fondecyt, HHMI, Iniciativa Científica Milenio, empresas CPMC, Telefónica del Sur y Banco Santander.

32.- EFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE CLOMIPRAMINA EN EL APRENDIZAJE VISUO-ES-PACIAL EN RATAS LONG EVANS (HOODED)(Effects of administration of clomipramine on visuo-spatial learning in Long Evans rats). Burgos H.¹, Mardones L.¹, Campos M.¹, Pérez E.¹, Rojas C.¹, Castillo A.¹, De la Parra G.¹, Vidal A.¹, Hernández A.², Fernández V.³. ¹Laboratorio de Conducta, Escuela de Psicología, Universidad Santo Tomás; ²Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile; ³ Programa de Fisiología y Biofísica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Los antidepresivos tricíclicos disminuyen trastornos afectivos emocionales mediante en bloqueo de la recaptación de monoaminas centrales. A pesar que los efectos ansiosos influyen en el desempeño cognitivo, no se han medido aún los efectos de antidepresivos en la memoria. Se estudió el efecto de la administración de clomipramina (inhibidor preferencial de la recaptación de serotonina) en la memoria visuo-espacial de ratas utilizando el laberinto radial octogonal de Olton. Los resultados mostraron que clomipramina (10 mg/kg/dia i.p. durante 18 días) aumentó significativamente el número de errores y el tiempo de recorrido total en el laberinto. Estos resultados indican que clomipramina decrementa el aprendizaje espacial lo que puede relacionarse al aumento de la disponibilidad de serotonina central con su conocido efecto antidepresivo.

Proyecto 17/2002 Universidad Santo Tomás.

33.- FITOQUÍMICA Y ACTIVIDAD BIOLOGICA DE *Ugni molinae* **Turcz.** ("MURTILLA"). (Phytochemistry and biological activity of *Ugni molinae* Turcz. ("Murtilla")). **Avello, M.**¹, Pastene, E¹., Lamperti, L.¹, De Diego, M.¹, Ahumada, F.², Ulloa, N, Silva, V.¹ 'Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción. ² Facultad de Veterinaria, Universidad Austral de Chile. maavello@udec.cl

En el estudio de la especie nativa Ugni molinae Turcz. ("Murtilla"), se profundizan los conocimientos de las propiedades antioxidantes de las fracciones activas en diferentes modelos de oxidación, con el objetivo de relacionar estos resultados con los obtenidos al estudiarlas como protectoras de la oxidación de LDL inducida por iones cobre. Se realizaron experimentos que demuestran la actividad quelante de trazas de metales de transición como hierro y cobre de las fracciones acetato de etilo y metanol, la capacidad captadora de radicales hidroxilo y actividad frente a la peroxidación lipídica, evaluada mediante los ensayos in vitro, TRAP y ORAC. Ambas fracciones mostraron actividad a 1, 10 y 100 ppm de extracto seco. Además, como estudio previo a los futuros ensayos en cultivos celulares se desarrolló un método para estudiar la actividad hemolítica de las fracciones de U. molinae. En la fracción acetato de etilo se observó indicios de hemólisis, no así la fracción metanólica en concentraciones correspondientes a 1, 10 y 100 ppm de extracto seco. También se presentan algunos avances del estudio fitoquímico y la estructura de algunos de los principales compuestos de U. molinae.

Financiamiento: Proyecto DIUC 202.074.030-1.0, Universidad de Concepción, Chile

34.- EFECTO DE LA ADMINISTRACION INTRATECAL DE MELATONINA EN LA POTENCIACION SINAPTICA ESPINAL DE LA RATA (Effect of intrathecal melatonin administration on spinal cord synaptic potentiation in the rat). Noseda, R., Garrido, A., Pérez, H. Laboratorio de Hormonas y Receptores, INTA, Universidad de Chile.

Existen evidencias que melatonina inhibe la potenciación de largo plazo hipocampal, sugiriendo que este compuesto deprime la transducción de señales dependiente de la activación del receptor NMDA. Dado que la potenciación sináptica espinal (wind-up) depende de receptores NMDA, se estudió el efecto de la administración intratecal de melatonina en el wind-up espinal de la rata. Ratas Sprague-Dawley de 150-250 g fueron anestesiadas con uretano y se evocó el reflejo nociceptivo C mediante estimulación eléctrica del campo receptivo del nervio sural. El wind-up se indujo aplicando 12 estímulos sucesivos a 0.6 Hz. Los resultados muestran que melatonina (10, 30 y 90 μg i.t.) indujo una inhibición dosisdependiente del wind-up espinal. Esta observación indica que melatonina es capaz de interferir a nivel espinal con el componente glutamatérgico mediado por receptores NMDA en la transmisión del dolor. Dado que el wind-up es el fenómeno principal que sustenta los mecanismos centrales involucrados en la mantención del dolor crónico, el presente resultado puede contribuir a futuros desarrollos sobre el potencial terapéutico de melatonina para controlar algunas formas de dolor crónico.

ECOS/CONICYT C00S02 y Lab. Hormonas y Receptores, INTA.

35.- UDP-GLUCURONILTRANSFERASA MICROSOMI-CA DE HÍGADO DE RATA. ACCION PRO-OXIDANTE DEL COBRE. (Microsomal UDP-glucuronyltransferase of rat liver. Cupper pro-oxidant effect). Pimentel, A.; Lagos, F.; Letelier, M. E. Dpto. Química Farmacológica y Toxicológica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

Se postula que la toxicidad del cobre dice relación con su capacidad de inducir estrés oxidativo (reacción de Haber-Weiss/Fenton). Investigaciones realizadas en nuestro laboratorio han demostrado que el Cu²+ además, se une inespecíficamente a proteínas y que la aparición de estos fenómenos como la extensión relativa de ellos, dependería de la concentración de Cu²+. Más aún, este metal disminuye el contenido de tioles de las fracciones microsómica y citosólica. Como una forma de diferenciar los fenómenos oxidativos y de unión inducidos por Cu²+, ensayamos la actividad UDP-glucuroniltransferásica microsómica en presencia de Cu²+ y Cu²+/ascorbato (sistema pro-oxidante). Cabe señalar que la activación oxidativa de la UDP-glucuroniltransferasa es revertida totalmente por agentes reductores de tioles.

La preincubación de los microsomas con Cu^{2+} 50 μM (en ausencia de ascorbato) inhibió la actividad UDP-glucuroniltransferásica; en cambio, concentraciones ηM de Cu^{2+} en presencia de ascorbato, activaron la UDP-glucuroniltransferasa. Sólo la activación de la enzima fue revertida por DTT. Concentraciones intermedias del metal respecto de las dos mencionadas, indujeron ambos fenómenos. Por otra parte, EDTA fue capaz de prevenir ambos fenómenos Si bien hemos demostrado que la acción pro-oxidante del cobre como su capacidad de unirse a proteínas puede alterar la actividad biológica de ellas, la validez de estos resultados *in vivo*, es algo que debe ser demostrado.

36.- EFECTO DE Cu²⁺/ASCORBATO SOBRE LAS GSH-TRANSFERASAS MICROSOMICA Y CITOSOLICA DE HÍGADO DE RATA. (Cu²⁺/ascorbate effect on microsomal and cytosolic GSH-transferases of rat liver). Faúndez, M.; Martínez, M.; Figari, P.; Letelier, M. E. Dpto Química Farmacológica y Toxicológica. Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

Las GSH-transferasas son enzimas tiólicas que catalizan la conjugación de compuestos lipofílicos-electrofílicos. Su localización principal es el citoplasma y el retículo endoplásmico de las células hepáticas. Ya que el cobre se une inespecíficamente a grupos tiólicos de las proteínas y además, en presencia de ascorbato, cataliza la generación de las especies reactivas del oxígeno, O₂- y HO, postulamos que ambos mecanismos pueden afectar la actividad enzimática de estas proteínas.

La preincubación con Cu^{2+} y Cu^{2+} /ascorbato de las fracciones microsómica y citosólica, inhibieron la actividad GSH-transferásica y disminuyeron sus contenidos tiólicos. La Vmáx_{app} de la isoenzima microsómica no varió significativamente y la de las isoenzimas citosólicas disminuyó. Las Km_{app} para GSH y 1-Cloro-2,4-dinitrobenceno de la isoenzima microsómica fueron mayores que las de la enzima control: Sin embargo, estas Km_{app} de las isoenzimas citosólicas no fueron significativamente diferentes a aquellas de la enzima control. Por otra parte, ambas fracciones subcelulares disminuyeron el consumo de oxígeno inducido por Cu^{2+} /ascorbato.

La inhibición de las actividades GSH-transferásicas inducida por Cu²⁺/ascorbato, se debería tanto a la unión del Cu²⁺ a las isoenzimas, como al efecto pro-oxidante de dicho sistema. La alta concentración hepática de estas transferasas, representaría un eficiente mecanismo de destoxificación frente a la hepatoxicidad del cobre.

37.- CARACTERIZACION DE LA GLUTATION S-TRANSFERASA DE MEMBRANAS DE MÚSCULO ES-QUELETICO DE CONEJO (Characterization of Glutathione S-Transferase in rabbit skeletal muscle membranes) *Aracena, Py **Letelier, M. E. *Laboratorio de Membranas Biológicas, ICBM, Facultad de Medicina y **Laboratorio de Farmacología, Departamento de Química Toxicológica y Farmacológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Las Glutatión S-Transferasas (GSTs) son proteínas tiólicas presentes en una variedad de tejidos. Éstas catalizan la conjugación de endo/xenobióticos electrofílicos/lipofílicos con glutatión (GSH). Además, son transportadores intracelulares de compuestos lipofílicos y pueden reaccionar no enzimáticamente con moléculas altamente electrofílicas. Hemos encontrado actividades GST en músculo esquelético, asociadas a las fracciones soluble (\$100:citosol) y particulada (P100: enriquecida en retículo sarcoplasmático y túbulo transversal). Ambas actividades fueron similares a las encontradas en citosol y microsomas hepáticos, en términos de parámetros cinéticos y reactividad frente a N-etilmaleimida y mersalilo; sin embargo, su actividad específica difirió de sus contrapartes hepáticas. El tratamiento de P100 con glutatión oxidado aumentó la actividad GST en un 20% (EC₅₀~75 µM), mientras que no produjo efectos sobre la actividad observada en microsomas hepáticos. La función de las GSTs en músculo esquelético no se ha esclarecido; nosotros proponemos que dicha función estaría más relacionada con el transporte intracelular que con el metabolismo de xenobióticos. Actualmente estamos analizando la capacidad de las GSTs asociadas a P100 para regular la homeostasis local de GSH en respuesta a modificaciones redox de la proteína.

38.- EFECTO A LARGO PLAZO DE MELATONINA SOBRE EL WIND-UP ESPINAL EN RATAS: ROL DE PINOLINA. (Long-term effect of melatonin on spinal cord wind-up in rats: role of pinoline). Mondaca, M., Soto-Moyano, R.*, Valladares, L. *, Hernández, A. Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile; * INTA, Universidad de Chile.

Melatonina posee un efecto inhibitorio sobre el wind-up espinal y además ejerce efectos a largo plazo en la memoria espacial y en la potenciación sináptica de largo plazo, acciones que se fundamentan en la activación de receptores NMDA y sus mecanismos de transducción. Se estudió el efecto a largo plazo de melatonina sobre el wind-up espinal, así como el efecto de la inhibición de la vía metabólica degradativa de melatonina a pinolina. Un grupo de ratas recibió una dosis única de melatonina (10 mg/kg i.p.). Otro grupo recibió la misma dosis de melatonina junto con 0,5 mg/kg i.p. de eserina. Un tercer grupo recibió el solvente etanólico de melatonina. Siete días después se evaluó el wind-up espinal. a través de la ganancia del reflejo nociceptivo C frente a estimulación eléctrica repetitiva. Los resultados revelan que melatonina indujo una inhibición a largo plazo del wind-up espinal, y que eserina previno parcial pero significativamente este efecto. Estos resultados sugieren que la acción a largo plazo de melatonina en el wind-up espinal se ejerce a través de efectos genómicos de pinolina. Sin embargo, no se puede descartar un efecto de eserina en los sistemas colinérgicos espinales.

(Laboratorio de Hormonas y Receptores, INTA)

39.- SISTEMAS OPIOIDES Y POTENCIACION DEL EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE VENLAFAXINA Y CLOMIPRAMINA POR ANTAGONISTAS 5-HT_{1A} (Opioidergic systems and potentiation of the antinociceptive effect of venlafaxine and clomipramine by a 5-HT_{1A} antagonist). Marchand, F.¹, Alloui, A.¹, Hernández, A.², Pelissier, T.³, Ardid, D.¹, Eschalier, A.¹¹EMI 9904 INSERM/ UdA, Facultad de Medicina, Universidad de Clermont1, Clermont-Ferrand, ²Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, ³ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se estudió el efecto antihiperalgésico de las combinaciones de WAY 100,635 con venlafaxina, clomipramina y desipramina, inyectados en formas aguda o repetida (cada vida media), así como la influencia de naloxona, en ratas con mononeuropatía inducida por ligadura del nervio ciático. La hiperalgesia fue evaluada mediante el test de Randall-Selitto. Los resultados mostraron que el efecto antihiperalgésico de venlafaxina aguda (6 mg/kg i.v.) y de venlafaxina repetida (2,5 mg/kg/inyección s.c.) fue incrementado por WAY 100,635. El antagonista 5-HT_{1A} también aumentó el efecto antinociceptivo de clomipramina (1,5 mg/kg/inyección s.c.), pero no el de desipramina (1,5 mg/kg/inyección s.c.). Naloxona (1 mk/kg i.v.) redujo el efecto de clomipramina + WAY 100,635, pero no modificó el efecto de venlafaxina + WAY 100,635. Se concluye: (1) el antagonista 5-HT_{1A} aumenta el efecto antihiperalgésico de los antidepresivos mixtos; (2) esta interacción no involucra al sistema noradrenérgico; (3) este efecto sinérgico no involucra sistemas opioides en el caso de venlafaxina; y (4), el sistema opioide involucrado en la acción de clomipramina no estaría relacionado a su efecto serotonérgico.

FONDECYT 1010611, ECOS/CONICYT C00S02 y Grant de IUD.

40.- EFECTO DE LA ADMINISTRACION INTRATECAL DE ESTRADIOL EN LA TRANSMISION DEL DOLOR A NIVEL ESPINAL (Effect of intrathecal administration of estradiol on spinal cord pain transmission) Sáez, H.¹, Pérez, H.², Constandil, L.¹¹Laboratorio de Neurobiología, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, ²INTA, Universidad de Chile.

Observaciones clínicas han asociado cambios en los niveles de estrógeno con prevalencia de cuadros dolorosos. Por otra parte, estudios en animales de experimentación muestran que estradiol ejerce un efecto antinociceptivo en diversos tests algesimétricos. Se estudió el efecto de la administración intratecal de B estradiol en el curso temporal de la transmisión del dolor en ratas machos, evaluada a través del reflejo nociceptivo mediado por fibras C. Los resultados mostraron que 10 y 50 ng de \(\hat{\beta} \) estradiol no inducen cambios en la respuesta integrada C, mientras que 100 ng de la hormona inducen inicialmente una depresión del reflejo nociceptivo C (estadísticamente significativa a los 5 y 15 min post-inyección), seguida de un aumento de la actividad nociceptiva C (estadísticamente significativo al minuto 60 post-invección). Este estudio indica que \(\beta \) estradiol modula en forma compleja la transmisión espinal del dolor, ejerciendo efectos antinociceptivos tempranos, seguidos de una acción pronociceptiva más tardía. Este efecto bifásico puede estar ligado a acciones no-genómicas (receptores de membrana) y genómicas (receptores intracelulares) de la hormona a nivel espinal, respectivamente. ECOS-CONICYT C00S02.

41.- EFECTO DE KETAMINA Y AZUL DE METILENO EN LA TRANSMISION NOCICEPTIVA ESPINAL: ESTUDIO COMPARATIVO EN RATAS NORMALES Y MONOARTRÍTICAS. (Effect of ketamine and methylene blue on spinal cord nociceptice transmission: Comparative study on normal and monoarthritic rats). Laurido, C.¹, Pérez, H.², Paeile, C.³, Pelissier, T.³¹ Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, ² Laboratorio de Hormonas y Receptores, INTA, Universidad de Chile, ³ Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El receptor NMDA y sus mecanismos de transducción intracelular tienen un rol clave en la generación y mantención del dolor. Se estudió el efecto de ketamina (antagonista no competitivo del receptor NMDA) y de azul de metileno (inhibidor de la guanilato ciclasa soluble), administrados i.t., en la potenciación sináptica espinal (wind-up) evocado por estimulación repetitiva supramáxima (0,6 Hz) del campo receptivo del nervio sural en ratas normales y monoartríticas (inyección intraarticular de adyuvante de Freund completo). La ganancia del reflejo C se utilizó para estimar el wind-up espinal. Los resultados mostraron que el wind-up espinal es más sensible a ketamina i.t. y azul de metileno i.t. en los animales monoartríticos, comparados a los normales. Los presentes resultados indican que los animales con dolor crónico presentan una sensibilidad aumentada tanto a antagonistas del receptor NMDA como a inhibidores de la cascada NO/ GMPc, lo que abre perspectivas para el uso de combinaciones farmacológicas de esta naturaleza en la clínica. FONDECYT 1000695 y DICYT 020143LF

42.- POZAS DE VESICULAS, DEPENDENCIA DE CAL-CIO Y PLASTICIDAD SINAPTICA DE CORTA DURA-CION EN LA JUNTURA NEUROMUSCULAR DE MUTANTES DE DROSOPHILA. Ramón A. Jorquera^{*†}, Carolina Oliva^{*} y Pedro Labarca^{*}. [†]Facultad de Ciencias, UACH.. *CECS, Arturo Prat 514, Valdivia.

La disponibilidad de pozas de vesículas sinápticas, su dinámica de movilización y regulación son cruciales para mantener la transmisión sináptica y cambios uso dependiente de la eficacia sináptica. Dos pozas de vesículas sinápticas se encuentran en el botón sináptico: la lista para liberar (RRP) y de reserva (RP). Investigamos el rol de las pozas de vesículas en dos tipos de plasticidad sináptica de corta duración, la potenciación posttetánica y la depresión sináptica a 0.2 y 2 mM [Ca2+]Ext respectivamente. Combinamos estudios de imágenes de FM1-43 para visualizar la dinámica de las vesículas y la electrofisiología para seguir los cambios usos dependientes de la transmisión sináptica. Usamos Drosophila como modelo experimental tomando ventaja de las mutantes que tienen alterada la movilización de vesículas en la juntura neuromuscular. Nuestros resultados muestran que la potenciación post-tetánica depende fuertemente de la movilización de vesículas desde RP inducida por la estimulación de alta frecuencia. Por otra parte encontramos que la recuperación de la depresión sináptica depende esencialmente de la disponibilidad de vesículas en RRP y no de RP. Estos resultados sugieren que la contribución de las pozas de vesículas inducida por la estimulación de alta frecuencia en los fenómenos de plasticidad sináptica de corta duración es dependiente de [Ca2+]Ext.

MECESUP, Fondecyt, HHMI, ICM. CMPC, Telefónica del Sur y Banco Santander.

43.-EFECTO DE LA ADMINISTRACION INTRATECAL DE INTERLEUCINA-1 EN LA POTENCIACION SINAPTICA ESPINAL EN RATAS NORMALES Y MONOARTRITICAS. (Effect of intrathecal administration of interleukin-1 on spinal cord synaptic potentiation in normal and monoarthritic rats). Hernández, A.¹, Muñoz, C.², Constandil, L.¹¹Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, ²INTA, Universidad de Chile.

Existen evidencias que sugieren que las citoquinas producidas por la glía del cuerno dorsal pueden estar envueltas en la mantención del dolor crónico. Por ejemplo, las neuronas pueden expresar receptores para algunas citokinas y, además la administración intratecal de interleucina-1 e interleucina-6 induce hiperalgesia y alodinia en ratón y rata respectivamente. Se estudió el efecto de la administración intratecal de interleucina-1 en la potenciación sináptica espinal (wind-up) en ratas normales y monoartríticas (adyuvante de Freund intra-articular), a través de la ganancia del reflejo C evocado por estimulación repetitiva (1 Hz) del campo receptivo del nervio sural. A dosis bajas (0.5 y 2.0 ng i.t.) interleucina-1 aumentó en 40% la actividad wind-up espinal en ratas normales, mientras que a dosis mayores (8.0 ng i.t.) no indujo cambios significativos. La administración intratecal de dosis equivalentes de interleucina-1 no cambió significativamente el wind-up espinal en las ratas monoartríticas. Los resultados indican que interleucina-1 incrementa los fenómenos de potenciación sináptica espinal mediados por fibras C en ratas normales, pero que en ratas con dolor crónico ocurren cambios adaptativos en el cuerno dorsal que minimizan el efecto de esta citoquina.

FONDECYT 1010611.

BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR VEGETAL

44.- LOS RESIDUOS DE CISTEINA EN EL FACTOR DE TRANSCRIPCION TGA1A DE TABACO PARTICIPAN EN SU UNION A LA SECUENCIA AS-1. (Cysteine residues in tobacco TGA1a transcription factor are involved on its binding to *as-1* sequences). **González, L.F.** y Holuigue, L. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

En eucariontes un mecanismo de control de expresión génica ocurre a nivel transcripcional. En tabaco, ciertos genes expresados en respuesta a estrés poseen una secuencia promotora denominada as-1, la cual es reconocida por el factor de transcripción TGA1a. Resultados de este laboratorio han demostrado que genes controlados por as-1, son activados transcripcionalmente mediante un mecanismo que involucra señales oxidativas. Por tanto, nuestro interés es estudiar si tal regulación transcripcional podría ocurrir a través de la modificación oxidativa del factor TGA1a.

El TGA1a posee 6 residuos de cisteína como potenciales blancos de modificación oxidativa. La unión de TGA1a a la secuencia as-1 es inhibida por alquilantes u oxidantes de tioles, efecto revertido por reductores como DTT, glutatión o tiorredoxina. También, hemos obtenido cinco mutantes de TGA1a en los cuales se han reemplazado 1 ó 2 cisteínas por serinas. Todos los TGA1a mutantes presentan una disminución en la unión a la secuencia as-1 con respecto a la proteína no mutada, especialmente en mutantes con el reemplazo de la cisteína 4 ó 34. Asimismo, en una mutante con el reemplazo simultáneo de las cisteínas 250 y 256, la unión es casi completamente abolida. La importancia de estos resultados es discutida considerando previos reportes de regiones en el TGA1a de unión a as-1.

45.- RESPUESTA DE PLANTULAS DE TOMATE AL TRATAMIENTO CON BIOPESTICIDAS: QUITINASAS Y β-1,3-GLUCANASAS (Tomato seedlings response to treatment with biopesticides: chitinases and β-1,3-glucanases) Gajardo, A.^{1,2}, Silva, P.^{1,2},Pérez, LM¹. ¹Laboratorio de Bioquímica, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello y ²Universidad de Chile. lperez@unab.cl

Fondecyt 3000042

Las raíces de plantas de tomate son atacadas por diferentes hongos patógenos, reduciendo la productividad de la planta o eliminándola completamente. Una alternativa al uso de pesticidas químicos para controlar a estos patógenos, es la utilización de biopesticidas (antagonistas). La selección de los mismos debe considerar, además de su capacidad fungicida y/ o fungistática, la posible inducción de proteínas de defensa en el tejido vegetal como complemento a la actividad antagónica. Las plántulas de tomate fueron inoculadas en sus raíces con el aislado de Trichoderma harzianum THV o con Bacillus lentimorbus, en presencia o ausencia del patógeno Fusarium solani. Se analizó el patrón de expresión de quitinasas y β-1,3-glucanasas, enzimas involucradas en defensa vegetal. La expresión de estas enzimas en la porción aérea de las plantas se modificó en respuesta a THV y F. solani; mientras que en las raíces, la alteración en la expresión de enzimas dependió del microorganismo inoculado. Los resultados sugieren la inducción de una respuesta SAR y la presencia de diferentes mecanismos de control del patógeno por parte de los biopesticidas.

Financiado por FONDECYT 1990785 y DI 77-00 UNAB.

46.- EFECTO COMBINADO DEL FRÍO Y FACTORES QUE CAUSAN DESHIDRATACION EN LA ACUMULACIÓN DE DESHIDRINAS Y SACAROSA EN Deschampsia antarctica Desv. (Combined effect of cold and dehydration stress on dehydrin and sucrose content in Deschampsia antarctica Desv.). Olave-Concha N., Zúñiga A., Estay A., Bravo L.A. y Corcuera L.J. Laboratorio Fisiología Vegetal. Departamento Botánica. Facultad Ciencias Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción.

Las deshidrinas son proteínas que se acumulan en las plantas en respuesta a estímulos ambientales que causan deshidratación celular. Esta deshidratación causa la acumulación de solutos compatibles. Deschampsia antarctica, una de las dos plantas vasculares que ha colonizado la Antártida Marítima, acumularía deshidrinas y sacarosa en respuesta a una disminución en su contenido hídrico. Los azúcares solubles totales (AST) disminuyen entre un 16 y un 27% entre tratamientos (frío/sequía, frío/salinidad y frío/ABA por 24 horas). En frío/ salinidad se produjo un leve aumento de AST de 5,3%. El contenido de sacarosa aumentó entre un 8,3 y 152% al término de los tratamientos. Los mayores aumentos se observaron en frío y en frío/ABA. El tratamiento frío mostró acumulación de una deshidrina de 42kDa, junto con una deshidrina de 32kDa en los tratamientos frío/sequía y frío/ABA, y una deshidrina de 40 kDa sólo en frío/sequía. En el tratamiento frío/salinidad no se observó deshidrinas. La acumulación de deshidrinas y sacarosa en D. antarctica no se relacionan necesariamente con el contenido hídrico, ya que éste no varió significativamente durante los distintos tratamientos. FONDECYT 200136 - 200144

47.- LOS KAURENOLIDOS Y ACIDOS FUJENOICOS SON PRODUCTOS LATERALES DE LA GA₁₄ SINTETASA EN GIBBERELLA FUJIKUROI (Kaurenolides and fujenoic acids are side products of GA₁₄ synthase in Gibberella fujikuroi). Urrutia, O., Cruz, C. y Rojas, M.C. Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

El hongo filamentoso Gibberella fujikuroi es un eficiente productor de ácido giberélico (GA₃), fitohormona derivada del ent-kaureno a través de una serie de reacciones de oxidación. Además, el hongo produce pequeñas cantidades de kaurenolidos y ácidos fujenoicos, derivados del ent-kaureno que no son intermediarios en la vía principal de síntesis de giberelinas. En este trabajo investigamos el origen metabólico de los kaurenolidos y ácidos fujenoicos y demostramos que son productos laterales de la GA14 sintetasa, monooxigenasa multifuncional que cataliza 4 etapas sucesivas en la síntesis de GA3. Utilizando la mutante SG139 de Gibberella fujikuroi (que no contiene los genes de la síntesis de giberelinas) transformada con el gen de la GA14 sintetasa demostramos la conversión de ácido 14C-kauradienoico en 14C-kaurenolidos, así como la conversión de ácido ¹⁴C-6β,7β-diOH-kaurenoico en ácidos fujenoicos. Estas reacciones están ausentes en SG139. La fuente de electrones para estas transformaciones fue investigada en microsomas obtenidos del micelio de las transformantes. Estos resultados, junto con la inhibición de la síntesis de kaurenolidos y ácidos fujenoicos por los sustratos de la GA₁₄ sintetasa, demuestran que éstos son producto del mecanismo catalítico de esta monooxigenasa

Trabajo financiado por FONDECYT 1020140 y DID ENL 2001/

48.- ACTIVIDAD ELICITORA E INDUCTORA DEL CRECIMIENTO DE UN POLISACARIDO SOLUBLE Y DE UN OLIGOSACARIDO DEL ALGA ROJA Schizymenia binderi. (Activity as elicitor and growth inductor of a soluble polysaccharide and oligosacharide from the red alga Schizymenia binderi). Mejías, E., Matsuhiro, B. y Moenne, A., Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Schizymenia binderi es un alga roja de la familia Nemastomatoceae, del orden Gigartinales (Rhodophyta). Se encuentra preferentemente en Chile central y Perú. Se ha determinado que otras especies del genero Schizymenia producen un tipo especial de carragenano sulfatado con interesantes propiedades biológicas. En este trabajo se caracterizó químicamente el polisacárido soluble de S. binderi. Además se obtuvo un oligosacárido a través de depolimerización mediada por radicales libres, cuyo peso aproximado es de 10.000. Plantas de tomate se asperjaron con soluciones del polisacárido entero y del oligosacárido, encontrándose que sólo éste último estimulaba el crecimiento. Por otra parte, con el fin de determinar la capacidad elicitora del polisacárido soluble y del oligosacárido, se determinó la concentración de proteínas totales y las actividades enzimáticas de fenilalaninaamonio liasa (PAL) y peroxidasas totales (POX). Para ello, se dañaron mecánicamente plantas con la posterior adición de soluciones de polisacárido entero y del oligosacárido, realizándose la detección a 3, 12 y 24 h. La actividad PAL aumentó a las 24 h en los grupos de plantas tratadas con el polisácarido entero tanto como en aquellas tratadas con el oligosacárido. Financiado por proyecto FONDECYT 1010594.

49.- MECANISMOS DE PROTECCION CONTRA EL ESTRES OXIDATIVO INDUCIDO POR METALES PESADOS EN LA MACROALGA VERDE ENTEROMORPHA COMPRESSA (Protection mechanisms against heavy metal-induced oxidative stress in the green macroalga Enteromorpha compressa). Ratkevicius, N. y Moenne A., Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

La macroalga verde Enteromorpha compressa es una de las especies dominantes en regiones costeras del norte de Chile contaminadas con metales pesados, especialmente cobre y hierro. Se ha determinado que el alga proveniente de sitios contaminados es capaz de acumular grandes cantidades de estos metales y que presenta una activación de la enzima antioxidante ascorbato peroxidasa y una inhibición de la glutatión reductasa. En este trabajo, se cuantificaron los compuestos antioxidantes hidrosolubles correspondientes a glutatión reducido y oxidado, ascorbato y dehidroascorbato y polifenoles, así como la capacidad antioxidante hidrosoluble total. Además, se analizó la cantidad de lipoperóxidos como marcador de daño celular. Se observó que el glutatión total y los polifenoles están disminuido en algas contaminadas y que, por el contrario, existe un gran aumento del ascorbato total, que se acumula en forma de dehidroascorbato. Asimismo, se detectó un ligero aumento de lipoperóxidos en algas contaminadas. Estos resultados indican que el estrés oxidativo inducido por metales pesados al interior del alga es eficientemente tamponado mediante la activación de la ascorbato peroxidasa, la síntesis de ascorbato, que es oxidado posteriormente a dehidroascorbato, y la acumulación de metales pesados. Financiado por proyecto Dicyt-USACH.

50.- RESPUESTAS ANTIOXIDANTES EN Scytosiphon lomentaria (PHAEOPHYTA) EXPUESTO A RELAVES DE COBRE. (AntioxIdative responses in Scytosiphon lomentaria exposed to copper mining tailing). Contreras, L, Moenne, A & Correa, J.A. Centro de Estudios Avanzados en Ecología & Biodiversidad, Departamento de Ecología, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Ciertos iones metálicos, tales como el cobre, generan estrés oxidativo debido a la producción de especies reactivas de oxígeno. En macroalgas, a diferencia de otros organismos, se desconocen los mecanismos de tolerancia a metales pesados. El sistema costero aledaño a la Bahía de Chañaral (III Región), se caracteriza por altos niveles de metales disueltos de origen antrópico, principalmente cobre. Esto se asocia a una disminución de la diversidad biológica, dominancia de pocas especies de algas oportunistas, entre ellas *Scytosiphon lomentaria*, y una elevada densidad de herbívoros. Nuestro trabajo evalúa la capacidad de respuesta al estrés oxidativo de esta especie, para explicar la presencia diferencial de macroalgas en lugares impactados.

Nuestros resultados demuestran que tanto las actividades de enzimas antioxidantes (catalasa, glutatión peroxidasa, dehidroascorbato y monodehidroascorbato reductasa, superóxido dismutasa y ascorbato peroxidasa) como la capacidad antioxidante hidrosoluble total y la concentración de compuestos antioxidantes hidrosolubles (ascorbato, glutatión y polifenoles), son significativamente mayores en individuos de S. lomentaria provenientes del sitio impactado. Estos resultados indican que S. lomentaria responde eficientemente al estrés oxidativo asociado a altos niveles de cobre mediante la activación del sistema antioxidante. Además, dicha respuesta explica la persistencia de esta especie en sitios aún bajo efecto de relaves de cobre en la zona de Chañaral. FONDAP 1501000-1

BOTANICA

51.-ES RESPONSABLE LA ESTRUCTURA Y ORGANIZACION DEL BOSQUE EN SU CAPACIDAD CONSERVATIVA?. (Are the structure and organization of the forest responsible for its conservative capacity?). San Martin, J. & Moya, Mario. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología Universidad de Talca. Casilla 747 Talca.

El bosque caducifolio de *Nothofagus glauca*, Fagaceae, es una singular y endémica formación vegetal mésica de Chile Central con representación histórica a la latitud de los 35° S. Sin embargo, desde la década del 70 el área ha sido objeto de transformación en el paisaje con remanentes fragmentados. Se postula que la fragmentación es direccional con consecuencias cuantitativas y cualitativas en la diversidad florística.

En 8.000 m² de 80 parcelas de 100 m² cada una y en sitios homogéneos del interior de fragmentos de 1, 5 y > 50 hás se registraron las especies florísticas vasculares y la densidad de sus individuos por estratos. En una tabla se determinó la biodiversidad, espectro ecològico, origen biogeográfico y calidad de las especies.

La biodiversidad florística es de 140 especies con similar distribución entre los fragmentos, pero con tendencia de aumento en los rodales costeros. El valor de H es 2,5 y J= 51,1 siendo más altos ambos en los de 5 hás. La mayor densidad se concentra en árboles y arbustos y las hierbas aumentan con la disminución de la superficie de los rodales. En el espectro ecológico dominan las especies mésicas (M) sobre las esclerófilas (E) y el índice E/M tiende a aumentar con la disminución del área de los fragmentos. Los rodales son habitats para especies endémicas (63) y nativas (68) con sólo 9 exóticas. Como especies con problemas de conservación se encuentran Nothofagus glauca, N. leoni, Austrocedrus chilensis, Citronella mucronata y Gomortega keule.

La estructura y organización de los rodales es determinante en su conservación. La sustentabilidad temporal es dependiente del clima y duración de aislamiento de los fragmentos. La mayor variabilidad en la estructura y textura de las especies se presenta en fragmentos de menor superfice.

Agradecimientos a la Universidad de Talca por su apoyo en el trabajo.

52.- ESTADO ACTUAL DE LA VEGETACION ARBOREA NATIVA EN LOS ALREDEDORES DE TEMUCO, IX REGION, CHILE. (Current state of the arboreal native vegetation in Temuco's surroundings, IX Region, Chile). González-Arratia, M. y Locher, J. Depto. Cs. Biol. y Químicas, Facultad de Cs., Universidad Católica de Temuco, Casilla 15-D, Temuco. E-mail: mgonzale@uct.cl Patrocinante: Pedro Jara S.

Se evaluó el estado actual de la vegetación boscosa nativa en la periferia de Temuco, considerando los fragmentos remanentes. Se fotointerpretó y seleccionó todos los fragmentos boscosos de más de 1 ha, en 12 km a la redonda de Temuco, determinando en terreno sus atributos más importantes (superficie, forma, tamaño, composición florística y vegetacional, la regeneración, la estructura vertical y horizontal. Utilizando material fotográfico del año 1994 y 2001 se comparó el número de fragmentos remanentes, para determinar su cambio temporal. Con estos datos es posible concluir que el 50% de los fragmentos existentes en 1994 desapareció, de los fragmentos encontrados todos presentaban una estructura y composición similar a renovales, con una baja capacidad de regeneración, alto porcentaje de especies introducidas, en definitiva se apreció una fuerte presión antrópica sobre estos ambientes que determinará la destrucción de ellos en un futuro cercano.

Agradecimientos Proyecto DIUCT 2002 -4 - 03

53.- CORRESPONDENCIA ENTRE MORFOLOGÍA FLORAL Y RELACION POLEN/OVULO EN ALSTROEMERIA (Correspondence between floral morphology and polen/ovule ratio in Alstroemeria) Rougier, D., Arroyo, M.T.K., M. Hershkovitz y R. Medel. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Se ha dicho manifiestamente que, a través de la diversidad floral interespecífica de angiospermas, existe una correspondencia entre forma y función. La literatura ha sugerido que hay una correspondencia entre tamaño floral y grado de exogamia tanto a nivel interespecífico como intraespecífico, pero la correspondencia no está tan establecida en un contexto filogenético. Las especies de Alstroemeria presentan una gama de tamaños florales y grados de exogamia. Los objetivos son: 1) establecer si existe una correspondencia entre la relación polen/óvulo y el tamaño floral y/o sus componentes morfométricos y 2) evaluar si las trayectorias filogenéticas en morfología y exogamia coinciden. Los datos preliminares muestran que existe una gama tanto de tamaño floral como de razón polen/óvulo y, al contrario de la mayoría de los resultados publicados a nivel intraespecífico, la correlación entre tamaño floral y relación polen/óvulo resulta no ser significativa. Se están estudiando secuencias de ADN que permitirán evaluar la asociación entre patrones de especiación y caracteres morfológicos. Datos moleculares preliminares revelan que la región ITS del ADN ribosomal es polimórfica, quizá relacionada con la complejidad del genoma nuclear. Se presentarán datos moleculares preliminares para dilucidar la correspondencia entre trayectorias de cambios en el tamaño floral y la relación polen/óvulo.

Agradecimientos: Fondecyt 2010039 y 1000909, y P99-103-F-ICM.

54.-PARAMETROS HÍDRICOS Y AJUSTE OSMOTICO EN TRIGO (Triticum aestivum) EN CONDICIONES DE INVERNADERO Y CAMPO. (Water parameters and osmotic adjustment in wheat (Triticum aestivum) under glasshouse and field conditions). Silva, H. y Acevedo, E. Laboratorio de Relación Suelo – Agua – Planta. Fac. de Cs. Agronómicas, Universidad de Chile.

En este trabajo se analiza la variación genotípica del ajuste osmótico (AO) y su relación con el rendimiento en 20 genotipos de trigo bajo condición de invernadero y de campo. Se postula la hipótesis que el ajuste osmótico medido en invernadero es un buen predictor del AO de genotipos de trigo establecidos en campo y que el AO está relacionado con el rendimiento en condición de estrés hídrico. En invernadero las plantas se establecieron en macetas de 4,2 kg de suelo, un grupo regadas a capacidad de campo y el otro regado al 20% de la humedad aprovechable. En campo las plantas se establecieron en dos ensayos uno regado por aspersión cada vez que la humedad de suelo alcanzaba el 50% de la humedad aprovechable y el otro no regado en toda la temporada. Se midió el potencial hídrico (Ψ) a nivel foliar, el potencial de solutos (Ψ_s) , el potencial de solutos corregido por el contenido relativo de agua (ψ_{S100}) y el potencial de solutos a turgor máximo (ψ_{sh}). El ajuste osmótico fue determinado como la diferencia del ψ_{sh} y del ψ_{S100} entre plantas estresadas y plantas no estresadas. En el ensayo de invernadero, el valor del ajuste osmótico fue más bajo (0,00 y 0,50 MPa) en comparación a los valores de campo (0,01 a 0,7 MPa). Hubo una alta interacción genotipo medio-ambiente en AO. El AO medido en invernadero no predijo el AO de plantas establecidas en campo y no hubo relación entre AO y el rendimiento en invernadero.

*Trabajo financiado por Proyecto Fondecyt 1990787.

55.- RECONSTRUCCION DE LAS CONDICIONES LIMNOLOGICAS DEL LAGO CHUNGARA A TRAVES DE REGISTROS SEDIMENTARIOS. (Limnological conditions reconstruction of Chungara lake, through sedimentary records). ¹Cruces, F., ²Urrutia, R. & ²Oscar Parra. ¹:Departamento de Botánica, Universidad de Concepción; ²:Centro EULA-Chile, Universidad de Concepción: propecto fondecyt N°1010640

La presente investigación realizó una reconstrucción de las características ambientales en el lago durante los últimos 200 años, a través de los ensambles de diatomeas y de registros químicos contenidos en un perfil sedimentario.

Para ello, se extrajo un núcleo de sedimento del Lago Chungará, en el cual se identificaron las diatomeas preservadas en la matriz sedimentaria y se determinó las concentraciones de parámetros químicos, de tal forma de relacionar la información proporcionada por ambos registros para inferir las condiciones pasadas en el lago.

Los resultados mostraron que las especie dominantes en los ensambles de diatomeas no han variado a través del tiempo, manteniéndose la dominancia de *Cyclostephanos andinae*, *Cocconeis placentula*, y algunas especies de los géneros *Cyclotella y Fragilaria*. En general, fueron las especies con menores abundancias las que presentaron la mayor variación. No obstante la alta similitud entre los ensambles identificados, fue posible establecer 3 grupos de estratos en el perfil, lo cual evidenciaría cambios en la composición de diatomeas en el Lago Chungará.

Por su parte, los registros químicos también mostraron variaciones en su concentración, indicando un aumento de la productividad y de la salinidad en los períodos más recientes (estratos superficiales). Toda esta información podría estar reflejando cambios en el nivel del agua del lago, principalmente durante la década de los ochenta y noventa.

56.- INVASION DE PLANTAS INTRODUCIDAS: CA-MINOS COMO CORREDORES DE DISPERSION EN LA VIII REGION, CHILE. (Invasion of introduced plants: the role of walking tracks as dispersal corridors in South-Central Chile). Fuentes, N., E. Ugarte, Universidad de Concepción, Departamento Botánica.

La invasión de plantas introducidas se señala como uno de los mayores problemas en ecología, biogeografía y conservación; provocan perdida y degradación de hábitat. El levantamiento de barreras geográficas debido a actividades humanas provoca intercambio de especies entre regiones antes separadas lo que actúa como un "gatillo" para la invasión.

Los caminos y ciudades actúan conectando zonas biogeográficas antes separadas, permitiendo el intercambio de especies. El objetivo de este trabajo es determinar el rol de los caminos como vías que facilitan la invasión de plantas introducidas. La transecta de muestreo se extiende desde el Cruce camino Canteras hasta el interior del Parque Nacional Laguna del Laja. Las unidades de muestreo son rectángulos de 4x500 m (eje más largo paralelo al camino) ubicados cada 500 m en el borde del camino, donde se registra la presencia de las especies. Los resultados muestran la presencia de flora nativa e introducida, por lo que el camino sería considerado una sola unidad, donde se dispersan especies. El origen de la flora introducida es principalmente europeo. La alta frecuencia de especies introducidas a lo largo de toda la transecta denotaría la habilidad de estas para adaptarse a diferentes condiciones ambientales lo que las podría convertir en potenciales especies invasoras.

Agradecimientos: FONDECYT 1000526.

57.- ESTRATIFICACION EN EL BOSQUE VALDIVIANO. (Stratification in the Valdivian rain forest.). **Jara, C.K.** y Lusk, C.H. Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile

Hoy existe un considerable debate sobre la existencia e identificación de estratos a través del perfil vertical, debido a la falta de hipótesis testeables. En este trabajo se buscó establecer si la estratificación es un patrón general en todos los rodales del bosque Valdiviano. Además se plantea una nueva metodología asentada en definiciones concretas y objetivas que sirve para detectar estratificación en el bosque.

Se midió la altura total de los árboles que presentaban un DAP superior a los 5 cm. en ocho parcelas de las cuales la mitad presentaban emergentes. Estos datos fueron sometidos a un test de aleatorización para establecer si los datos se encuentran distribuidos en forma agrupada o aleatoria a través del perfil vertical. Dos parcelas con emergentes presentaron significativa estratificación y sólo una parcela sin emergente presentó estratificación. Además, se encontró tanto para las parcelas con y sin emergentes una significativa segregación vertical de especies, resultado que está dado principalmente por las especies del sotobosque.

Por lo tanto, en este estudio no se encontró evidencia que apoye al modelo propuesto por Terborgh (1981) sobre la existencia de estratos debido a la geometría de la luz. El hecho que no todas las parcelas se hayan encontrado estratificadas puede tener relación con la dinámica de claros que crea patrones extremadamente variables de distribución vertical. Agradecimientos: FONDECYT 100367.

58.- EXPRESION Y ACTIVIDAD FOSFOENOL-PIRUVATO CARBOXILASA EN RAICES PROTEO-IDEAS DE LUPINO BLANCO DEFICIENTE EN FOSFORO (Phosphoenolpyruvate carboxylase expression and activity in proteoid roots of P-starved white lupin). Peñaloza, E., Muñoz, G. y Salvo, H. Unidad de Biotecnología, INIA Carillanca, Temuco. (epenaloz@carillanca.inia.cl). Patrocinio: Dr. Luis J. Corcuera.

Fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC) cataliza una ruta metabólica alternativa para la síntesis de piruvato en plantas. En lupino blanco (Lupinus albus), PEPC contribuye a la fijación autotrófica de carbono y acumulación de citrato en raíces deficientes en fósforo (P). Este citrato es exudado en la rizósfera, permitiéndole a la planta movilizar el P inorgánico retenido en el suelo. La exudación ocurre a través de raíces proteoideas, y está espacialmente localizada en conglomerados de raicillas "maduras". Utilizando este tejido como modelo para estudiar expresión de genes asociados a esta estrategia adaptativa, se aislaron dos fragmentos cDNA que codifican para PEPC (PEPC-A y PEPC-B). Con el objetivo de caracterizar la regulación PEPC en respuesta a P, se analizó la expresión PEPC-A y la actividad PEPC de raíces proteoideas. Hibridaciones "northern" detectaron dos transcritos que se expresan preferentemente en raicillas proteoideas maduras, lo cual confirma la presencia de al menos dos probables mensajeros que codifican para PEPC en este tejido radical. Esta expresión se correlacionó con la actividad PEPC in vitro, indicando que PEPC desempeñaría un papel esencial en tejidos radicales que acumulan y exudan citrato en respuesta a la deficiencia de P en lupino blanco.

Financiado por FIA (BIOT-01-A-36)

59.- RELACIONES HIDRICAS Y DE CARBONO EN KAGENECKIA OBLONGA Y K. ANGUSTIFOLIA EN ANDES MEDITERRANEOS DE CHILE CENTRAL. (Water relations and carbon balance in Kageneckia oblonga and K. angustifolia at the Mediterranean Andes of central Chile). Rioseco, T. y Cabrera, H.M. Inst. de Biología-Botánica, U. Católica de Valparaíso, Av. Brasil 2950, Valparaíso, Chile. heabrera@ucv.cl

Los Andes de Chile central presentan un clima mediterráneo, con la estación seca y calurosa prolongada que genera condiciones limitantes para el desarrollo y la distribución de la vegetación. En *Kageneckia oblonga* (siempreverde) y *K. angustifolia* (semidecidua) se caracterizó, estacional y diariamente, los parámetros hídricos (curvas de potencial hídrico (Ψ) y presión-volumen) y el intercambio de gases.

La oscilación diaria de los Ψ se modifican según la estación y grado de sequía. Por esto, se encuentran cambios en tasas de asimilación. En verano, los Ψ de pre-alba presentan promedios de –0.7 MPa (K.o.) y –1.2 MPa (K.a.) y al mediodía -2.5 Mpa, en ambas especies. En otoño los valores de pre-alba son cercanos a –2.0 MPa y a mediodía, de –4.0 MPa en ambas especies. Esta diferencia estacional también se presenta en tasas máximas de fotosíntesis. En verano, los valores alcanzan 9 μ mol CO_2 m²s¹ en ambas especies y 7.2 μ mol CO_2 m²s¹ para K.a. y 8.3 μ mol CO_2 m²s¹ en K.o.. Este descenso en las tasas máximas, estaría relacionado con una regulación de la conductancia estomática, evitando la deshidratación, un importante mecanismo presente en plantas de zonas mediterráneas.

CMEB-MTKA, Fon. 3990039, UCV-FID y 122.755/00, 122.763/01, 122.772/02

60.- CLIMA TERRESTRE DEL TERCIARIO DEL SUR DE SUDAMÉRICA (Southern South American terrestrial climate during Tertiary time). Hinojosa, LF.¹ & Gregory-Wodzicki, KM.². ¹Laboratorio de Sistemática y Biología Vegetal. Facultad Ciencias, Universidad de Chile. lhinojos@icaro.dic.uchile.cl. ²Lamont-Doherty Earth Observatory of Columbia University,USA.

La evolución vegetacional durante el Terciario del Sur de Sudamérica ha sido caracterizada por la sucesión temporal y espacial de cuatro tipos de Paleofloras. La sucesión de estas Paleofloras habría sido determinada por variaciones en la tectónica de la región y fuertemente ligada a la evolución climática del período. Así, la presencia de floras Neotropicales está asociada a condiciones tropicales durante el Paleoceno: Floras Mixtas a condiciones de clima "ecuable" durante el lapso Eoceno-Mioceno temprano; Floras Antárticas, en latitudes altas, a un evento de enfriamiento a partir del límite Eoceno-Oligoceno; y floras Subtropicales a un evento de calentamiento producido durante el Mioceno.

El objetivo del presente trabajo es refutar las hipótesis sobre las estimaciones ambientales de estas Paleofloras, a través de análisis univariados y multivariados de la fisionomía foliar de floras fósiles de Bolivia, Chile central y Argentina, abarcando desde 57 a 10 Ma.

Destaca en nuestro trabajo la evidencia de un evento de calentamiento durante el Mioceno, en el cual se obtienen temperaturas medias anuales no difieren significativamente de las obtenidas para el Paleoceno superior. Este evento de calentamiento habría tenido profundas consecuencias en la vegetación de las porciones centrales de la región, especialmente en la evolución de las floras Subtropicales.

Agradecimientos: FONDECYT 2000025

61.- ESTUDIO COMPARATIVO DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN INDIVIDUOS DE LOMATIA DENTATA (R. ET P.) R. BR. (PROTEACEAE) ATACADOS POR STENACIS PUNCTATUM (ERIOPHYOIDEAE). Comparative study of secondary metabolites in individuals of Lomatia dentata (R. ET P.) R. Br. (Proteaceae) attacked by Stenacis punctatum (Eriophyoideae). Torres, P. A., Becerra, J. y M. E. Casanueva. Depto. Botánica, Universidad de Concepción. Casilla 160-C. patorres@udec.cl

Existe un gran interés en el mundo por desarrollar tecnologías limpias que permitan disminuir el efecto contaminante y destructivo de la actividad humana sobre el ambiente. En tal sentido, destaca en las últimas décadas la sustitución de insecticidas organoclorados, por compuestos químicos naturales de similar acción, y de costos accesibles por países pobres o en vías de desarrollo. Es así como se ha visto un notable aumento del valor de las especies de la flora nativas que aun no han sido estudiadas, y de las cuales se desconocen los compuestos químicos que sintetizan y su potencial beneficio.

El presente trabajo presenta los resultados del estudio comparativo de los metabolitos secundarios contenidos en hojas y ramas de individuos de *Lomatia dentata* (Proteacea), especie nativa del sotobosque chileno y que manifiesta una interacción específica con el ácaro fitófago *Stenacis punctatum* n. sp. (Eriophyoidea). Se encontraron al menos 5 compuestos diferentes entre los individuos atacados y no atacados. Estos terpenos presentaron una acción acaricida variable, dependiente del tiempo, con respecto a las poblaciones de eriófidos3

62.- CYCADALES Y CYCADEOIDALES EN EL TRIASICO SUPERIOR DEL VALLE INFERIOR DEL RIO BIOBIO, CHILE. (Cycadales and Cycadeoidales in the Upper Triassic of the lower valley of Biobío River, Chile.). Moisan, P. 1; Matthei, O. 2 Leppe, M. 2 y Palma-Heldt, S. 3. 1. Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile. E-mail: fmoisan@udec.cl. 2. Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile. 3. Departamento Ciencias de la Tierra, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile.

Se entrega un aporte al conocimiento de las Cycadales y Cycadeoidales registradas en la secuencia triásica del valle inferior del Biobío, que se encuentran representadas por las especies Pseudoctenis longipinnata Anderson & Anderson, Pseudoctenis spatulata Du Toit, Pterophyllum azcaratei Herbst v Troncoso v Pseudoctenis truncata nov.sp. La edad de la zona sería del Cárnico-Rético (Triásico Superior) y se presentan con otros elementos típicos de las asociaciones paleoflorísticas del borde suroccidental del Gondwana. La presencia de los géneros Pseudoctenis y Pterophyllum en distintos estratos de la denominada Formación Santa Juana, refuerza la idea de que existen asociaciones típicas dominando en diferentes secuencias del amplio registro triásico del valle inferior del Biobío. Las asociaciones se van sucediendo en forma abrupta y muchas veces no comparten elementos comunes entre niveles. Lo anterior estaría estrechamente relacionado con el carácter mediterráneo de las floras manifestado como la dominancia de la asociación Linguifolium en ambientes anegados y de fuerte influencia costera, y la asociación dominada por Dicroidium odontopteroides en ambientes terrestres, de sedimentación lacustre o de otros cuerpos de aguas continentales. Agradecimientos: Fondecyt 2010105

63.- EVIDENCIAS BIOLOGICAS Y CULTURALES DE LA CAVERNA PIUQUENES, LOS ANDES, CHILE. Biologic and cultural evidence found in the Caverna Piuquenes, Los Andes, Chile. Rojas, G., R. Stehberg, E. Aspillaga, A. Prieto. Museo Nacional de Historia Natural, Casilla 787, Santiago.

El Alero Piuquenes se localiza en la porción media del valle Río Blanco a 2.100 msnm, el valle es de origen glacial, el Alero fue originado por la erosión de una falla en una ladera. La morrena terminal de un glacial ocluyó el lugar en el sector de confluencia de los valles Blanco y Los Leones, lo que condicionó la formación de una laguna antes de 20.000 AP. El depósito arqueológico de Caverna Piuquenes ha proporcionado una secuencia cultural del período de transición del Pleistoceno al Holoceno por tener una sucesión estratigráfica horizontal interrumpida por episodios de inundación paleolacustre que produjeron un sello natural entre las diferentes ocupaciones humanas, posteriormente alrededor de 6.000 años A.P. una avalancha cerró la caverna. Debido a estas condiciones fue posible estudiar vestigios culturales v biológicos, usando la metodología del harnero y de la flotación, se rescató carbones, semillas, huesos, líticos conchas marinas y dulceacuícolas. Las dataciones radiocarbónicas se realizaron en carbón y hueso, graficándose todos los resultados mediante el programa Tilia Graph.

Los resultados demuestran que desde antes de los 11.000 A.P. existen las condiciones ambientales requeridas para la ocupación estacional de la cordillera. Los registros de fauna, camélidos, era abundante; la diversidad de especies vegetales ocupadas en sus faenas no varían durante ese lapso, siendo variadas, la presencia de moluscos dulceacuícolas evidenciaron la entrada de la laguna a la caverna en épocas de crecida, la diversidad de líticos es alta; la costumbre de enterrar a sus muertos ocurre desde antes de los 11.000, existiendo fogones que fueron ocupados por más de 1500 años.

Concluyéndose que existieron 4 periodos de ocupaciones diferentes; que el uso de los vegetales está principalmente relacionado al combustible, sin embargo, también fueron importantes en la dieta humana, aunque, aún sin procesamiento del alimento, y que las condiciones ambientales, a esta altura de la cordillera, era similar a la actual, tanto por la presencia de las mismas especies de plantas como por la estacionalidad del acceso a la zona, faunísticamente tampoco hay grandes diferencias, presentándose actualmente las mismas especies a excepción las tropillas de camélidos en el lugar, debiéndose su desaparición a otros factores que no son precisamente los ambientales.

FONDECYT, 10000073.

64.- INTERACCION DE Encelia canescens CON ESPECIES DE DISTINTOS GRUPOS FUNCIONALES EN EL DESIERTO COSTERO DE LA CUARTA REGION DE CHILE: ¿FACILITACION O COMPETENCIA? (Encelia canescens plants in their interaction with different functional groups over the coastal desert of the fourth region of Chile: facilitation or competence?) Gutiérrez, C.(1), Ibacache, E. (1) y Aravena, R.(2) (1) Laboratorio de Ecofisiología Vegetal, Departamento de Biología, Universidad de La Serena, Chile.(2) University of Waterloo, Canadá.

La redistribución de agua dentro del perfil del suelo, característico de las plantas que realizan levantamiento hidráulico, modificaría no solamente el entorno de estas plantas sino también el de sus vecinos más cercanos. En el desierto costero de la cuarta región, por segundo año consecutivo evaluamos el comportamiento de una especie de raíces superficiales Encelia canescens, en la interacción con especies capaces de hacer redistribución hidráulica, a través de 4 tratamientos de remoción selectiva según la distribución radicular (superficial o dimórfica/profunda). Para un año moderadamente seco, el potencial hídrico del suelo, en prealba y medio día, no fue significativamente distintos entre los tratamientos. Sin embargo, el potencial xilemático de las plantas presenta diferencias significativas en todos los tratamientos. La variabilidad diaria y estacional del potencial hídrico del suelo que rodea a las raíces de E. canescens esta marcadamente influenciado por la morfología radicular del vecino más cercano.

Proyecto FONDECYT 1000035 y Compañía Minera del Pacífico (CMP)

65.- ESTUDIOS ANATOMICOS Y ANTRACOLOGICOS: COMPARACION DE LEÑOS FRESCOS Y CARBONIZADOS EN ESPECIES NATIVAS CHILENAS. (Studies in anatomy and anthracology: contrasting fresh and burned wood of native species). *Ordóñez. A.M; **Romero, M & *Solari M.E. *Laboratorio Arqueológico y de Estudios Arqueobotánicos, Museo Histórico Antropológico M. van de Maele. ** Instituto de Botánica. Universidad Austral de Chile. Casilla 567, Valdivia-Chile. Proyecto Fondecyt 1010200 L. Adán. DID-UACH N° 200154 M. Solari.

La antracología estudia los carbones vegetales provenientes de contextos naturales y de sitios arqueológicos. Ellos nos permiten reconstruir vegetaciones pasadas (Paleobotánica) o conocer los usos culturales de las especies vegetales (Arqueobotánica). La identificación microscópica de los carbones permite reconocer las estructuras lignificadas de leño original, que permanecen inalterables a pesar de la acción del fuego y del tiempo.

En este trabajo se pretende estudiar la anatomía del leño fresco en tres cortes xilológicos con un grosor de 16 μ (transversal, longitudinal-radial y longitudinal-tangencial). Para la experiencia de descubrir estas estructuras en su estado fresco y carbonizado se seleccionaron 4 especies nativas: *Araucaria araucana* (araucaria), *Fitzroya cupressoides* (alerce), *Laurelia sempervirens* (laurel) y *Nothofagus dombeyi* (Coigüe). La carbonización de las muestras se realizó en una mufla de atmósfera reductora con una temperatura de 500°C durante 20 minutos. Las observaciones microscópicas del leño fresco y de los carbones se hicieron al microscopio óptico de transmisión (Zeiss KF 2) y de reflexión (Olympus BX 60), respectivamente.

A partir de estas observaciones en los tres planos se establecieron los rasgos anatómicos distintivos que son comunes en ambos estados de la madera, necesarios para la diferenciación de las especies estudiadas. Como conclusión, podemos afirmar, que estos estudios retomados por la antracología abren la posibilidad de líneas de estudio interdisciplinario en el campo de la arqueología y la geomorfología.

66.- EFECTO DE LA RADIACION ULTRAVIOLETA-B SOBRE LA CAPACIDAD DE GERMINACION Y DESA-RROLLO DEL TUBO POLÍNICO EN POLEN DE GEVUINA AVELLANA MOL. (PROTEACEAE). (The effect of UV-B radiation on the germinability and pollen-tube growth in Gevuina avellana (Proteaceae)). Riveros, M.*, Balkenhol, C.*, Hess, S.**, Báez, P.* y Báez, A.***. * Instituto de Botánica, ** Instituto de Química, *** Instituto Estadística, Universidad Austral de Chile. Casilla 567, Valdivia, Chile. e-mail: mrivero@uach.cl. DID-UACH S-98-29.

A fines de la década de los '70s se detectó una disminución anormal de la capa de ozono, con el consiguiente aumento de radiación UV-B que alcanza la superficie terrestre. El aumento de esta radiación afecta en algún grado a todos los seres vivos, especialmente a las plantas debido a su permanente exposición y necesidad de radiación solar para satisfacer sus requerimientos energéticos. Entre otras estructuras, el polen también se ve afectado en su germinabilidad o elongación del tubo polínico.

Se determinó el efecto de la radiación UV-B sobre la capacidad de germinación (%) y longitud del tubo polínico (µm), mediante germinación *in vitro*, en polen de *Gevuina avellana* Mol. (Proteaceae), que fue sometido al efecto de cuatro tratamientos: dos relaciones fotónicas PAR:UV-A:UV-B (100:10:1 y 100:10:1,15) y dos tiempos de exposición, 2 y 4 h. El medio de cultivo utilizado fue sacarosa y gelatina (10 y 4 g respectivamente) dispuesto en portaobjetos excavados y cubiertos con cubreobjetos de transparencia de PVC. Posteriormente el polen fue puesto en una cámara de germinación a 25°C por 24 h.

Con respecto al porcentaje de germinación, los factores relación fotónica y tiempo de exposición tuvieron efectos altamente significativos (p < 0.01), obteniéndose un 62.8% para el control y 58.36% para el tratamiento 100:10:1,15- 2 h. Además, la interacción de ambos factores mostró un efecto inhibidor con el tratamiento 100:10:1,15- 4 h el que presentó un 43,1% de germinación. La longitud de tubo polínico no se vio afectada bajo ninguno de los tratamientos realizados.

67.- DIVERSIDAD Y CONSERVACION DE LAS OR-QUÍDEAS DE CHILE (Diversity and conservation of Chilean orchids). Lehnebach, C.; Riveros, M. Instituto de Botánica, Universidad Austral de Chile. Casilla 567 Valdivia, Chile. email: c_lehnebach@hotmail.com DID-UACH S-98-29

El conocimiento e información sobre el estado de conservación de las orquídeas en Chile es limitado, esto principalmente por la carencia de estudios taxonómicos y la falta de especialistas que trabajen en esta familia. Actualmente, debido al potencial horticultural que pueden tener algunas especies se han estudiado los patrones de floración, asociaciones micorrízicas y métodos de propagación vegetativa. Sin embargo, su ecología, biología y estatus de conservación permación hasta ahora disponible sobre la biodiversidad, conservación y futuro de las orquídeas en Chile.

La familia Orchidaceae en Chile esta representada por siete géneros (Aa, Bipinnula, Brachystele, Chloraea, Codonorchis, Gavilea y Habenaria) y c. 50 taxa, distribuidas a lo largo del país. Aunque ninguno de estos géneros son endémicos, el 50% de las taxa se encuentran solo en Chile. Todas las taxa son primariamente terrestres y crecen en variados hábitats (e.g. bosques, turberas, pantanos, marismas, dunas, estepas, praderas antropogénicas y orillas de caminos). Las principales amenazas a la sobrevivencia y conservación de las orquídeas chilenas son la fragmentación y destrucción del hábitat por procesos de urbanización, tala de bosques, presión de pastoreo, colonización por malezas y posiblemente colecta indiscriminada de ejemplares con valor ornamental. El efecto de estos procesos es incrementado por características reproductivas observadas en algunas especies; tales como baja fructificación, dependencia absoluta al polinizador, barreras de autoincompatibilidad y la ausencia de mecanismos de propagación vegetativa.

68.- LAS PERDIDAS DE AGUA POR INTERCEPCION EN PLANTACIONES DE PINUS RADIATA (D.DON) EN CHILE. (Interception loss in Pinus radiata stands in Chile). Huber, A y Trecaman, R. Instituto de Geociencias, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Una cantidad variable de las precipitaciones es interceptada por los bosques y reintegrada a la atmósfera por evaporación. Estas pérdidas están influidas por las características de los bosques, el clima y las precipitaciones. La forestación de una cubierta herbácea modifica las pérdidas de agua por intercepción

Debido a que existe una relación inversa entre las pérdidas de agua por intercepción y la cantidad de precipitación, la participación relativa de la intercepción en el balance hídrico de Chile debe aumentar de sur a norte. Para corroborar este supuesto se determinó la cantidad de precipitaciones que quedaron retenidas en el dosel de plantaciones coetáneas de *Pinus radiata* en distintos lugares de Chile. Cada plantación tuvo dos densidades para determinar el efecto del manejo silvícola en la intercepción.

Las menores pérdidas por intercepción se registraron en Valdivia, equivalentes al 19% de la precipitación anual (2.300 mm/a). Esta relación se incrementó hacia el norte alcanzando en Collipulli y Yumbel un promedio anual del 33 y 35 % de las precipitaciones (1.380 mm/a). A la misma latitud pero cerca de la costa, con más precipitaciones (2.600 mm/a), la intercepción disminuyó a 27%. En el secano, menos lluvioso (920 mm/a), próximo a Cauquenes, este valor ascendió al 41%. En todas las localidades, una disminución de la densidad de las plantaciones aumentó la cantidad de precipitaciones que llegaron al suelo.

69.- LEVANTAMIENTO HIDRAULICO EN TRES ESPECIES ARBUSTIVAS DEL SECANO COSTERO DE LA IV REGION, CHILE. (Hydraulic lift in three shrub species of coastal dryland in the IV Region, Chile). León, M.F. (1) & Aguirre, E.(2). (1) Depto. Biología, Universidad de La Serena, (2) Comisión Chilena de Energía Nuclear (Patrocinio: López, F.)

Factores naturales y antrópicos han sido importantes en la degradación de la productividad vegetal en zonas semiáridas, influenciando los cambios en la distribución y composición de especies vegetales y acrecentando el problema de la desertificación. El estudio verificó levantamiento hidráulico (LH) en tres arbustos del secano costero de la IV Región que exhiben arquitectura radicular dimórfica pero que difieren en hábito de vida: Pleocarphus revolutus (siempreverde), Senna cumingii (siempreverde-decidua de sequía) y Flourensia thurifera (decidua de verano). El fenómeno define el transporte nocturno de agua por las raíces desde estratos profundos y húmedos a estratos superficiales y secos del suelo donde produce eflujo de agua. El estudio se realizó en Quebrada El Romeral (29°43'S-71°14'O) durante el 2000-2001. Se reconoció LH por fluctuaciones de potenciales hídricos del suelo (Δψ_s) asociadas a un ciclo día-noche. Durante Enero-Marzo ocurrió la mayor frecuencia de plantas exhibiendo LH (>50%). F. thurifera presentó $\Delta \psi_s$ de 0,26 MPa mientras que P. revolutus y S. cumingii, 0,15 MPa. Los Δψ_s fueron detectados entre los 0,4-0,8 m del suelo coincidiendo con la mayor biomasa radicular de las plantas. El fenómeno resultaría importante en planes de revegetación de terrenos degradados en zonas semiáridas.

Proyecto FONDECYT 1000035 y Compañía Minera del Pacífico (CMP)

70.- CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y FLAVONOIDES TOTALES EN PLANTAS MEDICINALES CHILENAS AUTOCTONAS. (Antioxidant Capacity and total Flavonoid content in Autoctonal Medicinals plants of Chile). Araneda O.F. y Behn C. Laboratorio de Ambientes Extremos, Programa de Fisiología y Biofísica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

En 22 extractos hidroacetónicos de plantas medicinales autóctonas chilenas ampliamente utilizadas en la medicina tradicional de nuestro país, se determinó la capacidad antioxidante total (TRAP) y el contenido de flavonoides totales como uno de sus principales determinantes. Las plantas analizadas mostraron un gran rango de capacidad antioxidante (1.5-45 µmoles equiv. Trolox/gr de peso seco) y de flavonoides totales(1.4-108.9 mg equiv. quercetina /gr de peso seco). El mayor contenido de flavonoides totales fue para Haplopappus baylahuen (Bailahuén), Drimys winteri (Canelo), Cryptocarya alba (Peumo) y Peumus boldus (Boldo) con 108.9, 75.8, 69.9 y 62.0 (mg equiv. quercetina /gr de peso seco) respectivamente. La relación TRAP vs flavonoides totales(r = 0.80; p < 0.0001) indica que a pesar de ser una muestra heterogénea en composición, una gran parte del TRAP se explica por el contenido de flavonoides. El consumo de infusiones como Haplopappus baylahuen y Peumus boldus pueden incrementar el aporte de antioxidantes a sus consumi-

Financiado por FONDECYT 1000858.

71.-PARAMETROS DE CURVAS PRESION-VOLUMEN EN ARBUSTOS DEL SECANO COSTERO DEL NORTE CENTRO DE CHILE, 30°S. (Pressure-volume curves parameters in shrubs species from coastal desert in north-central Chile, 30°S). Corral, L.(1) & Ehleringer, J.R.(2). (1) Depto. Biología, Universidad de La Serena, (2) University of Utah (Patrocinante: Squeo, F.A.)

En las zonas áridas el crecimiento de las especies vegetales tiene como principal limitante la disponibilidad de agua. En especies arbustivas que presentan actividad durante los años secos, las bajas tasas fotosintéticas debido al déficit evapotranspirativo resultan en una productividad primaria limitada, la que es directamente proporcional a las cantidades estacionales de precipitación. En un año lluvioso, la disponibilidad de agua en el suelo resulta en altas tasas de crecimiento. La técnica de curvas-presión volumen es una eficaz herramienta para la caracterización hídrica de especies vegetales, lo que permite analizar los mecanismos de respuesta de las plantas a diferentes disponibilidades hídricas. En este trabajo se evaluaron los parámetros de curvas-presión volumen de 13 especies arbustivas nativas del desierto costero del norte chico de Chile (Quebrada El Romeral, 29°43'S-71°14'O, 300m), en dos años de precipitaciones contrastantes. Los resultados encontrados sugieren que la mayoría de los parámetros hídricos determinados (e.g., potencial osmótico, contenido relativo de agua, modulo de elasticidad, capacitancia) varían en forma estacional y entre grupos de especies con diferente hábito (deciduo/siempre-verde) y sistema radicular (raíces superficiales, dimórficas y profundas). Se concluye que no existe un único mecanismo de ajuste al cambio de disponibilidad de agua.

Proyecto FONDECYT 1.000.035 y Compañía Minera del Pacífico (CMP)

72.- EFECTO DEL NIVEL DE RIEGO EN LA SOBREVIVENCIA DE PLANTULAS DE Prosopis chilensis. (Effect of the irrigation level on the survival of Prosopis chilensis seedlings). Reyes, J., Squeo, F.A. y Gutiérrez, J.R., Depto. Biología, Universidad de La Serena, Casilla 599, La Serena. (Patrocinio Aguilera, L.)

En sistemas desérticos, el reclutamiento de especies leñosas esta fuertemente influenciado por la disponibilidad de agua. Los eventos ENOS (El Niño-Oscilación del Sur)determinan series de 3 a 5 años secos (La Niña) interrumpidos por un año lluvioso (El Niño). Los años El Niño pueden ser considerados ventanas "verdes" de oportunidades para el reclutamiento de especies leñosas. En este trabajo se determina el efecto de la disponibilidad hídrica en el reclutamiento de plántulas de Prosopis chilensis (algarrobo). El sitio de estudio se localiza en las cercanías del P.N. Bosque Fray Jorge (Región de Coquimbo). En junio del 2002 se realizó el transplante de plántulas recién germinadas (10 días) en un sistema experimental con distintos niveles de riego (0-50-100-200-400-600 mm). Quincenalmente se registró la sobrevivencia y crecimiento de las plántulas. En un invierno lluvioso (sobre 300 mm a agosto del 2002), el principal factor limitante de la sobrevivencia no fue la disponibilidad hídrica, sino la presencia de un conjunto de hongos fitopatógenos causantes del complejo "Dumping-off" (caída de plántulas), donde destacan Phytophthora spp., Phytium spp., Alternaria spp., los que proliferaron debido a las intensas precipitaciones. Además, las bajas temperaturas invernales serían un factor limitante para el crecimiento de P.chilensis.

Proyecto ELNINO (INCO-DEV ICFP500A4PR02)

73.- INTERACCION ENTRE PLANTULAS Y ARBUSTOS DE DISTINTO GRUPO FUNCIONAL EN RELACION AL USO Y DISPONIBILIDAD DE AGUA. (Interaction between seedlings and shrubs of different functional groups in relation to use and availability of water). Narria, M., Squeo, F.A. y Jorquera, C. Lab. Ecofisiología vegetal, Depto. Biología, Universidad de La Serena, Casilla 599, La Serena, Chile. (Patrocinio Cortés, A.)

El establecimiento de las plántulas en sistemas desérticos está limitado por la disponibilidad de agua. Es posible esperar diferencias en los requerimientos hídricos entre plántulas de arbustos con distinto sistema radicular. Por otro lado. los adultos pueden actuar como nodrizas para plántulas de la misma o diferente especie. Este estudio se realizó en Quebrada Romeral (29°43'S-71°15'O) en la temporada 2001-2002. Se evaluó la interacción por uso y disponibilidad del agua entre plántulas de Senna cumingii (raíz dimórfica) y Encelia canescens (raíz superficial) con adultos de Pleocarphus revolutus (raíz dimórfica) y Encelia canescens, y controles de sombra neutra y sin arbustos. El diseño experimental consideró además el factor riego (control y 50 mm). Se entregan antecedentes de crecimiento y sobrevivencia de plántulas. potencial hídrico del suelo y de las especies, fuente de agua utilizada y su uso relacionado con características del balance hídrico. En un año seco (67,3 mm), se encontraron diferencias significativas en la sobrevivencia de plántulas por efecto de la adición de riego, y la existencia de una sombra neutra, pero no se encontraron diferencias por efecto de los arbustos nodri-

Proyecto CONICYT 1000035 y Compañía Minera del Pacífico(CMP)

74.- DESARROLLO DE UN NUEVO MARCADOR SCAR DE ALTA EFICIENCIA ASOCIADO CON LA AUSENCIA DE SEMILLA PALATABLE EN UVA DE MESA. (A new, highly assertive SCAR marker associated to seedlessness in tablegrape) Mejía, N. e Hinrichsen, P. INIA, CRI La Platina. Laboratorio de Biotecnología. Casilla 439-3, Santiago. CHILE.

La uva de mesa es el cultivo frutal más importante en Chile. Para respaldar esta industria, en INIA se ha establecido un programa de mejoramiento genético destinado al desarrollo de nuevas variedades. Este se basa en la polinización controlada entre variedades apirenas (no semilladas), apoyado en un proceso de "rescate de embriones", que de otro modo abortarían. Dado que la vid produce bayas sólo cuatro años después de realizado el cruzamiento, la identificación de marcadores moleculares relacionados con la ausencia de semilla palatable sería de gran interés, creando la posibilidad de excluir los segregantes semillados en etapas tempranas de su desarrollo. Mediante una aproximación de tipo BSA (Bulk Segregant Analysis) aplicada en el cruzamiento Ruby x Sultanina (progenie #33), se identificó el marcador de RAPD WF27-2000 asociado a apirenia. Este último fue convertido en el marcador de tipo SCAR ScaF27 y fue evaluado en la progenie #33 y en distintos fondos genéticos (variedades de mesa y cepas de vino), mostrando una eficiencia cercana al 85%. Por otro lado, resultados preliminares indicarían que este marcador, correspondiente a un fragmento de 2,0 kb, contiene una secuencia de intervención del tipo retrotransposón, no descrita previamente en vides.

Financiado por el Programa de la comunidad europea, proyecto INCO-DEV. 75.- ESTUDIO DE METABOLITOS SECUNDARIOS Y ACTIVIDAD BIOLOGICA DEL HONGO Grifola gargal. Singer. (Study of secondary metabolites and biologic activity of the fungus Grifola gargal). Becerra, J.A., Garrido, N. & Silva, M., Departamento de Botánica, Facultad de Cs. Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción. Patrocinio: Alicia Marticorena

Grifola gargal es un hongo saprófito comestible comúnmente conocido como gargal, que crece asociado a Nothofagus oblicua (roble), su cuerpo frutal es multipiliado, blanco con un himenoforo irpicioide, decurrente que posee esporas hialinas subglobosas, posee sabor suave, con olor almendrado intenso, este hongo se encuentra desde principios de otoño formando poblaciones muy compactas sobre tocones de roble, pese a que este hongo presenta poca abundancia y solo hospederos nativos conocidos, no presenta signos de ser atacado por insectos u otros hongos, para este estudio los individuos se colectaron en el Parque Sta. Ana en las cercanías de Florida VIII Región, posterior a su colecta fue aislado en cultivos en medio Agar, posteriormente fue cultivado en medio liquido para su extracción y posterior análisis de metabolitos, los cuerpos frutales fueron pesados y extraídos con solventes orgánicos y fue analizado por cromatografía de

Al comparar los metabolitos secundarios que posee su cuerpo frutal y los obtenidos del cultivo; ambos presentan una gran cantidad de ac. Grasos, derivados fenólicos dentro de los que se detecto benzaldehido.

Así también se evalúo la actividad biológica que poseen sus compuestos frente a bacterias y hongos.

Agradecimientos

Se agradece a la Facultad de Cs. Naturales, y al Proyecto FDI-TT11

76.- ESTUDIO QUIMICO Y BIOLOGICO DE LAS ES-PECIES ARBOREAS DE LAS FAMILIAS WINTERACEAE, MONIMIACEAE, LAURACEAE Y GOMORTEGACEAE NATIVAS DE CHILE. Chemistry and biological study of Chilean native tree species of the family Winteraceae, Monimiaceae, Lauraceae y Gomortegaceae. Oses, R., Torres, P., Becerra, J., y M. Bittner. roses@udec.cl Laboratorio de Química de Productos Naturales, Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción. Casilla 160-C, Concepción, CHILE.

Se caracterizaron y compararon aceites esenciales de algunas de las especies arbóreas más primitivas de la flora nativa de Chile, de la Sub-Clase Magnolidae. Las especies estudiadas fueron *Drimys winteri* (canelo), *Laurelia sempervirens* (laurel), *Persea lingue* (lingue), *Laurelia philippiana* (tepa) y *Gomortega queule* (queule). Existe un gran conocimiento vernacular sobre las "fragancias" de estas especies y sus propiedades medicinales, sin embargo, no se ha reportado un estudio científico comparativo.

Los resultados indican presencia de aceites esenciales en más de una especie como 1-metil-4-(1-metiletil)-1,3-ciclohexadieno, en canelo y queule; 3-careno, en tepa y queule; camfeno, en tepa y queule; α-felandreno, en tepa y lingue; y eucaliptol, en tepa y queule. La presencia de un compuesto en más de una especie, sugiere la existencia de conexiones filogenéticas, a partir de vías metabólicas comunes. Luego, es posible proponer que las especies tepa y queule serían las especies más afines, ya que comparten una mayor proporción de los compuestos encontrados. La actividad biológica asociada indica que todos los extractos poseen actividad antifúngica y antibacteriana, destacándose los extractos de canelo.

Agradecimientos: DIUC 201.111.026-1.3

77.- ACTIVIDAD FUNGUICIDA Y ANTIBACTERIANA DE COMPUESTOS AISLADOS DESDE MADERA DE GIMNOSPERMAS CHILENAS. (Antifungal and antibacterial activity of compounds isolated from wood of Chilean Gymnosperms). Cajas, D., Flores, C. & Silva, M. Laboratorio de Química de Productos Naturales, Departamento de Botánica, Universidad de Concepción.

En la actualidad se usan de manera indiscriminada una gran cantidad de compuestos químicos en el control de plagas agrícolas y forestales que causan graves problemas al medio ambiente y a la salud de animales y seres humanos. Estos tóxicos deberían ser reemplazados en forma urgente por compuestos de origen natural amigables con el medio y capaces de proteger los productos agroindustriales del ataque de los organismos patógenos. Siguiendo esta línea de trabajo, en el presente estudio se aislaron compuestos desde madera y corteza de Araucaria araucana, Prumnopitys andina, Austrocedrus chilensis y Fitzroya cupressoides y se evaluó su capacidad para inhibir el crecimiento de hongos patógenos y saprofitos que atacan la madera como Ceratocystis pilifera, Botrytis cinerea, Pythium irregulare y Rhizopus sp., entre otros. Además, se evaluó la actividad de estos compuestos sobre el crecimiento de bacterias como Citrobacter sp., Escherichia coli, Salmonella thyphymurium y Pseudomonas sp., entre otras. Los compuestos aislados que presentaron mayor actividad inhibitoria del crecimiento sobre estos organismos fueron Norcaureno, Eudesmín, algunos lignanos y diterpenos

Los autores agradecen a la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas y al proyecto FDITT-11.

78.- HONGOS ENDOFITOS AISLADOS DE ARISTOTELIA CHILENSIS Y SU ACTIVIDAD BIOLO-GICA (Endophytic-fungi isolated from Aristotelia chilensis and their biological activity). Faundez, J., Aqueveque, P., y Silva M. Laboratorio Química de Productos Naturales. Facultad Cs. Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción

La búsqueda de nuevos productos de origen natural a través del screening de metabolitos secundarios es una actividad en expansión e inmensamente fructifera para la industria farmacéutica y agroquímica. Ultimamente han surgido compuestos con actividad antibacteriana, antifúngica, fitotóxica, nematicida, citostática y antiviral, entre los cuales, un importante porcentaje han sido aislados desde hongos endófitos. Los hongos endófitos se encuentran asociados a casi todos los vegetales superiores, los cuales en ciertas situaciones, aumentan la sobrevivencia del hospedador, produciendo sustancias tóxicas contra los predadores y patógenos.

Se investigaron endófitos de Aristotelia chilensis, como potenciales productores de sustancias bioactivas. Se aislaron 15 cepas desde hojas y tallos. Las cepas fueron cultivadas en medios líquidos esteriles bajo condiciones controladas. Finalizado el crecimiento de las cepas, el proceso se detuvo, se filtraron y extrajeron con solventes orgánicos, obteniéndose los extractos totales. Estos extractos fueron testeados contra bacterias y hongos. De este screening resultó interesante la cepa ARI002, ARI007, ARI008 y ARI009, presentando una fuerte y selectiva actividad antifúngica contra hongos fitopatógenos. ARI 007 fue fermentado a mayor escala produciendo 2 compuestos mayoritarios, donde probablemente radicaría la actividad antifúngica del hongo. Se discutirán los compuestos y el posible rol ecológico de ellos en la planta. Agradecimientos. Escuela de Graduados. Universidad de Concepción y Proyecto FDI-TT-11.

79.- CAMBIOS VEGETACIONALES Y CLIMATICOS DURANTE EL PLEISTOCENO TARDIO Y HOLOCENO EN QUEBRADA DEL CHACO, CORDILLERA DE TALTAL, CHILE (25°30'S). (Vegetational and climatic changes during later pleistocene and holocene in Quebrada del Chaco, Taltal range, Chile(25°30'S)). Maldonado,A¹, Villagrán,C¹, Betancourt,J², & Latorre,C¹. ¹Laboratorio de Palinología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. ²U.S. Geological Survey

El sitio de estudio de Quebrada del Chaco se ubica en la cordillera de Taltal (25°30'S) entre 2600-3500 msnm, a la latitud de máxima penetración altitudinal del desierto de Atacama. Esta zona está caracterizada por la ausencia de pisos vegetales bien conformados, distinguiéndose solamente los pisos subnival y pajonal, pisos inferiores están escasamente representados en quebradas.

Análisis palinológicos en paleomadrigueras de roedores de los últimos ~50.000 años A.P. muestra el dominio de Fabáceas, Quenopodiáceas y *Ephedra* hacia los ~50.000 años A.P. Cerca de 40.000 años A.P. dominio de Brasicáceas y Fabáceas en sectores bajos (2.700 msnm) y, en sectores más altos (3.500 msnm) dominio de Asteráceas y Poáceas. Entre ~20.000-10.000 años A.P. dominio de Brasicáceas y Asteráceas esectores bajos, mientras los sectores altos muestran alta diversidad de taxa, con dominio de Asteráceas y Poáceas. Hacia los ~9.000 años A.P. el polen esta dominado exclusivamente por Quenopodiáceas, las que en el último milenio son sustituidas por Brasicáceas y Fabáceas.

Estos datos sugieren fuertes cambios vegetacionales, siendo los mejores documentados un descenso de los pisos vegetales entre ~20.000-10.000 años A.P., y una aridización de la zona durante la mayor parte del Holoceno, entre ~9.000-1.000 años A.P. NSF-ESH EAR-9904838

80.- COMPARACION DE PROTEÍNAS REGULADORAS DE LA DINAMICA DEL CITOESQUELETO EN PLANTAS Y ANIMALES. (Comparison between plant and animal proteins that regulate cytoskeletal dynamics.Mercado A, Alvarez R, Meisel L. Laboratorio de Fisiología y Genética Molecular Vegetal, Depto. de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile. Instituto Milenio de Estudios Avanzados en Biología Celular y Biotecnología (CBB). Patrocinio: Dra. Liliana Cardemil.

En el genoma de Arabidopsis thaliana existen unos 20.000 genes, entre ellos los que codifican para proteínas relacionadas con el citoesqueleto. Estos pueden agruparse en familias de genes o son genes únicos. Entre las familias de genes están actina, tubulina, kinesina, miosina, Ras y otras proteinas involucradas en la dinámica del citoesqueleto y el transporte del organelos. Entre los genes únicos están Arp2 y Arp3, que forman parte del complejo Arp2/3. En animales este complejo actúa como un centro nucleador de actina y está formado por siete proteínas, pero en Arabidopsis sólo hemos detectado genes que codifican para seis de sus miembros.

Tanto en plantas como en animales, el citoesqueleto mantiene la forma celular y le otorga dinamismo para que las células puedan diferenciarse. Esto es lo que sucede en células de la columella de *Arabidopsis* que se polarizan durante el desarrollo de la raíz y en el grano de polen durante la formación del tubo polínico. Otra función que el citoesqueleto lleva a cabo en plantas y animales es el transporte de organelos. Esto se ha observado en plastidios y mitocondrias en estudios realizados en nuestro laboratorio.

Presentamos una comparación de las proteínas relacionadas con el citoesqueleto entre *Arabidopsis* y animales como primer paso para determinar el papel de estos genes en el establecimiento de polaridad en las células de la columella y del tubo polínico utilizando una estrategia de genómica funcional.

Financiamiento: FONDECYT # 1000812, ICM P99-031-F

81.- OBTENCION DE PROMOTORES RAIZ-ESPECI-FICOS, REGULADOS NEGATIVAMENTE POR FOS-FORO EN Triticum aestivum Y Arabidopsis thaliana. (Isolation of root-specific promoters from Triticum aestivum and Arabidopsis thaliana, down regulated by phosphorus). Milla, L., Titarelli, A., Salas, C., y Silva, H. Lab, Gen Mol Veg, Fac. Ciencias, U. de Chile (Patrocinio: Ariel Orellana).

La deficiencia de fosfatos(Pi) es un problema generalizado en suelos volcánicos del centro-sur y sur de Chile. En plantas, esta deficiencia se traduce en la expresión de genes específicos para aumentar la eficiencia de absorción y movilización de Pi desde el suelo. Entre estos se incluyen genes que codifican para transportadores de Pi de alta afinidad, o fosfatasas exudadas desde la raíz, descritos en modelos vegetales como Arabidopsis thaliana y tomate. Con el objetivo de identificar promotores raiz-específicos y modulados por Pi, en este trabajo, se aislaron los promotores de genes transportadores de Pi de alta afinidad desde Arabidopsis (AtPT1, AtPT2) y trigo (TaPT1 y TaPT2), además de una fosfatasa ácida de Arabidopsis (PAP1). Estudios de expresión de los genes TaPT1 y TaPT2 sugieren una mayor inducción de TaPT2 bajo deficiencia de Pi y de expresión tejido-específica. Con estos promotores se transformarán plantas de Arabidopsis y trigos modelo, monitoreados mediante la expresión de genes reporteros (GUS y YFP). El promotor más promisorio se utilizará para dirigir la expresión de genes asociados con la tolerancia a la deficiencia de Pi, en cultivares elite de trigo chileno.

Financiamiento: FIA (BIOT 01-A-36); trabajo realizado en conjunto con Peñaloza, E., Salvo, H. y Muñoz, G. Unidad de Biotecnología, INIA Carillanca.

82.- CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS EN EL LIGNOTUBER DE Cryptocarya alba (Mol.) Looser DURANTE EL REBROTE POST-FUEGO, EN EL MATORRAL DE CHILE CENTRAL. (Carbohydrate content in the lignotuber of Cryptocarya alba (Mol.) Looser during the post-fire resprout in the matorral of central Chile). Gómez, M.⁽¹⁾, Cardemil, L.⁽²⁾, Montenegro, G.⁽¹⁾. (1) Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Pontificia. Universidad Católica de Chile. (2) Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Una importante perturbación en Chile Central son los incendios forestales. Éstos ocurren durante el verano, coincidiendo con el período de carencia de precipitaciones, altas temperaturas y alta radiación solar. A pesar de estas condiciones, muchos árboles pueden rebrotar después del incendio, produciendo ramas provenientes de yemas del lignotuber. Se ha postulado que numerosas plantas de clima mediterráneo acumularían carbohidratos en este órgano. La cantidad de ellos, además de la disponibilidad de agua y recursos del suelo, serían factores importantes en el control del rebrote por parte de los árboles quemados. En este trabajo se analizó mensualmente el contenido de almidón y azúcares solubles del lignotuber de 20 individuos de C. alba durante la estación normal de crecimiento y durante el rebrote post-fuego, en una comunidad de matorral de la V región del país. La cuantificación de estos carbohidratos se hizo por análisis colorimétricos específicos para almidón y azúcares. Los resultados muestran que el contenido de carbohidratos del lignotuber de árboles quemados disminuye significativamente durante el primer mes de rebrote postfuego, manteniéndose constante durante el resto del período, mientras que en los árboles en la estación normal de crecimiento el contenido de carbohidratos se incrementa gradualmente. Ésta disminución estaría directamente relacionada con la utilización de los carbohidratos como fuente de carbono para iniciar la recuperación de la biomasa aérea.

Agradecimientos: Proyecto NIH-NSF 2U01TW00316-08

83.- VARIACION DEL ORIGEN BOTANICO DE MIE-LES PRODUCIDAS EN LA PROVINCIA DE CAUTÍN, IX REGION DE CHILE. (Botanical origin variation of honeys produced in province of Cautín, IX region of Chile). Montenegro, G.¹; Pizarro, R.¹; Pérez, JM.²; Ávila, G.¹; González, L.¹ y Castro, R.¹.¹ Depto. Ciencias Vegetales, Fac. Agronomía e Ing. Forestal, P. Universidad Católica de Chile, Chile. ² Escuela Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad Pública de Navarra, España.

La miel es un compuesto dulce, elaborado por la abeja melífera (Apis mellifera L.) a partir del néctar colectado selectivamente de flores ubicadas en las cercanías de la colmena. Su origen botánico, que puede conocerse mediante la identificación de los granos de polen que se encuentran en ella, reflejará qué especies vegetales son utilizadas durante el período del año en el que dicha miel se acumuló. Así, es posible identificar las especies más apetecidas por la abeja en cierta época del año, en una zona biogeográfica determinada.

El objetivo de este trabajo es comparar el origen botánico de mieles obtenidas durante dos temporadas consecutivas. Para esto, se colectaron 17 mieles producidas por colmenares ubicados en la provincia de Cautín. Las muestras de miel fueron estudiadas al microscopio óptico, y los datos obtenidos analizados estadísticamente. Los resultados muestran que la abeja hizo mayor uso de especies introducidas que de especies nativas para elaborar la miel en la temporada 2001-2002, comparado con la temporada 2000-2001, siendo *Lotus uliginosus* Schkuhr la especie significativamente más utilizada como fuente de néctar. Los resultados se discuten respecto a variaciones climáticas que ha presentado la zona entre ambas temporadas.

Agradecimientos Proyecto FIA C01-1-G-002 a Gloria Montenegro

84.- IMPORTANCIA DE LA RADIACION UV-A EN LA RESPUESTA DE SOPHORA MICROPHYLLA VAR. SOL AL EXCESO DE RADIACION UV-B. (Importance of UV-A radiation in the Sophora mycrophylla var. sun response to supplemental UV-B radiation). Romero, M*., González, R.*, Saez D**. Y Hess, S. **. *Instituto de Botánica, **Instituto de Química. Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

El impacto provocado por exceso de radiación UV-B puede ser atenuado por un aumento de radiación UV-A que gatilla mecanismos de aclimatación. Se estudió el efecto del aumento de radiación UV-B y UV-A en plántulas de Sophora micropylla var. sol. que fueron irradiadas por 2 horas diarias durante 80 días con un 5% de incremento de radiación UVB y UVA respecto a la radiación solar normal (UVB:UVA:PAR=1:10:100). Parámetros fisiológicos (largo, peso, densidad estomática, tasa transpiratoria y resistencia de la membrana) y químicos (síntesis de flavonoides, clorofilas y ceras) fueron controlados al finalizar el tratamiento y después de 48 días de aclimatación.

Se encontró que el UV-B suplementario aumentó el largo y peso fresco de las plántulas respecto al control, lo que se relacionó inversamente con la tasa transpiratoria. El número de estomas y grosor de la hoja fueron afectados, mientras el plasmolema evidenció resistencia. Al finalizar la desaclimatación el peso seco incrementó en un 75%. La síntesis de flavonoides y clorofilas totales, así como de ceras epicuticulares aumentaron. Sin embargo el suplemento de radiación UV-A inhibió en parte el efecto producido por la radiación UV-B, provocando cambios mas moderados.

Agradecimientos: DID S-200270

85.-ONTOGENIA DE LA PLANTULA DE TROPAEOLUM POLLYPHYLLUM (TROPAEOLACEAE). Ontogeny of tropaeolum pollyphyllum seedling (tropaeolaceae). Peñailillo, P.; Jara, P. y Schiappacasse, F. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.

Tropaeolum pollyphyllum, es un una géofita dicotiledónea de los Andes de Chile central, cuyas flores amarillas y follaje verde glauco la hacen promisoria para su cultivo. Antecedentes sobre las plántulas de esta especie y aspectos de su germinación, sumados al origen de la estructura subterránea y ontogenia de la plántula son desconocidos o confusos. El objetivo principal de este trabajo es conocer e interpretar morfológicamente y anatómicamente, la ontogenia de los filomas vegetativos y origen del órgano subterráneo.

Se recolectaron semillas en la cordillera de Los Andes de Talca. Se embebieron en agua por 2 días y posteriormente se estratificaron a 15°C por 4-6 semanas. Las plántulas se crecieron en macetas. Se realizaron bajo lupa observaciones morfológicas de los filomas y órgano subterráneo; además de cortes histológicos de la plántula y planta adulta mediante la técnica histológica convencional.

La germinación es criptocotilar y la ontogenia de los filomas vegetativos sigue el patrón de la mayoría de las Angiospermas dicotiledóneas: cotiledones, estipulas, hojas primarias y nomófilos. Estos últimos son subpeltados, careciendo de estipulas (un carácter derivado). Anatómicamente, los filomas presentan una estructura de hoja típica, siendo el mesófilo el tejido más variable y adaptado a almacenamiento de sustancias de reserva (cotiledones), o bien, a la alta radiación solar (hojas normales isofaciales). El epicótilo muestra un crecimiento primario, en tanto, que el hipocótilo crece en longitud y grosor muy tempranamente para formar el tubérculo cuyo origen sería hipocotilar y con crecimiento secundario anómalo.

Proyecto FIA: C97-2-A-078

86.- CICLO DE VIDA DE DOS GEOFITAS NATIVAS DE CHILE CENTRAL: CALYDOREA XYPHIOIDES Y CONANTHERA TRIMACULATA. Lyfe cycle of two native geophytes of central Chile. Rojas*, M. y Peñailillo**, P. *Escuela de Ecología y Paisajismo, Universidad Central e **Instituto de Biología y Biotecnología, Universidad de Talca.

Calydorea xyphiodes y Conanthera trimaculata pertenecen al grupo de monocotiledóneas petaloídeas de Chile central. Ambas especies son geófitas, C. xyphioides posee como órgano subterráneo un bulbo tunicado y C. trimaculata presenta un cormo fibroso. Estas geófitas pueden aportar un importante valor ornamental y paisajístico. Su ciclo de vida y otros aspectos de su biología son poco conocidos.

Este estudio se realizó en poblaciones naturales en la zona costera de la VII Región cercana a la localidad de Llico. Mediante observaciones de terreno se estudiaron los diferentes estadios del ciclo de vida a través de un año de ambas especies y específicamente para *C. xyphioides* se hicieron estudios de biología de la reproducción: biología floral, de la polinización, viabilidad de polen y relación polen/óvulo según las metodologías convencionales.

Calydorea xyphioides presenta un ciclo correspondiente a una geófita perenne con follaje sinánteo, en cambio, Conanthera trimaculata es una geófita anual con follaje histeránteo. Ambas especies son de floración primaveral y fructifican en verano para luego entrar en receso. Con el inicio de las primeras lluvias inician la etapa vegetativa.

Los estudios de la biología reproductiva realizados en Calydorea xyphioides muestran que podría tratar de una autogama facultativa.

87.- PERDIDA Y FRAGMENTACION DEL HUMEDAL CARRIEL SUR Y LA MARISMA ROCUANTANDALIEN DE LA INTERCOMUNA DE CONCEPCION-TALCAHUANO PRODUCTO DE LA EXPANSION URBANA EN LOS ULTIMOS 50 AÑOŞ.. (Loss and fragmentation of the Carriel Sur and Rocuant-Andalien wetlands in the intercommune de Concepción-Talcahuano product of the urban expansion of the last 50 years).. Tobar D. Urrutia R.¹. ¹Centro Eula, Universidad de Concepción

Los humedales corresponden a áreas que están inundadas o saturadas por agua superficial o subterránea, con una frecuencia y duración suficiente para sostener vegetación adaptada a condiciones de vida, de suelo saturado con agua. La intercomuna Concepción-Talcahuano presenta una gran variedad de humedales, entre los cuales se encuentran la marisma de Rocuant-Andalién y los humedales dulceacuícolas asociados al paleocauce del río Biobío.

Este estudio tiene por objetivo determinar el grado de pérdida y fragmentación del ecosistema, mediante un análisis histórico del uso del suelo, a través de la fotointerpretación y la aplicación de Sistema de Información Geográfica (SIG) al área de estudio.

Se ha logrado determinar que, por el cambio del usos del suelo debido al uso habitacional, industrias y años de rellenos, etc., se ha afectado el área ocupada por el ecosistema desde 1955 al 2000 de 3179 a 1669 hectáreas. Además, el humedal dulceacuícola ha disminuido de un 79% a un 44% entre 1955 y 2000 respectivamente.

88.- APLICACION DEL MODELO USLE Y UN SIG PARA ESTIMAR LAS TASAS HISTORICAS DE EROSION DEL SUELO EN UNA CUENCA LACUSTRE. (Aplication of USLE and GIS to estimate historical soil erosion rates from a lacustrine watershed). Retamal, R¹., Debels P.²·¹Centro EULA-Chile, Universidad de Concepción. ²Centro EULA-Chile, Universidad de Concepción, Agencia de Cooperación Internacional, Flandes, Bélgica. Email: maretama@udec.cl, pdebels@udec.cl

La erosión acelerada del suelo es considerada un problema ambiental, porque provoca la pérdida de suelos fértiles. Considerando que este problema es un proceso continuo en el tiempo y que los estudios actuales sobre el tema sólo abarcan eventos contemporáneos, el objetivo de esta investigación, fue estimar las tasas históricas de erosión en la cuenca de la Laguna Chica de San Pedro aplicando el modelo USLE conjuntamente con un Sistema de Información Geográfica (SIG).

La USLE estima la tasa de erosión anual (A) como resultado de la multiplicación de 5 factores: A=R*K*LS*C*P. R: erosividad de la lluvia, se evalúa a partir de datos pluviométricos, K erodabilidad del suelo de literatura, LS a partir de un Modelo Digital de Elevación (DEM), C cobertura vegetal desde análisis de fotografías aéreas para los años 1943, 1955, 1961, 1978, 1981 y 1994 y el factor P prácticas de maneio tiene un valor de 1.

Los resultados señalan que la cuenca estudiada ha sufrido un aumento de las tasas de erosión en el tiempo. Los sectores que más contribuyen a ella son las pendientes fuertes y los usos de suelo: sin cobertura, urbanos y forestales.

89.- EFECTO DEL FRÍO E INTENSIDAD LUMÍNICA SOBRE EL CICLO DE LAS XANTOFILAS EN Deschampsia antarctica Desv. (Effect of Cold and light intensity on the xanthophyll cycle in Deschampsia antarctica) Zúñiga¹, R., Hess² S., Ulloa,¹ N., Gutiérrez⁴, A., Bravo³, L. A., Gidekel⁴, M., Corcuera³, L. J. y Alberdi¹, M. Institutos de Botánica¹ y Química², Universidad Austral de Chile, Valdivia, Departamento de Botánica³, Universidad de Concepción, Concepción, Laboratorio de Fisiología y Biología Molecular⁴, Universidad de la Frontera, Temuco.

Las plantas pueden evitar daños fotoinhibitorios a alta intensidad lumínica pues los carotenoides del ciclo de las xantófilas (CX), en especial la zeaxantina, disipan el exceso de energía lumínica, cuando ésta excede su utilización fotoquímica. A baja temperatura, se necesitan intensidades de luz menores para producir fotoinhibición.

En plantas de *D. antarctica* aclimatadas a 4°C (A) y no aclimatadas a 13°C (NA), se estudiaron los cambios en la emisión de fluorescencia (Fv/Fm, eficiencia fotoquímica máxima, EF), el apagamiento fotoquímico (qP) y no fotoquímico (qNP), y concentración de pigmentos del CX, por HPLC, ante un efecto simultáneo de intensidades lumínicas (IL) (200, 600 y 1000μmol m⁻² s⁻¹) y frío (4°C), durante 0-24 horas.

La EF de plantas A disminuyó en menor proporción, en función del aumento de IL y tiempo, que las NA (aún cuando los valores se ubican dentro del rango fisiológicamente óptimo), los qP ascendieron, y los qNP y zeaxantina disminuyeron, al igual que los demás pigmentos del CX, sugiriendo disipación de energía por vía fotoquímica.

FONDECYT 1000610; DID-UACH S 200288.

90.- IDENTIFICACION DE MARCADORES GENETI-COS ASOCIADOS A ESTENOESPERMOCARPIA EN Vitis vinifera L. (Identification of genetic markers linked to stenospermocarpy in Vitis vinifera L.) Gebauer, M. & Hinrichsen, P. Lab. Biotecnología, Centro Experimental La Platina, INIA. Casilla 439-3, Santiago.

A nivel mundial, un carácter de primera importancia en el mejoramiento genético de uvas de mesa es el desarrollo de variedades sin semilla. Éstas se caracterizan por la estenoespermocarpia, fenómeno que ocurre cuando el embrión temprano aborta, debido a la ausencia o a problemas en la formación del endosperma.

El objetivo de este trabajo es el desarrollo de marcadores moleculares asociados a estenoespermocarpia que luego se puedan utilizar en un proceso de selección asistida.

Utilizando marcadores de tipo RAPD y de AFLP se estudiaron dos poblaciones de segregantes, #33 (Ruby x Sultanina) y #29 (Ruby x Perlette), mediante análisis de grupos contrastantes (BSA, Bulk Segregant Analysis).

A partir de más de 300 partidores de RAPD y usando 33 combinaciones de partidores de AFLP, se seleccionaron 7 marcadores de RAPD y 2 de AFLP que mostraron una perfecta correlación con el carácter estenoespermocárpico o semillado.

Los dos marcadores de AFLP seleccionados se evaluaron en la población #33, mostrando una correlación con apirenia cercana al 90%, lo que los convierte en candidatos para el desarrollo de marcadores de tipo SCAR, actualmente en desarrollo. El mapeo de estos marcadores permitirá también avanzar en la caracterización de los determinantes genéticos de la estenoespermocarpia.

Financiado por Programa INCO-DEV, Comunidad Europea.

91.- EXPERIENCIA DE RIEGO EN LA CORDILLERA DE LA COSTA DE TARAPACA. (Experimental irrigation in the Tarapacá Costal Range). Pinto, R. 1, P. Cereceda², P. Osses³ y H. Larraín⁴. ¹Dalmacia 3251, Iquique, raquelpinto @entelchile.net, ^{2 y 3}Instituto Geografía, P.Universidad Católica de Chile, Casilla 306 C-22, Santiago, ⁴Instituto Estudio Cultura Tecnología Andina, Iquique

La experiencia de riego se realizó in situ en el ecosistema de niebla de Alto Patache (20°49'S) al sur de Iquique, en el borde del acantilado costero a 750 m de altitud, en tres sitios de diferente sustrato, exposición e inclinación. En cada uno de los sitios se demarcaron 6 parcelas de 2 m² cada una, las que fueron sometidas a 6 tratamientos de riego semanal (0, 5, 10, 20, 40 y 80 litros/m²) de julio a septiembre de 2001. Para la obtención del agua se construyó un atrapaniebla de 40 m². Se contó semanalmente en cada parcela número de plantas por especie. La aparición de vegetación de hierbas perennes y anuales se produjo en las parcelas que recibieron 20 o más mm de agua. El número de especies así como en número de plantas, el tamaño alcanzado por las plantas, el grado de floración y la biomasa aumentaron proporcionalmente al aumento de la cantidad de agua. Los sitios estudiados registraron distinta riqueza de especies, 4 en planicie arenosa al interior, 8 y 13 en ladera arenosa y rocosa al borde del acantilado. Este último sitio presentó aparición de hierbas rizomatosas en casi todas las parcelas independiente del riego.

Fondecyt 1010801

92.- BANCO DE SEMILLAS EN UNA PRADERA DE JUNQUILLO. (Seed bank in a Junquillo prairie). Alvarez, M. y Ramírez, C. Instituto de Botánica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

El banco de semillas es útil en la regeneración de la vegetación en sitios alterados, no así en aquellos con una cubierta vegetal continua. Se comparó la composición florística del banco de semillas con la cubierta vegetal en una pradera húmeda de junquillo (*Juncetum procerii*) en la X Región de Chile, suponiendo una correlación positiva entre ambas. En 5 parcelas de 4 m² se midió la cobertura de las especies

vegetales presentes y se tomaron muestras de suelo, utilizando cilindros metálicos de 380 cm³. En tres muestras de suelo se hizo germinar el banco activo y en otras tres, se separaron manualmente y por flotación, las semillas presentes.

Ausentes en la cubierta pero presentes en el banco están Cerastium arvense, Hydrocotyle marchantioides, Hypericum androsaemum, Hypericum perforatum, Prunella vulgaris y Veronica serpyllifolia. Ausentes en la cubierta pero separadas manualmente fueron P. vulgaris y Rubus constrictus. C. arvense, H. marchantioides, H. androsaemum, H. perforatum, Senecio aquaticus y V. serpyllifolia germinaron pero no se separaron manualmente. Especies que no se detectaron en los bancos de semillas pese a formar parte de la cubierta pratense son Arrhenatherum elatius ssp. bulbosus, Cirsium vulgare y Dactylis glomerata. En principio pareciera no haber una relación directa, para la mayoría de las especies, entre las coberturas y sus respectivos bancos de semillas.

(Proyectos DID-UACh S-2000-25 y FONDECYT 1010160)

93.- COMPOSICION QUIMICA Y VALOR CALORICO EN ORGANOS DEL HIDROFITO Limnobium laevigatum. (Chemical composition and caloric value in organs of the hydrophyte Limnobium laevigatum). San Martín, C. y Boetscher, C., Instituto de Botánica, facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Se estudió la composición química proximal y el valor calórico de los diferentes órganos de *Limnobium laevigatum* (Hierba guatona) un hidrófito flotante libre, en época estival. Se colectaron plantas en las cuales se sortearon, en fresco, los siguientes órganos: hojas aéreas, natantes y muertas, estolones y raíces. Una vez secos y pulverizados se determinó mediante metodologías estándares los contenidos porcentuales de ceniza, materia orgánica, proteína bruta, fibra cruda, extracto etéreo y extracto libre de nitrógeno. En un calorímetro adiabático se determinó el valor calórico que se expresa en kilocalorías.

El contenido de cenizas es bajo para un hidrófito, la mayor cantidad se concentró en las raíces. El menor valor se presentó en las hojas. La proteína cruda muestra valores interesantes, especialmente en las hojas, lo que justifica el consumo de ellas por aves y mamíferos acuáticos. La fibra cruda es baja en hojas, lo que las hace palatables y digeribles y los valores más altos se presentan en tallo y raíces. Los azúcares solubles son especialmente altos en las hojas. El valor calórico fue menor en el tallo y más alto en las hojas, lo que concuerda con su composición química. Los resultados demuestran la utilidad de las hojas como forraje, especialmente las flotantes que contienen mas fibra.

(Proyecto DID-UACh S-98-22)

94.- TASA DE FOTOSINTESIS EN ESPECIES ALTOANDINAS DE CHILE CENTRAL: EFECTOS DE LA ASOCIACION A PLANTAS EN COJÍN. (Photosynthetic rates in alpine plant species from central Chile: effects of the association with cushion plants). Molina-Montenegro, M.A. & Cavieres, L.A. Laboratorio de Biogeografía-Ecológica, Departamento de Botánica, Universidad de Concepción, Concepción, Chile. E-mail: marcmoli@udec.cl

Se ha propuesto que en ambientes estresantes, como los ambientes de alta-montaña, uno de los mecanismos involucrados en la asociación a plantas nodrizas sería el aumento en la obtención de recursos vía fotosíntesis. En el presente estudio se evaluó la importancia de este mecanismo comparando la tasa de fotosíntesis, tanto en especies que preferentemente crecen asociadas como en especies que no se asocian a la nodriza. Para esto se utilizaron dos especies que crecen asociadas (Cerastium arvense y Hordeum comosum) a la planta en cojín Azorella monantha, dos especies que crecen tanto dentro como fuera de cojines (Senecio francisci y Phacelia secunda) y una especie (Pozoa coriacea) que crece preferentemente fuera de ellos. Las mediciones se realizaron con un IRGA Ciras-1 (PP Sytems) en el sector de Valle Nevado a 3200 msnm, Andes de Chile central. Las mayores tasas de fotosíntesis fueron registradas en P. secunda (7,9 μmol m⁻²s⁻¹) para la posición dentro y P. coriacea en la posición fuera del cojín (7,4 µmol m⁻²s⁻¹). Para las dos especies que crecen preferentemente dentro, las tasas de fotosíntesis son mayores cuando crecen asociadas al cojín. En las especies que se encuentran indistintamente en ambos microhabitats, P. secunda mostró tasas de fotosíntesis mayores en asociación al cojín mientras que S. francisci no mostró diferencias. P. coriacea mostró mayores tasa de fotosíntesis fuera de los cojines. Los resultados evidencian que las especies crecen preferentemente en los sitios donde obtienen la mayor cantidad de recursos, y si bien la presencia de una nodriza permite condiciones menos rigurosas para la sobrevivencia, esto no sería una regla para todas las especies de una comunidad.

95.- REPRESENTATIVIDAD DE LA FLORA VASCULAR EN LAS AREAS SILVESTRES PROTEGIDAS DE LA REGION DEL BIOBIO, CHILE (Representativeness of the vascular flora inside protected areas of the Biobio region, Chile). Jiménez, A. & González, M. Laboratorio de Biogeografía-Ecológica, Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción. Casilla 160-C, Concepción, Chile. e-mail: aljimene@udec.cl. Patrocinio: Luis E. Parra

La conservación de la biodiversidad depende de la integridad y representatividad de las áreas silvestres protegidas (asp). Actualmente resulta de gran importancia conocer la flora total existente dentro de estas áreas, y estimar si las asp cumplen con los requisitos para asegurar la sustentabilidad y conservación del sistema. En el presente estudio se determinó el grado de representatividad que presenta la flora de las asp presentes en la viii región del biobío. Se estudió la flora tanto al interior como al exterior de las reservas, para lo cual se tomó como área de comparación un radio aproximado de 7 km hacia el exterior de cada asp. Tanto dentro como fuera de cada asp se establecieron los niveles de endemismo, riqueza de especies, géneros, familias, y el grado de similitud de especies. Los resultados indican que sólo una asp (p.n. laja) presenta mayor diversidad taxonómica en comparación con en el exterior de ésta, encontrándose un patrón similar con la diversidad de especies endémicas. Por otra parte, el índice de similitud con la flora total en las tres áreas, arrojó valores inferiores a un 50%, sugiriendo floras muy distintas dentro y fuera de cada asp. Resultados similares se obtuvieron al analizar la similitud tanto en la flora herbácea como leñosa en las tres asp. Financiado por FONDECYT 1000364

96.- ASOCIACION DE ESPECIES AL COJÍNAZORELLA MONANTHA: CONSECUENCIAS SOBRE LA ESTRUCTURA COMUNITARIA EN DOS ALTITUDES. (Plant species association with the cushion Azorella monantha: consequences for community structure at two elevations). Quiroz, C.L. & Cavieres, L.A. Laboratorio de Biogeografia Ecológica, Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales & Oceanográficas, Universidad de Concepción. Casilla 160-C, Concepción, Chile. e-mail: cquiroz@udec.cl.

En general, el número de especies asociadas a una especie nodriza aumenta con el nivel de estrés del ambiente. Particularmente, en ambientes de alta-montaña se ha documentado un aumento proporcional del número de especies asociadas a especies nodrizas conforme se aumenta en altitud. Sin embargo, aún no han sido evaluados los cambios estructurales que se van produciendo en la comunidad conforme se avanza en el gradiente de estrés, ignorándose atributos comunitarios tan importantes como la abundancia de individuos, la diversidad y la equitatividad de la comunidad estudiada. En el presente estudio, se evaluó el efecto de la asociación a una planta nodriza en cojín (Azorella monantha) sobre la riqueza de especies, abundancia de individuos, diversidad y equitatividad de la comunidad a dos altitudes en los Andes de Chile central (3200 y 3500 msnm). Sólo se registró un número significativamente mayor de especies creciendo dentro de los cojines a los 3500 m. La abundancia de individuos, a diferencia de la riqueza, fue mayor dentro de los cojines en ambas alturas. En contraste, los valores de diversidad en los espacios abiertos fueron significativamente mayores que al interior de A. monantha. Los resultados obtenidos evidencian la necesidad de incluir los atributos aquí mencionados en estudios comunitarios y analizarlos en conjunto a la hora de estudiar el comportamiento comunitario a través de un gradiente de estrés.

97.- PATRONES GEOGRAFICOS DE DISTRIBUCION ESPACIAL DE ARBOLES Y ARBUSTOS EN LA VIII REGION DE CHILE. (Geographical spatial patterns in shrubs and trees in the VIII Region of Chile). Teneb, E. & Parra, M.J. Laboratorio de Biogeografía Ecológica, Departamento de Botánica, Universidad de Concepción. eteneb@udec.cl

Analizar si las especies se distribuyen al azar o forman grupos similares en el uso del espacio es una de las preguntas fundamentales en biogeografía. Aquellas especies que presentan distribuciones coincidentes se denominan corotipos. En el presente estudio se entregan los resultados de la clasificación biogeográfica de árboles y arbustos en la Octava Región de Chile. Los corotipos se obtuvieron aplicando el índice de similitud de Baroni-Urbani & Buser sobre datos de presencia ausencia de árboles y arbustos en 86 cuadrículas de 0,25 x 0.25° de latitud-longitud, y agrupando las cuadrículas mediante el algoritmo UPGMA. La significancia estadística de los grupos fue evaluada mediante métodos probabilísticos. Posteriormente, se mapeó la distribución de riqueza relativa para cada corotipo, para lo cual se usaron aquellos que concentraban más del 75 % de las especies presentes. Se evaluaron 17 de los 18 corotipos entregados por el análisis de cluster. Se encontró una clara separación en los núcleos de riqueza de especies entre cordillera y costa, 6 corotipos se distribuyen hacia la costa, 6 corotipos lo hacen hacia la cordillera y 5 comparten sus núcleos entre ambas geoformas. A su vez, se encontraron 9 corotipos de distribución continua y 8 de distribución disjunta. Los rangos de distribución de 5 corotipos abarcan casi la totalidad de la región, mientras que 4 corotipos ocupan menos de 12 cuadrículas. Un análisis de correspondencia canónica indicó una estrecha relación entre los corotipos y tres variables ambientales: temperatura de invierno, índice ombrotérmico de De Martone e índice de continentalidad de Gorczynski. Se discute la importancia de estas variables ambientales en la distribución espacial de los corotipos encontrados.

FONDECYT 1000364

98.- RESPUESTAS DE TRIGO AL EXCESO DE COBRE Y ALUMINIO (Responses of wheat to the excess of copper and aluminum). Torres M., López, E. and Zúñiga G.E. Laboratorio de Fisiología y Biotecnología Vegetal, Departamento De Biología. Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Los cationes de metales son esenciales para la nutrición de la planta. Sin embargo, las plantas también necesitan controlar la acumulación excesiva de cationes esenciales como cobre (Cu), potasio (K), aluminio (Al); y metales pesados tóxicos, como son el cadmio (Cd), plomo (Pb), mercurio (Hg) y arsénico (As). En sitios de mineralización metálica, caracterizados por elevadas concentraciones de estos metales, la sensibilidad o tolerancia biológica al estrés producido, permitirá o no el establecimiento de una determinada población y de ser así, la expresión de sus potenciales genéticos. En este trabajo se evalúan las respuestas de variedades de trigo al exceso de cobre y aluminio.

Variedades de trigo Triticum aestivum fueron sometidas al exceso de cobre y aluminio durante la germinación (0-400 μ M. En este etapa se evaluaron los niveles de ABA, y sistemas antioxidantes. Además, se determinó el efecto de los metales en plántulas de 10 días de edad, durante 14 días. En esta etapa se determinaron los niveles de ABA, flavonoides, sistemas antioxidantes y perfiles proteicos.

La germinación de variedades de trigo en presencia de cobre o aluminio, se correlacionó con los niveles de ABA y sistemas antioxidantes. Así, la tolerancia al exceso de cobre y aluminio estaría determinada en parte por los niveles hormonales y de los sistemas antioxidantes.

99.- RESPUESTAS AL FRIO Y A LA ALTA INTENSI-DAD LUMINICA EN Colobanthus quitensis (KUNTH) BARTL. (Responses to cold and high light intensity in Colobanthus quitensis (Kunth) Bartl.) Inostroza P., Bravo L.A. y Corcuera L.J. Departamento de Botánica, Universidad de Concepción.

C. quitensis habita en ambientes fríos con alta intensidad lumínica. Se postula que la temperatura y la luz modulan sus mecanismos fotoprotectores y de resistencia al congelamiento y que las respuestas serían ecotipo dependientes. Plantas de La Parva (C.p) (33°19' S, 70° 16' W, 2700 msnm) y de la Antártida (C.a) fueron mantenidas en laboratorio (15°C, PFD=100 µmol·m²·seg⁻¹, fotoperíodo 16/8h luz/oscuridad). Se determinó la temperatura de nucleación de hielo (TN), de congelamiento (TC) y temperatura letal del 50% (TL₅₀), en plantas aclimatadas (4°C) y control (15°C) por 21 días. Se estudió la capacidad de disipación energética por fluorescencia modulada (q_{np}, q_p, F_v/F_m) y pigmentos (carotenos, clorofilas a y b) en plantas aclimatadas por 48 horas y control, a DFF de 1300 μmol·m²·seg⁻¹ y 100 μmol·m²·seg⁻¹. Los controles sobreenfriaron. Desde los 7 días de aclimatación, toleraron el congelamiento. F_v/F_m disminuyó de 0,81 a 0,6 en C.p y desde 0,85 a 0,5 en C.a; el q_p disminuyó de 0,7 a 0,5 en C.p y desde 0,85 a 0,5 en C.a y el q_{np} aumentó de 0,12 a 0,75 en ambas procedencias. Sólo C.p. mostró un aumento en los carotenos y un descenso de la clorofila. Estos cambios favorecerían la disipación del exceso de energía.

Fondecyt 1010899, F. Andes C-13680/5, GIA 201.111.025-1.4

100-A CUMULACION Y TOLERANCIA A Cu⁺⁺ EN UNA GRAMINEA SILVESTRE: POTENCIAL DE USO EN FITORREMEDIACION. (Copper tolerance and accumulation in common grass: potencial use in phytoremediation) Ortiz, C., Li Kao, J. y Orellana, S. Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. Departamento de Química y Biología, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Atacama cortiz@lauca.usach.cl

En los organismos vegetales, las respuestas fisiológicas son variadas, por lo que la evaluación de un proceso de incorporación de metales es muy compleja. Algunas especies son tolerantes a unos elementos y sensibles a otros, y la respuesta de una especie puede presentar una amplia variación en la sensibilidad individual al elemento. Esta capacidad plástica de respuestas y adaptaciones de los vegetales, los hace sistemas particularmente adecuados para acumular y/o metabolizar metales presentes en el suelo.

Se identificaron cuatro especies vegetales presentes en un tranque de relave forestado perteneciente a Enami, en la III Región. Se determinó el contenido de Cu⁺⁺ en hojas y raíces v se observó que una especie de gramínea silvestre presentó la mayor relación de Cu++ foliar/radicular. Semillas de la gramínea fueron colectadas en terreno y germinadas «in vitro» en el laboratorio. Se realizaron curvas de tolerancia a Cu⁺⁺ con concentraciones variables entre 3 y 100 ppm del metal. Se determinó que la concentración de Cu++ inhibitoria para el crecimiento de la gramínea es aproximadamente 200 μM. La cinética de crecimiento realizada durante un mes con 40 ppm de Cu⁺⁺ mostró que la especie presenta un crecimiento levemente inferior al control. La actividad de enzimas peroxidasas fue mayor en raíces respecto a hojas y la actividad catalasa no presentó diferencias significativas en ambos tejidos. Se observó diferencias en el patrón electroforético de proteínas foliares de plantas crecidas en Cu⁺⁺ durante 40 día respecto a plantas control. Se propone la fitoextracción de Cu++ desde suelos contaminados por faenas mineras con gramíneas silvestre que presentan tolerancia al metal.

101.- BIODIVERSIDAD DE LIQUENES MARINOS EN UN GRADIENTE ROCOSO DEL LITORAL COSTERO DE CHILE CENTRAL (Biodiversity of marine lichens in a rocky gradient from coastal litoral of Central Chile). Pereira, I. y W. Torres. Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca. casilla 747, Talca. Patrocinio: José San Martín Acevedo.

En general, la diversidad de líquenes en rocas costeras marinas es similar a causa de su amplia distribución geográfica. Sin embargo, una mayor abundancia se concentra en las costas litorales bajo régimen climático de influencia marítima respecto de las áreas con clima templado como las costas de California, Sudáfrica y algunas partes de Chile. La información de los líquenes litorales marinos en el país es escasa enfocada a algunos géneros sin considerar la distribución horizontal de los sitios muestreados. En este trabajo, se estudió el patrón de la biodiversidad de los líquenes en relación a su distribución espacial en el gradiente litoral rocoso intermareal para un sitio de Chile Central (Constitución, 35°20'S; 72°24'W). El registro de las especies, se obtuvo a partir de material rocoso colectado en el gradiente inundado, húmedo a seco y su posterior determinación según cánones clásicos. Se encontró que el elenco florístico reúne a 11 especies distribuidas en 9 géneros y 8 familias. La mayor diversidad está concentrada en la zona supralitoral con formas crustáceas. Por el contrario bajo inundación, dominan Verrucaria sp., Lichina confinis y una rodófita incrustante del género Hildebrandia. En la zona intermedia aparece Graphina cf. saxiseda. Entre las especies encontradas, 4 corresponden a nuevas citas para el país, respecto a la incluida en la literatura para otras áreas. Se sugiere ampliar este tipo de estudio en otros sitios del país, dado el valor bioindicador de contaminación acuática y marina.

102.- EVIDENCIAS PALINOLOGICAS DE CAMBIOS VEGETACIONALES Y CLIMATICOS ABRUPTOS EN LA REGION DE LOS LAGOS DE CHILE. (Pollen evidence for abrupt vegetation and climate changes in the Chilean Lake District). Abarzúa, A.M., León, A.L., Villagrán, C. y Moreno, P.I. Laboratorio de Palinología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Cuatro registros polínicos obtenidos en las zonas bajas del sector de Seno Reloncaví e Isla Grande de Chiloé (~41°30'-42°50'S) muestran notables cambios climático-vegetacionales durante los últimos 14000 años 14C. Todos los registros muestran la colonización del elemento de bosque Nordpatagónico, representado por Nothofagus, Hydrangea, Mirtáceas y coníferas entre 14000-10000 años 14C AP. Este espectro y la presencia de taxa palustres y acuáticos sugieren condiciones templado-lluviosas. Una abrupta reversión de tales condiciones se desarrolla a los ~10000 años 14C AP, cuando disminuyen los niveles lacustres y domina Weinmannia, seguida del auge del elemento termófilo Valdiviano representado por Eucryphia/Caldeluvia hasta ~6000 años 14C AP. Este lapso representa el evento más cálido-seco del último ciclo glacial-interglacial en el sur de Chile. A partir de ~6000 años ¹⁴C AP aumentan los niveles lacustres y se registran pulsos de reexpansión del elemento de bosque Nordpatagónico, dando origen al mosaico vegetacional característico de la región, bajo condiciones climáticas similares a las actuales. Estos registros demuestran que la composición actual de los bosques templados del sur de Chile es consecuencia de cambios climáticos muy recientes, tales como fluctuaciones postglaciales en la temperatura e intensidad/posición de los vientos del oeste, y posiblemente, inicio de El Niño.

Fondecyt 1000905 y Núcleo Milenio P99-103F ICM

Paneles 11

BIOLOGIA MOLECULAR

103.-EL FACTOR DE TRANSCRIPCION RUNX2/CBFA1 INTERACCIONA CON EL RECEPTOR DE 1\alpha, 25 DIHIDROXI VITAMINA D3 DENTRO DEL CONTEXTO DEL PROMOTOR DEL GEN DE OSTEOCALCINA DE RATA (The transcription factor Runx2/Cbfa1 interacts with the 1\alpha, 25 dihydroxi vitamin D3 receptor within the context of the osteocalcin gene promoter). Arriagada, G., Paredes, R., Olate, J., Montecino, M. Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. FONDECYT 1000361, 2010103.

El factor de transcripción Runx2/Cbfa1, es un regulador clave en la diferenciación ósea. El gen de osteoalcina de rata (OC) codifica para una proteína que se expresa en forma específica en osteoblastos durante los estados tardíos de diferenciación. El promotor OC posee tres sitios de reconocimiento para Runx2/Cbfa1. Dos de ellos, los sitios A y B flanquean el elemento de respuesta a vitamina D3 (VDRE), el que interactúa con el receptor de Vitamina D3 (VDR) en presencia del ligando y estimula la transcripción del gen OC. Mutación de los sitios A y B evita este aumento en la transcripción, lo que sugiere una relación funcional entre VDR y Runx2/Cbfa1. Para analizar la posibilidad de una interacción proteína-proteína directa hemos realizado ensayos de GST-pull down utilizando extractos nucleares de células osteoblásticas o formas recombinantes de VDR y Runx2/Cbfa1 producidas en bacterias. También hemos complementado estos estudios de interacción mediante ensayos de doble híbrido. Nuestros resultados sugieren que dentro del contexto del promotor OC, Runx2/Cbfal y VDR pueden formar un complejo que estabiliza el reclutamiento de VDR, facilitando así el aumento de la actividad transcripcional mediada por Vitamina D3.

104.- CARACTERIZACION DE REGIONES REGULATORIAS DEL FACTOR DE TRANSCRIPCION PIT-1 EN EL TELEOSTEO TETRAPLOIDE Cyprinus carpio. (Characterization of regulatory regions of the transcription factor Pit-1 in Cyprinus carpio, a tetraploid teleost). Salazar, M., Castro, L., Kausel, G., Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. gkausel@uach.cl.

La adaptación a las condiciones ciclicamente fluctuantes del medio ambiente del pez Cyprinus carpio conlleva una significativa variación de la expresión de Pit-1, factor de transcripción indispensable en la regulación de prolactina, hormona de crecimiento y de su propio gen. Por hibridación in situ y RT-PCR competitivo se observó mayor transcripción de Pit-1 en glándulas pituitarias de carpas aclimatizadas a verano comparado con invierno. El análisis de Southern Blot corrobora que en este teleosteo tetraploide existen dos genes Pit-1 (cPit-1: gen-GP7 y gen-GP5). Sin embargo, el organismo parece funcionalmente diploidizado y las dos copias podrían estar reguladas diferencialmente. Para enfrentar estudios funcionales de las regiones regulatorios caracterizamos secuencias promotoras del gen-GP7 (gen completo, Ac.No.AF132287) y aislamos clones de la biblioteca genomica de C.carpio en el vector FixII que contendrían secuencias 5'-regulatorias del gen-GP5 (gen parcial, Ac.No.U92542).

Para averiguar que el grado de metilación se asocia con la actividad génica, desarrollamos digestiones del DNA genómico con isoesquizómeros que distinguen el patrón de metilación en el sitio de reconocimiento. Los análisis de Southern Blot utilizando fragmentos de la región 5' del gen Pit-1 podrían dilucidar mecanismos involucrados en la regulación de la expresión genica in vivo de este factor hipofisiario.

Financiado por DID-UACH-2002-18.

105.- ACTIVACION TRANSCRIPCIONAL DEL GEN DE TIROSINA HIDROXILASA POR NURRI. ANALISIS DE LOS DOMINIOS AF1 Y AF2. (Transcriptional activation of tyrosine hydroxylase by Nurr1. Analysis of the AF1 and AF2 domains). Galleguillos, D., Andrés, M.E.. Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Nurr1 pertenece a la familia de receptores nucleares huérfanos. Estos receptores poseen dos dominios de transactivación, uno en la región amino (AF1) y otro en la región carboxiterminal (AF2). Nurr1 se une como monómero a la secuencia AAAGGTCA (NBRE) y es esencial para la expresión de Tirosina Hidroxilasa (TH) en las neuronas dopaminérgicas mesencefálicas. Dado que Nurr l estaría controlando la expresión del gen de TH, realizamos estudios de activación de un reportero controlado por 4.5 kb de la región 5' flanqueante del gen de TH. A partir de éste se generaron vectores con diferentes segmentos de esta región que contenían entre 1 a 4 sitios NBRE. Sobre éstos se probó el efecto de la sobreexpresión de Nurr 1, así como la de variantes que carecían de la región AF1 o AF2. Análisis de la actividad basal del promotor muestran una regulación diferencial de su expresión dependiendo del tipo celular. En células HEK293 Nurr1 fue capaz de aumentar la expresión de un reportero que poseía sólo el primer sitio NBRE, mientras, en células PC12 Nurr1 es capaz de activar la expresión de todos los reporteros analizados. Ensayos con las variantes truncadas demuestran que tanto la región AF1 y AF2 son necesarias para este efecto. FONDECYT 1000722

106.- ACTIVACION DEL GEN DE LA PROTEÍNA PRION CELULAR POR METALES PESADOS (Heavymetals mediated activation of cellular prion protein gene) Cuitino L, Toledo ED, Sadarangani A, Varela-Nallar L e Inestrosa NC. Centro de Regulación Celular y Patología, MIFAB, P. Universidad Católica de Chile.

Las enfermedades priónicas son patologías neurodegenerativas causadas por la acumulación de una isoforma anormal de la proteína prión celular (PrP°). A pesar de la importancia patológica de esta proteína, su función fisiológica no se conoce. Debido a que PrPe une y reduce cobre, se ha sugerido que participaría en el metabolismo de este metal. Considerando que los genes de proteínas involucradas en metabolismo de cobre y respuesta anti-oxidante son inducidas por metales pesados, nos propusimos investigar si la expresión del gen de PrPe (Prn-p) es modulada por cobre, cadmio y zinc. Con este propósito, se utilizaron células neuronales (PC12) y gliales (C6) transfectadas con un vector reportero de luciferasa bajo el promotor de Prn-p.

Los resultados indican que cobre y cadmio inducen un aumento en la actividad del promotor de *Prn-p* solo en células PC12, mientras que zinc no tuvo efecto. La regulación positiva mediada por cobre y cadmio podría involucrar elementos de respuesta a metales (MRE) presentes en el promotor de *Prn-p*, lo que actualmente está siendo analizado. Estos resultados demuestran que la expresión génica de PrPc es específicamente inducida por metales pesados y sugieren una regulación tipo celular específica.

Financiado por FONDAP-Biomedicina (Nº13980001), Instituto Milenio (MIFAB) e International Copper Association (ICA)

107.- EXPRESION INDUCIBLE DE LA PROTEINA QUINASA CK2A EN CELULAS MEF 3T3. (Inducible expression of protein kinase CK2A in MEF 3T3 cells). Bustos J.C.¹, Oliveira L.², Sogayar M.C.², Allende C.C.¹ & Allende J.E.¹.¹ ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile ibustos@canela.med.uchile.cl.² Instituto de Química, USP, Brasil

La proteína quinasa CK2 es una serina/treonina quinasa ubicua, esencial para la viabilidad de eucariontes. Holoenzima CK2 posee subunidades catalíticas; α y/o α ' y reguladoras; β que modulan la actividad de CK2\alpha. Existen evidencias que CK2 participa en el control de la proliferación y transformación celular. Se realizaron estudios con células MEF3T3 en cultivo que permite una expresión estable regulada por tetraciclina. Estas células fueron transfectadas establemente con vectores inducibles por tetraciclina con insertos de cDNA de CK2\alpha, (HA-CK2\alpha), o de la mutante catalíticamente inactiva $\alpha D156A$ (HA-CK2 αA^{156}). Al eliminar la tetraciclina del medio de cultivo se induce la expresión de los cDNAs transfectados establemente. Después de analizar varios clones, se obtuvo una línea celular expresando HA-CK2\alpha y dos expresando HA-CK2αA¹⁵⁶ induciblemente. La expresión de HA-CK2α causó un aumento en la actividad CK2 (30%) y una disminución del tiempo de duplicación de las células. La expresión de HA-CK2αA¹⁵⁶ no afectó el crecimiento, pero causó una disminución de la actividad CK2 (20-30%), indicando su posible acción como dominante negativo.

La disponibilidad de estos clones permitirán examinar los efectos de diferentes niveles de CK2 sobre la interacción y expresión de otros genes específicos y sobre otros parámetros celulares.

Financiado por Proyectos FONDECYT No. 1000624, ICGEB y FAPESP.

108.- "EFECTO DIFERENCIAL DE METALES SOBRE LA EXPRESION DE LOS GENES LIGNINOLITICOS DE Ceriporiopsis subvermispora" (Differential effect of metals on the expression of ligninolytic genes in C. subvermispora) Avila, M., y Seelenfreund D. Departamento Genética Molecular y Microbiología, FCB, PUC. Departamento Bioquímica y Biología Molecular, F.Cs Químicas y Farmacéuticas UCh.

Ceriporiopsis subvermispora, hongo ligninolítico que secreta dos tipos de enzimas al medio extracelular: manganeso peroxidasa (MnP) y lacasa, las que en medio liquido no son detectadas en ausencia de Mn y Cu, respectivamente.

Se han secuenciado tres genes de MnP (Cs-mnp1, Cs-mnp2, y Cs-mnp3) y uno de lacasa (Cs-lcs1), con sus respectivos alelos. Las regiones río arriba de los genes Cs-mnp presentan sitios putativos MRE (metal-response-element), los cuales son reconocidos por proteínas que responden a Zn, Cu, y Cd, en mamíferos y plantas. La región promotora de Cs-lcs1 también posee MRE, más un elemento tipo ACE, el cual ha sido descrito en S. cerevisiae como una secuencia que es reconocida por un factor transcripcional que responde a Cu y Ag, pero no a Zn.

Cs-mnp1 y Cs-mnp2 son inducidos diferencialmente por Mn²+(ver presentación de Manubens y cols). Hemos determinado que Cu, Cd y Ag aumentan la cantidad de transcrito de Cs-mnp2 inducida por Mn, mientras que la transcripción de Cs-mnp1 es inducida por estos metales en ausencia de Mn. Al parecer, Zn no tiene ningún efecto en la expresión de los genes Cs-mnp. Cabe destacar que estos efectos son solo a nivel transcripcional porque las actividades enzimáticas extracelulares de MnP y lacasa son absolutamente dependientes de Mn y Cu, respectivamente. Fondecyt 8990004.

109.- BÚSQUEDA DE UN FACTOR DE TRANSCRIPCION DE Ceriporiopsis subvermispora UTILIZANDO LA INFORMACION DEL PROYECTO GENOMA DE Phanerochaete chrysosporium. (Searching for a transcription factor from Ceriporiopsis subvermispora by using the genome project information of Phanerochaete chrysosporium.) ¹Polanco, R., ²Cullen, D. y ¹Vicuña R. ¹Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. ²Department of Bacteriology. Forest Products Laboratory. University of Wisconsin. Madison. USA. Financiamiento: FONDECYT 2000088, FONDECYT 8990004 e Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada (MIFAB).

C. subvermispora es un basidiomicete que degrada selectivamente la lignina. De las enzimas involucradas en este proceso, la lacasa presenta una activación transcripcional por Cu²⁺y Ag⁺. La región promotora de su gen presenta un sitio similar al ACE, descrito en levadura como responsable de la activación transcripcional por dichos metales, mediada por el factor ACE1. En EMSA, utilizando proteínas nucleares de este hongo y un fragmento de DNA que contiene el supuesto elemento ACE, hemos visto la formación de complejos proteína-DNA. Experimentos de footprinting indican una protección parcial de este supuesto sitio. Esta evidencia experimental sugiere la existencia de un factor transcripcional del tipo ACE1 en C. subvermispora. La búsqueda del correspondiente gen se realizó utilizando la información del proyecto genoma de P. chrysosporium. Este hongo tiene tres genes relacionados a ACE1, de los cuales, al menos uno se expresa y al usarlo como sonda heteróloga, permitió detectar un gen relacionado en C. subvermispora, cuyas propiedades están en estudio. *Polanco, R. es becario MIFAB.

110.- EFECTO DIFERENCIAL DEL Mn⁺² EN LOS NI-VELES DE mRNAS DE TRES GENES DE MANGANE-SO PEROXIDASA EN EL HONGO BASIDIOMICETE CERIPORIOPSIS SUBVERMISPORA. Differential effect of Mn⁺² in the mRNAs levels of three manganese peroxidase genes in the basidiomycete Ceriporiopsis subvermispora. Manubens A¹, Canessa P¹ y Vicuña R¹ 1) Laboratorio de Bioquímica Departamento de Microbiología y Genética Molecular. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile.

Ceriporiopsis subvermispora es un hongo basidiomicete capaz de degradar a la lignina mediante un sistema enzimático que es secretado al medio. Uno de los componentes de dicho sistema es la manganeso peroxidasa (Cs-MnP), una glicoproteína que posee un grupo hemo y una masa molecular de unos 45 kDa. La Cs-MnP cataliza la oxidación de Mn+2 a Mn+3 en una reacción dependiente de H₂O₂. El Mn⁺³ oxida posteriormente a los residuos fenólicos de la lignina generando radicales. En nuestro laboratorio se han identificado y caracterizado tres genes Csmnps con sus respectivos alelos. En los promotores de éstos se ha encontrado la presencia de cajas que podrían responder a metales (MREs, metal response elements), los cuales han sido descritos en plantas y en mamíferos. En C. subvermispora, estudios mediante hibridación Northern y RT-PCR competitivo mostraron que los niveles máximos de mRNA de cs-mnp1 y cs-mnp2 se obtienen a diferentes concentraciones de manganeso en el medio, mientras que el gen Cs-mnp3 no se expresa en cultivos líquidos. Adicionalmente, se observó que las cantidades de mRNA de cs-mnp1 y cs-mnp2 no muestran una correspondencia con la actividad enzimática que se mide en el medio extracelular, lo que sugiere etapas adicionales a la transcripción en la regulación de la manganeso peroxidasa en este hongo.

Financiamiento: Beca Apoyo Tesis Doctoral CONICYT 2002. Proyecto Complementario FONDECYT 8990004. Instituto Milenio de Biología Aplicada (MIFAB) Beca CONICYT año 2000 111.- EXPRESION HETEROLOGA DEL PROMOTOR DE ENDOXILANASA B DE Penicillium purpurogenum EN Aspergillus nidulans: IMPORTANCIA DE LA ORIENTACION DE LOS SITIOS DE UNION AL FACTOR DE TRANSCRIPCION XInR. (Heterologous expression of endoxylanase B promoter of Penicillium purpurogenum in Aspergillus nidulans: relevance of the orientation of XInR binding sites) Diaz J., Larrondo L., Eyzaguirre J. y Bull P., Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

El xilano es el heteropolisacárido más abundante de las hemicelulosas y es uno de los principales productos de desecho en la degradación de la madera. Para su hidrólisis necesita varias enzimas, entre las cuales está la endoxilanasa B (XynB) de Penicillium purpurogenum, nuestro modelo de estudio, que se expresa en mayor cantidad en medio con xilano como única fuente de carbono. El promotor de xynB contiene ocho sitios de unión al factor de transcripción XlnR (inductor por xilano) en orientación inversa a la descrita para otros genes. Se clonó la región promotora de xynB que contiene las ocho cajas XlnR, en ambas orientaciones, dirigiendo la expresión el genβ-galactosidasa y se introdujo por transformación en A. nidulans.

Los clones que contenían el fragmento del promotor xynB con la orientación nativa para P purpurogenum, tienen una alta actividad β -galactosidasa; por el contrario, los clones con orientación inversa no presentan actividad. Estos resultados sugieren que la orientación de las ocho cajas de XlnR es fundamental para la expresión de enzimas xilanolíticas en Penicillium purpurogenum.

Financiamiento: FONDECYT 8990004 Lineas Complementarias.

112.- EXPRESION DE ANTÍGENOS DE HELICOBACTER PYLORI BAJO DISTINTOS PROMOTORES EN UNA CEPA ATENUADA DE S. TYPHIMURIUM. (Expression of H. pylori antigens directed by different promoters in an attenuated S. typhimurium strain). Gajardo, J., Venegas, A. Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Pontificia Universidad Católica de Chile. Financiado por FONDECYT #1000730.

Helicobacter pylori es un Gram(-) que coloniza estómago y duodeno de primates, produciendo severas enfermedades gastrointestinales, mediadas por factores de virulencia. Entre éstos, HpaA (adhesina) y HspB (proteína de shock térmico) presentan una documentada inmunogenicidad en ratones y humanos.

Ambos antígenos se expresaron en S. $typhimurium \chi 4550$ Δasd mediante el sistema de dos plásmidos que incluye un vector pET (con el gen del antígeno bajo control del promotor T7 y con marcador metabólico asd) y el vector pGP1-2 (gen de RNA polimerasa del fago T7, inducible por temperatura). Además, se evaluó el sistema letal balanceado (plásmido asd^+ /huésped Δasd) monoplasmidial, cuyo vector pET contiene los genes asd y del antígeno, éste último bajo control de distintos fragmentos del promotor nirB, inducible por anaerobiosis y nitrito o nitrato.

Los antígenos HspB y HpaA se expresan eficientemente con el sistema plásmidial dual en *S. typhimurium* χ 4550. La eficiencia de expresión del sistema dual es comparable al utilizar el sistema monoplasmidial con el fragmento del promotor *nirB* que sólo contiene el sitio de unión al factor Fnr, activado por anaerobiosis.

Por otra parte se observó que HspB es secretada al espacio extracelular aunque no posee ninguna secuencia señal que la destine a dicho compartimiento.

113.- CLONAMIENTO Y CARACTERIZACION DE UNA SECUENCIA GENICA DE CALICREINA GLANDULAR DEL PEZ Cyprinus carpio. (Cloning and characterization of glandular kallikrein genomic sequence from Cyprinus carpio). Hidalgo, A., y Figueroa, J. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia. E-mail: jfiguero@uach.cl

Calicreina glandular (CG) es una serina-proteasa que al igual que otras proteínas de este tipo tiene una amplia distribución de tejidos, jugando un rol vital en variados procesos biológicos. CG está presente en todos los mamíferos donde forma parte de una gran familia génica.

A partir del alineamiento de secuencias de consenso existentes en bancos de datos, se generó una sonda de 310pb que permitió obtener 19 clones del rastreo de aprox. 500.000 recombinantes de una biblioteca genómica de carpa. Se caracterizaron 3 de ellos (λ GK,423, λ GK814 y λ GK1012) a los cuales se les confeccionó el mapa físico y se subclonaron fragmentos genómicos de 2000pb (XbaI), 3000pb (EcoRI) y 4000pb (EcoRI) respectivamente, en el vector plasmidial pBluescript. El subclon pcGK423 (2000pb) está siendo sometido a secuenciación para el análisis comparativo con los bancos de datos.

Experimentos de Northern-blot con RNA total de diversos órganos usando el inserto de 2000pb del subclon pcGK423, reveló una intensa expresión en riñón y más débil intensidad en agalla, músculo e hipófisis.

El alto numero de clones obtenidos nos permite concluir que CG en carpa aparentemente también forma parte de una gran familia génica con probable expresión diferencial en diversos órganos

Financiamiento: FONDECYT 1990710, DID UACh 2002-17

114.- EXPRESION DE LA FAMILIA MULTIGENICA DE CALICREINA DE CARPA (Expression of the multigenic family of glandular kallikrein in the carp fish). Vidal, R., Kausel, G. y Figueroa, J. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia. E-mail: jfiguero@uach.cl

La serina proteasa calicreina glandular (CG) pertenece a una super-familia génica que en humanos posee cerca de 14 genes organizados en tandem en el cromosoma 19. Al igual que otras proteínas de este tipo, tiene una amplia distribución de tejidos, jugando un rol vital en variados procesos. Hasta hoy se han secuenciado diferentes CG de mamíferos, pero no existe información de organismos no mamíferos, anfibios o peces.

Se caracterizaron 3 clones genómicos obtenidos a partir de una genoteca de carpa (λGK222, λGK433 y λGK447), se analizaron por Southern-blot y se subclonaron fragmentos de 3500pb (*EcoRI*), 4000pb (*EcoRI*) y 800pb (*HindIII*) respectivamente, en el vector plasmidial pBluescript. El subclon pcGK2223 (3500pb) está siendo sometido a secuenciación para análisis comparativo con CG de mamíferos y otras secuencias génicas de carpa.

Southern-blot de DNA genómico usando una sonda de consenso, reveló una diversidad de bandas muy intensas, lo que implicaría que, en carpa CG posee un alto número de genes. Northern-blot con RNA total de diversos órganos usando como sonda pcGK2223 (4000pb), reveló una fuerte expresión en agalla y músculo y una reacción más débil en riñón e hipófisis. Esta expresión en diversos órganos indica que CG de carpa formaría parte de una gran familia génica con más genes que en mamíferos considerando la tetraploidía de este organismo.

Financiamiento: FONDECYT 1990710, DID UACh-2002-17

115.- ESTRUCTURA GENICA Y EXPRESION ESTACIONAL DE LA PROTEÍNA RIBOSOMAL L41 **DE CARPA.** (Gene structure and seasonal expression of carp ribosomal protein L41) Molina, A., Corta, A., San-Martín, R., Alvarez, M., Krauskopf, M. Vera, M.I. Laboratorio Biología Celular y Molecular, Universidad Andrés Bello, Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada.

La adaptación estacional de la carpa induce profundas respuestas fisiológicas compensatorias. Entre éstas, drásticos cambios en la estructura y función del nucléolo, resultando en fluctuaciones de la síntesis de rRNA y biogénesis ribosomal. La proteína kinasa CK2β, involucrada en la regulación de la síntesis de rRNA, se expresa mayoritariamente en carpas aclimatizadas a verano en comparación a invierno. Consecuentemente, para estudiar la dinámica de la expresión de una proteína relacionada directamente con la actividad de CK2β, hemos aislado y caracterizado la totalidad del gen de la proteína ribosomal L41 de carpa. Este codifica para la más pequeña y más básica de las proteínas celulares. La secuencia obtenida contiene 1700pb de la región reguladora y la región codificante completa. Adicionalmente, aislamos dos cDNAs de prL41, sugiriendo la existencia de al menos dos genes en la carpa. El análisis de la secuencia aminoacídica deducida mostró 100% de identidad con otros eucariontes superiores. Asimismo, el patrón de expresión del transcrito de prL41 coincide con el de CK2\beta, presentando niveles superiores en peces aclimatizados a verano con respecto a los de invierno. Luego, en la carpa, la expresión de estos genes concuerda con la regulación estacional de la síntesis de rRNA y la biogénesis ribosomal.

FONDECYT 1000-061, DI-UNAB 94-01.

116.- GENOMICA FUNCIONAL DURANTE LA ADAPTACION ESTACIONAL DE LA CARPA (Functional genomics during the seasonal adaptation of the carp). Alvarez, M., Quezada, C., Navarro, C., Azócar, R., Lijs, K., Molina, A., Krauskopf, M., Vera, M.I. Laboratorio Biología Celular y Molecular, Universidad Andres Bello; Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada

El pez Cyprinus carpio genera estrategias moleculares que coordinan el proceso de adaptación a las variaciones estacionales de su habitat. Hemos demostrado que estas respuestas compensatorias afectan la síntesis de RNA y proteínas. Fenotípicamente este fenómeno se refleja, entre otros, por la reorganización de los componentes nucleolares. En verano el nucléolo se observa integrado y activo y en invierno sus componentes se segregan, indicando una represión transiente de la síntesis de rRNA.

Para caracterizar esta respuesta compensatoria estacional usamos "mRNA differential display" y comprobamos que existe una reprogramación génica concomitante con las variaciones estacionales del ambiente, que implica la expresión diferencial de innumerables genes. Para investigar los mecanismos de regulación molecular hemos estudiado nucleolina, involucrada en múltiples etapas de la biogénesis ribosomal, entre ellas la represión de la transcripción de rRNA. Consiguientemente, a partir de la secuencia completa del cDNA de nucleolina se dedujo la proteína, que comparte un 62% de identidad con la de Xenopus. La expresión del transcrito en hígado es mayoritaria en invierno respecto al verano. A partir del cDNA se produjo proteína recombinante para la preparación de anticuerpos anti-nucleolina de carpa que permitirán evaluar el contenido estacional de esta proteína y confrontarlo con el de sus transcritos.

Proyectos: FONDECYT 1000-061, DI UNAB 66-00 y 93-01

117.- ESTUDIOS DE LOS MECANISMOS DE ACTIVA-CION DE LA TRANSCRIPCION POR RNA POLIMERASA II EN Schizosaccharomyces pombe (Study of the mechanism of transcriptional activation by RNA polymerase II in Schizosaccharomyces pombe). Bernal, G. y Maldonado, E. Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La regulación de la transcripción por RNAP II es un proceso que requiere factores de transcripción, denominados activadores de la transcripción. Estos activadores poseen un dominio de unión específico a DNA y dominios de activación, que unidos a un segundo grupo de proteínas, denominados coactivadores, son capaces de activar la transcripción. Los coactivadores sirven de interfase entre el activador y la RNAP II junto a sus factores basales. En este trabajo presentamos el subclonamiento de los dominios de activación de los activadores de transcripción humanos Sp1, Oct2, AP2 y CTF, fusionados al dominio de unión al DNA del factor de transcripción Gal4 en el vector de expresión pET15b. Además presentamos los ensayos de transcripción realizados con estos dominios fusionados, en extractos celulares de S. pombe, en los cuales demostramos que los dominios de activación humanos ricos en glutamina (Sp1 y Oct2) no son capaces de activar la transcripción in vitro en extractos celulares de S. pombe, mientras que los dominios de activación humano, AP2, rico en prolina, y del virus herpes VP16, rico en aminoácidos acídicos, son capaces de activar la transcripción in vitro en estos extractos. Sin embargo aun resta realizar estos ensayos en moldes de DNA cromatínico. Fondecyt 1010824

118.- ESTIMULACION DE LINFOCITOS HUMANOS CON FITOHEMAGLUTININA INDUCE LA SOBRE **EXPRESION** DEL RNA QUIMERICO MITOCONDRIAL. (Stimulation of human lymphocytes with phytohaemagglutinin induces over expression of the mitochondrial chimeric RNA). Santander, M., Villegas, J., Villota, C., Burzio, V. and Burzio, L.O. Bios Chile I.G.S.A., Fundación Ciencia para la Vida e Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada, Avenida Maratón 1943, Santia-

Recientemente hemos clonado el RNA quimérico mitocondrial humano el cual contiene un repetido invertido de 184 nucleótidos unidos al extremo 5' del RNA 16S mitocondrial. Estudios previos sugieren una estrecha correlación entre la expresión de este RNA y proliferación celular. En el presente trabajo se determinó la expresión del RNAq en linfocitos humanos estimulados con el mitógeno fitohemaglutinina. A las 48 horas post-estimulación se observó una marcada expresión del RNAq medida tanto por hibridación in situ como por amplificación del RNA por RT-PCR. La naturaleza del amplicon se determinó por clonamiento y secuenciación. Esta sobre expresión del RNAq coincide con la activa replicación del DNA y la expresión de antígenos propios de células en proliferación como Ki-67, PCNA e histona H3 fosforilada. En contraste, los linfocitos no estimulados no presentan sobre expresión del RNAq y tampoco expresan los marcadores de proliferación señalados. Un hallazgo sorprendente es que conjuntamente con la sobre expresión del RNAq también se sobre expresa un putativo RNAq antisense, similar a la situación encontrada en otras células en proliferación como espermatogonias, células germinales de bazo, células proliferantes de colon o intestino y células endoteliales humana AMG (MIFAB P99-007-F).

119.- LOCALIZACION NUCLEOLAR DEL RNA QUIMERICO MITOCONDRIAL HUMANO (Nucleolar localization of the human mitochondrial chimeric RNA). Villegas, J., Villota, C., Burzio, V., y Burzio, L.O. BiosChile I.G.S.A. Fundación Ciencia Para La Vida e Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada (MIFAB). Av. Marathon 1943, Santiago, Chile.

Nuestro laboratorio ha clonado un RNA mitocondrial que posee un largo repetido invertido de 184 nucleótidos unido al rRNA 16S mitocondrial que hemos denominado RNA quimérico (RNAq). Tratamiento de células HeLa con bromuro de etidio mostró que la síntesis del RNAq depende estrictamente de transcripción mitocondrial y en consecuencia no es el producto de un pseudogen mitocondrial. Mediante hibridación in situ (HIS) se determinó una fuerte señal corresponiente al RNAq en el citoplasma de células HeLa, SiHa y HL-60. Sin embargo, un hallazgo único fue constatar una clara localización nucleolar de este RNA en las células examinadas, siendo el nucleoplasma negativo, sugiriendo una localización específica para este RNA.

La identidad del RNAq fue confirmada mediante amplificación por RT-PCR de RNA de nucleolos aislados y posterior secuenciación del amplicón. La localización nucleolar es evidente además en tumores sólidos, y células normales en proliferación, como son células espermatogénicas. Interesante es el hallazgo de la existencia de un RNAq antisentido con localización nucleolar que indica la síntesis de ambas hebras del gen del rRNA 16S mitocondrial. En consecuencia hemos demostrado por primera vez la translocación de un RNA mitocondrial al nucleolo y se discutirá su relación con proliferación celular. (MIFAB P99-007-F).

120.- CARACTERIZACION DE ELEMENTOS FUNCIONALES EN EL PROMOTOR DEL GEN Cs-mnp2B DEL BASIDIOMICETE Ceriporiopsis subvermispora. (Characterization of functional elements in the Cs-mnp2b gene promoter of the basidiomycete Ceriporiopsis subvermispora). Castro, A., Agredo, M., Seelenfreund, D. y Lobos, S. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Financiamiento: Proyecto FONDECYT en Líneas Complementarias Nº 8990004.

La regulación de la expresión de un gen depende de su región promotora, módulo central de procesamiento de diversas señales. Nuestra investigación se centra en la caracterización de la región promotora del gen Cs-mnp2B que codifica para una peroxidasa dependiente de manganeso (MnP2B) de C. subvermispora, la cual forma parte de un sistema altamente selectivo de degradación de lignina. La actividad MnP no es detectada en cultivos líquidos carentes de Mn+2 y la expresión del gen Cs-mnp2B es finamente regulada por dicho metal. Además, su región promotora contiene elementos del tipo MRE (Metal Responsive Elements) que podrían explicar esta regulación por Mn⁺². Para estudiar este promotor generamos fragmentos discretos mediante PCR, correspondientes a diferentes regiones de éste, los que se utilizaron en ensayos EMSA y footprinting con extractos nucleares preparados a partir de micelio del hongo cultivado en distintas condiciones. Nuestros resultados demuestran la existencia de proteínas que reconocen específicamente secuencias discretas en estas sondas y que la formación de complejos proteína-DNA es dependiente de la presencia de Mn2+.

121.- CLONAMIENTO Y CARACTERIZACION DE cDNAs QUE CODIFICAN PARA ANTIGENOS RECOMBINANTES DE Toxocara canis. (Cloning and characterization of cDNAs which encoded recombinant antigens from T.canis). Ibacache, W., ²Lerdner, M., ¹Hatton,F., ¹Vasquez, B., Prado, E., Ojeda, N., ³Noemí, I., ³Cerva, J.L., ¹Venegas, J. ¹Unidad de Parasitología Norte, Facultad de Medicina, U. de Chile. ²Lehrstûrhl für Moleculare Parasitologie, Institût für Biologie, Hûmboldt-Universität zu Berlin. ³Laboratorio de Parasitología, Hospital Calvo-Mackenna.

T.canis es un nemátodo del perro que provoca la enfermedad parasitaria llamada toxocarosis. La enfermedad es de amplia distribución a nivel mundial afectando principalmente a los niños debido a sus hábitos de geofagia. Los síntomas clínicos, en el hospedero humano, dependen de la ubicación del parásito en los distinto órganos y de la carga parasitaria, provocando, en algunos casos, perdida de visión, alteraciones hepáticas, respiratorias ó neurológicas. Con el objetivo de avanzar en el conocimiento de la patogenía de esta enfermedad y mejorar los sistemas de diagnósticos serológicos, se emprendió el clonamiento de cDNAs que codifiquen para antígenos recombinantes de larvas infectantes de este parásito. Para llevar a cabo dicho objetivo se procedió a rastrear una genoteca de expresión de cDNA, generada a partir de mRNA de larvas infectantes, usando una mezcla de sueros de pacientes con toxocarosis. Se logró aislar y purificar 18 clones. Estudios de PCR y secuenciación revelaron que dos de esos clones codifican para lectinas tipo C, probablemente involucradas en la evasión de la respuesta inmune de este nemátodo.

Financiado por: Proyecto DID TNAC 24-02/01, Universidad de Chile.

BIOTECNOLOGIA Y GENETICA MOLECULAR

122.- RIBOZIMAS DE MARTILLO DIRIGIDAS AL RNA DE LA DESHIDROGENASA ALDEHÍDICA MITOCONDRIAL (ALDH2) DE RATA. (Hammerhead ribozymes targeted to rat mitochondrial aldehyde dehydrogenase RNA). Muñoz C, Sapag A, Israel Y. Laboratorio de Farmacoterapia Génica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas e Instituto Milenio CBB. Universidad de Chile.

El etanol es oxidado a acetaldehído en el hígado por la deshidrogenasa alcohólica y este metabolito es luego oxidado a acetato por la deshidrogenasa aldehídica mitocondrial (ALDH2). La inactivación farmacológica de la ALDH2 con disulfiram se utiliza como una terapia para el alcoholismo, pues al consumir alcohol se produce una acumulación de acetaldehído cuyos efectos provocan aversión al etanol.

Las ribozimas son moléculas pequeñas de RNA que cortan catalíticamente un RNA blanco en un sitio accesible. Constituyen una alternativa más específica que el disulfiram para disminuir la actividad de la ALDH2 y reducir el consumo de etanol. Se determinó la accesibilidad de 16 oligonucleótidos de DNA al RNA de la ALDH2 de rata mediante digestión de híbridos DNA-RNA con RNasa H, seguida por una transcripción inversa con un partidor radioactivo. Cuatro sitios del RNA resultaron ser accesibles. Se diseñaron tres ribozimas de martillo cuyos blancos (~20 nts) son segmentos accesibles del RNA que contienen tripletes GUC y UUC. Se construyeron plasmidios que codifican las ribozimas RbzGUC20, RbzGUC19 y RbzUUC9 para expresarlos in vitro y en cultivo de células de mamífero. Los experimentos in vitro muestran que las ribozimas RbzGUC20 y RbzUUC9 cortan el RNA de la ALDH2 de rata. (Financiamiento: Milenio P99-031-F)

123,- IDENTIFICACION DE POLIPEPTIDOS EN LA SALIVA HUMANA ASOCIADOS A LA PRESENCIA DE

CARIES. (Identification of salivary polypeptides in association to dental caries) Morales I., Rojas S., Salazar E., Maturana C., y Urzúa B.. Departamento de Ciencias Físicas y Químicas, Facultad de Odontología, Universidad de Chile. Departamento Del Niño y Ortopedia Dentomaxilar, Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

A las proteínas salivales se les atribuye funciones protectoras de la cavidad bucal, simultáneamente, existe evidencia de que participan en la colonización y mantención de la placa bacteriana dental. Así, podrían vincularse con la iniciación o la inhibición de la caries dental. En general, los intentos por asociar la experiencia de caries con la actividad de cualquier proteína salival, no ha sido exitosa y los resultados mostrados por distintos autores son controvertidos.

Con el propósito de relacionar la composición polipeptídica salival y la presencia de caries, muestras de saliva total, parotídea y del complejo submandibular/sublingual obtenidas de individuos con altos índices de caries e individuos con bajos índices de caries, fueron analizadas mediante electroforesis en geles de SDS-poliacrilamida y tinción con Coomassie blue. Adicionalmente, aislados de Streptococcus mutans, de pacientes con altos índices de caries, fueron analizados mediante PCR.

Este estudio ha permitido identificar polipéptidos de salivas glandulares presentes con mayor frecuencia en individuos con altos índices de caries. Los aislados de *S.mutans*, presentan una variabilidad genética que pudiese estar relacionada con la frecuencia de caries de estos individuos.

Financiado por Proyecto D.I.D. ODO 007/2 y D.I.D I 02-2/2001

124.- CARACTERIZACION DE LA MICROBIOTA PERIODONTAL EN UN GRUPO FAMILIAR CON PERIODONTITIS AGRESIVA, MEDIANTE PCR.

(Characterization of periodontal microbiotic in familiar group with aggressive periodontitis, by PCR) León, R.¹, Parra, B.², Gamonal, J.³ y Contreras, A.². ¹Departamento de Ciencias Físicas y Químicas, ³Departamento de Periodoncia. Facultad de Odontología Universidad de Chile. ²Departamento de Salud Universidad del Valle. Colombia.

Las enfermedades periodontales son un grupo de infecciones que afectan las estructuras de inserción del diente y que se caracterizan por la presencia de bacterias subgingivales del tipo Gram(-). La actividad de estas bacterias es capaz de estimular y perpetuar la respuesta inmune e inflamatoria en los tejidos periodontales (encía, hueso alveolar, ligamento periodontal y cemento radicular) llevando posteriormente a la perdida de la pieza dental. Un tipo especial de periodonties son las agresivas, que se caracterizan por la destrucción de los tejidos periodontales y posterior pérdida del diente en un período corto de tiempo.

Recientes investigaciones han demostrado que bacterias tales como *Porphyromona gingivalis* (*Pg*), *Actinobacilus actinomycetemcomitans* (*Aa*), *Bacteroides forshytus* (*Bf*), *Dialister pneumosintes* (*Df*), entre otros, están implicados en la patogénesis de la enfermedad periodontal.

En el presente trabajo se ha determinado, a través de la técnica de PCR, la presencia de estos patógenos periodontales en un grupo familiar con periodontitis agresiva. Destacando, la aparición de *Dialister pneumosintes*, organismo que por primera vez es descrito en enfermos con periodontitis agresiva en nuestro país.

125.- ANALISIS MUTACIONAL DE AMELOGENESIS IMPERFECTA DOMINANTE AUTOSOMAL (Mutational analysis of autosomal dominant Amelogenesis Imperfecta). Urzúa, B. y Morales, I. Laboratorio de Bioquímica y Biología Oral, Facultad de Odontología, Universidad de Chile. Patrocinante: Víctor Cifuentes.

Amelogénesis Imperfecta (AI) es un grupo de condiciones herededadas que afectan adversamente el desarrollo del esmalte dental, causando rasgos clínicos heterogéneos, como anomalías en el grosor o cantidad del esmalte (AI hipoplásica), o bien en su composición y estructura (AI hipocalcificada e hipomadura). Además, genéticamente son heterogéneas; existiendo subtipos clínicos que se heredan en forma autosómica o ligadas al cromosoma X, con variantes recesivas y dominantes, en cada caso.

Las formas ligadas al cromosoma X de AI, se ubican en dos locus (AIH1, AIH3) y se deberían a doce mutaciones diferentes que afectan el gen de amelogenina. No obstante, para las formas de AI dominante autosomal (AIDA) se ha descrito sólo una mutación en el gen de enamelina, en una familia que clínicamente presenta una variante hipoplásica lisa y generalizada en ambas denticiones.

En nuestro laboratorio hemos confeccionado el pedigree de una familia con AI, cuyo análisis genético es compatible con herencia autosómica dominante. El examen clínico indica que se trata de AIDA hipoplásica lisa localizada, pero el análisis molecular del DNA de algunos individuos de esta familia, realizado mediante PCR, reveló que los sujetos afectados no tienen la mutación reportada en el gen de enamelina. Esto sugiere que la heterogeneidad en el fenotipo clínico podría ser explicada por heterogeneidad alélica o de locus.

126.- DETECCIÓN DE MUTACIONES EN EL GEN BRCA1 MEDIANTE EL ENSAYO DE LA PROTEÍNA TRUNCA EN PACIENTES CHILENAS CON CANCER HEREDITARIO. (Mutation detection on the BRCA1 gene through the protein truncation test assay on Chilean patients with hereditary breast cancer). Salinas, M., Faundez, P., Carvallo, P. Departamento de Biología Celular y Molecular, Fac. Ciencias. Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El cáncer de mama es la segunda causa de muerte, por cáncer, en la población femenina en Chile. Uno de los mayores factores de riesgo para el desarrollo de cáncer mamario es una historia familiar positiva para esta enfermedad. Se han logrado identificar 2 genes responsables del desarrollo de cáncer mamario hereditario, BRCA1 y BRCA2, localizados en los cromosomas 17q21 y 13q12 respectivamente. Numerosas mutaciones se han encontrado en estos dos genes, siendo las más comunes aquellas que producen codones de término prematuros. El estudio de la presencia de mutaciones en estos dos genes se realiza comúnmente a través de ensayos como SSCP (conformómeros de simple hebra) y heterodobletes. Ya que estos tipos de ensayo no detectan el 100% de las mutaciones hemos desarrollado el ensayo de la proteína trunca (PTT) que constituye un método más certero. Este método se realiza en el exón 11 del gen BRCA1 y en los exones 10 y 11 de BRCA2, por ser los exones más probables de presentar mutaciones. Hasta el momento se ha encontrado una mutación en el gen BRCA1 en el exón 11: 3936C-T, produciendo un cambio de glutamina por un codón de término en la posición 1273. Esta mutación fue encontrada previamente en nuestro laboratorio en una familia Chilena, y sólo fue posible detectarla por secuenciación completa del gen. (FONDECYT 1011076)

127.- DETECCION DE 12 MUTACIONES EN EL GEN CFTR EN PACIENTES CON RINOSINUSITIS CRONICA. (Detection of 12 mutations in the CFTR gene in chronic rhinosinusitis patients). Manríquez, J. 1.2, Molina, G. 1. 1Laboratorio de Biología y Genética Molecular. CIM. Escuela de Medicina, Universidad de Valparaíso. 2 Sección Bioquímica. Instituto de Química, Universidad Católica de Valparaíso. Socio Patrocinante Dra. Pilar Carvallo

La Rinosinusitis Crónica (RC) se define como la persistencia de inflamación rinosinusal por más de 3 meses, luego de tratamiento adecuado. Su etiopatogénia es la alteración del drenaje de los senos paranasales por acumulación de mucus. La RC es una característica constante en la Fibrosis Ouística (FQ). La FQ es producida por mutaciones en el gen CFTR, el cual codifica para un transportador de membrana de células secretoras. La falla en esta proteína produce un mucus de mayor viscosidad. Se postula que la presencia de mutaciones de CFTR en pacientes con RC puede ser una posible etiología de esta enfermedad. Se han seleccionado veinte pacientes con el diagnóstico clínico de RC y electrolitos en sudor normal o limítrofes. El gen de CFTR se amplificó por PCR desde el DNA de éstos pacientes y de un grupo control. Doce mutaciones descritas en FQ y RS se analizan mediante enzimas de restricción (AR) o mutagénesis sitio dirigida seguida de enzimas de restricción. La incidencia de estas mutaciones es mayor en los pacientes con RC que en el grupo control. Es probable que defectos en el gen CFTR sean partícipes de la etiopatogénia de la RC. (Proyecto DIPUV 28/2001).

128.- DETECCION DE 16 MUTACIONES EN EL GEN CFTR EN PACIENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA Y SU RELACION CON SU FUNCION PANCREATICA. (Detection of 16 mutations in the CFTR gene in cystic fibrosis patients and their relationship with pancreatic function). González, M. 13, Deglin, M. 2, Carvallo, P4, González, F. 1. Laboratorio Biología y Genética Molecular, CIM. 2Departamento de Pediatría. Escuela de Medicina. Universidad de Valparaíso. Sección Bioquímica. Instituto de Química, Universidad Católica de Valparaíso. 4Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas,

Pontificia Universidad Católica de Chile.

La Fibrosis Quística (FQ) es una enfermedad autosómica recesiva, caracterizada por obstrucción de vías respiratorias, anormalidades gastrointestinales, y electrolitos en sudor elevados. El gen responsable codifica para la Proteína CFTR, que es un canal de cloro. Dentro de las mil mutaciones descritas en este gen, aquellas asociadas a las formas severas de FO causan una regulación anormal o ausencia de CFTR, y las asociadas a las formas leves causan disminución de la conductancia o de la cantidad de CFTR. La función pancreática se asocia a genotipos determinados por la presencia de mutaciones severas o leves. Se seleccionaron 30 pacientes portadores de FO con suficiencia o insuficiencia pancreática. Los exones del gen de CFTR se amplificaron mediante PCR y se analizó la presencia de dieciséis mutaciones severas o leves, mediante enzimas de restricción, o mutagénesis sitio dirigida y enzimas de restricción. De los 60 cromosomas analizados, se detectó la presencia de alguna mutación en el 45% de éstos. Se encontró una correlación entre insuficiencia pancreática y mutaciones severas.

(APERTUS, Laboratorios Andrómaco).

129.- GENOMICA DE DINOFLAGELADOS CAUSANTES DE LA MAREA ROJA: PREPARACION Y CARACTERIZACION DE UNA GENOTECA DE cDNA DE ALEXANDRIUM CATENELLA. (Genomics of red tide causing dinoflagellates: Production and characterization of a Alexandrium catenella cDNA library). Fuentes, D., Burzio, V., Bustamante, J., Córdova, J., Burzio, L. O. y Valenzuela, P., Fundación Ciencia para la Vida e Instituto MIFAB.

El Veneno Paralizante de Marisco (VPM) es una las 4 toxinas identificadas en marea roja, fenómeno que ocurre habitualmente en Chile y en otros países como Japón y EEUU. Dichos episodios generan cada año importantes pérdidas económicas, sociales y turísticas, debido al carácter letal del VPM. En Chile, la principal especie productora de VPM es Alexandrium catenella, dinoflagelado presente en la costa de las regiones XI y XII, y últimamente en la X Región.

Para estudiar la biología de esta microalga, hemos preparado una biblioteca de cDNA unidireccional a partir del RNA poliA†purificado de RNA total mediante columnas de oligodT celulosa. La síntesis del cDNA se realizó mediante RT-PCR, agregando adaptadores en los extremos con sitios de cortes XhoI y EcoRI. Dicho cDNA fue ligado en el vector Uni-ZAP XR y empaquetado en fago lambda. La infección fue realizada en E. coli XL1-Blue MRF′, obteniéndose en total 74.000 pfu/ml que por amplificación dieron origen a 1.8x10¹¹ pfu totales. A continuación se realizó una excisión in vivo, en células SOLR, quedando el vector como plasmidio. Actualmente dichos clones se encuentran en etapa de secuenciación para construir la primera base de datos de EST de este organismo.

130.- SECUENCIA Y EXPRESION DE GENES DE VIRUS HANTA ANDES (Sequence and expression of genes of Hantavirus Andes). Tischler, N., Lisbona, F., Müller, I., Martínez, R., Fernández, J., Rosemblatt, M. y Valenzuela, P. Fundación Ciencia para la Vida, MIFAB e Instituto de Salud Pública de Chile.

La ausencia de tratamientos efectivos contra el Síndrome Cardiopulmonar causado por virus Hanta Andes (HCPS) contribuye a la actual mortalidad cercana a 30%. En Chile se han registrado 60 casos de HCPS sólo durante el año 2002. El virus Andes posee tres hebras de RNA de sentido negativo que codifican cuatro proteínas: dos glicoproteínas G1 y G2 que forman la envoltura y dos proteínas internas, la nucleoproteína y RNA polimerasa.

Aquí se presentan resultados de la secuencia del aislado chileno Ch199-7913 como también la expresión y purificación de sus proteínas. Para la expresión en *E.coli*, el gen de la nucleoproteína y 4 fragmentos de DNA que abarcan la secuencia completa de las dos glicoproteínas, se clonaron en el vector pET32a. Se ha logrado la expresión y purificación de la nucleoproteína de 72 kDa, así como también la del fragmento C-terminal de 58kDa de la glicoproteína G2. La expresión de los otros fragmentos de las glicoproteínas se encuentra en progreso. La nucleoproteína de 72 kDa ha mostrado ser altamente reactiva con sueros de pacientes infectados.

Las proteínas recombinantes se utilizarán en el desarrollo de ensayos rápidos para la detección de la infección y para la preparación de anticuerpos que podrían permitir la neutralización del virus.

131.- AISLAMIENTO, SECUENCIACION Y EXPRESION DE GENES DE PROTEINAS FLAGELARES EN PISCIRICKETTSIA SALMONIS (Isolation, sequencing and expression of genes coding for flagellar proteins in Piscirickettsia salmonis). Engel, E., Hernández, C., Brücher, R., Ugarte, F., Wilhelm, V., Miquel, A., Jamett A., Araya, P., Burzio, L. O. y Valenzuela P. Fundación Ciencia para la Vida, Instituto Milenio MIFAB y Bios Chile IGSA.

Piscirickettsia salmonis es el agente causal del síndrome rickettesial del salmón, patología que causa pérdidas a la industria salmonera nacional. Recientemente se completó en un 95% la secuencia de su genoma y esto ha entregado hallazgos novedosos como que esta bacteria posee todos los genes necesarios para expresar un flagelo funcional.

En este trabajo nos hemos concentrado en proteínas componentes del cuerpo basal de la estructura flagelar. FlgF y FlgC forman el eje proximal, FlgG forma el eje distal, FlgH esta formando el anillo L y FlgJ es una hidrolasa del peptidoglicán. Estos genes se amplificaron por PCR, se clonaron en un vector de expresión animal que se usará como tratamiento preventivo de la patología basado en una vacuna de ADN. Además, se clonaron en un vector de expresión bacteriana del cual se obtuvieron proteínas recombinantes purificadas, las que permitieron producir anticuerpos monoclonales. Se presentarán resultados de experimentos utilizando técnicas de inmunocitoquímica y microscopía electrónica, con los que hemos podido confirmar la expresión de algunos de estos genes in vivo, lo que indica que la motilidad sería un elemento relevante en el ciclo infectivo de P. salmonis. Financiado en parte por proyecto CORFO FDI PT-03.

132.- POTENCIAL INMUNOGENICO DE PROTEÍNAS DE PISCIRICKETTSIA SALMONIS INYECTADAS EN RATON. (Immunogenic potential of Piscirickettsia salmonis proteins in mouse). Wilhelm, V., Araya, P., Engel, E., Erazo, E., Hernández, C., Huaracán, B., Jamett, A., Morales, C., Soza, C., Burzio, L.O., Rosemblatt, M. y Valenzuela, P. Fundación Ciencia para la Vida, Instituto MIFAB y BiosChile IGSA.

Piscirickettsia salmonis es el agente causante del síndrome rickettsial del salmón, el cual afecta la industria salmonicultora nacional. Con el objeto de desarrollar métodos de prevención de esta infección hemos iniciado un programa de identificación, aislamiento y expresión de genes bacterianos, cuyas proteínas podrían participar en la interacción patógeno-huésped y en el desarrollo de inmunidad.

Actualmente se han clonado y expresado, 16 proteínas de P. salmonis correspondientes a proteínas de membrana, factores de virulencia v estrés térmico. Las proteínas recombinantes expresadas en E. coli se purificaron parcialmente, se inyectaron en una mezcla en ratones y se determinó la respuesta inmune. En paralelo fueron clonados los genes que codifican para estas proteínas en el vector pUK21-A2, que permite su expresión en células eucarióticas. Grupos de plasmidios fueron inyectados en ratones y la respuesta inmune fue determinada por el método de ELISA. Tanto la mezcla de proteínas, como las mezclas de ADN provocan una respuesta inmune en ratón, lo que indica que los genes clonados en el vector eucariótico se expresan in vivo. Se estudiará en salmón la capacidad de protección de las preparaciones de ADN y la mezcla de proteínas recombinantes en un desafío con P. salmonis.

Financiado en parte por proyecto CORFO FDI PT-03.

133.- DESARROLLO ANTICUERPOS MONOCLONALES PARA EL DIAGNOSTICO DE AEROMONA SALMONICIDA ATÍPICA EN SALMONIDEOS. (Development of monoclonal antibodies for diagnostic of atypic Aeromona salmonicida in salmonids). Jamett, A., Cordovez, C., Martínez, R., Yudelevich, A., Valenzuela, P., Bios Chile IGSA., Fundación Ciencia para la Vida e Instituto Milenio MIFAB.

Aeromona salmonicida es una bacteria gram negativa, que por morfología, velocidad de crecimiento y productos extracelulares, presenta variaciones clasificadas como variedades típicas y atípicas. Este patógeno es el agente etiológico causante de la furunculosis, enfermedad que genera importantes pérdidas a la industria salmonera. Estudios iniciales en Chile han demostrado la presencia de ambas variedades, por esta razón, es importante contar con métodos de diagnóstico capaces de identificarlas en el cuadro clínico del pez para utilizar el tratamiento adecuado.

Con este propósito, hemos desarrollado un panel de anticuerpos monoclonales contra A. salmonicida atípica, empleando los aislados FP67/00 y FP 1109/99 obtenidos en el sur de Chile. Además, utilizando partidores de eubacterias, se amplificó la región 16S ribosomal de estas aeromonas para comparar su secuencia con bancos de datos disponibles.

Los anticuerpos monoclonales producidos se caracterizaron por ELISA e inmunofluorescencia indirecta (IFI), con un panel de bacterias que afectan a los cultivos de peces. Se seleccionaron 3 anticuerpos específicos contra estas variedades atípicas los cuales se unieron a partículas de látex, para montar un ensayo de aglutinación que mostró una sensibilidad de 4x106 cel/ml. Además estos anticuerpos demostraron ser una poderosa herramienta para el desarrollo de métodos de diagnóstico utilizando IFI o ELISA.

134.- RESPUESTA FISOLOGICA Y DEL PROTEOMA DE Burkholderia sp. LB400 FRENTE A CLOROBENZOATOS. (Physiological and proteomic responses of Burkholderia sp. LB400 to chlorobenzoates). Martínez, P. y Seeger, M. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Universidad Técnica Federico Santa María, Avenida España 1680, Valparaíso, Chile. castagneta 21 @ hotmail.com.

Burkholderia sp. LB400 tiene la capacidad de degradar un amplio rango de policlorobifenilos (PCBs), que son los contaminantes orgánicos clorados más ampliamente distribuidos en el ambiente. Esta bacteria posee la vía superior de bifenilo, que le permite degradar algunos PCBs. Los productos finales de esta vía son clorobenzoatos (CBAs) y ácidos 2-hidroxipenta-2,4-dienoicos. Los CBAs en general no son metabolizados por bacterias degradadoras de PCBs.

Se investigó el efecto de 4-CBA y 2-CBA sobre Burkholderia sp. LB400. Se determinó mediante HPLC que tanto 4-CBA como 2-CBA no son degradados por la bacteria. Ambos CBAs afectan el crecimiento de la bacteria, siendo este efecto mayor con 4-CBA. Se estudió el proteoma de la bacteria utilizando electroforesis bidimensional en geles de poliacrilamida-SDS. Al comparar los proteomas de la bacteria, con y sin exposición a 4-CBA, se detectó la inducción y represión de diversas proteínas. Para su identificación, se determinaron secuencias peptídicas parciales, utilizando microsecuenciación del N-terminal y espectrometría de masas de alta resolución ESI-Q-TOF. Entre las proteínas inducidas se identificaron BphB y algunas chaperonas moleculares como la DnaK, lo que indica que la exposición a CBAs representa una situación de estrés para esta bacteria.

Agradecimientos: proyectos USM 130122; Conicyt-BMBF; Fondecyt 1990808, 7990001, 1020221 y 7020221.

GENETICA

135.- CONTRIBUCION DE LA MORFOMETRIA GEOMETRICA AL ESTUDIO DE LA DEFORMACION CRANEANA INTENCIONAL EN POBLACIONES PREHISPANICAS DE CHILE (Contribution of geometric morphometrics to the study of intentional cranial deformation in Chilean prehispanic populations) G. Manríquez¹, S. Quevedo² y O. Espouyes². 1Programa de Genética Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Chile; 2Sección de Antropología Física, Museo Nacional de Historia Natural, Santiago.

ANTECEDENTES. La deformación craneana intencional (DCI), fue practicada por la mayoría de las poblaciones prehispánicas mesoaltiplánicas de Chile, y constituye parte significativa de las colecciones esqueletales provenientes de esa región. La incorporación de las muestras con DCI en estudios antropométricos se ha realizado utilizando mediciones esplacnocraneanas, no sujetas a deformación según este enfoque.

PROBLEMA. Se plantea el problema de la exclusión de la variable DCI de los estudios de las poblaciones prehispánicas del Norte de Chile.

HIPOTESIS. La sobreposición de hitos anatómicamente equivalentes de cráneos deformados intencionalmente y no deformados tiene vectores de magnitud y dirección significativamente diferentes. Estos vectores incluyen la región esplacnocraneana.

RESULTADOS. Las medidas esplacnocraneanas no afectadas por el efecto de la DCI según el análisis multivariado lineal resultan modificadas significativamente al aplicar el enfoque de la morfometría geométrica (covariación vectorial del esplacnocráneo y el neurocráneo). Estos resultados se basan en la exclusión de las diferencias de escala, rotación y traslación en las muestras originales (relative warp analysis, muestras con y sin DCI).

CONCLUSION. El enfoque de la morfometría geométrica resuelve problemas derivados del uso de la morfometría lineal al estudio de las poblaciones pre-hispánicas, al explicar la covariación de la forma esplacno-neural en cráneos deformados intencionalmente.

Proyecto Fondecyt Nº 1020375

136.- TETRAPLOIDÍA EN PIPANA COCTOMYS AUREUS (RODENTIA, OCTODONTIDAE), Y ALOPOLIPLOIDÍA EN MAMÍFEROS (Tetraploidy in P. aureus, Rodentia, Octodontidae, and allopolyploidy in mammals). ¹Gallardo M., ²Ojeda R., ¹Mondaca, F., ¹Köhler, N. ¹Instituto de Ecología y Evolución, Universidad Austral de Chile, Valdivia. ²IADIZA, Cricyt, Mendoza, Argentina. Financiado por FNC 1010727.

La reciente descripción de Pipanacoctomys aureus ha motivado gran interés por su proximidad filogenética con Tympanoctomys barrerae (4n =102). El contenido de ADN somático (15.6 ± 0.5 pg) y la presencia de dos corpúsculos de Barr en las hembras sugieren que P. aureus también es tetraploide. Su cariotipo polimórfico (92-93-94 cromosomas) es mayoritariamente bibraquiado, con heterocromatina pericentromérica. Sus espermios megacefálicos son espatulados y muy similares a los de T. barrerae. El cladograma de secuencias nucleotídicas de los octodóntidos (12S) muestra un alto soporte bootstrap para las estrechas relaciones de hermandad entre estas dos especies. Los especialistas de desierto, Octomys mimax (2n = 56) y Octodontomys gliroides (2n = 38) forman sucesivos grupos externos. Se postula que P. aureus se originó por hibridización y posterior duplicación genómica de los linajes ancestrales a O. mimax y O. gliroides (38 + 56 = 94). Sus 46 bivalentes meióticos apoyan esta predicción. La condición tetraploide de P. aureus permite derivar directamente el enigmático cariotipo de T. barrerae si se asume retrocruza de P. aureus con los ancestros de O. mimax y subsecuente duplicación genómica de este último (46 + 56 = 102). Los análisis meióticos y otros estudios en curso son consistentes con este modelo.

137.- EVIDENCIA MOLECULAR DE HIBRIDIZACION INTROGRESIVA EN ROEDORES OCTODONTIDOS (Molecular evidence for introgressive hybridization in Octodontid rodents).Bacquet C.*, González C.*, Gallardo M.*, Köhler N.*, Kausel G.**. *Instituto de Ecología y Evolución, **Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile.Financiamiento: Proyecto FNC 1010727

Se ha comprobado molecularmente que Tympanoctomys barrerae (4n = 102) es tetraploide. Estudios meióticos sugieren alotetraploidía, aunque ninguna combinación cromosómica entre especies relacionadas puede explicar su cariotipo. La reciente descripción de Pipanacoctomys aureus (4n=92) sugiere hibridización interespecífica en la génesis de T. barrerae. A fin de poner a prueba las predicciones de esta hipótesis, se realizó hibridación genómica Southern con sus especies más cercanas. Para ello se digirió el DNA genómico utilizando distintas enzimas de restricción (DraI, EcoRI, HpaII, MspI). Las digestiones fueron electroforetizadas, transferidas a una membrana de nitrocelulosa e hibridadas. Como sonda se utilizó DNA genómico de T. barrerae, y de las especies supuestamente implicadas en su génesis (P.aureus, Octomys mimax y Octodontomys gliroides). La autorradiografía muestra patrones de bandas que corresponden a secuencias especie-específicas, compartidas entre T. barrerae y las especies mencionadas. Este patrón de bandas no se repite en otros taxa cofamiliares. Esta evidencia, más los datos cariotípicos y la presencia exclusiva de bivalentes meióticos en P. aureus y T. barrerae sugiere fuertemente introgresión génica por hibridización interespecífica. Aparentemente, la duplicación cromosómica en mamíferos es una respuesta genómica a la hibridización, a fin de permitir el correcto apareamiento de homólogos y una segregación gamética balanceada.

138.- CARACTERIZACION GENETICA DE LA LOCA-LIDAD DE CARELMAPU MEDIANTE EL ANALISIS DE HAPLOGRUPOS DE DNA MITOCONDRIAL. (Genetic characterization of Carelmapu population by means of mitochondrial DNA haplogroups analyses). García, F., Vera S., Moraga M., Rothhammer F. Programa de Genética Humana, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El estudio de la distribución de polimorfismos de DNA mitocondrial ha contribuido ampliamente a la comprensión de los orígenes, relaciones genéticas y patrones de migración de las poblaciones humanas. Esta herramienta ha permitido asignar a la mayoría de los aborígenes americanos a uno de cuatro haplogrupos mitocondriales designados A, C, D y B; definidos por tres sitios de restricción polimórficos y una deleción de nueve pares de bases, respectivamente.

La presente investigación busca integrar a la población de Carelmapu, ubicada en el extremo noroeste de Chiloé, en el cuadro de los estudios realizados con mtDNA en poblaciones aborígenes del Cono Sur. 47 individuos no emparentados fueron incluidos en este estudio. El DNA fue extraído de linfocitos periféricos y regiones específicas del mtDNA fueron amplificadas mediante PCR. Los resultados de la digestión enzimática de esto fragmentos mostraron que la frecuencia del haplogrupo D es relativamente baja (25.5%) mientras que la del C aparece elevada (38.3%), lo cual es concordante con lo observado en población Pehuenche. Por otra parte la frecuencia encontrada para el haplogrupo B (28.7%) es muy similar a la población Huilliche cercana geográficamente. El haplogrupo A mostró una frecuencia muy baja (4.3%) característica de todas las poblaciones indígenas del Cono Sur.

Adicionalmente estos resultados fueron contrastados con datos publicados para marcadores nucleares de herencia biparental y que presentan recombinación, encontrándose nuevamente un fuerte vínculo genético con la población Huiliche. Por su cercanía geográfica y por la evidencia genética aportada es posible proponer a esta población como el grupo indígena del cual deriva la componente aborigen de la población de Carelmapu. FONDECYT 1010131.

139.- MORFOLOGIA Y VIABILIDAD EN DOS POBLA-CIONES DE *Drosophila pavani*. (Morphology and viability in two natural populations of *Drosophila pavani*). Flores SV, Flores Ly Godoy-Herrera R. Programa de Genética Humana. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina. Universidad de Chile.

D. pavani Til-Til se encuentra asociada al cactus E. chilensis. Las cactáceas producen compuestos químicos, tales como alcaloides, que resultan tóxicos para muchas especies de Drosophila. En contraste, D. pavani Chillán emerge de frutos de cultivo en descomposición.

Se sembraron huevos de estas dos poblaciones en medios con extracto de cactus fermentado. Los resultados muestran que D. pavani Chillán disminuye significativamente su viabilidad huevo-adulto.

La morfología de adultos revela que existen varios caracteres morfológicos que diferencian a pavani Til-Til de otras poblaciones. Por otro lado, las larvas TilTil presentan mandíbulas unidentadas, a diferencia del resto de especies del grupo mesofragmática, las que presentan mandíbulas multidentadas. Por otra parte, D. pavani TilTil presenta aislamiento reproductivo parcial con D. pavani Chillán. En el cruce Chillán x TilTil no se produce descendencia, en tanto que el cruzamiento recíproco produce abundante descendencia fértil.

En resumen, *D. pavani* debería considerarse un complejo de subespecies donde el nicho ecológico proporcionado por *E. chilensis* parece haber constituido un rol fundamental en su evolución.

FONDECYT 1020130

140.- ANALISIS MOLECULAR DE MUTACIONES RE-CURRENTES EN EL GEN BRCA1 EN FAMILIAS CHI-LENAS CON CANCER DE MAMA. (Molecular analysis of recurrent mutations in the BRCA1 gene in Chilean breast cancer families). Jara L.¹, Ampuero S.², Santibáñez E.¹, Seccia L.³, Ojeda J.M.², Lay-son G.¹, Rodríguez J.¹, Blanco R.¹, Reyes J.M². Programa de Genética Humana, ICBM¹, Centro de Oncología Preventiva², Facultad de Medicina, Universidad de Chile y CONAC³

En Chile, la mortalidad debida a cáncer de mama es de 13 por 100000 mujeres. Son factores de riesgo para el desarrollo de la enfermedad: edad, factores hormonales e historia familiar. Los genes BRCA1 y BRCA2 confieren susceptibilidad genética a cáncer de mama y ovario. A la fecha se han descrito más de 724 mutaciones germinales en estos genes y sólo algunas son recurrentes, las que son generalmente específicas en regiones o etnias definidas. En este trabajo se analizaron 18 mutaciones recurrentes en BRCA1 en 59 familias chilenas con cáncer de mama hereditario. Se utilizaron técnicas de mismatch PCR, RFLP, ASO y secuenciación. Se encontraron 4 mutaciones en 5 de las 59 familias (8.5%) y en una familia se detectó una variante polimórfica. Las mutaciones detectadas fueron: 185delAG, $300 \text{ T}\rightarrow\text{G}$, 3867 G $\rightarrow\text{T}$, 4184delTCAA y el polimorfismo 3232 A/G. La mutación 185delAG se detectó en 2 familias (3.38%). La identificación de mutaciones recurrentes es importante para estudios diagnósticos y epidemiológicos, contribuyendo al diagnóstico más rápido de portadores de mutaciones BRCA.

Financiado por Proyecto Fondecyt 1010800 y CONAC (AVON-Breast Cancer Crusade)

VIROLOGIA - MICROBIOLOGIA

141.- CLONAMIENTO DE TFF3 HUMANO EN VECTORES PARA BACTERIAS LACTICAS: USO COMO POTENCIAL BIODROGA. (Cloning of human TFF3 in vectors for lactic bacteria: potential use as biodrug). JR Frías¹, EM Hebert², H Núñez¹, R Raya², M Gotteland¹. 1. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile, Santiago, CHILE. 2. Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA), Tucuman, ARGENTINA

Las bacterias lácticas (BL) son microorganismos utilizados en forma rutinaria para la elaboración de productos lácteos fermentados y que son capaces de sobrevivir en el tubo digestivo del individuo. Se esta evaluando actualmente el posible uso de estos microorganismos como vehículos para expresar moléculas de interés funcional o terapéutico in situ en dicho órgano. El factor trefoil intestinal (TFF3) es un péptido de 59 aminoácidos secretado por las células caliciformes del intestino y que, en caso de lesión de la mucosa, actúa como agente motogénico para promover la migración de células epiteliales y la restitución celular del epitelio. Dado su papel en la defensa y reparación del mucosa intestinal, TFF3 representa un candidato interesante para ser expresado en BL. El objetivo de este estudio fue clonar el gen de TFF3 humano en vectores para BL y expresarlo en éstas para su eventual uso posterior en la prevención y/o tratamiento de daño intestinal. El cDNA de TFF3 humano clonado en el plásmido pSport4 (Research Genetic) se amplificó mediante PCR usando partidores específicos. El producto obtenido fue clonado inicialmente en el sitio EcoRV del plásmido pBlueScript SKII (Stratagene). La región de este plásmido que codifica para TFF3 fue digerida con SalI y SmaI y posteriormente subclonada en sitios compatibles de vectores pVE para BL (Dieye y col., 2001), bajo el control del promotor constitutivo p59. Los vectores utilizados permitieron la expresión de TFF3 tanto a nivel intracelular como anclado a la membrana o liberado a nivel extracelular. Las construcciones fueron confirmadas por secuenciación y los plásmidos recombinantes se usaron para transformar cepas de Lactobacillus casei mediante electroporación. La expresión de TFF3 fue confirmada por Western-blot. El estudio de la funcionalidad de la cepas lácticas expresando TFF3 esta actualmente en curso en modelos in vitro de daño celular con células IEC-6. La expresión de TFF3 en BL constituye un modelo interesante para evaluar el potencial uso de estos microorganismos como biodrogas destinadas a la prevención o tratamiento de patologias intestinales.

(Financiado por Fondecyt 1010673 y 7010673. JRF es beneficiario de una beca "Dr. Abraham Steckel") Patrocinante: Hernan Speisky.

142.- ANALISIS DE LA VARIABILIDAD GENETICA DEL VIRUS DE VID GRAPEVINE VIRUS A(GVA). (Genetic variability analysis of Grapevine Virus A (GVA)) Vera-Otarola, J., Obreque, J., Jashés, M. Laboratorio de Virología Vegetal Molecular, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. Patrocinio: Ana M. Sandino.

Las pérdidas económicas asociadas a las enfermedades virales se deben a que disminuyen el rendimiento y afectan la calidad del fruto. El problema radica en la dificultad para controlar estas infecciones, relacionado con la obligada y estrecha interacción que establecen estos microorganismos con la célula huésped. Actualmente se realizan esfuerzos para desarrollar estrategias de control, principalmente mediante introducción de secuencias virales y potenciación de mecanismos de defensa de la planta. Un factor importante a considerar es la especificidad de la respuesta, dependiente de factores del huésped y del patógeno. Debido a que más del 90% de los virus de plantas tienen como genoma RNA, existe gran interés por analizar su variabilidad genética. El GVA es el agente causal de una importante enfermedad de la vid, reportado en varios países, incluyendo Chile. No existe información acerca de la variabilidad genética de este virus. En este trabajo se analizó secuencias parciales de GVA disponibles, estableciendo que el ORF correspondiente a la proteína de la cápside presenta alrededor de un 90% de homología. Basados en estos resultados, se analizó la variabilidad genética de este virus mediante el Ensayo de Movilidad del Heteroduplex, HMA, incluyendo en el estudio cepas de diferente origen geográfico.

143.- DETECCION DE DIFERENTES FASES EN EL CICLO REPLICATIVO DEL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMON (ISAV) MEDIANTE ANTICUERPOS MONOCLONALES. (Detection of different steps of the replicative cycle of the Infectious Salmon Anemia virus by using monoclonal antibodies). Goic B., Miquel A., Jamett A., Valenzuela P. y Burzio L.. Bios Chile I.G.S.A., Fundación Ciencia para la Vida e Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada.

El virus de la anemia infecciosa del salmón (ISAV) es un patógeno que ha producido alta mortalidad en Europa y recientemente detectado en Chile. Estamos estudiando la biología del virus y el desarrollo de métodos diagnósticos. Con un panel de 7 anticuerpos monoclonales (AMC) específicos contra ISAV, hemos seguido la infección viral en células CHSE-214 desde 5 horas hasta 10 días post infección (dpi). Observamos una fase nucleolar del virus con los anticuerpos 2C2/H4 y 3G8/B10 mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI), lo cual constituye el primer hallazgo en orthomixovirus. Entre 1 a 3 dpi alrededor de un 10% de las células positivas por IFI muestran localización nucleolar. También hemos determinado con el AMC 8F7/H6, una señal perinuclear que por su ubicación polarizada y morfología, correspondería al aparato de Golgi. Otra marca obtenida con los anticuerpos 2C2/C7 y 3G8/B10, es un organelo esférico de alrededor de 2 µm con intensa fluorescencia y que pareciera corresponder al centrosoma. Es común observar inmunofluorescencia en el citoplasma y/o en el núcleo. El estudio de estas señales es un aporte para entender el proceso replicativo y ensamblaje de ISAV.

144.- EL VIRUS DE LA NECROSIS PANCREATICA INFECCIOSA UTILIZA UNA HEBRA DE RNA DE POLARIDAD NEGATIVA COMO TEMPLADO DE SU REPLICACION. (The infectious pancreatic necrosis virus uses a single stranded negative RNA as template of its replication). Marcelo Cortez, Ruth González, y Ana María Sandino. Laboratorio de Virología, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

El virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV), causa grandes pérdidas económicas a empresas salmónideas del mundo, incluyendo a Chile. Pertenece a la familia Birnaviridae, posee dos segmentos de RNA de doble hebra como genoma y una cápside proteica icosaédrica sin envoltura. Se ha descrito la presencia de genomas incompletos en purificaciones virales, los que estarían formados por una hebra de RNA de polaridad negativa completa y una hebra de polaridad positiva con su extremo 3' incompleto. Por esto hemos sugerido que la replicación del genoma viral utilizaría el RNA de hebra negativa como templado. Asi, en el presente estudio se infectaron células CHSE-214 en presencia de [32P]-ácido ortofosfórico, con el fin de marcar los intermediarios de replicación, los que fueron identificados, aislados y caracterizados. Los resultados indican que gran cantidad de dsRNA no está encapsidado, que está constituido tanto por genomas completos como incompletos. Estos últimos corresponderían a intermediarios de replicación conformados por una hebra completa de polaridad negativa y una hebra complementaria con su extremo 3' incompleto. Mediante hibridaciones, se demostró que la replicación del dsRNA viral, ocurriría utilizando una hebra negativa completa como templado para la formación de la hebra positiva. Este proceso sucedería fuera de la partícula viral, ya que el dsRNA se observa asociado a partículas sólo después de que ha ocurrido la replicación. Financiado por Proyecto Fondecyt 10100-24

145.- LA EXPRESION DE INTEGRASA DE M-MuLV EN LEVADURAS PRODUCE UN FENOTIPO LETAL. (Expression of functional M-MuLV integrase in yeast leads to a lethal phenotype) Vera, J.¹, Parissi, V.², Tarrago-Litvak, L.², Litvak, S.² y Leon, O.¹ Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile¹. CNRS-REGER, Université Bordeaux 2, Bordeaux, Fran-

cia2.

La integración del DNA retroviral en el genoma celular es considerada como un blanco muy prometedor para el diseño de inhibidores. Estudios estructurales y funcionales con varias integrasas (IN) recombinantes han permitido describir su posible asociación con otras proteínas retrovirales y/o del huésped. Esta interacción es indispensable para la transferencia del complejo de preintegración desde el citoplasma al núcleo. Para estudiar la expresión de IN de M-MuLV y analizar su posible interacción con proteínas, en un contexto celular eucariótico, se efectuó su clonamiento y expresión en Saccharomyces cerevisiae. El gen de IN se insertó en el vector pBS24.1, bajo el control del promotor ADH2/GAPDH inducible por glucosa. La expresión de IN, en condiciones de bajo nivel de glucosa, produce un notorio efecto letal en levadura, de manera similar a lo descrito para la IN de HIV-1. La viabilidad celular y la expresión de la proteína murina se comparó con la de HIV-1, en condiciones de baja y alta inducción por glucosa. Estos resultados abren la posibilidad de utilizar el «sistema levadura» para estudiar las interacciones entre IN y las proteínas celulares y para probar diversos inhibidores.

Este trabajo fue financiado por Proyectos ECOS-SUD N°C01B04/CONICYT y FONDECYT N°2000143.

146.- ESTUDIO GENETICO DEL CICLO REPRODUCTIVO SEXUAL DE Xanthophyllomyces dendrorhous. Retamales, P. Lodato, P., Lozano, C., Barahona, S., Alcaíno, J. and Cifuentes, V. Departamento de Cs. Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Xanthophyllomyces dendrorhous es una levadura basidiomicete carotenogénica que forma cuerpos fructíferos compuestos de largos holobasidios con basidiosporas terminales. Para estudiar el ciclo reproductivo sexual de esta levadura se desarrollo un sistema de mutagénesis en la cepa tipo de la especie (VKMY2786). Como resultado se obtuvieron tres clases distintas de mutantes afectados en la formación de holobasidios en X. dendrorhous. Un grupo (A) constituido por seis mutantes incapaces de producir holobasidios en las condiciones de esporulación (9 °C en medio mínimo). Otro grupo (B) constituido por cinco cepas que producen estructuras sexuales en forma constitutiva y adicionalmente producen holobasidios en medio completo, YM a 9°C. Un tercer grupo (C) esta representado por una cepa que sobreproduce estructuras sexuales en medio mínimo y medio completo a 9 y 22°C. Adicionalmente, ha sido posible obtener tres mutantes morfológicos que producen holobasidios alargados pero no producen basidiosporas terminales. Por otro lado una cepa presenta holobasidios cortos y otra presenta holobasidios irregulares. Nuestros resultados sugieren la presencia de determinantes genéticos que controlarían la formación de estructuras sexuales y la germinación en esta levadura.

Financiado por Fondecyt 199/0040 y Beca de tesis doctoral Fundación Maria Gilhardi Venegas.

147.- ANALISIS DE LA EXPRESION DE LOS GENES DE LA RUTA DE BIOSINTESIS DE ASTAXANTINA EN XANTOPHYLLOMYCES DENDRORHOUS (Analysis of the expression of astaxanthin biosynthetic genes from X. dendrorhous). Lodato, P., Barahona, S. y V. Cifuentes. Depto. de Ciencias Ecológicas, Fac. de Ciencias, U. de Chile.

X. dendrorhous sintetiza el carotenoide astaxantina de reconocidas propiedades antioxidantes contra los efectos de radicales libres. Recientemente, hemos clonado los genes de la ruta de biosíntesis con el objeto de conocer su organización estructural y funcional. En relación a esto último, aún no se han reportado estudios de la expresión de dichos genes. En este trabajo determinamos la producción de carotenoides y el nivel de los mensajeros de los genes de carotenogénesis, en distintos momentos del ciclo de crecimiento de X. dendrorhous a partir de un cultivo en un fermentador. Como resultado se observó que la expresión de los genes crtE, crtI, crtYB y 'astaxantina sintetasa' está sujeta a represión catabólica y que los niveles de mRNAs aumentan durante la fase exponencial en forma transiente, excepto para el gen crtE. Sin embargo, la síntesis de astaxantina se induce en fase exponencial tardía y su concentración aumenta aún cuando el nivel de mensajeros es bajo. Por consiguiente, la regulación de la síntesis del pigmento es compleja y no está dada solamente por el nivel de los mensajeros. Se presenta un modelo que da cuenta de los resultados obtenidos.

Agradecimientos: al DAAD por una beca doctoral a P. Lodato y al DID por el financiamiento parcial de este trabajo.

148.- ESTUDIO MICROBIOLÓGICO-AMBIENTAL DE LA TOLERANCIA DE LAS LEVADURAS A METALES PESADOS (study microbioly-environmental of the tolerance of the yeasts to heavy metals). Lozano, C., León, R., Barahona, S., Retamales, P.; Lodato, P.; Alcaíno, J. y Cifuentes, V. Depto. de Ciencias Ecológicas, Fac. de Ciencias, U. De Chile.

Actividades humanas como la minería, manufacturía y urbanas han contribuido a la contaminación del medio ambiente por la liberación de desechos tóxicos como lo son los metales pesados. Biorremediación de suelo y agua usando microorganismos que ayudan a disminuir la concentración y aumentar la recuperación de estos desechos desde lugares contaminados se han aplicado exitosamente. En este trabajo se aislaron levaduras de un ecosistema perturbado con cobre de origen antrópico y de un ecosistema que no presenta esta perturbación para ser sometidas a estudios de resistencia a cobre y cadmio.

Como resultados preliminares se observó que la mayor parte de las levaduras aisladas de ambos ecosistemas pertenecen al género Cryptococcus. C. Albidus requiere un umbral de concentración de 100µM de Cobre para el desarrollo de colonias, no así con Cadmio, con el cual se desarrolla hasta 4mM. C.terreus es sensible a concentraciones superiores de 20µM de cobre y superiores a 500µM de cadmio. C. Humicolus es tolerante hasta 4mM de cadmio y 250µM de cobre. El análisis molecular mediante ITS ha permitido amplificar una banda de DNA de 448pb, 460pb y 472pb respectivamente. Financiamiento: Fundación Científica y Tecnológica, ACHS y Fundación María Ghilardi Venegas.

149.- CARACTERIZACION DE UNA MUTANTE ompA EN Salmonella typhimurium. (Characterization of an ompA mutant in Salmonella typhimurium). Villagra, N. y Mora, G. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Patrocinante: Dr. Guido Mora

Introducción: OmpA es una de las proteínas más abundantes en la membrana externa, y altamente conservada en bacterias Gram negativas. En este trabajo evaluaremos el papel de OmpA como un poro funcional y su participación en tolerancia a ácido e invasividad en celulas HEp-2. Objetivos: Generar una mutante ompA en Salmonella typhimurium. Determinar su comportamiento en invasión a células in vitro y frente a pH ácido. Métodos y Resultados: Por intercambio alélico se generó la mutante ompA en Salmonella typhimurium, la ausencia del gen se comprobó por SDS-PAGE. La mutante mostró sensibilidad a distintos compuestos tóxicos resultando sensible a H2O2, acriflavina, pironina B, verde de malaquita y ampicilina. Esta mutante también resultó 1.000 a 10.000 veces mas sensible a pH ácido(5,0) y mostró un fenotipo hipoinvasor en células HEp-2. Conclusiones: La mutación de la proteína OmpA en S. typhimurium tiene un efecto pleiotrópico: Confiere resistencia a distintos tóxicos, sugiriendo que forma un poro para la salida de estos agentes; además permite a la bacteria su supervivencia en medio ácido; por último, la ausencia de esta proteína hace menos invasiva a S. typhimurium.

Financiado por el proyecto Fondecyt 1020485.

150.- ACTIVIDAD DEPURATIVA DE UN LODO ANAEROBIO BIOAUMENTADO EN UN REACTOR DE BIOMASA RETENIDA. (Depurative activity of a bioaugmented anaerobic sludge in a retained biomass reactor) Vidal, R y ²Urrutia, H. ¹Programa de Microbiologia, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, ²Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción

Es sabido que un choque tóxico en un sistema de biorreactores, como por ejemplo un lecho bacteriano para el tratamiento de aguas residuales, da lugar a la pérdida de la comunidad microbiana seleccionada si ésta no está preparada a las condiciones del vertido. Por otro lado, la restauración natural de la comunidad necesita un tiempo largo que puede ser acortado mediante la adición de organismos resistentes a las condiciones del sustrato y procedentes de la misma comunidad microbiana. En este trabajo se estudió la actividad depurativa de un lodo anaerobio bioaumentado con Bacterias y Archaeas adherentes y resistentes a variaciones de un sustrato modelo, en reactores biomasa retenida. Los estudios se realizaron durante tres meses monitoreando el funcionamiento de dos reactores alimentados en continuo. Uno fue inoculado con un lodo proveniente desde la laguna Rocuant en Talcahuano y el otro inoculado con un lodo bioaumentado con microorganismos seleccionadas por su resistencia a variaciones de pH y salinidad de un sustrato modelo. Se midió pre y post fermentación, la variación AGV, la razón de alcalinidad, pH, DQO, concentración de sulfato y producción de metano, de acuerdo a métodos estándar (APHA). Los resultados mostraron que el reactor con lodo bioaumentado presentó, en promedio una razón de alcalinidad de 0.6, indicando una operación estable o bien que el reactor podía recibir un incremento de carga.

FONDECYT 2990052.

151.- CARACTERIZACION DE MUTANTES S.typhi SENSIBLES A ESTRES ACIDO Y SU IMPLICANCIA EN LA SUPERVIVENCIA INTRACELULAR. (Characterization of S. typhi acid sensitive mutants and there intracellular survival). Trombert, A.N, Hidalgo, A.A*, Castro-Alonso, J.C y Mora, G. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile. * Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. Fondecyt 1990153 y 1020485.

Introducción: Salmonella typhi está sometida a estrés ácido durante su ciclo infectivo en el hombre y pareciese no poseer una respuesta de tolerancia a pH que, sí está presente en S.typhimurium, propiedad de gran importancia en virulencia. Objetivo: Caracterización de mutantes de S. typhi sensibles a pH ácido y análisis de su fenotipo invasor y de proliferación en líneas celulares. Métodos y Resultados: Mutantes de una cepa clínica, STH2370, se ensayaron en placas pH 5,0. Aquéllas que mostraron un crecimiento menor que el de la cepa silvestre fueron de nuestro interés y se caracterizaron mediante el clonamiento y secuenciación de la inserción. Una presentó una inserción en el gen phoQ (SAS0137) y otra en el gen ychF (SAS0347). En la línea celular HEp-2, SAS0347, se comporta hiperinvasiva e hiperproliferativa, mientras que SAS0137 es hiperinvasiva en la línea celular U937. Conclusiones: Se caracterizaron dos mutantes S.typhi sensibles a pH ácido. La primera presenta una inserción en phoQ, gen perteneciente al sistema PhoP/PhoQ y la otra tiene interrumpido el gen ychF con homología a GTPasas de función desconocida.

152.- ARSENITE OXIDASE: NEW GENES FOR A BACTERIAL RESISTANCE SYSTEM. Le T. Phung-Department of Microbiology and Immunology, University of Illinois, Chicago, IL 60612 USA

An environmental arsenic geocycle relies heavily on bacterial transformations of arsenic oxidation states. Bacterial oxidation of As(III) to As(V) confers arsenite resistance because As(V) is less toxic than As(III). The arsenite oxidase enzyme from Alcaligenes faecalis strain NCIB 8687 was purified and characterized as a molybdenum-containing hydroxylase (Anderson, et al. 1992. J. Biol. Chem. 267: 23674-23682). Its crystal structure was solved by x-ray diffraction analysis (Ellis, et al. 2001. Structure 9: 125-132). Using the preliminary crystal structure, degenerate oligonucleotide primers and later inverse PCR, I identified the genes for the large (asoA) and small (asoB) subunits of arsenite oxidase from A. faecalis genomic DNA. Translation from the DNA sequence compared to the initial amino acid sequences predicted from the electron density map showed surprisingly 9% differences. Mostly these were the expected E/Q and D/N changes and identification from the DNA sequence of long side chains K and R that were ambiguous from the electron density maps. Furthermore, additional N-terminal residues were identified in the mature small subunit that had not been resolved in the crystal structure and a 42 amino acid long TAT (for Twin Arginine Translocation) leader sequence for the small subunit, which is predicted to export the assembled heterodimeric protein to the periplasmic space, after insertion of molybdenum pterin and iron-sulfur cluster cofactors. By Southern hybridization and PCR amplification, homologs of the arsenite oxidase gene were found in an additional arsenite oxidizing isolate, the A. faecalis strain of Osborne and Ehrlich (1976. J. Appl. Bacteriol. 41:295-305).

153.- MOVILIZACION DE GENES DEL CATABOLISMO DE CLOROAROMATICOS EN EL PLASMIDIO pJP4 DE Ralstonia eutropha. (Mobilization of chloroaromatic catabolism genes from pJP4 in R. eutropha). Molina A. M., González B. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile.

La transferencia lateral de genes entre bacterias ambientales es determinante en la evolución de vías metabólicas que les permitan utilizar compuestos contaminantes, como los liberados a los suelos debido a la actividad agrícola. *Ralstonia eutropha* JMP134 es una bacteria de suelo muy estudiada por su capacidad de degradar una gran variedad de compuestos cloroaromáticos gracias a los genes *tfd*, codificados en su plasmidio pJP4 (88 kb).

En este trabajo se exploró la posible movilización de genes catabólicos asociados a secuencias de inserción en pJP4 y su derivado, pJP4-F3, mediante ensayos de incompatibilidad plasmidial.

Los plasmidios que se obtuvieron fueron de mayor tamaño que los parentales y sus patrones de digestión, distintos para cada representante analizado, lo que sugiere que hubo movilización de genes catabólicos y que el sitio blanco fue distinto para cada evento. Las resistencias a antibióticos, los patrones de restricción, la detección de marcadores de genes catabólicos y su expresión fenotípica indican que se habría formado un cointegrado, pero que este intermediario no se habría resuelto. El análisis molecular de estos plasmidios cointegrados descartó la posibilidad que secuencias de inserción presentes en pJP4 pudieran estar involucradas en su formación. Estos resultados indican que los genes tfd no solo se pueden mover hacia otros replicones plasmidiales sino también expresar sus funciones catabólicas.

Financiado por proyecto FONDECYT 8990004.

154.- GENOMICA FUNCIONAL DE SALMONELLA: IDENTIFICACION DE REGIONES GENOMICAS EXCLUSIVAS DE SALMONELLA ENTERICA SEROVAR TYPHI (Functional Genomics of Salmonella: Identification of genomic regions unique to Salmonella enterica serovar Typhi) Bueno S.(1), Murillo A.(2), Youderian P.(3) y Mora G.(2). (1) ICBM, Universidad de Chile, (2) Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile, (3) Texas A&M University.

INTRODUCCION: Salmonella entérica serovar Typhi (S. Typhi) es el patógeno causante de fiebre tifoidea, siendo el hombre su único hospedero conocido. Otros miembros del género Salmonella no causan esta enfermedad en el humano. probablemente porque S. Typhi posee mecanismos de virulencia ausentes en otras Salmonellas. Por lo tanto, se compararon las secuencias completas de los genomas de varias Salmonellas. OBJETIVO: Identificación de regiones genómicas exclusivas de S. Typhi y su caracterización. RESULTADOS: Usando el programa BLASTn, se comparó la secuencia de S. Typhi CT18 con las secuencias de otras 5 Salmonellas y se identificaron 12 regiones genómicas exclusivas de S Typhi. En algunas de ellas se encuentran ORFs con similitud a factores de virulencia, mientras que otros no presentan similitud a proteínas conocidas. Mediante PCR se estudió la presencia de estas regiones en 29 cepas de S. Typhi y 36 cepas de otras Salmonellas, estableciéndose que 7 regiones efectivamente son exclusivas y conservadas. CONCLUSIONES: Se identificaron regiones exclusivas del genoma de S. Typhi, que podrían representar mecanismos de virulencia importantes para la infección del humano. Financiado por FONDECYT 1020485 y BECA DE APOYO A TESIS DE DOCTORADO CONICYT. S. Bueno es becaria CONICYT

155.- UN EFICIENTE RECAMBIO DE CLOROCATECOLES ES ESENCIAL PARA EL CRECIMIENTO DE Ralstonia eutropha JMP134 (pJP4) EN 3-CLOROBENZOATO. (An efficient turnover of chlorocatechols is essential for growth of Ralstonia eutropha JMP134 (pJP4) in 3-chlorobenzoate). Pérez-Pantoja D., Ledger T., Pieper D., González B. Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Ralstonia eutropha JMP134 (pJP4) crece en 3-clorobenzoato (3-CB) utilizando dos módulos génicos para degradar clorocatecoles: $tfdC_ID_IE_IF_Iy$ $tfdD_{II}C_{II}E_{II}F_{II}$, codificados en pJP4. La introducción de múltiples copias de cada módulo en Ralstonia eutropha JMP222, carente de pJP4 y que acumula clorocatecoles desde 3-CB, permite a tales derivados crecer en 3-CB. Sin embargo, derivados JMP222::M-I ó JMP222::M-II, conteniendo una copia cromosomal de cada módulo, son incapaces de crecer en 3-CB. La inefectividad de copias únicas de estos módulos para conferir capacidad de crecer en 3-CB sería producida por acumulación de clorocatecoles tóxicos, debido a insuficiente actividad clorocatecol-1,2-dioxigenasa (TfdC), primera enzima en la vía de clorocatecoles. Diversos ensayos constataron la toxicidad de 3-, y 4-clorocatecol en derivados carentes de tfdC. El derivado JMP222::M-I portando múltiples copias de tfdC₁ creció eficientemente en 3-CB. Por otra parte, derivados de JMP134(pJP4), en los cuales uno de los dos genes tfdC fue inactivado, o se incorporaron genes xylS-xylXYZL, codificando mayor actividad benzoato dioxigenasa, perdieron la capacidad de crecer en 3-CB. Estas observaciones indican que la dosis génica es crítica para el crecimiento en 3-CB debido a un delicado balance entre reacciones que producen y consumen clorocatecoles.

Financiamiento: FONDECYT 8990004. D.P.P. es becario CONICYT.

156.- EN Helicobacter pylori EL ORF HP0099 CODIFICA PARA UNA PROTEÍNA QUIMIOTACTICA ACEPTORA DE GRUPOS METILOS. (The HP0099 ORF is a methyl accepting chemotactic protein in Helicobacter pylori). Cerda, O. y Toledo, H. Prog. Biol. Cel. Mol., ICBM. Fac. de Medicina, U. de Chile.

Helicobacter pylori es un patógeno humano que coloniza el estómago. Su presencia es un factor de riesgo para la producción de úlcera péptica y duodenal como también de cáncer gástrico. Los mecanismos de colonización no están del todo claros, pero la motilidad resulta ser esencial. Con el propósito de comprender los mecanismos de colonización y persistencia de la bacteria en el estómago estudiamos la respuesta quimiotáctica en H. pylori. Utilizando placas de agar blando y la técnica del capilar mostramos que H. pylori ATCC 43504 es mótil y no presenta quimiotaxis a arginina, urea ni bicarbonato de sodio, mientras que, H. pylori ATCC 700392 es mótil y muestra quimiotaxis a arginina y bicarbonato de sodio, pero no a urea. Mediante el clonamiento del ORF HP0099 de H. pylori 26695, ortólogo de tlpA, y experimentos de complementación genética en E. coli se demostró que la ausencia de respuesta quimiotáctica en H. pylori ATCC 43504 se debe a la presencia de una mini secuencia de inserción (mini-IS605) en este ORF y que las transformantes de E. coli adquiríeron quimiotaxis a urea, bicarbonato y arginina. En base a estos resultados, proponemos que el ORF HP0099 codifica para una proteína quimiotáctica aceptora de grupos metilos que reconoce arginina, bicarbonato y posiblemente urea en H. pylori.

(Proyecto FONDECYT 1980721).

157.- LA RESPUESTA DE TOLERANCIA AL ACIDO ESTA BAJO EL CONTROL DE Fur EN Helicobacter pylori. (The acid stress response is under Fur control in Helicobacter pylori). Valenzuela, My Toledo, H. Prog. Biol. Cel. Mol., ICBM. Fac. de Medicina, Univ. de Chile.

Helicobacter pylori coloniza la capa mucosa gástrica donde el pH promedio durante el día es 5, aunque ocasionalmente puede caer a dos. La sobrevida de H. pylori a pH ácido está mediada por la ureasa, que posee una alta afinidad por urea, desdoblándola a amonio y dióxido de carbono. Esto incrementa el pH intracelular y del microambiente de la bacteria. Nuestros estudios sobre la respuesta de tolerancia al ácido, en H. pylori, han demostrado que la bacteria además posee un mecanismo de respuesta al estrés de pH ácido independiente de ureasa, que modifica la expresión de un grupo de proteínas que controlaría la homeostasis de pH. Se ha descrito, en Salmonella enterica serovar typhimurium, que el factor transcripcional fur es un regulador de la respuesta de tolerancia al ácido durante la fase logarítmica de crecimiento. Con el propósito de estudiar la función de fur en la respuesta de tolerancia al ácido, en H. pylori, construimos mediante recombinación homóloga una mutante knock out para fur. Estudiando la sobrevida de la mutante, sujeta a estrés ácido, y el proteoma, expresado a pH 6, por electroforesis bidimensional, demostramos que el factor transcripcional fur está implicado en la respuesta de tolerancia al ácido en esta bacteria.

(Proyecto ENL-2001/03)

158.- EFECTO DEL ACIDO KAURENOICO Y SUS DE-RIVADOS SOBRE LA CADENA RESPIRATORIA BACTERIANA (Effect of kaurenoic acid and its derivatives on bacterial respiratory chain) Torres J.*, Gil F.*, Mujica C.*, Wilkens M.*, y Mendoza L.* Depto. Biología, Depto. Química de los Materiales, Facultad Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. Patrocinante:Dr. E.Cardemil.

El ácido kaurenoico, un diterpeno presente en la resina superficial de la planta *Pseudognaphalium vira*, presenta actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram positivo y no frente a Gram negativo. El compuesto tiene un efecto lítico, por lo que un posible mecanismo de acción sería mediante la interacción con la membrana citoplasmática y/o afectando la respiración celular.

En este trabajo se estudió el mecanismo bactericida del ácido kaurenoico y si el efecto es dependiente de la estructura del compuesto, usando un derivado natural (ácido 3–OH-kaurenoico) y un derivado hemisintético (19–metiléster del ácido kaurenoico). Se determinó el efecto de estos compuestos sobre la respiración celular de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* a diferentes concentraciones. El consumo de oxígeno aumentó en presencia del ácido kaurenoico y del derivado metilado, mientras que su derivado hidroxilado no tuvo efecto. Los tres compuestos ensayados no presentaron efecto sobre *E. coli*.

Con el objetivo de determinar si los compuestos se comportan como desacoplador de la cadena respiratoria, se midió conducción de protones, observándose un aumento en la variación de pH extracelular en *S. aureus* tratadas con ácido kaurenoico y su derivado metilado. No se observó efecto con el derivado hidroxilado, ni con ninguno de los compuestos sobre *E. coli.* En este trabajo se concluye que el ácido kaurenoico y su derivado metilado se comportan como un desacoplador de la cadena respiratoria bacteriana y que este comportamiento es dependiente de la estructura del compuesto.

159.- TRANSFORMACION DE Botrytis cinerea CON UN VECTOR DE EXPRESION QUE CONTIENE UN cDNA HIPOVIRAL HETEROLOGO (Transformation of Botrytis cinerea with an expression vector that contains a heterologous hypoviral cDNA). Villablanca, C., Castro, M., Ortiz, S. y Castillo, A. Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Usando la técnica de fusión de esferoplastos hemos logrado transformar una cepa virulenta de Botrytis cinerea con un vector de expresión que contiene el cDNA correspondiente al L-dsRNA del hipovirus de Cryphonectria parasitica EP713. El inserto de cDNA se encuentra flanqueado por el promotor y el terminador de la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa de C. parasitica. Además, el vector contiene el gen la higromicina B fosfotransferasa como marcador de selección. Se seleccionaron dos clones para estudios posteriores que crecen en presencia de 400 µg/ml de higromicina. En ambos clones se detectó la presencia del L-dsRNA citoplasmático cuando los ácidos nucleicos totales fueron sometidos a cromatografía en columnas de celulosa CF11. Esto indica que en las cepas transformadas como producto de la transcripción del cDNA hipoviral se genera la hebra codificante del L-dsRNA, cuya traducción produce al menos la RNA polimerasa viral, enzima encargada de replicar y transcribir el genoma del hipovirus.

La determinación de parámetros de virulencia tales como actividad de la enzima lacasa y tasa de esporulación no reveló grandes diferencias entre las cepas transformadas y la cepa receptora, lo que sugiere que a pesar de la expresión del genoma hipoviral no se altera el grado de virulencia de la cepa silvestre de *B. cinerea*.

Financiado por FONDECYT 1000077 y DICYT-USACH.

160.- EFECTO DE LA REMOCION DE PREDADORES SOBRE MICROORGANISMOS DESCOMPONEDORES Y FERTILIDAD DE SUELOS (The Effects of predator removal on microbial decomposers and soil fertility) ¹Aguilera. LE, ¹Gutierrez, JR & ²Meserve, PL. ¹Departamento de Biología, Universidad de La Serena, ²Department of Biology, Illinois University.

Los microorganismos descomponedores edáficos juegan un papel importante en el reciclamiento de la materia orgánica, dejando nuevamente disponibles para las plantas, los nutrientes inmovilizados en la biomasa. Desde el año 1997 comenzó ha estudiarse cómo la remoción experimental de predadores afecta las propiedades físico-químicas y microbiológicas de suelos áridos en el Parque Nacional Fray Jorge, IV Región, Chile. En parcelas de 0,56 ha se han excluido hasta la fecha sistemáticamente los predadores vertebrados (mamíferos carnívoros y aves rapaces) y se ha monitoreado la respuesta de la comunidad microbiana edáfica y fertilidad de suelos. Se ha encontrado que la exclusión sistemática de predadores tiene un efecto a largo plazo sobre bacterias heterotróficas mesofílicas, hongos saprofíticos y micorrizas vesículo arbusculares notándose un incremento significativo en sus abundancias solamente después de los 5 años de la remoción de predadores. La materia orgánica y el nitrógeno fueron los únicos componentes de la fertilidad del suelo que también incrementaron significativamente sus niveles a largo plazo, en relación a las parcelas controles. En los ambientes áridos, las tasas de mineralización se verían aumentadas si la biomasa vegetal es consumida por herbívoros dado que las fecas u orina sería mas rápidamente mineralizada que restos vegetales muertos sin ingerir.

Financiamiento: Proyecto Fondecyt Nº: 1000041

161.- BIOSINTESIS DE POLIHIDROXIALCANOATOS EN EFLUENTE DE CELULOSA POR Ralstonia SP. (Biosynthesis of polyhydroxyalkanoate from cellulose effluent

(Biosynthesis of polyhydroxyalkanoate from cellulose effluent by Ralstonia sp.) Tobella.L*, Pooley.A** y Martínez.M*. *Departamento de Microbiología Fac.Cs. Biológicas Universidad Concepción. **Departamento de Polímeros Fac. Cs Químicas Universidad Concepción

Los polihidroxialcanoatos son producidos por bacterias como reserva energética los cuales tienen interés industrial por sus propiedades similares a los plásticos. Sin embargo, su elevado costo es una limitante para su uso masivo.

La industria de celulosa genera, efluentes con un alto contenido de materia orgánica que puede ser utilizado por bacterias que producen polihidroxialcanoatos

Se estudió la biosíntesis de polihidroxialcanoatos (PHA) en *Ralstonia sp.* PZK, utilizando como sustrato un efluente de una industria de celulosa. La cepa bacteriana se incubó en el efluente durante 5 días, y cada 24 horas se determinó la viabilidad. El PHA se detectó por citometría de flujo y microscopía electrónica de transmisión. Se, determinó el peso molecular por cromatografía líquida de permeación (GPC) y cristalinidad por difracción de rayos X, el tipo de PHA por cromatografía de gas.

Los resultados demostraron que la cepa produce, un 20% de su peso seco de PHA. Con un peso molecular de 2,7x10⁴ g/mol, y cristalinidad de un 50%. Los análisis de cromatografía de gas, indican que el tipo de PHA correspondería a ácido hexadecanoico y octadecanoico.

Los resultados sugieren que esta bacteria puede utilizar como sustrato compuestos orgánicos presentes en residuos de la industria de celulosa, para sustentar su viabilidad y crecimiento y producción de biopolímeros como el PHA, se concluye que bacterias con estas capacidades podrían ser utilizadas para producir biopolímero con interés económico utilizando sustratos provenientes de desechos industriales.

Proyecto DIUC. 200.036.020-1

INMUNOLOGIA

162.- MODELAJE MOLECULAR Y DETERMINACION DE EPITOPOS CONFORMACIONALES PARA EL FACTOR INICIADOR DE LA TRANSLACION 3 DE Brucella abortus(IF3). (Molecular modelling and conformational epitopes determination in translation initiation factor 3 for Brucella abortus). Salas, A., Andrews, E. Barra, P. y Oñate, A. Laboratorio de Inmunología Molecular, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción.

Brucella abortus es el agente etiológico de la brucelosis bovina. Se han observado una serie de proteínas con capacidad inmunológica, como una proteína de 22.4 kDa que por homología de secuencias ha sido denominada factor de inicio de la translación 3 de Brucella abortus la cual fue clonada, secuenciada y expresada en E. coli. Con esta secuencia aminoacídica de IF3 se procedió a realizar una búsqueda de homología en estructuras 3D no redundantes, obteniéndose las coordenadas de dos fragmentos IF3 del Bacillus stearothermophilus, uno correspondiente al dominio amino terminal y otro al carboxilo terminal. Se unieron por docking y corroboró el modelo con la estructura RMN promedio obtenida del IF3 de E. coli. Esta estructura fue relajada utilizando el algoritmo Amber 96 y luego usada como templado para el modelaje automático en Swiss model del IF3 de B. abortus, finalmente esta estructura fue refinada manualmente y validada en cada paso con PROCHECK.

A este modelo tridimensional final se le determinaron los posibles epítopos por análisis de su secuencia y evaluación de su ubicación en las coordenadas obtenidas, determinando los posibles epítopos conformacionales para el IF3 de *B. abortus*. Proyecto financiado por Fondecyt 1000431 y 1010851.

163.- MONTAJE DE UN SISTEMA DE EXPRESION PARA EL DESARROLLO DE UNA VACUNA CONTRA BRUCELOSIS BASADA EN EL VIRUS SEMLIKI FOREST (Setting up of an expressión system for the development of a vaccine against Brucellosis based on Semliki Forest Virus). Donoso,G. Oñate,A. Laboratorio de Inmunología Molecular, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción-Chile. gabdonos@udec.cl

Un nuevo sistema de vacunas basadas en la expresión de genes heterólogos en partículas virales suicidas del virus ARN Semliki Forest está en desarrollo. La información genética viral está codificada en un replicón. La cápside y las proteínas estructurales están codificadas en dos sistemas helper. Así la replicasa viral, las proteínas estructurales y las proteínas de la cápside, son expresadas desde tres moléculas de ARNm independientes. El objetivo de este trabajo es el inicio en el desarrollo de una vacuna ARN contra la bacteria Brucella abortus (gram negativa; intracelular facultativa). Esta vacuna será basada en partículas virales suicidas a cuyo replicón se le insertó, en el sitio de multiclonaje, la secuencia que codifica la proteína superóxido dismutasa Cu/Zn (SOD) de Brucella abortus, proteína con demostrada capacidad inmune. Con el fin de montar este sistema basado en el virus Semliki Forest, la línea celular Cos 7 fue cotransfectada con el ARNm del replicón, que tiene el inserto de SOD, y el ARNm de los dos sistemas helper. Hasta el momento se han logrado observar las partículas virales en el medio de cultivo celular mediante microscopía electrónica.

Financiado por proyectos FONDECYT 1010851.

164.- ESTUDIO DE VECTORES DE EXPRESION PARA Brucella abortus (Study of Expression vectors for Brucella abortus) González, A., Rivers, R., Andrews, E., Muñoz, C., Céspedes, S y Oñate, A. Laboratorio de Inmunología Molecular, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

Brucelosis es una zoonosis que afecta principalmente al ganado bovino, causando graves pérdidas económicas por disminución en la producción de leche y masa ganadera. En Chile actualmente se vacuna el ganado bovino con B. abortus RB51, la cual no protege en un 100%. Nuestro objetivo es evaluar la efectividad de vacunas ADN que transportan el gen de la proteína Superóxido dismutasa (SOD), en distintas condiciones. Ratones BALB/C fueron inmunizados con plásmidos de expresión en células eucarióticas (pcDNA3.1) sin inserto o con el, este último con su promotor o sin él y además se inmunizó con un plásmido adyuvante (pGM-CSF). Un grupo control positivo se vacunó con Brucella RB51. La inmunización de ratones con pcDNA/SOD y un nuevo plásmido construido a partir de este, que contiene la secuencia del gen sodC, sin su secuencia promotor, inducen una respuesta protectora mayor en comparación a la respuesta dada por la vacuna atenuada B. abortus RB51. Además, ambas vacunas inducen una respuesta inmune humoral con predominio de IgG2a. A su vez, la utilización del plásmido pGM-CSF como adyuvante, estaría jugando un rol importantísimo en la generación de una respuesta inmune protectora mas eficiente. Proyecto financiado por Fondecyt 1010851.

165.- NEISSERIA GONORRHOEAE INDUCE CITOQUINAS PROINFLAMATORIAS EN EXPLANTES DE TROMPA DE FALOPIO INFECTADOS IN VITRO. (Release of proinflammatory cytokines from fallopian tube explants infected in vitro with Neisseria gonorrhoeae). Maisey K, Cárdenas H, Velásquez L. Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología. Financiado por PROGRESAR, MIFAB y DICYT.

La infección de la trompa de Falopio (TF) con Neisseria gonorrhoeae (Ngo) puede provocar salpingitis, una condición inflamatoria que puede alterar el proceso reproductivo de la mujer. Por esto hemos decidido caracterizar las citoquinas proinflamatorias inducidas en la TF en respuesta a la infección in vitro con Ngo. Segmentos de TF se incubaron con Ngo por 1/2, 4, 8 y 12 hrs. Al finalizar estos tiempos se tomaron muestras de los sobrenadantes para proceder a medir la secreción de las citoquinas TNF-α, IL-1α, IL-1β, IL-6 e IL-8 mediante ELISA. La infección de explantes de TF con gonococos indujo la secreción de las proteínas IL-1\beta, IL-6 y TNF-α, mientras que, IL-1α e IL-8 fueron detectadas en sobrenadantes, sin embargo su secreción no se ve afectada por la infección con Ngo. Estos estudios son concordantes con nuestros estudios previos en los cuales medimos con el mismo diseño experimental los ARN mensajeros codificantes para las mismas citoquinas. Esto demuestra que la TF expresa los ARNm de varias citoquinas proinflamatorias y es capaz de liberarlas al medio en respuesta a la infección. Esto permite sugerir que las citoquinas podrían ser importantes mediadores en el desarrollo de la salpingitis gonocócica.

166.- INDUCCION DE APOPTOSIS EN CELULAS EPITELIALES DE TROMPA DE FALOPIO INFECTADAS IN VITRO CON NEISSERIA GONORRHOEAE. (Apoptosis induction in fallopian tube epithelial cells infected in vitro with Neisseria gonorrhoeae). Morales PG., Imarai M., Cárdenas H., Velásquez L. Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología. Financiado por PROGRESAR, DICYT.

Los patógenos de transmisión sexual como *Neisseria* gonorrhoeae (NGO) pueden colonizar las trompas de Falopio (TF) e inducir la salpingitis gonocócica. Durante la salpingitis se puede inducir daño celular mediante apoptosis, por ello hemos decidido caracterizar este mecanismo de daño.

HIPÓTESIS: La infección in vitro de células epiteliales de TF con NGO induce apoptosis.

OBJETIVOS: i) determinar si NGO induce apoptosis en células de TF; ii) determinar el efecto del tamaño del inóculo y tiempo de infección en la apoptosis y iii)determinar si este proceso es dependiente de la adhesión e internalización de NGO.

DISEÑO EXPERIMENTAL: Se infectaron las células epiteliales con distintos inóculos de NGO(m.o.i 1, 10 y 100) por 12, 24 y 48 horas. Como control se utilizaron células bajo las mismas condiciones con excepción de la bacteria. La apoptosis se detectó por TUNEL seguida por microscopia confocal.

RESULTADOS: NGO indujo apoptosis a las 12 horas de infección con un m.o.i = 1. El mayor porcentaje de células en apoptosis no presenta gonococos adheridos o internalizados. CONCLUSION: NGO induce apoptosis en las células epiteliales de la TF en forma dosis-dependiente por un mecanismo que no involucra la adhesión o internalización de la bacteria.

167.- INDUCCION DE APOPTOSIS DE LINFOCITOS T CD4+ POR CELULAS EN CULTIVO DERIVADAS DE ÚTERO DE RATON. (Apoptosis induction of CD4+ T cells by uterine cells of the mouse). Figueroa, C., Cárdenas, H, Imarai, M. Laboratorio de Inmunología, Departamento de Biología. Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Las mucosas del tracto reproductor femenino tienen una importante actividad inmunológica que debe ser regulada para tolerar antígenos, como los espermatozoides y el embrión, y a su vez producir respuestas protectoras frente a patógenos. Ya que las respuestas inflamatorias descontroladas tienen consecuencias funcionales indeseables, la regulación debiera incluir mecanismos de control de la inflamación local. Uno de tales mecanismos podría ser la inducción de apoptosis de linfocitos que infiltran el tejido durante la inflamación para detener la expansión linfocitaria post-activación. La presencia de FasL en el tracto reproductor femenino del ratón y humano sugiere que esta molécula podría gatillar apoptosis de los linfocitos T por unión del ligando al receptor FasR. Se propuso aislar la población de linfocitos T CD4+ de ratones y determinar si las células aisladas del útero y fijadas inducen apoptosis en esta población linfocitaria reguladora de la respuesta inmune. La apoptosis se cuantificó con la técnica de TUNEL y citometría de flujo. Se encontró que las células del útero del ratón producen apoptosis de aproximadamente 50% de la población T CD4+ activados y que el bloqueo de FasL con anticuerpos neutralizantes disminuye en un 68% la cantidad de linfocitos apoptóticos. Los resultados indican que las células del úetro del ratón inducen apoptosis de linfocitos T CD4+ activados y que FasL es en gran parte responsable de este efecto.

Financiado por Fondecyt 1020354 y Contraparte Dicyt - USACH

168.- MODIFICACION COVALENTE DE PROTEÍNAS INTRACELULARES POR EL LITREOL Y SU POSIBLE PAPEL EN LA PRESENTACION DE ANTÍGENOS POR MOLECULAS MHC CLASE I. (Covalent modification of intracellular proteins by Litreol and their possible role in antigen presentation by MHC class I molecules). Moltedo B,¹ Becker M.I,¹ Ferreira J,² y De Ioannes A.E,¹ 1. Laboratorio Inmunología, BIOSONDA S.A. 2. Universidad de Chile.

La dermatitis de contacto causada por el Litreol, alérgeno perteneciente a los urushioles, se caracteriza por lesiones en la piel mediadas por linfocitos T. Ambas subpoblaciones T CD4+ y T CD8+ cumplen una función reguladora y efectora, respectivamente. Los urushioles al modificar proteínas propias a nivel celular generarían neo-antígenos que al ser presentados en MHC clase I y II estimularían ambas subpoblaciones.

En este trabajo, hemos realizado estudios de incorporación de pentadecilcatecol-3H (PDC-3H) para determinar la localización subcelular y los blancos proteicos del alérgeno, para seguir su procesamiento y su posible presentación en MHC in vivo (ratones B6) e in vitro (células EL4, timoma murino). Los resultados de la cinética de incorporación por microscopía electrónica, muestran que el compuesto ingresa rápidamente y se localiza en mitocondrias y núcleo preferentemente y luego se desplaza hacia otras estructuras como el cortex y la membrana plasmática. Fluorografías de lisados celulares muestran que el PDC-3H modifica numerosas proteínas covalentemente y sólo algunas son degradadas, sugiriendo su procesamiento. Se está realizando estudios de elución peptídica desde células EL4 para determinar la identidad de proteínas blanco que serían presentadas en MHC clase I. FONDECYT 1000-203

169.- MECANISMO DE LA MUERTE CELULAR INDU-CIDA POR LITREOL (Mechanism of litreol-induced cell death). Faunes F.¹, Ferreira J.², Garbarino J.³, Becker M.I.¹, De Ioannes A.E.¹ 1. BIOSONDA S.A. 2. Universidad de Chile. 3. Universidad Técnica Federico Santa María.

El litreol, compuesto alergénico del Litre, induce una severa dermatitis de contacto en individuos sensibilizados. Estudios de nuestro laboratorio en hígado de rata y corazón de bovino han demostrado que este compuesto afecta las mitocondrias, inhibiendo la respiración celular a nivel del complejo III. El propósito de este trabajo es determinar el mecanismo de muerte celular inducido por el litreol en la línea celular EL4 (timoma de ratón) in vitro y en oreias de ratón C57Bl/6 in vivo.

(timoma de ratón) in vitro y en orejas de ratón C57Bl/6 in vivo. Los resultados indican que el litreol induce apoptosis en células EL4: Por medio de TUNEL y geles de agarosa se observa fragmentación del ADN y la microscopía electrónica muestra la morfología típica de células apoptóticas, como son disminución de volumen y condensación de cromatina. Los ensayos enzimáticos revelan activación de la caspasa 3, proteasa efectora de apoptosis.

La vía por la cual el litreol induce apoptosis, se está evaluando mediante la determinación de la salida al citoplasma de citocromo c utilizando inmunoblot y ensayos enzimáticos para identificar las caspasas iniciadoras de la cascada de apoptosis. Además, se está analizando con TUNEL si este compuesto es capaz de inducir apoptosis *in vivo* en células epidérmicas.

La apoptosis estaría involucrada en la inducción de la respuesta alérgica en individuos expuestos al litreol, proceso que tendría aplicaciones en el tratamiento de algunos tipos de cáncer.

FONDECYT N°1000-203

170.- EL POLIMORFISMO -308 DEL PROMOTOR DE TNF EN RELACION A LOS SISTEMAS SANGUINEOS ABO Y RH. (The -308 TNF promoter polymorphism in relation to ABO and Rh blood systems). Cruzat, A., Cuenca, J., Pérez, C., Aguirre, A., Schiattino, I., Guerrero, J., Nickel, F., Rodas, C., Cuchacovich, M., Aguillón, JC. Programa de Inmunología, Facultad de Medicina, U.Chile.

 $Se\ han\ identificado\ varios\ polimorfismos\ mono-nucleot\'idicos$ (SNPs) en el promotor de TNFα. Así, la transición G/A en la posición -308, define los alelos TNF1/TNF2, asociándose este último con la presencia y/o severidad de diversas enfermedades. Su distribución en la población Chilena, es de 83%(TNF1) y 17%(TNF2). En tanto, los alelos d, A, B y O muestran una frecuencia de 7.1%, 30.2%, 8.6% y 59.0%, respectivamente. Dado el origen predominante Europeo de los alelos d, A, B y TNF2, planteamos que existiría una relación en la distribución de éstos dentro de la población Chilena. A 87 individuos se les tipificó el grupo sanguíneo usando anti-sueros para los sistemas ABO y Rh. Para genotipificar el SNP -308, se empleó PCR seguido de RFLP. Se encontró una frecuencia para Rh-, de 15% para individuos TNF2, y de 10.4% para individuos TNF1 (p=0.57). Para los grupos ABO se encontró una frecuencia de: 35%, 15% y 50%, respectivamente, para TNF2; y de 32.8%, 9% y 56.7%, respectivamente, para TNF1 (p=0.85, 0.44 y 0.6). Aún cuando se halló una tendencia aumentada en la expresión simultánea de los alelos d, A, B y TNF2 (no aborigen), ésta no fue estadísticamente significativa.

171.- ANALISIS INMUNOLOGICO, MICOLOGICO E HISTOPATOLOGICO DE PACIENTES CON RINOSINUSITIS CRONICA.(Immunological, mycological and histopathological analysis in chronic rhinosinusitis patients). Navarro, S.¹, Retamal, D.¹, Piontelli, E.², Toro, M.², Milinarsky, A.³, Silva-Risopatrón, L.⁴, Krause, F.⁵, Aburto, R.⁵, Cornejo M.¹. ¹Laboratorio de Immunología, ²Laboratorio de Micología, ³Departamento de Pediatría, ⁴Departamento de Anatomía Patológica, ⁵Cátedra de Otorrinolaringología. Escuela de Medicina, Universidad de Valparaíso. 'Servicio de Otorrinolaringología, Hospital Carlos Van Buren.

La Rinosinusitis Crónica (RC) se define como la persistencia de inflamación rinosinusal por más de 3 meses luego de un tratamiento adecuado. Es causada por la alteración de los mecanismos de drenaje de los senos paranasales, debido a factores predisponentes como el aumento en las secreciones. Las alergias a hongos son causa frecuente de dicho aumento. Se han seleccionado veinte pacientes con el diagnóstico clínico de RC. Se analizó la presencia de alergia mediante cuantificación de IgE específica, eosinófilos en secreción nasal, y test cutáneo. Desde mucosa nasal se determinó la colonización por hongos por cultivo clásico previa incubación con ditiotreitol, e histopatología. Sólo 1 de 16 pacientes analizados presentaban aumento de IgE específica a hongos. En ningún paciente se demostró un recuento anormal de eosinófilos en secreción nasal, o reactividad a hongos en el test cutáneo. Sólo en un 20% de pacientes se determinó la colonización por hifas no invasivas sobre el epitelio nasal. Los géneros aislados fueron Candida, Cladosporium y Exophiala. Parece ser que la etiología de la RC en Chile no obedece a alergia a hongos. (Proyecto DIPUV 28/2001).

BIOLOGIA CELULAR

172.- VACUOLAS CONTENIENDO Coxiella burnetii INTERACTUAN CON LA VÍA AUTOFAGICA. (Parasitophorous vacuoles of Coxiella burnetii interact with the autophagic pathway). Gutierrez, MG*; Munafó, DB;* Rabinovitch, M#; Berón, W*; Colombo, MI.* (*) Laboratorio de Biología Celular y Molecular-IHEM-CONICET-FCM-UNCuyo-Mendoza-Argentina (#) Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Escola Paulista de Medicina, Sao Paulo, Brazil E-mail: maxgut@fmed2.uncu.edu.ar. Patrocinio: Dr. Ricardo B Maccioni.

Algunos patógenos bacterianos han desarrollado estrategias para sobrevivir intracelularmente. Se ha demostrado que un grupo de estas bacterias se dirigen de la vía endosomal hacia la vía autofagica. *C. burnetii*, agente etiológico de la fiebre Q, es una bacteria intracelular obligatoria que reside y se multiplica dentro de vacuolas con características fagolisosomales. Sin embargo el mecanismo molecular involucrado en la biogenesis de dicha vacuola es desconocido. En este trabajo se analiza la relación entre compartimentos autofágicos y vacuolas que contienen *C burnetii* (CV).

Células CHO que sobreexpresan GFP-LC3, un marcador especifico de autofagosomas, fueron infectadas con *C. burnetii* fase II de 2 a 6 días a 37ªC. Por microscopía de fluorescencia se observó que la membrana de las CV fue intensamente marcada con GFP-LC3. Sin embargo, en células CHO que sobreexpresan una mutante de LC3 (mycLC3\DeltaC22, G120A) se observó un significativo descenso en el número de células infectadas. Por otro lado, células CHO que sobreexpresan Rab24wt-GFP, una proteína rab que se distribuye en la membrana de los autofagosomas en condiciones de ayuno, colocalizó con CV. Estos datos sugieren que *C. burnetii* transitaría a través de la vía autofágica como estrategia para su supervivencia.

173.-MAPEO CEREBRAL CON C-FOS EN RATAS BAJO EXPOSICIONES NAUSEANTES DE RAYOS-X.(Brain mapping with c-fos under nauseant exposure of X-Ray in rats). Vega-Zúñiga, T., Ossa-Zazzali, P., Torrealba, F. Departamento de Fisiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile.

El condicionamiento aversivo a sabores es un eficiente aprendizaje por el cual se evita la ingesta de potenciales toxinas. Ante un alimento nuevo, se observa una baja ingesta de comida. Si el alimento contiene toxinas, el animal padecerá un malestar gastrointestinal, con lo cual en el futuro no ingerirá el alimento que consumió previo al malestar. En este caso las toxinas son el estímulo incondicionado (EI) y el alimento el estímulo condicionado (EC). Existen diversos EI como el LiCl, rotación del cuerpo y exposición a radiación ionizante, usados para inducir experimentalmente el asco. En este trabajo se investigó el patrón de activación neuronal frente a la exposición de rayos-X (EI) en el cerebro de rata. Ocho ratas fueron expuestas a una dosis de 100 cG y, previo acostumbramiento a la caja donde se irradiaron (4 días). Utilizamos 4 ratas que estuvieron en la caja, pero no fueron irradiadas. Se perfundieron transcardialmente y se fijaron en paraformaldehido-4%. Realizamos cortes de 50µm. Mediante inmunohistoquímica mapeamos la expresión de c-fos en el cerebro. Los resultados obtenidos muestran una significativa activación neuronal en el NTS, el hipotálamo(PVN,LHA) y el tálamo(PVT). Estos resultados sugieren que éstos núcleos están involucrados en la EI y/ o en la respuesta incondicionada necesaria para el aprendizaje condicionado de evitación a sabores.

Financiado por Fondecyt 1020718

174.- NEURONAS RICAS EN ACETIL-COLINESTERASA (NRACHE) EN LA CORTEZA CEREBRAL DE OCTODON DEGUS. (Acetylcholinesteraserich neurons in the cerebral cortex of Octodon degus). Villalón, A., Montiel, J., García, R., Aboitiz, F. Departamento de Psiquiatría y Centro de Investigaciones Médicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La corteza cerebral (CCx) de humanos adultos presenta un tipo de neuronas llamadas NRAChE. Estas se ubican en los estratos 3 y 5 del neocórtex, son magnopiramidales y poseen una intensa tinción histoquímica pericarial y en los segmentos proximales de sus prolongaciones. Tales neuronas aparecen comenzando la adultez y se relacionan con aprendizaje y memoria, disminuyendo abruptamente en enfermos de Alzheimer.

Estudios previos han demostrado que las NRAChE no se encuentran en la CCx de roedores adultos, detectándose exclusivamente en etapas perinatales y desapareciendo a la tercera semana postnatal.

En este estudio detectamos NRAChE en la CCx de Octodon degus adulto. Las NRAChE se encontraron preferentemente en capa 3 de la corteza frontal, parietal y occipital. Mediante morfometría computacional se determinó que son significativamente más grandes en la región parietal (248,46 \pm 63.62 μ m²) que en la frontal (188.7 \pm 35.9 μ m²). Al compararlas con NRAChE de la CCx humana, se encontró que estas últimas son de mayor tamaño (346,75 \pm 67.28 μ m²) y presentan una mayor densidad que en la CCx frontal de degus (0.18 \pm 0.01 v/s 0.15 \pm 0.02 NRAChE/mm²).

Nuestros hallazgos, junto con la detección de placas seniles y ovillos neurofibrilares (Reyes A., Tesis Doctoral PUC 2000) en el cerebro de *Octodon degus*, nos permiten plantearlo como un buen modelo de estudio en enfermedad de Alzheimer.

175.- MODELO IN VITRO PARA EL ESTUDIO DE LA NEUROGENESIS POSTNATAL. (An in vitro model to study postnatal neurogenesis). González C. Instituto de Histología y Patología. Universidad Austral de Chile. Proyecto DID UACH D-2002-02, Proyecto FONDECYT 1000435

Se estandarizó el cultivo organotípico de la zona subventricular de los ventrículos laterales, zona de activa neurogénesis en el adulto. Se obtuvieron explantes de la pared de ventrículos laterales de bovinos adultos que se cultivaron como: i) cultivos flotantes, en medio líquido (Dulbecco modificado y mezcla de nutrientes F-12 en proporción 1:1 y 10% suero bovino fetal); ii) cultivos en matriz de colágeno. Estos se mantuvieron en presencia de BrdU durante la 1^{ra}, 2^{da} ó 3^{ra} semana de cultivo. Los cultivos se procesaron para inmunocitoquímica utilizando: anti-BrdU (proliferación celular), anti-GFAP (marcador de astrocitos) y anti-β-III tubulina (marcador neuronal). Los explantes se reorganizaron en estructuras globulares constituidas por dos poblaciones celulares que ocupan distintas zonas del explante: a) células ependimarias, inmunorreactivas a GFAP y b) neuroblastos inmunorreactivos a β-III tubulina. El análisis de proliferación celular reveló que hay división celular durante la 1^{ra}, 2^{da} ó 3^{ra} semana de cultivo y en la región ocupada por neuroblastos, indicando que los cultivos son capaces de generar neuronas in vitro pero no epéndimo. En los cultivos en matriz de colágeno se apreció una migración celular desde la superficie de los explantes hacia la matriz. Una población de ellas era inmunorreactiva a β-III tubulina. Estos resultados indican que el cultivo organotípico de zona subventricular es modelo útil para estudiar fenómenos de proliferación y migración de progenitores neurales.

176.- FOSFORILACION DE PROTEÍNAS Y FUSION DE MEMBRANAS EN GRANULOS CROMAFINES. (Protein phosphorylation and membrane fusion in chromaffin granules). Sandoval, M., de la Fuente, M. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La secreción de las células cromafines requiere de una elevación del calcio citoplasmático y de activación de la proteína quinasa C. La adición in vitro de la proteína calcio-dependiente anexina II y proteína quinasa C a una suspensión de gránulos cromafines de bovino en presencia de Ca2+, Mg2+, ATP y un activador de la quinasa causa una rápida agregación y fusión de los mismos. Ya que la anexina agrega los gránulos pero no los fusiona, mientras que la quinasa carece per se de actividad agregante o fusogénica, se puede postular que la fosforilación de una proteína de la membrana granular por la quinasa gatillaría la fusión de membranas previamente agregadas por la anexina. Experimentos con ³²P-ATP muestran en presencia de anexina II tres bandas radiactivas en el patrón electroforético de la membrana. La marcación es mucho más débil, o inexistente, en ausencia de la anexina. Así esta proteína parece promover, directa o indirectamente, la fosforilación de proteínas específicas de la membrana. Ya que experimentos paralelos bajo condiciones análogas mostraron fusión de membranas, este resultado sugiere que al menos una de las proteínas fosforiladas podría estar involucrada directa o indirectamente en la fusión. En otros experimentos con la anexina I también observamos fusión de gránulos al agregar proteína quinasa bajo condiciones fosforilantes y marcación de las mismas bandas anteriores. Estos resultados indican que estas anexinas tienen la capacidad de inducir la fosforilación de proteínas específicas para comenzar un proceso que culmina en la fusión de las membranas. Financiado por Fondecyt 1000691

177.- EVIDENCIA EXPERIMENTAL DE LA TRANS-MISION DE HANTAVIRUS (CEPA ANDES) POR VIA ORAL. (Experimental evidence for the oral transmission of hantavirus (Andes strain). Pizarro E.¹, Rodríguez E.¹, Navarrete M.², Zaror L.², Murua R.³, Jofre SC.³, Briones M.³, Cadiz R.³, Figueroa R.³, Padula PJ.⁴. ¹Instituto de Histología y Patología, ²Instituto de Microbiología Clínica, ³Instituto de Ecología y Evolución. Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.⁴ Instituto "Carlos Malbrán", Buenos Aires, Argentina. enriquepizarro@uach.cl Proyecto Fondef D99I1105

Virus Andes es uno de los virus del genero Hantavirus responsables del Síndrome Cardigenico Pulmonar por Hantavirus (SCPH), los que presentan tres segmentos genómicos, S, M, L que codifican para una nucleoproteína (N) y dos proteínas de envoltura (G1 y G2) mas una transcriptasa reversa, respectivamente. En el presente trabajo se estudia mediante inmunocitoquímica, utilizando un anticuerpo policional generado contra N, G1 y G2 del virus Andes, la presencia del virus en distintos órganos de roedores sigmodontinos (Oligoryzomys longicaudatus y Abrothrix olivaceus) habitantes de nuestro vivero experimental, los cuales fueron infectados en forma natural y bajo condiciones controladas. La aplicación de la técnica inmunocitoquímica muestra la presencia del virus en diferentes órganos, con mayor carga en pulmón y glándulas salivales. Estas observaciones indican (1) que el virus Andes infecta selectivamente ciertos linajes celulares y (2) apoyan la transmisión por vía oral (aerosoles v saliva).

178.- REGULACION DE RECEPTORES DE GLICINA POR ACTIVACION DE RECEPTORES METABOTROPICOS GABA_B EN NEURONAS ESPINALES. (Modulation of glycine receptors by metabotropic GABA_B receptors activation in spinal neurons). Yévenes, G.E., Parodi, J., Castro, P., Carrasco, M., Aguayo, L.G. Lab. de Neurofisiología, Depart. Fisiología, Facultad Cs. Biol., Universidad de Concepción.

Antecedentes previos sugieren que el receptor iónotropico de glicina (Rgli) podría ser modulado por proteínas G a través de subunidades Gβγ, lo que involucraría la participación de receptores acoplados a proteína G (GPCR). Para explorar esta posibilidad, hemos estudiado la regulación funcional del Rgli por Gβγ y distintos GPCRs en células HEK 293 y en neuronas en cultivo, utilizando transfeciones transientes y técnicas electrofisiológicas. Activación de proteínas G con GTP-γ-S (500 μM) aumentó la corriente de Cl (Iglicina) en 92±12%. Este efecto fue bloqueado después de transfectar las células con ct-GRK2, un bloqueador específico de GBy (6±12%). Aplicación intracelular de Gβγ purificada también potenció la corriente (51±6%), sugiriendo que la potenciación es dependiente del dímero. Además, analizamos la capacidad de distintos GPCRs (mGluR1a, α2-adrenérgico y GABAB) de modular el Rgli mediante mecanismos similares. De los receptores estudiados, sólo la estimulación del receptor GABA_B utilizando baclofeno potenció significativamente la I_{glicina} (68±7%). Este efecto fue bloqueado por un antagonista específico del receptor GABA_B (CGP-54626), por incubación con PTX y mediante la expresión de ct-GRK2. Nuestros resultados indican que Rgli es modulado por Gβγ vía activación de receptores GABA_B. En un contexto fisiológico, esta interacción constituiría un modulador positivo de las funciones inhibitorias de las redes neuronales glicinérgicas.

Financiado por GIA 201034006 y Fondecyt 1020475. J.P., G.Y. y M.C. son becarios Conicyt.

179.- IDENTIFICACION DE ACUAPORINAS EN EL OVIDUCTO DE LA RATA Y LA REGULACION DE SU EXPRESION POR HORMONAS OVARICAS (Identification of aquaporins in the rat oviduct and the regulation of its expression by ovaric hormones) Brañes, M.C. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Centro de Regulación Celular y Patología, P. Universidad Católica de Chile. Patrocinio: N.C. Inestrosa.

El moco cervical presenta cambios en el contenido de agua a lo largo del ciclo reproductivo que se correlacionan con variaciones en los niveles circulantes de estradiol (E2) y progesterona (P₄). Por otra parte, las acuaporinas(AQPs)son una familia de proteínas que constituyen canales de agua. Sin embargo, se desconoce si se expresan en el oviducto. Estudios previos indican que el epitelio oviductal de la rata expresa los ARNm de las AQPs 1, 5, 8 y 9. En este trabajo se detectó, mediante inmunohistoquímica, la presencia de AQP1 en el miosalpinx y la serosa y de las AQPs 5, 8 y 9 en el epitelio oviductal. La inmunoreactividad asociada a las AOPs 5 y 8 es intracelular, mientras que la localización de la AQP9 es apical. La intensidad de la inmunoreactividad para cada AQP es diferente dependiendo del día del ciclo estral y del segmento oviductal. La inmunoreactividad para las AQPs 5, 8 y 9 desaparece luego de una ovariectomía. Sin embargo, en estos animales la administración de E2 y P4 reestablece la expresión de AQP9, lo que sugiere que un mecanismo mediado por hormonas regula su síntesis.

Fondecyt (8980009) y FONDAP-Biomedicina (13980001)

180.- FORMACION DE COMPLEJOS ENTRE ANEXINAS Y PROTEÍNAS DE LA MEMBRANA DEL GRANULO CROMAFÍN. (Formation of complexes between annexins and proteins of the chromaffin granule membrane). Vergara, P., de la Fuente, M. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

Las proteínas de la familia de las anexinas comparten un dominio altamente conservado por el que unen fosfolípidos ácidos en presencia de concentraciones micromolares de ión calcio. Las anexinas I y II en particular promueven la agregación de gránulos cromafines en presencia de calcio y se ha supuesto que el primer paso en la agregación es la unión de las anexinas a los fosfolípidos negativos de la membrana granular. Sin embargo, resultados experimentales previos sugieren indirectamente que la agregación implicaría la formación de complejos entre las anexinas I o II y proteínas de la membrana granular. Para ensayar esta hipótesis hemos intentado aislar estos complejos putativos desde membranas granulares agregadas por las anexinas y solubilizadas con detergentes neutros. Hemos encontrado que ambas anexinas se pueden unir (en presencia de calcio) a una fracción de membrana insoluble en Triton X-100 y que contiene unas 5 proteínas de la membrana, fosfolípidos y colesterol. Las moléculas de anexina I también pueden unirse a una proteína de alta masa molecular formando un complejo soluble en Triton no relacionado con la fracción insoluble anterior. Este complejo puede ser inmunoprecipitado por un anticuerpo anti-anexina I. La formación de este último complejo está relacionada con la agregación de los gránulos, ya que no se observa en membranas no agregadas. Estos resultados sugieren que la agregación de gránulos cromafines por anexinas requeriría la formación de complejos anexinas-proteínas de membrana.

Financiado por Fondecyt 1000691

181.- APP HUMANA Y DE *C. elegans* MODULAN LA NEUROTOXICIDAD INDUCIDA POR COBRE IN VIVO. (Modulation of copper induced neurotoxicity by both human and *C. elegans* APP in vivo). Cerpa W., Barría M.I., Chacón M. e Inestrosa N.C. Centro de Regulación Celular y Patología, MIFAB, P. Universidad Católica de Chile.

La proteína precursora del amiloide (APP) esta implicada en la enfermedad de Alzheimer. Esta proteína posee un dominio capaz de unir y reducir cobre (APP135-156), destacándose la participación de la Cys 144, involucrada en la reducción, y las His 147,149 y 151, que participan en la unión del metal. Estos antecedentes apuntan a un posible papel fisiológico de ésta proteína, el cual se desconoce. Con estos antecedentes, decidimos estudiar el efecto de APP135-156 en un modelo in vivo. Para ello, realizamos la co-inyección del péptido y cobre en el hipocampo de rata, lo que nos permite analizar el efecto en la memoria espacial y en la morfología del sitio inyectado. Los resultados muestran que APP135-156 humano es capaz de proteger frente a la neurotoxicidad del cobre, al igual que APP135-153 de C. elegans (que difiere en 2 His), sugiriendo que la reducción de cobre es importante en la neuroprotección observada. Resultados similares se observaron utilizando el octapéptido de la región N terminal de la proteína prion humana. Esto apoya la idea de que APP y la proteína prion están involucradas en la homeostasis de cobre.

Financiado por FONDAP-Biomedicina (N°13980001), Instituto Milenio

(MIFAB) International Copper Association (ICA).

182.- EFECTO DE PRODUCTOS NATURALES EN LA FORMACIÓN DE FIBRAS DE AMILOIDES (Effect of Natural Products in the Formation of Amyloid Fibrils). Dinamarca M.C., Campos E.O., Hancke J.L. e Inestrosa N.C. Centro de Regulación Celular y Patología, MIFAB, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La enfermedad de Alzheimer (EA) se caracteriza por la presencia de agregados fibrilares de β -amiloide. Previamente, se ha estudiado en el laboratorio la formación de amiloide in vitro encontrándose proteínas que facilitan su formación, como la acetilcolinesterasa (AChE). En este contexto, se han desarrollado una serie de estrategias medicinales para enfrentar la EA.

En este trabajo, se estudió el efecto in vitro de los compuestos naturales galantamina, un inhibidor de la AChE, derivado de Galanthus nivalis, e hiperforina, un producto natural proveniente de Hypericum perforatum, en la formación de fibras amiloides en presencia y ausencia de AChE. Por ensayos de turbidometría, unión de Tioflavina-T, geles de Tris-Tricina y tinción de Rojo Congo, se determinó que galantamina no altera el proceso de fibrilogénesis, pero sí inhibe la formación de amiloide promovida por AChE, sugiriendo que podría interactuar con la enzima en el mismo sitio que el péptido amiloide. Por otro lado hiperforina inhibe la formación de amiloide en ausencia de AChE, pero no en presencia de ésta. Además, hiperforina desagrega las fibras amiloides en forma dosis y tiempo dependiente, sugieriendo que hiperforina podría ser un buen candidato para futuras evaluaciones terapeúticas en la EA.

Financiado por FONDAP-Biomedicina (Nº 1398001), Instituto Milenio (MIFAB) e INDENA S.A.

183.- APOPTOSIS DURANTE EL DESARROLLO DE Echinococcus granulosus y Mesocestoides corti. (Apoptosis during Echinococcus granulosus and Mesocestoides corti development). Cabrera, G.; Espinoza, I. y Galanti, N. Programa de Biología Celular y Molecular, I.C.B.M., Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Echinococcus granulosus y Mesocestoides corti son platelmintos parásitos que presentan un ciclo de vida indirecto, participando diferentes hospederos en su desarrollo hasta gusano adulto. Su carácter de endoparásitos obligados, ha impedido la obtención de las diferentes formas de desarrollo. En este trabajo, estudiamos la apoptosis mediante la técnica de TUNEL y observando núcleos por microscopía electrónica de transmisión, en capa germinal de quistes hidatídicos fértiles de E. granulosus. Este material permite estudiar la apoptosis desde yemas celulares hasta el protoescólice (larva) maduro. Se observó un incremento del número de células apoptóticas hasta el estado de yema, disminuyendo hacia la larva. Empleando las mismas técnicas, analizamos la apoptosis en larvas de M. corti inducidas a transformarse en

gusanos por acción de tripsina y suero. Se observó que las células apoptóticas se ubican principalmente en parénquima y rudimentos genitales, presentando núcleos picnóticos con parches de heterocromatina condensada.

Estos modelos de estudio permiten reproducir el desarrollo completo del ciclo de vida de estos endoparásitos, desde células pluripotenciales a gusanos adultos. Se demuestra, que la apoptosis participa en los procesos de remodelación que ocurren durante el desarrollo de los diferentes estados morfológicos en estos platelmintos.

Proyectos: FONDECYT N° 1010817 y SIDA/SAREC Network.

184.- ESTUDIO DEL EFECTO DE TALIDOMIDA EN LA SOBREVIDA DEPENDIENTE DE IL-6 DE CELU-LAS DE MIELOMA MULTIPLE. (Study of Thalidomide treatment on IL-6 dependent survival of multiple myeloma cells). Olivares, D., Fernández, M., Santibáñez J.F. Laboratorio de Biología Celular, INTA, Universidad de Chile.

El Mieloma múltiple (MM), una neoplasia de células B, representa a lo menos el 10% de las enfermedades oncohematológicas con una baja tasa de sobrevida de los enfermos y gran resistencia a las quimioterapias convencionales. En esta patología IL-6 juega un papel central puesto que favorece la sobrevida e inhibe la apoptósis de las células de MM. En los últimos años el uso de Talidomida (Tal) ha generado alentadoras expectativas en el tratamiento del MM aunque los mecanismos moleculares y celulares no han sido bien dilucidados. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de Tal en la sobrevida dependiente de IL-6 en células de MM. Para abordar este objetivo utilizamos como modelo de estudio la línea celular U266 y determinamos el efecto de Tal sobre el papel protector de IL-6 en la proliferación celular, apoptósis y rutas de transducción de señales de IL-6, Erk1,2 y STAT3. Los resultados mostraron que el tratamiento con Tal (50-400 ug/ml)produjo una disminución de la proliferación en ausencia de IL-6 y que la presencia de 10ng/ml del factor sólo fue capaz de proteger a las células de este efecto inhibitorio a 50 y 100 ug/ml de la droga. Tal por su parte provocó apoptósis en forma dependiente de la concentración de la droga, no observándose protección de IL-6 en ninguna de concentraciones de Tal utilizadas. Al analizar a nivel de las rutas de transducción de Il-6 se observó que la droga no modificó la activación por el factor de ERK1,2, aunque aumento significativamente la activación basal de estas Quinasas, Tal a su vez solo a la concentración de 400 ug/ml fue capaz de inhibir la activación de STAT3 por IL-6. Al utilizar AG490, un inhibidor de la activación de STAT3, se indujo la apoptósis en U266, las que fueron protegidas por IL-6. Los datos expuestos nos permiten sugerir que Tal es capaz de inhibir efectivamente la sobrevida de U266 una vez que sobrepasa la capacidad protectora de IL-

Financiamiento: P. FONDECYT 3000045 y 1990082

185.- REGULACION DE LA ACTIVIDAD DEL SISTE-MA UROQUINASA POR TGF-B1 Y COLAGENO TIPO I EN FIBROBLASTOS GINGIVALES HUMANOS.

(Regulation of urokinase activity by Transforming Growth Factor- $\beta 1$ and type I collagen in human gingival fibroblasts). Smith P^1 ., Santibáñez J.F² y Martínez J². ¹Facultad de Odontología y Laboratorio de Biología Celular, INTA, Universidad de Chile

Durante la reparación de heridas gingivales, los fibroblastos son capaces de remodelar la matriz extracelular (MEC) gracias a la expresión de serín-proteasas como uroquinasa (uPA). Se ha establecido que tanto la adhesión a MEC como la exposición a factores de crecimiento pueden modular distintas respuestas celulares. En el presente estudio analizamos la actividad del sistema uPA en fibroblastos gingivales (FG) provenientes de cultivos primarios y su regulación por TGFβ1 y colágeno tipo I. TGF-β1 estimuló la actividad de uPA de FG de una forma dosis-dependiente. A su vez, el cultivo de estas células sobre una matriz pre-formada de colágeno tipo I estimuló igualmente la actividad de la proteasa. Sin embargo, en células expuestas a TGF-β y a colágeno tipo I la actividad proteolítica neta del sistema uPA y su inhibidor PAI-1 fue inferior al de fibroblastos no estimulados, lo que sugirió que tanto TGF-\(\beta\)1 como colágeno tipo I actúan como estimuladores de la expresión de PAI-1 lo que se confirmó al medir por western-blot la expresión de PAI-1 en el medio condicionado por fibroblastos gingivales expuestos a TGFβ. El análisis morfológico de células tratadas con TGF-β1 muestran un aumento en la expresión de actina muscular. Estos resultados permiten concluir que el estímulo de TGF-β1 como la adhesión a colágeno tipo I son capaces de regular la actividad del sistema uroquinasa en fibroblastos gingivales, ya sea modulando la actividad de uroquinasa, como también la expresión de su inhibidor PAI-1.

Financiamiento: DID U. De Chile (SAL 02/10-2) y Colgate Palmolive Chile

186.- PARTICIPACION DE NF*k*β Y ESTRES OXIDATIVO EN LA PROGRESION TUMORAL INDUCIDA POR TGF-β1 EN QUERATINOCITOS TRANSFORMADOS. (NF*k*β and oxidative stress participation in tumoral progression induced by TGF-β1 in transformed keratinocytes). **Tobar**, N., Santibáñez J.F. Laboratorio de Biología Celular INTA, Universidad de Chile.

El factor de crecimiento transformante β1 (TGF-β1) estimula la progresión tumoral de queratinocitos transformados, aumentando la capacidad migratoria y la producción proteasas tumorales (uPA y MMP-9). TGF-β1 ejerce sus efectos celulares transduciendo a través de variadas rutas de señalización, entre otras vía la de la familia Smads, ERK1,2 y de NF $k\beta$. A su vez el factor es capaz aumentar el estrés oxidativo celular mediante la producción de ROS. En el presente trabajo hemos estudiado el posible papel de NF $k\beta$ y de ROS sobre el estímulo de la migración y producción de uPA y MMP-9 por TGF-β1 en queratinocitos transformados (PDV). Nuestros resultados nos indican que en PDV el tratamiento con TGF-β1 es capaz de activar NFkβ (medido por activación transcripcional de un plásmido reportero que contiene los elementos cis para este factor), aumenta los niveles intracelulares de ROS (medido por 2,7-DCF) y el tratamiento con N-acetilcisteína (NAC) inhibe la activación por TGF- β 1 de NF $k\beta$. Por su parte el estímulo por TGF- β 1 de la migración (medida por ensayo de herida) fue inhibido por el tratamiento con SN50 (un péptido que bloquea la translocación nuclear de NFkβ) y NAC. Estos resultados se relacionaron con la capacidad de $NFk\beta$ de inhibir la producción de MMP-9 estimulada por TGFβ1, a su vez el tratamiento con NAC fue capaz de inhibir el efecto del factor sobre la expresión de uPA y de MMP-9. Los resultados expuestos nos permiten sugerir que tanto el aumento ROS como la activación de NFkβ median en parte el estímulo de la progresión tumoral por TGF-B1 en queratinocitos transformados. Financiamiento: Proyecto FONDECYT 3000045

187.- ALTERACIONES DEL CITOESQUELETO DE ACTINA EN COLESTASIA INDUCIDA POR ISQUEMIA Y REPERFUSION. (Alterations of actin cytoskeleton following ischemia-reperfusion induced cholestasis) Sánchez, A., Pérez, M., Accatino, L., Pizarro, M., Solís, N. y Koenig, C. Dpto. de Biología Celular y Molecular, PUC.

Los transplantes de órganos se acompañan siempre de isquemia y reperfusión (IR), proceso con efectos adversos iniciales, cuya prevención está en investigación.

En riñón, la IR altera el citoesqueleto de actina, produciéndose la pérdida de la polaridad epitelial. Proponemos que la colestasia hepática por IR sería producida por efecto directo de la isquemia sobre el citoesqueleto de los hepatocitos.

Comparamos el citoesqueleto de F-actina de hepatocitos CONTROL con hepatocitos sometidos: a 30 minutos de ISQUEMIA y reperfusión por 1-3-7 días y a OBSTRUCCIÓN DE VÍA BILIAR (OB) por 3-7 días.

Muestras de tejido hepático se procesaron para:

- -localización histoquímica de Mg-ATPasa de membrana canalicular,
- -tinción de F-actina con faloidina-fluorescente,
- -estudio ultraestructural al microscopio electrónico.

La IR cambia la forma de los canalículos biliares y las microvellosidades pierden su eje de microfilamentos, pero la actina asociada a la banda de adhesión conserva su estructura. Con IR, Mg-ATPasa mantiene su polaridad y F-actina se mantiene concentrada en el polo biliar, al contrario de lo observado en colestasia por OB, donde la alteración en la forma canalicular se acompaña de la redistribución de F-actina y Mg-ATPasa hacia la cara basolateral de los hepatocitos.

Tanto en IR como en OB, la severidad del daño depende del tiempo de isquemia y obstrucción, respectivamente. Fondecyt 1000563.

188.- REACTIVACION DE IRP1 Y DAÑO OXIDATIVO MEDIADO POR HIERRO EN NEUROBLASTOMAS SHSY5Y. (IRP1 reactivation and iron induced oxidative damage in neuroblastoma SH-SY5Y cells.). Gallardo, V., Muñoz, P., Núñez-Millacura, C., Tapia, V. y Núñez, M. T. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias e Instituto Milenio CBB Universidad de Chile.

El hierro intracelular es un factor pro-oxidante causante de daño celular. El sistema IRE/IRP mantiene la homeostasis celular de hierro regulando la síntesis del receptor para transferrina (RTf), el transportador de hierro DMT1 y la proteína de almacenaje ferritina. Hemos observado que las células neuronales no apagan completamente su incorporación de hierro, por lo que éste se acumula en el tiempo. Paradójicamente, la acumulación de hierro, por un mecanismo de estrés oxidativo, reactiva IRP1 generándose un círculo vicioso de más hierro y más estrés. Estamos caracterizando las rutas de señalización que llevan a la reactivación de IRP1 en células SHSY5Y, utilizando un modelo de incorporación progresiva de hierro. Encontramos que las células responden inicialmente elevando los niveles de glutatión reducido y la razón GSH/GSSG. En una segunda etapa se reducen los niveles de GSH y los niveles de nNOS. En esta etapa hay un desplazamiento de NFkB (p65) al núcleo. Finalmente se activa caspasa-3 que coincide con una pérdida masiva de la viabilidad celular. A concentraciones mayores, ocurre una masiva muerte celular. Postulamos que estos eventos fundamentan procesos neurodegenerativos mediados por hierro. Financiado por proyecto FONDECYT 1010657 y proyecto P99-031 al Instituto Milenio de Estudios Avanzados en Biología Celular y Biotecnología.

189.- OPTIMIZACION EN EL PROCESAMIENTO DE MUESTRAS DE SANGRE PARA AUMENTAR LA SENSIBILIDAD DIAGNOSTICA DE AGENTES INFECCIOSOS MEDIANTE PCR. (Optimization of blood sample processing for the sensitivity improvement of diagnosis of infectious agents by PCR). Ximena Coronado*, Olga Lastra**, Milton Larrondo***, Sylvia Ortíz*, y Aldo Solari* 'Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM. Facultad de Medicina, U. de Chile. "'Departamento de Analítica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, U. de Chile. ""Banco de Sangre. Hospital Clínico, U. de Chile.

El propósito del presente estudio es evaluar el daño que sufre el DNA de *Trypanosoma cruzi*, agente causante de la enfermedad de Chagas, durante el almacenamiento de una muestra de sangre tomada a un sujeto infectado al cual se le realiza una detección directa del parásito o DNA mediante la técnica de PCR.

El objetivo es buscar condiciones de almacenamiento de sangre que permitan la mejor sensibilidad diagnóstica en la detección de DNA del agente infeccioso.

Se procedió a almacenar sangre de sujetos chagásicos en diferentes condiciones experimentales que se asemejan a las temperaturas y tiempos utilizados en trabajos de terreno como de laboratorio clínico.

Está demostrado que la adición de Guanidina 6M y EDTA 0.2M durante la toma de muestra para el diagnóstico molecular de la enfermedad de Chagas es apropiado. Además de estos componentes se utilizaron otros aditivos como agentes antioxidantes, quelantes del ión hierro y citrato como anticoagulante.

Las muestras de DNA del parásito fueron evaluadas por amplificación por PCR y posterior hibridización con sondas radioactivas. Se analizó el contenido de hierro liberado que pudiera destruir el DNA via radicales libres, mediante espectrofotometría de absorción atómica.

Del análisis de tres pacientes a la fecha, se concluye que no importa la condición de almacenamiento de la sangre. Hasta los 60 días sigue detectándose el DNA del parásito. En tiempos de almacenamiento mayores se registra PCR negativo. La sangre mantenida solamente con buffer citrato proporciona un mayor nivel de hierro liberado.

Financiamiento DID Universidad de Chile SAL-01/14-2

190.- NUEVOS MARCADORES ACROSOMALES COMO HERRAMIENTA PARA IDENTIFICAR PATO-LOGIAS EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS (New acrosomal markers as a tool to identify patologies in human sperms) Tupper, L., Zuñiga, A., Tapia, V.*, Moreno, R.D. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. *Laboratorio de Endocrinología y Biología de la Reproducción, Hospital Clínico Universidad de Chile.

El acrosoma es una vesícula que recubre parcialmente la cabeza del espermatozoide. Las deficiencias en el funcionamiento de esta vesícula podrían ser causales de patologías en pacientes infértiles. En este contexto, hemos evaluado la presencia de marcadores funcionales del acrosoma en espermatozoides de pacientes con alteraciones en el espermiograma. En este estudio hemos eligido una enzima acrosomal (acrosina) y una proteína que participaría en la fusión de membranas durante la reacción del acrosoma (Sintaxina). En muestras control, estudios por inmunofluorescencia indirecta indican que existe un porcentaje similar de células marcadas tanto para acrosina como para sintaxina. Por otra parte, en muestras de pacientes con el espermiograma alterado, ambos porcentajes disminuven, siendo bastante más marcada la ausencia de sintaxina. La evaluación de los niveles de acrosina por "western blot" revela significativas diferencias en acrosina entre los distintos pacientes. Ello se asocia a un porcentaje menor de espermios de morfología normal, y a un mayor porcentaje de células redondas en las muestras estudiadas. Proponemos que puede existir un patrón diferente en cuanto a la cantidad de estas proteínas, en pacientes que consulten por infertilidad. Financiado por DIPUC 2001/05E

191.- ROL DEL CININOGENO T EN LA INHIBICION DE LA PROLIFERACION DE CELULAS TUMORALES (T Kiningen as an inhibitor of tumor cell proliferation). Nishimura, S.*, Pérez, C.*, Sabaj, V.*, Sierra, F.# * ICBM, Universidad de Chile.# Lankenau Institute for Medical Research, Winnewood, PA, USA.

Entre los fenómenos fisiológicos que acompañan al envejecimiento, el descenso en la capacidad proliferativa podría representar un mecanismo natural de supresión tumoral. Dado el incremento en los niveles intrahepáticos y séricos de la isoforma T del Cininógeno (T-KG), asociado al envejecimiento fisiológico de la rata (Rattus norvegicus), y el efecto inhibitorio que éste ejerce sobre la proliferación en fibroblastos Balb c/3T3 inducidos a sobrexpresar la proteína, hemos postulado que dichos aumentos en T-KG podrían ejercer un efecto protector contra el desarrollo de lesiones patológicas hiperproliferativas o cancerígenas. Tomando en consideración que el T-KG es una proteína sérica, postulamos que una variedad de tejidos (normales y/o tumorales) serían susceptibles de ser afectados por él de manera exógena. Para confirmar esta hipótesis, distintas líneas celulares fueron expuestas a T-KG exógeno.

Los resultados mostraron que aún a concentraciones inferiores a las encontradas en suero de ratas viejas (5-10 µg/ml), el T-KG fue capaz de inhibir la proliferación celular (incorporación de 3H-TdR) en líneas celulares de origen neoplásico provenientes de diferentes tejidos: Jurkat, McA-RH7777 y HT-29. Entre los mecanismos intracelulares que mediarían este efecto inhibitorio se postula una alteración en la activación de las vías ERK y PI-3K de transducción de señales intracelulares.

FONDECYT 1981064 y 1010615.

192.- EL CININOGENO-T AFECTA LA RESPUESTA PROLIFERATIVA DE FIBROBLASTOS. (T-kininogen affects the proliferative response of fibroblasts). *Aravena M., *Acuña-Castillo C. y *#Sierra F. *Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Facultad de Medicina, Universidad de Chile: #The Lankenau Institute for Medical Research. Wynnewood, PA, USA.

El cininógeno-T (T-KG) es una proteína sérica, codificada por un gen cuya expresión hepática muestra un incremento asociado a la edad en diversas cepas de rata.

Un estudio preliminar indicó que la sobreeexpresión de T-KG bajo el promotor CMV (un promotor fuerte y no regulable) es incompatible con el crecimiento celular de fibroblastos en cultivo. Para investigar específicamente los efectos de esta molécula sobre la proliferación celular, desarrollamos dos enfoques experimentales in vitro. Primero utilizamos líneas celulares de fibroblastos Balb/c3T3 que expresan T-KG de rata bajo el control del promotor inducible Lap-1. En este modelo, la expresión de cininógeno-T disminuye significativamente la capacidad proliferativa de los fibroblastos, en cultivos de crecimiento logarítmico y en células sincronizadas. A continuación estudiamos el efecto de T-KG purificado a partir de suero de rata y suministrado por vía exógena sobre células Balb/c3T3 no transfectadas. Paradojalmente el tratamiento exógeno mostró una inducción de la proliferación, que es dosis-dependiente dentro del rango de concentraciones (subfisiológicas) estudiado. En resumen, nuestros resultados indican que T-KG afecta la proliferación de fibroblastos, inhibiéndola o activándola, dependiendo de la forma en que es presentado a la célula (endógeno o exógeno). Actualmente, estamos evaluando la participación de vías de transducción de señales y moléculas reguladoras del ciclo

FONDECYT 1010615 y 1981064.

193.- EL CININOGENO T (T-KG) AFECTA LA ACTI-VACION DE MACROFAGOS EN RESPUESTA A ENDOTOXINA BACTERIANA. (T-KG affects the activation of macrophages in response to bacterial endotoxin (LPS)). *Gómez C., *Acuña-Castillo C., *Rivas M., *Sierra F. ICBM, *Prog. Biol. Cel. y Mol., Fac. Med., Universidad de Chile. *LIMR, Wynnewood, PA, USA.

T-KG es una proteína que aumenta en el suero de ratas senescentes e inhibe la proliferación cuando es sobre expresado en fibroblastos murinos, afectando la vía de MAPkinasas ERK. Nuestro objetivo es determinar el efecto de T-KG exógeno sobre la estimulación de macrófagos, células que están expuestas a él en el torrente sanguíneo y que requieren MAP-kinasas para su activación.

Utilizando cultivos primarios de macrófagos de rata, evaluamos el efecto de T-KG sobre la activación de vías de MAP kinasas, mediada por LPS. La co-aplicación o pre-aplicación de T-KG inhiben la activación máxima de ERK en un 50 % (p<0.05), mientras que la activación de p38 sólo se ve moderadamente afectada (30 % de disminución, p<0.05) en respuesta a pre-aplicación de T-KG. Además, resultados preliminares determinan un efecto sobre la capacidad fagocítica. Sin embargo, al analizar el efecto de la co-aplicación de T-KG sobre la expresión de los mRNAs de las citoquinas TNF-α, IL-6 e IL-10 no encontramos diferencias relevantes atribuíbles al tratamiento. Globalmente, nuestros resultados sugieren que la exposición de macrófagos a niveles elevados de T-KG lleva a una des-regulación de parámetros relevantes de su activación, lo que podría tener un papel en la alteración de la respuesta inmune observada en individuos senescentes.

Fondecyt 2010071 y 1010615.

194.- PPARγPARTICIPA EN LA DIFERENCIACION DE CELULAS NEURALES. (PPARγ participates in neural cell differentiation). Aguilera M., Fuenzalida K., Bronfman M. Centro de Regulación Celular y Patología, y Millenium Institute for Fundamental and Applied Biology. Departamento de Biología Celular y Molecular. Pontificia Universidad Católica de Chile.

Los PPARs (peroxisome proliferators activated receptors $\alpha, \beta \& \gamma$) son receptores nucleares activados por ácidos grasos y sus metabolitos. La función de éstos receptores en el Sistema Nervioso Central (SNC)es desconocida, sin embargo el activo metabolismo lipídico existente en éste tejido permite suponer que los PPARs podrían participar en procesos de diferenciación celular y control del metabolismo de lípidos. La línea celular PC12, clonada desde un feocromocitoma de rata, responde al factor de crecimiento neural (NGF), adquiriendo propiedades características de neuronas simpáticas. En este trabajo evaluamos la hipótesis que PPARγ estaría involucrado en el proceso de diferenciación inducido por NGF. La expresión de PPARy aumenta específicamente por acción del NGF. La troglitazona (TGZ), un agonista específico de PPARγ induce cambios morfológicos sugerentes de diferenciación en células PC12, fenómeno que comprobado por marcadores neurales mediante inmunocitoquímica y Western Blot. Transfecciones transientes de células PC12 con PPRE (elemento de respuesta a PPAR) demostraron que células tratadas con NGF existe un aumento en la actividad luciferasa comandada por PPRE. Estudios posteriores con agonistas y antagonistas específicos de PPARy comprobaron la especificidad de esta respuesta. Por último células mutantes de PC12, denominadas nnr5, que no presentan el receptor TrkA, no diferencian en presencia de NGF, pero sí con distintos agonistas de PPARγ, señalando que éste gen es vital en la diferenciación de células neurales. (Financiado por Proyectos FONDAP 13980001 y Milenio P98007-F)

195.- CARACTERIZACION DEL TRANSPORTE DE VITAMINA C EN UN MODELO DE ASTROCITOS FETALES HUMANOS EN CULTIVO. (Characterization of vitamin C transport in cultured human fetal astrocytes). Guzmán, C.G., Ruiz-Tagle, N., Jara, M.P., Cárcamo J.G., Vera, J.C. Departamento de Fisiopatología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción.

La vitamina C constituye un nutriente neuronal esencial tanto por su participación como cofactor enzimático en la síntesis de neuropéptidos como por sus propiedades antioxidantes. La disponibilidad de líneas celulares inmortalizadas de astrocitos humanos (FHAS) ofrece la oportunidad de modelar in vitro los mecanismos de adquisición de vitamina C a nivel cerebral. Hemos realizado la caracterización inicial del transporte de vitamina C en las células FHAS y encontramos que estas transportan tanto la forma reducida, ácido ascórbico, como la forma oxidada, ácido deshidroascórbico, de la vitamina C. El estudio detallado de la cinética de transporte reveló la presencia de dos actividades funcionales con la capacidad de transportar la vitamina C. Un componente con la capacidad para transportar ácido ascórbico en forma dependiente de sodio, cuyos parámetros cinéticos demuestran la presencia de SVCT2. Un segundo componente con la capacidad de transportar ácido deshidroascórbico, en una forma independiente de sodio, con características funcionales similares al transportador facilitativo de glucosa GLUT1. Creemos que este modelo nos permitirá establecer la participación de los astrocitos en la adquisición de vitamina C por el cerebro y en la mantención de las elevadas concentraciones de esta vitamina a nivel cerebral.

Financiamiento: proyecto FONDECYT 1020451 y 3000024 y proyecto DIUC 201.034.006-1.4

196.- ALTERACIONES DEL COMPLEJO ORGANO SUBCOMISURAL-FIBRA DE REISSNER CONDUCEN AL DESARROLLO DE HIDROCEFALIA (Impairment of the subcommissural organ-Reissner's complex leads to hydrocephalus) Vio K, Bátiz F Instituto de Histología y Patología, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

El órgano subcomisural (OSC) localizado a la entrada del acueducto de Silvio (AS) secreta glicoproteínas al liquido cefalorraquídeo (LCR) donde éstas forman la fibra de Reissner (FR). Se ha sugerido que una disfunción del OSC durante el desarrollo conduciría al desarrollo de hidrocefalia congénita. a través de la estenosis del AS. En el laboratorio hemos obtenido evidencias previas que ratas carentes de FR, obtenidas mediante bloqueo inmunológico del complejo OSC-FR en la etapa prenatal, desarrollan hidrocefalia. En el presente trabajo, se ha inducido hidrocefalia en ratas mediante la perfusión ventricular de anticuerpos contra las glicoproteínas de la FR durante la primera semana de vida postnatal. Esto resultó en el bloqueo de la formación de la primera FR. Al mes de edad estas ratas presentaron además en la mayoría de los casos estenosis de la región distal del AS y una dilatación notable de los ventrículos laterales, a diferencia de las ratas controles perfundidas con IgG de conejo. En los ventrículos laterales de las ratas hidrocefálicas existen zonas discretas y constantes que muestran denudamiento ependimario. sugierendo la existencia de diferentes subpoblaciones de células ependimarias que reaccionan de manera diferente en la hidrocefalia. Estos resultados apoyan la importancia del complejo OSC-FR durante las primeras etapas del desarrollo: su alteración conduce al desarrollo de hidrocefalia.

Financiado por FONDECYT KV. y FONDECYT 1000435 EMR.

197.- PROBABLE MECANISMO INVOLUCRADO EN LA OBLITERACION DEL ACUEDUCTO CEREBRAL EN EL RATON MUTANTE hyh CON HIDROCEFALIA GRAVE. (Probable mechanism involved in the obliteration of the cerebral aqueduct in the mutant mouse hyh with severe hydrocephalus). Wagner, C., Batiz, F., Rodríguez, S. Instituto de Histología y Patología, Universidad Austral de Chile. Valdivia. Proyecto FONDECYT-1000435.

El ratón mutante hyh nace con hidrocefalia moderada y comunicante que se agrava durante la primera semana postnatal (PN), con la obliteración de la región caudal del acueducto cerebral (ASc). Se ha postulado al OSC como responsable de dicha obliteración. El AS y el OSC de ratones $hy\hat{h}$ normales e hidrocefálicos entre E-19 -PN-7 fueron estudiados por: 1) microscopía electrónica; 2) lectinas para detectar residuos terminales de galactosa y ácido siálico; 3) inmunocitoquímica para marcadores de linaje celular, moléculas de adhesión y secreción del OSC. Se observó que el techo y piso del ASc están tapizados por epéndimos de diferente naturaleza. Aunque los ratones hidrocefálicos nacen con el piso del AS denudado, la obliteración sólo se produce cuando el epéndimo del techo del ASc se desprende. Los resultados sugieren que en el ratón hidrocefálico habría un defecto de sialilación en glicoproteínas de la membrana apical del epéndimo, exponiendo galactosa como residuo terminal y gatillando la llegada de macrófagos. Esto conduciría al denudamiento ependimario dorsal y obliteración. La carencia de fibra de Reissner en estos ratones, contribuiría al cierre acueductal. La posibilidad de que este defecto del OSC también se deba a un trastorno de la sialilación de sus proteínas secretorias está en estudio.

198.- EPENDIMOGENESIS POSTNATAL EN RATO-NES hyh NORMALES E HIDROCEFALICOS. (Postnatal ependymogenesis in normal and hydrocephalic hyh mice). Bátiz F, Wagner C, Rodríguez EM. Instituto de Histología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

La hidrocefalia congénita del ratón mutante hyh presenta dos etapas: a) embrionaria: hidrocefalia moderada con acueducto cerebral (AS) permeable; b) postnatal: hidrocefalia severa debida a la obliteración de AS caudal. Esta segunda etapa se caracteriza por presentar dos grandes dilataciones: el tercer ventrículo cerebral (IIIv) y el receso colicular del AS (RC), sin evidencias de fístulas o ventriculostomías espontáneas. En condiciones normales el epéndimo maduro del sistema ventricular pierde definitivamente su capacidad proliferativa. Sin embargo son muy pocas las evidencias sobre lo que ocurre en procesos patológicos como la hidrocefalia congénita. Se estudió el sistema ventricular de ratones hyh normales e hidrocefálicos de diferentes edades utilizando marcadores de proliferación y de linaje celular. Se encontró que en los ratones normales existen dos zonas ependimarias discretas ubicadas en el techo del IIIv y en el RC del acueducto cerebral que presentan actividad proliferativa y expresan marcadores que lo distinguen del resto del epéndimo. En los ratones hidrocefálicos el epéndimo de estas dos zonas aumenta su actividad proliferativa dando origen a nuevas células ependimarias que conservan sus marcadores específicos y que tapizan dorsalmente las dos grandes cavidades hidrocefálicas. Se concluye que: 1) en el ratón hyh normal existe ependimogénesis postnatal discreta, 2) la hidrocefalia estimula el proceso de ependimogénesis. Proyecto FONDECYT 1000435 a EMR.

199.- EFECTO DEL FOTOPERIODO Y MELATONINA SOBRE LA SECRECION DE LAS TUBERALINAS I Y II. (Effects of the photoperiod and melatonin on the secretion of tuberalins I and II). Guerra M. Instituto de Histología y Patología, Universidad Austral de Chile.

monserratguerra@.uach.cl

La pars tuberalis (PT) de la hipófisis es un componente de los sistemas circadianos. Se ha postulado que compuestos secretados por la PT participan en el control de la actividad endocrina dependiente del fotoperíodo. En nuestro laboratorio hemos identificado y generado anticuerpos contra dos nuevas proteínas secretadas por la PT de bovino (tuberalina I y II), y hemos obtenido evidencias in vitro que melatonina inhibe la liberación de la tuberalina I y estimula la liberación de la tuberalina II. En el presente trabajo hemos investigado, mediante inmunocitoquímica cuantitativa y microscopía electrónica, la secreción de las tuberalinas en la PT de ratas sometidas a diferentes condiciones de fotoperíodo, y en la PT de dos cepas de ratones (C3H/J y C57BL/6) consideradas knockout naturales en la producción de melatonina pineal. Las evidencias obtenidas sugieren que las células inmunorreactivas con anti-tuberalina II de la PT responden al estímulo del fotoperíodo. Considerando que la PT es la única región de la hipófisis que presenta receptores de melatonina en la vida adulta, y que hemos detectado ambas tuberalinas en la sangre del sistema porta hipotálamo-hipofisiario, los resultados obtenidos apoyan la existencia de un nuevo eje de regulación neuroendocrina pineal-PT-pars distalis.

Financiado por DID-UACh (200104) y FONDECYT a MG; FONDECYT (1000435) a EMR.

200.- CARACTERIZACION INMUNOCITOQUIMICA DE ANTICUERPOS CONTRA TRANSPORTADORES DE MONOCARBOXILATOS MCT1 Y MCT2 EN TEJIDO RENAL Y CEREBRAL DE RATA. (Characterization of monocarboxylate transporters MCT1 and MCT2 in renal and cerebral rat tissues). Reinicke K., Cortés, C., Campos, X., Nualart, F. Laboratorio de Neurobiología, Dpto. de Histología y Embriología, Fac. de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Se han descrito nueve transportadores de monocarboxilato de los cuales los mas estudiados son MCT1 y MCT2. En la actualidad existen dos tipos de anticuerpos contra MCTs, sin embargo, los resultados obtenidos con ambos sets de anticuerpos son contradictorios. De esta forma, hemos analizado la reactividad de anticuerpos para MCT1 y MCT2 en tejido renal y cerebral. Ambos tejidos fueron fijados en Bouin para realizar análisis inmunocitoquímico. Además, la especificidad de los anticuerpos fue analizada por medio de western blots. En rinón, MCT1 está expresado en el segmento S1 de los túbulos proximales, específicamente en la región basolateral. MCT2 se localiza a nivel de la papila renal, en las membranas basales de los túbulos colectores. En el cerebro, MCT1 y MCT2 está expresado en la mayor parte de los vasos sanguíneos cerebrales, astrocitos marginales y células ependimarias. Los resultados son consistentes con regionalizaciones particulares de ambos tipos de transportadores de monocarboxilatos en el cerebro y riñón, indicando que los anticuerpos utilizados permiten definir la localización correcta de estos transportadores.

Proyecto DIUC GIA 201.034.006-1.4

201.- DISTRIBUCION SUBCELULAR DE bFGF EN CELULAS TRONCALES MESENQUIMATICAS. (Subcellular distribution of bFGF in mesenchymal stem cells), Benavente C., Minguell J.J., Programa Terápias Génicas y Celulares, INTA, Universidad de Chile, FONDECYT No.

Cultivos expandidos de células troncales mesenquimáticas (MSC) de médula ósea humana, contienen una población discreta de células en estado quiescente (MSC no-comprometidas, MSC-noC) y otra mayoritaria en ciclo celular (MSC comprometidas, MSC-C). Ambas poblaciones pueden originar células de varios linajes mesenquimáticos (oseo, cartílago, músculo, adiposo). Estudios anteriores permitieron aislar y conocer las propiedades de ambas poblaciones; sin embargo, la información sobre producción y distribución subcelular de factores de crecimiento y angiogénicos es escasa. Por inmunofluorescencia indirecta se detectó una acumulación preferencial de bFGF y de su receptor (FGFR-1) en el núcleo en ambos tipos celulares. Ensayos de Western blotting demostraron presencia de las isoformas 18, 21-22 y 22,5 Kda de bFGF en núcleos aislados de ambas MSC. Sin embargo, la abundancia relativa de las isoformas 21-22 y 22,5 KDa fue mayor en núcleos de MSC-noC que en MPC-C. La producción de bFGF al medio (EIA), demostró producción y liberación de bFGF, sólo en las MSC-C. Estas observaciones señalan: a) que existe una distribución nuclear particular de isoformas de bFGF, la que depende de la condición de proliferación/diferenciación de las MSC y b) que la producción y exportación de bFGF, dependiente del tipo de MSC, puede ser relevante en generar un microambiente que afecte el destino biológico de las propias MSC u otras células del estroma de médula ósea.

202.- CELULAS TRONCALES MESENQUIMATICAS DE SANGRE DE CORDON UMBILICAL HUMANA SE LOCALIZAN EN LA MEDULA OSEA LUEGO DE LA INFUSION SISTEMICA EN RATONES INMUNODEFICIENTES. (Human cord blood-derived mesenchymal stem cells home and survive in the marrow of immunodeficient mice after systemic infusion). Erices, A., Allers, C. y Minguell, J.J. Programa Terapias Génicas y Celulares, INTA, Universidad de Chile.

La célula troncal mesenquimática (MSC) se localiza en la médula ósea del organismo adulto y es capaz de diferenciarse hacia linajes celulares tales como osteoblastos, condroblastos, mioblastos, adipocitos y estroma hematopoyético.

Recientemente hemos descrito la presencia de MSC en la sangre de cordón umbilical humana (cbMSC). Para evaluar la potencial utilización de estas células, éstas fueron trasplantadas en ratones inmunosuprimidos y se analizó su localización y sobrevida en el organismo receptor.

Cultivos de cbMSC fueron preparados a partir de células mononucleares de sangre de cordón umbilical humana. La población adherente fue caracterizada por estudios morfológicos, potencial de diferenciación (osteogénico, adipogénico), inmunotipificación (SH2, SH3, SH4, α-sma) y posteriormente trasplantada en ratones inmunodeficientes por infusión sistémica. Luego de cinco meses, y utilizando la amplificación del gen β-globina humano por PCR, se evaluó la presencia de células humanas en médula ósea y otros tejidos mesenquimáticos (músculo, hueso, diente) y no mesenquimáticos (hígado, riñón, etc). Células humanas fueron detectadas en la médula ósea de los ratones trasplantados como también en cultivos secundarios de MSC a partir de la médula ósea de estos animales. Estos resultados sugieren un destino preferencial de las cbMSC trasplantadas hacia tejidos mesenquimáticos lo cual es apoyado por la localización de estas células en otros tejidos del organismo receptor (músculo cardiaco, bazo y diente).

La cbMSC representa una nueva visión de la ontogenia de los sistemas hematopoyético y mesenquimático y representa una valiosa opción para el desarrollo y uso de estas células en terapias biológicas de estos sistemas.

Financiamiento: FONDECYT 1010566.

203.- ANALISIS GENOTÍPICO DE GST-θ COMO MAR-CADOR DE SUSCEPTIBILIDAD A CANCER PROSTATICO. (Genotypic Analysis of GST-θ as susceptibility marker for prostate cancer) Iturrieta, J., Castro, A., Acevedo, C., Quiñones, L. Laboratorio de Carcinogénesis Química y Farmacogenética, Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad De Chile. Patrocinador: Dr. Héctor Toledo

El cáncer prostático (CaP) es una de las neoplasias más comunes en el mundo. En Chile es la segunda causa de muerte en hombres mayores de 50 años. Múltiples factores incluyendo los genéticos están involucrados en su génesis. Al respecto, existen numerosos trabajos orientados a determinar el rol de los genes de las enzimas de biotransformación en la iniciación, progresión y gravedad del CaP.

El presente trabajo estudió la correlación entre la presencia de una deleción homocigota (del/del) en el gen la enzima Glutatión Transferasa T1 y la incidencia de CaP en individuos chilenos. Para ello se reclutaron 222 pacientes varones mayores de 45 años (casos:103, controles:119). Mediante PCR, se determinaron los genotipos (normal o del/del) usando el gen β globina como control de amplificación. Los resultados mostraron que 5,8 % de los casos y 10,9% de los controles eran del/del. De acuerdo a estos resultados, es posible decir que la deleción de GSTT1 tendría un efecto protector hacia CaP. Sin embargo, la diferencia observada en los genotipos entre casos y controles (OR= 1,98) no alcanza a ser estadísticamente significativa (p= 0,15).

Agradecimientos:

Financiamiento: Proyecto FONDECYT-3020043.

REPRODUCCION -BIOLOGIA DEL DESARROLLO -MORFOLOGIA

204.- PATRON DE PROTEINAS FOSFORILADAS EN TIROSINA EN EL OVIDUCTO DE LA RATA DURANTE EL CICLO ESTRAL. (Pattern of oviductal phosphorylated proteins in tyrosine residues during the rat estrous cycle). Gatica C. Unidad de Reproducción y Desarrollo, Facultad de Ciencias Biológicas, PUC. (Patrocinio: Horacio Croxatto)

La administración de estradiol (E_2) o progesterona (P_4) cambia el patrón de proteínas fosforiladas marcadas con fósforo radioactivo en el oviducto de la rata, lo cual sugiere que las oscilaciones hormonales del ciclo estral podrían estar asociadas a cambios en la fosforilación de proteínas en este órgano. Aquí reportamos el patrón de proteínas fosforiladas en residuos de tirosina en el oviducto durante el ciclo estral en la rata. Se obtuvo separadamente el ámpula e istmo los cuales fueron procesados para electroforesis unidimensional. Se obtuvieron 2 geles por cada réplica: 1^{cr} gel fue teñido con azul de Coomassie, 2^{do} gel fue transferido a una membrana e inmunomarcado con un anticuerpo (Ac) anti-fosfotirosina. El complejo Ac-Proteína fue visualizado por una reacción colorimétrica y se cuantificó la intensidad de las bandas por densidad óptica.

En el inmunoblot, se obtuvo un patrón de 10 bandas principales, tres de las cuales fueron cuantificadas, encontrándose que la banda de peso molecular de 30kD está aumentada 4 veces en estro en el segmento ampular, en relación a los otros estadíos.

Los resultados indican que hay cambios estado y segmento específicos, en el patrón de fosforilación en tirosina de las proteínas oviductales, asociados al ciclo estral de la rata. FONDECYT 8980008, Cátedra Presidencial H Croxatto, RF 98024 # 98 y MIFAB.

205.- ESTRADIOL AUMENTA EL NIVEL DE FOSFORILACION DE PROTEÍNAS EN RESIDUOS DE SERINA, EN EL MIOSALPINX DEL SEGMENTO ISTMICO DEL OVIDUCTO DE LA RATA. (Estradiol increases levels of phosphorylation of proteins in serine residues, in the myosalpinx of the isthmic segment of the rat oviduct) Zúñiga LM*, Orihuela PA, Croxatto HB. Unidad de Reproducción y Desarrollo. Facultad de Ciencias Biológicas, PUC.

La administración de estradiol (E_2) acelera el transporte oviductal de oocitos en la rata por una acción no genómica que requiere fosforilación de proteínas en el oviducto. Para detectar proteínas involucradas en este efecto del E_2 , comparamos el patrón de proteínas fosforiladas de oviductos de ratas tratadas con E_2 o su vehículo.

Ratas en día 1 de ciclo fueron inyectadas s.c. con 1 µg de E_2 o su vehículo y 6 h después se aisló el tejido muscular del istmo del oviducto, el cual se homogenizó y procesó para electroforesis bidimensional. Se obtuvieron tres geles por cada réplica: 1^{er} gel fue teñido con azul de Comassie, 2^{do} gel fue transferido a una membrana e inmunomarcado con un anticuerpo (Ac) anti-fosfotreonina, 3^{er} gel fue transferido a una membrana e inmunomarcado con un Ac anti-fosfoserina. El complejo Ac-Proteína fue visualizado por una reacción quimioluminiscente. No se detectaron cambios en la cantidad de ninguna proteína. El nivel de fosforilación en residuos de treonina fue similar entre los grupos control y tratado. El nivel de fosforilación en residuos de serina aumentó en un grupo de proteínas con punto isoeléctrico de 4.5-6.0 y peso molecular de 80-30 kDa en el grupo tratado con E_2 .

Estos resultados indican que E₂ estimula fosforilación de proteínas en el músculo liso del istmo a través de la activación de vías de transducción de señales que involucran proteínas quinasas específicas para residuos de serina.

*Becaria PROGRESAR

FONDECYT 8980008, RF 98024 # 98, Cátedra Presidencial H Croxatto y MIFAB

206.- SISTEMA INMUNE Y MECANISMO DE ACCION DEL ESTRADIOL (The immune system and the estradiol action mechanism). Parada-Bustamante A., Orihuela PA. Unidad de Reproducción y Desarrollo, Facultad de Ciencias Biológicas, PUC

Estradiol (E_2) acelera el transporte oviductal de oocitos en la rata por una vía no-genómica, bloqueable por inhibidores de fosforilación de proteínas como H-89.El coito torna esta vía en genómica, cambio que es inducido por la presencia de espermatozoides en el útero.

Aquí reportamos la inespecificidad del estímulo y la participación de una respuesta inmune en la inducción del mecanismo genómico. Se inyectaron ratas en la noche del proestro con BSA o espermatozoides de hámster en el útero (iu) o espermatozoides de rata en el peritoneo (ip)como estímulos inespecíficos. Otras ratas fueron tratadas con el inmunosupresor ciclosporina 24 y 3 horas antes de inseminarlas iu con espermatozoides de rata. A la mañana siguiente fueron inyectadas con 10 μg de E₂(sc) concomitantemente con 15 μg de H-89 por vía intrabursal.Un menor número de huevos presentes en el oviducto 24 horas después indicó aceleración.

En ratas inyectadas con estímulos inespecíficos H-89 no bloqueó la acción aceleradora de E_2 indicando que la aceleración fue por acción genómica. En ratas inseminadas tratadas con ciclosporina, H-89 bloqueó la aceleración inducida por E_2 indicando acción de E_2 por vía genómica. Estos datos sugieren que el mecanismo de acción de E_2 inducido por los espermatozoides requiere una respuesta inmune que no es específica para inmunógenos espermáticos y que puede ser gatillada desde un territorio intra o extra genital.

FONDECYT 8980008, Cátedra Presidencial H Croxatto, RF 98024 # 98 y MIFAB.

207.- INOSITOL TRIFOSFATO (IP3) PARTICIPA EN LA VIA NO GENOMICA POR LA CUAL ESTRADIOL ACELERA EL TRANSPORTE OVULAR EN LA RATA. (Inositol triphophate (IP3) participates in the nongenomic pathway by which estradiol accelerates egg transport in the rat). Orihuela PA, Parada-Bustamante A, Croxatto HB. Uni-

pathway by which estradiol accelerates egg transport in the rat). **Orihuela PA**, Parada-Bustamante A, Croxatto HB. Unidad de Reproducción y Desarrollo, Facultad de Ciencias Biológicas, PUC.

Estradiol (E₂) acelera el transporte de oocitos por el oviducto de la rata por una acción no genómica que requiere las vías del AMPc y la proteína quinasa A (PK-A). En este trabajo exploramos el rol de la cascada del IP3.

Ratas en día 1 del ciclo recibieron 1 µg de E_2 s.c. y 0.5, 3 o 6 h después se midió los niveles de IP3 en el oviducto. Otras ratas fueron inyectadas con 1 µg de E_2 s.c. y concomitantemente con el inhibidor selectivo de fosfolipasa C (ET-18-OCH₃, 40 µg) por vía intrabursal. Tres horas y media y 24 h después se determinó la actividad de PK-A y el número de oocitos en el oviducto, respectivamente. Estradiol aumentó 4-6 veces los niveles de IP₃ a las 0.5 y 6 h después del tratamiento. ET-18-OCH₃ bloqueó el efecto de E_2 sobre el transporte de oocitos pero no el aumento en la actividad de PK-A inducida por E_2 . Estos resultados sugieren que la cascada del IP3 es otra vía, posterior a la de PK-A, que media la acción no genómica de E_2 en el oviducto de la rata.

FONDECYT 8980008, Cátedra Presidencial H Croxatto, RF 98024 # 98 y MIFAB.

208.- EFECTO TEJIDO-ESPECIFICO DE PROGESTERONA Y EGF SOBRE LA EXPRESION DE STAT5A EN CELULAS DE MAMA Y ENDOMETRIO. (The tissue-specific effect of progesterone and EGF on the expression of Stat5A in breast and endometrial cells). Carvajal A. P. Universidad Católica de Chile, Facultad de Ciencias Biológicas, Unidad de Reproducción y Desarrollo.

En la mama, la progesterona juega un rol principalmente proliferativo, mientras que en endometrio, induce diferenciación y no proliferación. Nuestra hipótesis plantea que este efecto paradójico tejido-específico de progesterona resulta en parte por una interacción diferencial con la vía del EGF. Resultados previos del laboratorio muestran que en mama, progesterona y EGF inducen sinérgicamente la transcripción de promotores de genes que controlan el destino celular. Además, la progesterona induce la expresión del ARNm de Stat5A, factor de transcripción de la vía del EGF. Sin embargo, se desconoce qué ocurre en el endometrio. OBJETIVO: Determinar el efecto de progesterona y EGF sobre la expresión de Stat5A en cultivos de células de mama (ZR-75) y endometrio (Ishikawa) mediante Western-blot. RESULTA-DOS: En la mama, solo progesterona indujo la expresión de Stat5A y EGF no tuvo efecto. Por el contrario, en el endometrio progesterona no tuvo efecto, pero en presencia de EGF aumentó la expresión de Stat5A. CONCLUSIONES: La progesterona puede interactuar en forma diferencial con la vía del EGF en la mama y el endometrio, lo que se traduce en una regulación de la expresión de Stat5A. Esta interacción diferencial de las dos vías puede ser parte del efecto paradójico de la progesterona que se observa en ambos tejidos. (FONDECYT 1020715).

209.- REGULACION DIFERENCIAL DE FACTOR TISULAR POR HORMONAS OVARICAS EN MAMA Y ENDOMETRIO. (Differential regulation of tissue factor by ovarian hormone in breast and endometrium). Kato S, Monsó C, Villalón M. Facultad Ciencias Biológicas. Unidad de Reproducción y Desarrollo. P. Universidad Católica de Chile

Estrógeno (E2) y Progesterona (P4) se utilizan como terapia de reemplazo hormonal, y su administración se relaciona con aumento de cáncer de mama, sin producir cambios endometriales. Progesterona tiene una acción diferenciativa en endometrio y proliferativa en mama. Factor tisular (FT) es una glicoproteína transmembrana, responsable de iniciar la cascada de coagulación. FT esta sobreexpresado en cáncer de mama, teniendo un importante rol en metástasis. Nuestro objetivo será determinar si existe regulación de FT por E2 y P4 en mama y endometrio.

Se usó como modelo una línea celular de cáncer de mama (ZR-75) y otra de endometrio (Ishikawa) determinándose los niveles de expresión de FT por Western blot, en respuesta a tratamiento con E2 y P4 a diferentes tiempos.

En Ishikawa., se obtiene una banda de 55 KDa con baja regulación por E2 a las 6 hrs de tratamiento. En ZR-75 se observa una banda de 47 KDa con baja regulación por E2 a las 6 hrs, y una banda inducible por P4 a las 24 hrs de tratamiento, similar a la banda constitutiva de Ishikawa. Estos resultados demuestran que existe una regulación diferencial entre la mama y el endometrio. En futuros estudios determinaremos la naturaleza de esta segunda banda. Se medirá actividad pro-coagulante de TF y su potencial metastásico para definir el rol pato-fisiológico de esta proteína. (Fondecyt 1020715)

210.- EL APAREAMIENTO CAMBIA LOS NIVELES DE ARNM DE GAPDH, Beta- ACTINA, COX-2 Y HSP-70 EN EL OVIDUCTO DEL HAMSTER. (Mating changes mRNA levels of GAPDH, Beta-ACTIN, COX-2 and HSP70 in hamster oviduct). Gutiérrez-Pajares, J.L.*, Croxatto, H.B. Unidad de Reproducción y Desarrollo. Fac. de Ciencias Biológicas. P. U. Católica de Chile.

En mamíferos, el apareamiento aporta señales mecánicas y moleculares a la hembra que inducen respuestas neuroendocrinas necesarias para el éxito reproductivo. El presente trabajo tiene por objetivo determinar si el apareamiento cambia los niveles de ARNm de 3 genes considerados de expresión constitutiva (ciclofilina, GAPDH y beta-actina), y 2 genes de expresión inducible (ciclo-oxigenasa tipo 2, COX-2, y la proteína de choque térmico 70, HSP70) en oviductos de hámster dorado. Las hembras fueron divididas en tres grupos a las 21:00 h del día de proestro: 1) apareadas con macho intacto (Grupo MI), 2) apareadas con macho vasectomizado (Grupo MV), y 3) no apareadas (Grupo NA). Once horas después las hembras fueron sacrificadas. Después de lavar el lumen del oviducto se aisló el ARN total el que se procesó por RT-PCR, usando partidores específicos para cada gen. Los productos amplificados se separaron por PAGE, se detectaron por tinción con nitrato de plata y se analizaron por densitometría siguiendo los criterios sugeridos por Sundfors & Collan (Cell Mol Biol 41:671, 1995). El apareamiento (Grupos MI o MV) disminuyó los niveles de beta-actina y GAPDH, mientras que ciclofilina se mantuvo con niveles similares en las tres condiciones estudiadas. Usando el nivel de ARNm de ciclofilina como constitutivo para los análisis semicuantitativos posteriores, se observó una disminución significativa de los niveles de ARNm de COX-2 y HSP70 en los grupos MI y MV respecto al grupo NA.

Estos resultados sugieren que el apareamiento regula la expresión génica en el oviducto del hámster y que lo hace independientemente de la fecundación.

* Becario PROGRESAR. Financiado por Cátedra Presidencial Dr. H.B. Croxatto, RF 98024#98. MIFAB.

211.- El TNFα AUMENTA LA FRECUENCIA DE BATI-DO CILIAR Y REDUCE LA RESPUESTA A ATP. (TNFα enhances ciliary beat frecuency and down-regulate the response to ATP) Aranda, E.J. y Villalón, M.J. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.

El TNFα es una citoquina proinflamatoria que está presente en el oviducto de mamíferos. En el epitelio bronquial, TNFα aumenta la frecuencia del batido ciliar (FBC) y modula el efecto de señales paracrinas que incrementan la FBC, a través de la vía del óxido nítrico. Sin embargo, se desconoce la participación del TNFa sobre el control de la FBC en el epitelio oviductal. Objetivos: Determinar la participación del TNFa en el control de la FBC en células ciliadas del oviducto. Métodos: Cultivos de epitelio ciliado oviductal de rata fueron tratados con TNFα por 18 horas y se midió la FBC por fotodensitometria. Además se evaluó el efecto de TNFα sobre el aumento de la FBC inducido por ATP. Resultados: El tratamiento con TNFα estimula significativamente la FBC basal y atenúa el aumento de la FBC inducida por ATP (10 μM). Para establecer si el efecto del TNFα involucra la vía del NO, se bloqueó la NOs con 100 μM de L-NAME y se comparó el aumento en la FBC inducido por ATP en presencia o ausencia de TNFα. Observamos que TNFα previene la potenciación producida por L-NAME en la respuesta a ATP sobre la FBC. Conclusiones: TNFα actúa como un modulador de la actividad ciliar oviductal, DIPUC 2756-06

212.- COMPORTAMIENTO ESTROGENICO Y PROGESTERONA-SÍMIL DE TIBOLONA EN MAMA Y ENDOMETRIO. (Estrogenic and progestagenic behaviour of Tibolone in the breast and endometrium). Sadarangani A., Vigil P. Unidad de Reproducción y Desarrollo, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile (trabajo patrocinado por Gynopharm)

La utilización actualmente de Tibolona se debe a la búsqueda de una alternativa a la terapia de reemplazo hormonal (TRH) clásica, de una sustancia que ofreciendo a la mujer posmenopáusica los beneficios de esta terapia no produjese los riesgos y principales efectos colaterales, como cáncer. La Tibolona es un esteroide que presenta características estrogénicas, androgénicas y progestagénicas. Como modelo de estudio, utilizamos líneas celulares de mama (ZR-75) y endometrio (Ishikawa), tratadas con Tibolona para evaluar el efecto en la expresión de proteínas conocidas que son reguladas por las hormonas esteroidales. A su vez realizaremos transfecciones en células HeLa, para entender la actividad de Tibolona en la presencia de receptores esteroidales a nivel transcripcional.

Los resultados indican que Tibolona posee efecto estrogénico al disminuir la expresión de ER y al aumentar la expresión de Bcl-x_L. Paradójicamente, Tibolona tiene efectos símiles a progesterona, aumentando la expresión de Factor Tisular y Stat5a. Los resultados muestran también que dichos efectos son tejido-específicos. Las transfecciones tanto del elemento de respuesta a estrógeno en presencia de ER como del promotor de p21 (inhibidor del ciclo celular) en presencia de PR muestran un comportamiento similar a progesterona.

Un mejor conocimiento de la acción de Tibolona y otros SERM's nos proveerá de información acerca de la efectividad de estas moléculas en el ámbito clínico.

213.- ESTUDIO CUALITATIVO DE FIBRAS ELASTICAS Y COLAGENAS DEL TEJIDO CONJUNTIVO EN PIEL DE PACIENTES PORTADORES DE HERNIA INGUINAL PRIMARIA. UN ESTUDIO DE CASOS Y CONTROLES (Qualitative study of elastic and collagen fibers in skin of patients with primary inguinal hernia. A case control study) Bórquez P., Garrido L., Manterola C., Ulloa H., Peña-Rehbein J.L., Peña P.A. Departamento y Servicio de Cirugía Hospital Regional de Temuco. Unidad de Histología, Departamento de Ciencias Básicas, Universidad de La Frontera de Temuco.

La patología herniaria inguinal es compleja y multifactorial. Hay factores asociados como el mecanismo de compuerta, la angulación de fibras del arco del transverso, aumentos de la presión intraabdominal como en ascitis, prostatismo, constipación y obesidad. Hay enfermedades genéticas del colágeno y fibras elásticas como Ehlers Danlos y Sindrome de Marfan que se asocian a la aparición de hernias inguinales. Hay estudios que demuestran defectos cuantificables en la matriz colágena en piel y fascia transversalis de pacientes con hernia inguinal, pero no hay estudios de alteraciones en las fibras del tejido conjuntivo en pacientes portadores de hernia inguinal. Nuestro objetivo es determinar algunas características del tejido conjuntivo en piel de pacientes con hernia inguinal primaria operados en servicio de cirugía (hospital regional de Temuco) comparados con un grupo control. El diseño es un estudio de casos y controles con tamaño de la muestra estimado en 20 casos y 20 controles.

Reportamos un informe preliminar con 11 casos y 9 controles estudiados con tinción de Van Gieson para fibras colágenas y de Vaigert para fibras elásticas. No hay diferencias en el estudio de fibras elásticas. En el estudio de fibras colágenas se vé en el grupo de controles haces de colágeno compactos y gruesos que se distribuyen homogéneamente hasta la dermis superficial, en el grupo de casos hay zonas de la dermis con haces de colágeno más cortos, delgados y disgregados. Los resultados nos motivan a continuar ésta línea de investigación y en otra etapa efectuar inmunocitoquímica para colágenos tipo I y III.

Financiamiento Proyecto DIUFRO INI N°110204.

Paneles III

TRANSDUCCION DE SEÑALES

214.- AF267B, UN AGONISTA DEL RECEPTOR MUSCARÍNICO M1, PROTEGE A LAS NEURONAS HIPOCAMPALES DE LA NEUROTOXICIDAD PRODUCIDA POR EL PEPTIDO A $\beta_{1.40}$ ACTIVANDO LA VÍA Wnt. (AF267B, an agonist of muscarinic M1 receptor, protects hippocampal neurons from a $\beta_{1.40}$ neurotoxicity through the Wnt pathway). Farías, G.Ch.; Fisher, A.¹; Inestrosa, N.C. Centro de Regulación Celular y Patología, MIFAB, P. Universidad Católica de Chile; ¹Israel Institute for Biological Research, Ness-Ziona, Israel.

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por la formación de placas amiloides y ovillos neurofibrilares, con pérdida de neuronas colinérgicas, siendo el hipocampo una región fuertemente afectada produciéndose la pérdida de memoria y demencia.

El presente estudio se realizó para evaluar el efecto neuroprotector del agonista muscarínico M1 (AF267B) sobre la neurotoxicidad inducida por el péptido $A\beta_{1-40}$ en cultivos primarios de hipocampo de rata, y la relación con la activación de la vía de señalización Wnt.

El efecto neuroprotector de este agonista fue establecido estudiando la viabilidad celular por la reducción de MTT, junto a la morfología de los procesos neuronales evidenciada con un anticuerpo anti-neurofilamento. Para evaluar la participación de la vía Wnt en la neuroprotección se estudió la estabilización de la β -catenina citoplasmática por Western blot e inmunofluorescencia, y la actividad específica de la GSK-3 β , ambas proteínas efectoras de la vía Wnt.

Nuestros resultados muestran que AF267B ejerce un efecto neuroprotector vía receptor muscarínico M1, y sugieren la participación de la vía de señalización Wnt, en estos efectos. Financiado por FONDAP-Biomedicina (Nº 13980001) e Instituto Milenio (MIFAB).

215.-ESTUDIO DE LIGANDOS Wnt EN EL HIPOCAMPO DE RATA. (Study of Wnt ligands in the rat hippocampus). Metcalfe M. J., Fuentealba R., Larrondo* L. F., Avila M., Vicuña R.y Inestrosa N. I. Centro de Regulación Celular y Patología, MIFAB, , P. Universidad Católica de Chile.

La vía Wnt está involucrada en el desarrollo del sistema nervioso y en procesos de proliferación y diferenciación celular. Esta vía es activada por una familia de ligandos Wnt y se ha postulado que una pérdida de función de dicha vía estaría involucrada en la neurotoxicidad del péptido amiloide- β (A β) en la enfermedad de Alzheimer.

En este trabajo se presentan resultados preliminares en relación a la expresión del ligando Wnt-3a en Aspergillus nidulans. Para facilitar la purificación y detección de la proteína se incluyó en las construcciones la secuencia de hemaglutinian (HA). El análisis de transformantes, mostró la presencia del mensajero específico para Wnt-3a y mediante inmunodetección con anticuerpos anti HA se encontró la proteína específica.

Por otro lado, se estableció la presencia de ligandos Wnt en cultivos de neuronas hipocampales, utilizando partidores degenerados y RT-PCR, encontrandose Wnt-7a, Wnt-11 y Wnt-4. El trabajo futuro estará encaminado por una parte, a optimizar las condiciones de cultivo de *Aspergillus* lo que permitira obtener una mayor cantidad de proteína recombinante evaluando su actividad biológica, y por otra analizar cómo afecta a la expresión de los genes Wnt la presencia del péptido A en neuronas hipocampales

FONDAP-Biomedicina (Nº 13980001) e Instituto Milenio (MIFAB).

216.- SEÑALES DE TRANSDUCCION GATILLADAS POR ACTIVACION DE RECEPTORES B₂ DE CININAS EN QUERATINOCITOS HUMANOS EN CULTIVO (Signal transduction pathways triggered by activation of kinin

(Signal transduction pathways triggered by activation of kinin B2 receptors in cultured human keratinocytes) Astroza, A., Concha, M., Vidal, A., Figueroa, C.D. Instituto de Histología y Patología, Universidad Austral de Chile, Valdivia. aastroza@uach.cl

En la renovación de la epidermis juegan un papel importante los procesos de proliferación y diferenciación celular. Sin embargo, las señales intracelulares que los regulan son poco conocidas. La existencia de un sistema calicreina-cinina en la piel, sugiere que las cininas podrían participar en dichos procesos, pero su contribución aún no se ha esclarecido.

La estimulación de células epidérmicas en cultivo con Lisbradicinina (LBK) 10 nM, por diferentes tiempos, resultó en la fosforilación, en tirosinas, de un grupo de proteínas entre 175 a 40 kDa. La estimulación con LBK también provocó la fosforilación de MAPK 42/44 por más de 120 min. Inmunofluorescencia mostró translocación nuclear de MAPK fosforiladas ya a los 5 min de activación con LBK.

La fosforilación de MAPK disminuyó significativamente con inhibidores de PKC (GF109203X), MEK (PD98059) y PI3K (wortmanina)o cuando se pretrató las células con PMA por 24 h. En cambio, 1-butanol y brefeldina A no causaron inhibición. Cuando se usó el inhibidor AG1478 se observó una disminución en la fosforilación de MAPK sugiriendo que parte de la fosforilación de estas proteínas se debe a transactivación del receptor de EGF.

Nuestros resultados indican que agonistas B₂ de cininas inducen la fosforilación de varias proteínas, incluidas MAPK en donde participarían proteínas citoplasmáticas como PI3K e isoformas de PKC que finalmente activaría la vía MEK/MAPK.

Financiado por Fondecyt 8980002

217.- VIAS TRANSDUCCIONALES DEPENDIENTES DE CALCIO-CALMODULINA NO MEDIAN LA APOPTOSIS DEL CARDIOMIOCITO INDUCIDA POR ESTRES OSMOTICO. (Ca²+-calmodulin- dependent signaling pathways do not mediate cardiomyocyte apoptosis induced by osmotic stress). Maldonado C, Cea P, Collao A, Chiong M, Sapag-Hagar M, Lavandero S. Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

El estrés hiperosmótico (EH) induce una potente y rápida apoptosis del cardiomiocito, desconociéndose la participación de las vías transduccionales dependientes de Ca²+ y calmodulina (CaM). En este trabajo se evaluó el papel de proteínas transduccionales dependientes de Ca²+ y CaM, calmodulina kinasa (CaMK) y calcineurina y del factor transcripcional CREB en la apoptosis inducida por EH.

Los resultados mostraron que el EH aumentó transitoriamente el Ca²⁺ intracelular con activación de CREB, determinada por fosforilación (a los 10 min) y geles de retardo (a los 30-60 min y 24 h). KN62 (inhibidor de CaMK), pero no ciclosporina (CsA, inhibidor de calcineurina, previno la fosforilación de CREB, sugiriendo la participación de CaMK y no de la fosfatasa calcineurina en esta activación. Sin embargo, la actividad de CaMK II, evaluada por fosforilación del péptido sintético autocamptide-2 con $[\hat{\gamma}^{32}P]$ -ATP, no cambió significativamente por acción del EH. Usando ensayos de viabilidad celular y fragmentación del DNA ("laddering en geles de agarosa") como marcadores de apoptosis, se estableció que tanto KN62 como CsA no atenuaron la muerte celular dependiente de EH. Se concluye que la vía transduccional Ca2+-CaM/CaMK/ calcineurina no participaría en la inducción de apoptosis por EH en el cardiomiocito.

Proyectos Fondecyt 1010246, PG78 UCH. CM es becaria de CONICYT.

218.- CAMBIOS EN LA DISTRIBUCION SUBCELULAR
DE LAS ISOFORMAS DE NFκB EN EL
CARDIOMIOCITO POR ESTRES OSMÓTICO. (Osmotic
stress changes NFκB isoform subcellular distribution in cardiac
myocytes). Eisner V, Quiroga C, Lavandero S. Facultad
Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Se desconoce la participación del factor transcripcional NFκB en la apoptosis del cardiomiocito inducida por estrés hiperosmótico. En este trabajo se investigaron las isoformas de la familia NFκB (p65, p50, p52, RelB y cRel) presentes en cultivos primarios de cardiomiocitos de rata y su regulación por el estrés hiperosmótico por sorbitol (600 mOsm). Los cambios en la distribución subcelular de las isoformas de NFκB se determinaron mediante immunocitoquímica y Western blot en fracciones citosólicas y nucleares.

Las isoformas que presentaron mayores cambios fueron p65, cRel y RelB. Los niveles de p65 disminuyeron en la fracción citósólica entre 0 y 6 h, aumentando en la fracción nuclear post-estímulo, acumulándose en la zona perinuclear. cRel se encuentra basalmente en el núcleo, aumentando sus niveles en este compartimento por sorbitol. RelB se detectó en el núcleo a las 6 h de estimulación. Ensayos en geles de retardo para NFkB, mostraron que este factor se unió al oligonucleótido desde los 30 min, modificándose este patrón a las 20 h de estímulo. Experimentos de supershift indicaron que la isoforma predominante de esta unión fue p65. Se concluye que el estrés hiperosmótico moifica diferencialmente la distribución de las isoformas de NFkB en el cardiomiocito.

FONDECYT 1010246. PG76 UCH. VE es becaria CONICYT.

219.- ESTRES OSMOTICO POR SORBITOL, Y NO POR MANITOL, INDUCE APOPTOSIS DEL CARDIOMIOCITO: ¿DEPENDE DEL ESTRES OXIDATIVO? (Osmotic stress by sorbitol but not by mannitol induces cardiomyocyte apoptosis: ¿oxidative stress dependence?). Criollo A, Gálvez A, Ulloa A, Barros F, Foncea R, Lavandero S. Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, P Universidad Católica de Chile y CECS.

Hemos demostrado que el estrés hiperosmótico por sorbitol induce apoptosis del cardiomiocito. En este estudio se evaluó si dos diferentes osmolitos [sorbitol (Sor) y manitol (Man)], usados a concentraciones hiperosmolares, inducen una respuesta apoptótica diferencial, dependiente de estrés oxidativo. Los resultados mostraron que Sor o Man (600 mOsm) redujeron el volumen del cardiomiocito en forma similar (37%), cuantificada por la fluorescencia de calceína-AM en microscopía confocal. Sin embargo, sólo el estrés hiperosmótico inducido por Sor, pero no por Man, aumentó significativamente la fragmentación del DNA, evaluada en geles de agarosa, tras 24 h de estímulo. Los niveles de la antiapoptótica $Bcl-X_L$ disminuyeron significativamente con Sor, pero no con Man. Los niveles totales de glutatión (GSH), determinados enzimáticamente en las primeras 6 h, disminuyeron progresivamente en los cultivos expuestos a Sor mas no a Man. La preincubación de los cardiomiocitos con antioxidantes exógenos como Nacetilcisteína (NAC) redujo la muerte celular inducida por Sor. Sin embargo, la generación de radicales libres por SOR evaluada por diclorofluoresceina mostró resultados contrapuestos. Se concluye que sólo el estrés hiperosmótico por Sor y no por Man estimuló la apoptosis del cardiomiocito, probablemente mediada por estrés oxidativo.

Fondecyt 1010246. PG76 UCH. PG 582000

220.- EFECTO DE Gαq EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO TEMPRANO DE Xenopus laevis. (Effect of Gαq on Xenopus laevis early embryonic development). Soto, X., Hinrichs, M.V. y Olate, J. Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción.

La vía de transducción de señales Wnt-Frizzled (W-F) modula diferentes procesos en el desarrollo de embriones en diferentes especies. En Xenopus la evis la vía W-F determina el eje dorso-ventral, regulando la generación de gradientes de factores que definen la región dorsal. Debido a que los receptores Frizzled pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteínas G y a que la activación de la vía del fosfatidilinositol (IP3-Ca²⁺) regula la expresión de genes específicos que determinan el mesodermo dorsal, creemos interesante explorar la participación de proteínas G en estos procesos. Basado en lo anterior estudiamos el efecto de la expresión de Gaq en el desarrollo embrionario temprano de Xenopus laevis. Nuestros resultados muestran que la sobreexpresión de G α q silvestre causa un fenotipo similar al descrito para el receptor frizzled 7. afectando notoriamente el desarrollo del mesodermo dorsal y en consecuencia produciendo un acortamiento del eje anteroposterior. Además la sobreexpresión de Gαq inhibió la expresión del gen marcador de mesodermo dorsal "Goosecoide", indicando que Gαq estaría involucrado en la señalización W-F/Ca2+.

Financiado por Proyecto HUMAN FRONTIER Nº RG0112/ 2000-M.

221.- PARTICIPACION DE GαS Y Gβγ EN EL PROCE-SO DE MADURACION INDUCIDA POR PROGESTERONA EN EL OVOCITO DE Xenopus Laevis. (Gαs and Gβγ participation in Xenopus laevis oocyte maturation induced by progesterone). Romo, X., Moreno, J., Hinrichs, M.V. y Olate, J. Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción.

Los ovocitos de *Xenopus laevis* en estado VI se encuentran detenidos en la fase G2/M de la primera división meiótica y son inducidos a reanudar la meiosis por acción de la hormona progesterona, la cual produce una disminución en los niveles intracelulares de AMPc, por inhibición de la actividad de la adenililciclasa, proceso que es dependiente de GTP. Aunque la participación de $G\alpha$ i ha sido descartada, es altamente probable que otras proteínas G jueguen un papel importante en este proceso. Al respecto nuestro grupo ha demostrado recientemente que los niveles de $G\alpha$ s son importantes en la regulación de la maduración del ovocito (1).

En este trabajo se analizó, mediante microinyección de mRNAs en oocitos de *Xenopus laevis*, el efecto de una mutante dominante negativa de $G\alpha s$ y el efecto de diferentes subnidades $G\alpha$ en la maduración inducida por progesterona.

Se observó que la sobreexpresión de la mutante dominante negativa de G α s potencia la acción de progesterona, acelerando el proceso de maduración, lo que estaría indicando la directa participación de G α s en este proceso. Además, la sobreexpresión de distintas subunidades G α silvestres causaron distintos grados de maduración, resultando ser G α o la proteína más potente en este aspecto, indicando la participación de G $\beta\gamma$. Muy interesante resultó el hecho que la sobreexpresión de G α o silvestre causa maduración, pero no la mutante G α o(QL), lo que confirma la participación de G $\beta\gamma$ en este proceso.

(1) Romo, X. y col. (2002). Mol. Rep. and Dev. 63,104-109. Financiado por Proyecto HUMAN FRONTIER Nº RG0112/2000-M 103.

222.- CARACTERIZACION MOLECULAR Y FUNCIO-NAL DE ISOFORMAS DE ADENILIL CICLASA EN OVOCITOS DE Xenopus laevis (Molecular and functional characterization of adenylyl cyclase isoforms in Xenopus laevis oocytes). Guzmán, L., Hinrichs, M.V. y Olate, J. Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción.

En el oocito de Xenopus laevis, los niveles de cAMP son muy importantes para mantener esta célula germinal detenida en la profase de la meiosis I. Progesterona, a través de un mecanismo aún desconocido, inhibe la actividad de la adenilil ciclasa (AC), disminuyendo los niveles de cAMP y en consecuencia gatillando el proceso de maduración. Nuestro grupo y otros han demostrado que Gαs y Gβγ juegan un rol importante en este proceso, activando la AC y por ende manteniendo el ovocito en un estado inmaduro. Por este motivo es importante identificar la naturaleza de la(s) adenilil ciclasa(s) presentes en el ovocito, para entender mejor la regulación por Gαs y GBy, Utilizando la técnica de RT-PCR hemos detectado la presencia de las isoformas 1, 2, 5, 6 y 9 y mediante estudios bioquímicos hemos encontrado que: a) forskolina activó muy pobremente la AC de oocitos (4 veces sobre el basal), comparado con la actividad presente en membranas de células \$49 cyc (18 veces sobre el basal), confirmando la presencia y predominancia de la isoforma 9; b) AlF₄ estimuló la AC de ovocitos 3 a 4 veces más que GTPγS, indicando un intercambio basal GDP/GTP muy bajo en la proteína Gas; c) la adición de Gβγ exógena fué capaz de estimular la AC de ovocitos sólo en presencia de Gas activado. Este último hallazgo es importante, pues en mamíferos se ha demostrado que las isoformas 2 y 4 son reguladas positivamente por Gαs y Gβγ, lo cual permite postular la existencia de estas isoformas en el ovocito. Financiado por Proyecto FONDECYT Nº 1000359.

223.- LA FORMACION DE ADHESIONES FOCALES Y FIBRAS DE ESTRÉS INDUCIDA POR THY-1 EN ASTROCITOS DEPENDE DE LA ACTIVACION DE RhoA (Focal adhesion and stress fiber formation induced by Thy-1 in astrocytes depends on RhoA activation) Avalos AM, Quest AFG, Leyton L. ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. e-mail: lleyton@machi.med.uchile.cl

Thy-1, one of the most prominent glycoproteins expressed in mammalian neurons, belongs to the immunoglobulin superfamily of cell adhesion proteins. Defining the role of Thy-1 has been difficult because a binding partner had not been clearly defined. Therefore, our discovery that Thy-1 binds to B, integrin in astrocytes was important in order to start unraveling Thy-1 function in the nervous system. This interaction triggers the formation of focal adhesions and stress fibers in astrocytes, an event that has been shown in fibroblasts to be dependent on the activation of the small GTPase RhoA. Thus, the possibility that Thy-1-mediated activation of astrocytes also depends on RhoA was tested. Prior to stimulation with Thy-1, DITNC₁ astrocytes were treated with C3 transferase or Y-27632, inhibitors of Rho and Rock kinase (ROCK) a downstream effector of RhoA, respectively. Astrocytes were also transfected with a GFP fusion protein that contains the Rho-binding domain of Rhotekin (RBD) and blocks RhoA function. All treatments reduced focal adhesion and stress fiber formation induced by Thy-1, suggesting that both of these downstream events are RhoA-dependent processes.

Acknowledgements: Conicyt (to AMA), Fondecyt 1028505, Fondap 15010006 and ICGEB# CRP/CH100-05(c) (to AFGQ), FIRCA grant #RO3TWOO6024-01 and Fundación Andes (to LL).

224.- LA INICIACION DE NECROSIS RIO ABAJO DEL RECEPTOR FAS SE ASOCIA CON LA DIFUSION TRANSVERSAL DE LIPIDOS Y AL INCREMENTO TARDIO DE CERAMIDAS EN CELULAS LINFOIDES.

(Onset of Necrosis Downstream of the Fas Receptor is Associated with Lipid Scrambling and Delayed Ceramide Increase in Lymphoid Cells). Hetz, C.¹, **Torres, V.**¹, Leyton, L.¹ & Quest, A. F. G.¹ Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Independencia 1027, Santiago, Chile. Phone/Fax: 56-2-7382015; E-mail: aquest@machi.med.uchile.cl

The events associated with Fas receptor ligation were investigated in lymphoid cells. Incubation of A20 B-lymphoma cells with FasL (100 ng/ml) reduced viability by about 90%. Cell death was associated with caspase -3 and -8 activation as well as phosphatidylserine externalization. By morphological criteria and flow cytometry, two cell populations were identified: one that died by apoptosis (60%) and another (30%) that died in a manner independent of caspase-3 activation but with characteristics of necrosis. This latter form of cell death was also observed in Jurkat T-cells, but not in Raji Bcells, which lack lipid scrambling and delayed ceramide increases. Treatment of these lymphoid cell lines with short chain, cell-permeable, C2- and C6-ceramides, but not their inactive dihydro-derivatives, induced cell death predominantly with morphological and biochemical characteristics of necrosis. Also, incubation with bacterial sphingomyelinase, which increased endogenous ceramide levels, had similar effects. Thus, a model is proposed in which delayed elevation of endogenous ceramides downstream of Fas and caspase-8 may promote necrosis rather than apoptosis in lymphoid cells. Supported by FONDECYT grants 1990893, 1020585 and FONDAP 15010006.

225.- ESTUDIO DE LA REGULACION HACIA ABAJO DE CAVEOLINA-1 EN CELULAS TRANSFECTADAS CON HARAS(G¹²V)INDUCIBLE. (Down-regulation of caveolin-1 in cells transfected with inducible HaRas (G¹²V)), Neira, M., Leyton, L. and Quest, A.F.G., ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Independencia 1027, Santiago, Chile email: aquest@machi.med.uchile.cl.

Caveolin-1, the principal protein constituent of caveola, has been implicated as a functional tumor supressor. In NIH3T3 cells down-regulation of caveolin-1 both at the mRNA and protein level was observed, after the over-expression of several oncogenes, including Ras. Also, decreased levels of protein caveolin-1 are detected in breast, lung, ovarian and colon carcinomas. On the other hand, phosphorylation of caveolin-1 on tyrosine 14 has been associated with increased anchorageindependent growth, and in some cases, such as prostate cancer, presence of caveolin-1 is associated with enhanced metastatic potencial. To gain further insight to the role of caveolin-1 and mechanisms that control its expression, NIH3T3 cells were stably transfected with oncogenic HaRas(G¹²V) under the control of an inducible promotor. Upon induction of HaRas(G¹²V), cells acquired a transformed phenotype and caveolin-1 protein levels decreased (>80%). Interestingly, however, expression of caveolin-1 was consistently maintained at specific subcellular locations, such as the cleavage-furrow during cytokinesis, cell attachment sites and the perinuclear region. Maintenance of caveolin-1 at these locations did not coincide with enhanced phosphorylation on tyrosine-14. Thus, caveolin-1 expression is partially maintained in transformed cells where it functions independent of phosphorylation on tyrosine 14.

Financiado por Proyecto Fondecyt 1990893, 1020585 y Fondap 15010006

FARMACOLOGIA - TOXICOLOGIA **METABOLISMO**

226.- ETANOL INDUCE EL RECEPTOR DE MUERTE TNF-R1: INHIBICION POR OLIGONUCLEOTIDOS DE ANTISENTIDO (TNF-R1 levels and antisense following ethanol). Rodríguez D, Bravo D, Moncada C, Núñez MT, Israel Y. Lab. Farmacoterapia Génica. Depto. Química Farmacológica y Toxicológica, Depto. Bioquímica y Biología Molecular, Fac. de Ciencias Químicas y Farmacéuticas y Lab. Membranas, Fac. de Ciencias e Instituto Milenio CBB, Universidad de Chile.

El etanol induce apoptosis y/o necrosis en diversos órganos. La apoptosis se inicia por la unión de TNF-α al receptor TNF-R1, finalizando en la activación de caspasas y fragmentación del DNA. La infiltración de neutrófilos y linfocitos en el proceso inflamación-necrosis es también mediado por TNFα/TNF-R1. Hemos incubado células de hepatoma humano (HepG2), de rata (H4-II-E-C3), cardiomiocitos (CM) de ratas neonatas y células de intestino humano (Caco-2) durante 48 horas en presencia de etanol (0, 50, 100 y 200 mM). Se determinó TNF-R1 con un anticuerpo que reconoce el dominio extracelular del receptor. En HepG2 TNF-R1 aumentó un 160% a 50 mM (p< 0,0001) y un 240% a 100 mM de etanol (p<0,004). En H4-II-E-C3 el TNF-R1 aumentó un 90% a 50 mM (p<0,001) y 230% a 100 mM de etanol (p<0,001). En CM TNF-R1 aumentó un 40% a 50 mM (p<0,05) y en células Caco-2 un 80% a 200 mM (p<0,01). El precusor de glutatión, N-acetilcisteína no disminuyó los efectos del etanol sobre los niveles de TNF-R1. Un oligonucleótido de antisentido redujo en 60% los niveles del mRNA de TNF-R1 (p<0,01), sugiriendo una posible aplicación terapéutica. (ICM-P99-031)

227.- POLIMORFISMO GENETICO DEL CITOCROMO P4502E1 EN PACIENTES OBESOS CON HIGADO GRA-SO NO-ALCOHOLICO (HGNA). (Genetic polymorphism of cytochrome P4502E1 in obesity patients with non-alcoholic fatty liver). Varela, N., Orellana, M., Quiñones, L., Escala, M., Poniachik, J., Rodrigo, R., Cancino, I., Contreras, J., y Lazarte, R. ICBM, Farmacología Fac. de Medicina y Hospital Clínico, U de Chile Patrocinio: Myriam Orellana.

El HGNA está asociado frecuentemente a la obesidad y es una patología muy semejante a la enfermedad hepática alcohólica. Se ha postulado que la inducción de la enzima citocromo P4502E1 (CYP2E1) podría tener un papel importante en la patogenia de esta entidad, debido a que su actividad genera especies reactivas de oxigeno (EROS), favoreciendo el estrés oxidativo. A su vez, la obesidad, diabetes o dietas grasas inducen al CYP2E1. Esta enzima presenta variantes alélicas asociadas con aumento en la actividad transcripcional lo que potenciaría su actividad.

En este trabajo se estudiaron 50 pacientes obesos (IMC>25) que fueron sometidos a biopsia hepática de la cual se obtuvieron los microsomas para la determinación de la actividad pnitrofenol hidroxilasa catalizada por el CYP2E1. De muestras sanguíneas se obtuvo el DNA genómico y se determinó por PCR-RLFP la presencia de los polimorfismos Dra1 y Rsa1 (alelo c1, normal; c2, mutado) en el gen CYP2E1.

En los microsomas de pacientes obesos se observo una actividad p-nitrofenol hidroxilasa significativamente mayor a los controles. Los obesos que presentaban los genotipos c2c2 y c1c2 mostraron una menor actividad p-nitrofenol, en comparación a los microsomas de pacientes c1c1.

Financiamiento: Proyecto Fondecyt 1011057

228.- EFECTO DEL CONSUMO DE DIETAS ELABO-RADAS CON ACEITES MARINOS SOBRE LA EXPRE-SION DE GENES RELACIONADOS CON EL TRANS-PORTE REVERSO DE COLESTEROL EN LA RATA. (Effect of fish oil-containing diets on the expression of genes related to reverse cholesterol transport in the rat). Morgado, N*., Valenzuela, A**., y Rigotti, A*.* Departamento de Gastroenterología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica. ** Laboratorio de Lípidos y Antioxidantes, INTA, Universidad de Chile.

Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPICL) omega-3 previenen el desarrollo de diversas patologías al modificar la composición lipídica y/o la expresión génica en diferentes tejidos. Previamente, hemos demostrado en ratas alimentadas con dietas que difieren en el tipo de ácidos grasos (omega-9, omega-6, omega-3 y saturados) que los AGPICL omega-3 producen una disminución en el contenido de colesterol plasmático total y de colesterol-HDL, y un aumento en la secreción de colesterol biliar, lo que sugiere una estimulación del transporte reverso de colesterol. Con el objeto de identificar los mecanismos moleculares involucrados en esta respuesta se estudió la expresión hepática del receptor de HDL SRBI mediante Western-blot y de apoAI, apoE y lipasa hepática mediante Northern-blot. Los resultados no muestran diferencias significativas en el contenido de SRBI ni en el contenido de los ARNm analizados, en respuesta a las diferentes dietas. Estos resultados sugieren la participación de otras moléculas u otros mecanismos que explicarían los cambios observados en el colesterol plasmático y biliar secundarios al uso de AGPILC omega-3.

Financiado por FONDECYT 3000030 (N.M) y FONDECYT 8990006(A.R).

229.- ACIDO ALFA LINOLENICO (LNA) O ACIDO DOCOSAHEXAENOICO (DHA) APORTADOS ANTES DURANTE EL PERIODO GESTACIONAL PRODUCEN ACUMULACION SIMILAR DE DHA EN EL CEREBRO FETAL Y DEL RECIEN NACIDO.(LNA or DHA supplied before and during gestation produce similar accretion of DHA in the fetal and newborn brain). Sanhueza, J¹; Von Benhardi, R²; Valenzuela, V²; Nieto, S¹; Valenzuela. A^{1,2} 1 INTA, Universidad de Chile. 2 Fac. Medicina, Universidad de los Andes. Patrocinio: Valenzuela, A.

El DHA del sistema nervioso de mamíferos aumenta durante la gestación. La conversión fetal de LNA a DHA es poco eficiente siendo aportado por la madre. Esta debería recibir suplementación de omega-3. No está claro si requiere DHA o LNA. Ratas Wistar, se suplementaron durante el apareamiento y gestación con LNA (60mg/kg) o DHA (6mg/kg). Antes del apareamiento se determinó DHA y ácido araquidónico (AA) plasmático, eritrocitario, hepático, y de tejido adiposo. corteza, cerebelo e hipocampo, donde LNA produce similares niveles de DHA que al suplementar con DHA, a excepción del tejido adiposo. Desde fetos de 16 y 19 días y crías de 2 y 21 días se analizó el DHA y AA de corteza, cerebelo e hipocampo. Todas las fracciones mostraron mayor contenido de DHA, sin afectar AA. La incorporación de DHA en cerebelo fue mas rápida que en corteza e hipocampo. La suplementación con LNA o DHA produce similar incorporación de DHA en el cerebro. La suplementación de la madre con LNA antes y durante la gestación aportaría el DHA requerido durante el desarrollo del cerebro fetal.

Financiamiento: FAI, U de los Andes (MED 001-01), Ordesa

SA, y FONDECYT 1020720.

230.- ACTIVACION DE NF- κB INDUCIDA POR LINDANO: EFECTO DEL PRETRATAMIENTO CON α -TOCOFEROL (NF- κB activation induced by lindane: effect of α -tocoferol pre-treatment). Tapia G, Guerrero J, Cornejo P, Fernández V. y Videla L.A. Programa de Farmacología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La administración de lindano induce estrés oxidativo hepático y aumenta los niveles séricos del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), cuya expresión es regulada por NF- κ B, factor de transcripción sensible al estado redox celular.

Debido a que ambos efectos del lindano son revertidos por el pretratamiento con el antioxidante α-tocoferol, la activación del NF-κB en el estrés oxidativo hepático inducido por lindano, como también en el pretratamiento con α-tocoferol, fue evaluada (EMSA) en extractos nucleares de hígado de ratas Sprague-Dawley tratadas con (a)dosis única de lindano (50 mg/kg i.p.) o (b) α-tocoferol (100 mg/kg i.p.) 17 horas previo a la administración de lindano. Los extractos, obtenidos entre 6 y 22 post-lindano, fueron incubados con DNA de consenso para NF-κB (α- 32 P-dCTP), corridos en geles de poliacrilamida, revelados y analizados densitométricamente (Scion Imagen). Concordante con la cinética del TNF-α sérico, lindano activa a NF-κB, señalando que el incremento del TNF-α es regulado por NF-κB, cuya composición heterodimérica (p50 y p65) fue evidenciada por ensayos con anticuerpos específicos.

La reducción a valores control del incremento del TNF-α sérico y de la activación del NF-αB por α-tocoferol, señalan la participación del estrés oxidativo, inducido por lindano, en la regulacion del factor de transcripción.

FONDECYT 1000887.

231.- EFECTO DEL TRATAMIENTO CON L-3,3,5-TRIIODOTIRONINA (T₃) SOBRE LA EXPRESION DE CITOQUINAS HEPATICAS REGULADAS POR NF-κB (Effect of T₃ treatment on the expression of liver cytokines regulated by NF-κB). Varela P.,* Tapia G., Cornejo P., Videla L.A. Programas de Farmacología y Biología*, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El hipertirodismo experimental en ratas desencadena estrés oxidativo hepático con activación de las células de Kupffer (CK) y del factor de transcripción NF- κ B, aumentando así los niveles séricos de TNF- α , efectos que son disminuídos por antioxidantes e inactivadores de las CK. Las CK generan citoquinas como el TNF- α e interleuquina 10 (IL-10) que están reguladas por NF- κ B a nivel transcripcional, mientras que la expresión de la IL-1 α está controlada por TNF- α .

que la expresion de la IL-10 esta controlada por TNF-0. Para determinar si la activación de NF- κ B incrementa la transcripción de estas citoquinas se cuantificó los niveles séricos de éstas (ELISA) y sus mRNA (RT-PCR) en muestras de higado de ratas Sprague-Dawley, entre 6 y 22 hrs post-tratamiento con T₃ (0,1 mg/kg).

Consistente con la activación de NF- κ B, los mRNA para TNF- α incrementaron significativamente a las 12 y 18 horas post-tratamiento, y los de IL-10 a las 18 horas, con niveles séricos máximos a las 22 y 20 horas respectivamente, señalando que la activación del NF- κ B, gatillada por el estrés oxidativo hepático inducido por T_3 , incrementa la transcripción de genes blanco de este factor. Paralelamente, la mayor expresión de TNF- α se asocia a aumentos en los niveles séricos y de mRNA de IL-1 α , 22 y 18 horas post-tratamiento, respectivamente. (FONDECYT 1000887).

232.- TNF-α SERICO Y ESTRES OXIDATIVO HEPATI-CO EN EL TRATAMIENTO CONJUNTO DE T₃ Y LINDANO (Serum TNF-α and liver oxidative stress after T₃ and lindane simultaneous administration) Valencia C, Videla L.A., Bosco C.,* Tapia G., Fernández V. Programas de Farmacología y Morfología*, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile (Patrocinio V. Fernández)

La administración de una dosis única de L-3,3·,5-triiodotironina (T_3 , 0,1 mg/kg) o de lindano (50 mg/kg) aumenta 80 y 45 veces, respectivamente, los niveles séricos del factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α), efecto que es gatillado en ambas condiciones por el estrés oxidativo inducido en el hígado, vía activación del factor de transcripción NF- κ B a nivel de las células de Kupffer (CK).

Para determinar si la concurrencia de estos procesos potenciaría la respuesta obtenida por los tratamientos individuales, se administró conjuntamente T_3 y lindano ip a ratas Sprague-Dawley y se evaluó (a) la temperatura rectal (termocupla) y los niveles séricos de TNF- α (ELISA), (b) el estrés oxidativo hepático (equivalentes totales de glutatión reducido, proteínas oxidadas y eflujo biliar de glutatión oxidado) y (c) la histología hepática (microscopía óptica).

El tratamiento conjunto aumentó el TNF- α sérico 6 veces, concomitantemente con la temperatura rectal, con un efecto menor sobre el estrés oxidativo hepático, en relación a los tratamientos individuales. El análisis histológico mostró hepatocitos lisados e infiltración de macrófagos, CK y linfocitos en el espacio porta (formación de granulomas), sugiriendo que la interacción de lindano y T_3 disminuiría la función de las CK, con una menor liberación de TNF- α y respuesta pro-oxidativa hepática.

FONDECYT 1000887

ENZIMOLOGIA - ESTRUCTURA DE PROTEINAS -BIOINFORMATICA

233.- EFECTO DE LA MODIFICACION QUIMICA DE LA CISTEINA 295 DE FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE ESCHERICHIA COLI EN LA UNION DE SUSTRATOS Y EFECTOR ALOSTERICO. (Effects of the chemical modification of cysteine 295 of Escherichia coli phosphofructokinase-2 on the binding of substrates and allosteric effector). Baez, M., Babul, J. y Guixé V. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La unión de MgATP al homodímero de Pfk-2 inhibe su actividad y provoca su transformación a tetrámero. La modificación simultánea de las cisteínas 238 y 295 con pireno maleimida (PM), produce la inactivación de la enzima y su disociación a monómeros, los que no forman tetrámeros en presencia de MgATP. Debido a que la reactividad de ambas cisteínas frente a PM es similar, la marcación diferencial de la cisteína 295 se logró con eosina maleimida (EM). La inactivación completa de la enzima se obtiene con la incorporación de un mol de EM por mol de subunidad. Experimentos de filtración molecular muestran que la enzima modificada es un dímero que no forma tetrámeros en presencia del efector alostérico, aún cuando es capaz de unir este ligando. La enzima modificada une fructosa-6-P con una constante de afinidad aproximadamente 10 veces menor que la enzima nativa, lo que demuestra que la ausencia de actividad enzimática no se debe a un impedimento en la unión de este sustrato. Los resultados sugieren un rol catalítico para la Cys 295 de Pfk-2.

(Fondecyt 1010645)

234.- CARACTERIZACION PRELIMINAR DE XILOSA DESHIDROGENASA EN LA ARQUEA SULFOLOBUS ACIDOCALDARIUS. (Preliminary characterization of xylose dehydrogenase from Sulfolobus acidocaldarius). Somoza, R., Preller, A., y Ureta, T. Fac. de Ciencias, Universidad de Chile.

Sulfolobus acidocaldarius es un extremófilo que crece a 75° y a pH 2,5. La mayoría de las arqueas transforma glucosa en piruvato por una glicólisis modificada o por la vía de Entner-Doudoroff. En un intento por entender la evolución de las enzimas que degradan glucosa, se pesquisó la presencia de glucosa deshidrogenasa, primera enzima de la vía de Entner-Doudoroff. Si bien dicha actividad se encontró en Sulfolobus, estudios de especificidad de sustrato mostraron que la enzima es xilosa deshidrogenasa, actividad que hemos caracterizado en un extracto parcialmente purificado. La actividad de xilosa deshidrogenasa es máxima a pH 7,0 y a 70° . Además de Dxilosa, la enzima oxida D-glucosa y L-arabinosa, con una eficiencia de 64 y 45 %, respectivamente. Los valores de K_m app fueron 0,3 mM para xilosa y 1,0 mM para glucosa. Como criterio de especificidad se usó el cuociente V_{max} / K_{m app}, que resultó ser 117 para xilosa y 27 para glucosa. A diferencia de otras deshidrogenasas de arqueas que prácticamente no utilizan NAD+ como aceptor de electrones, la enzima de Sulfolobus usa tanto NAD+ como NADP+. Sin embargo, la K_{m app} para NADP es 3 veces menor. Se concluye que Sulfolobus es capaz de degradar xilosa, si bien los genes necesarios no aparecen en los genomas de arqueas.

Financiado por Fondecyt, Proyecto 1000804.

235.- CARACTERIZACION DE UN FRAGMENTO PROTEOLITICO DE FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE E. COLI QUE CARECE DE LA REGION CARBOXILO TERMINAL. (Characterization of a proteolytic fragment of E. coli phosphofructokinase-2 that lacks the carboxy terminal region). Alfaro, J., Cabrera, R., Guixé, V. y Babul, J., Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

MgATP, inhibidor alostérico de Pfk-2, provoca el cambio del estado de agregación de dímero a tetrámero y protege completamente a la enzima de la inactivación y ruptura proteolítica con subtilisina. Digestión en presencia de fructosa-6-P resulta en una protección parcial de la enzima y en la generación mayoritaria de un fragmento de 28 kDa, que carece de actividad enzimática y del fragmento de 7 kDa de la región carboxilo terminal.

Experimentos de filtración molecular indican que la proteína digerida eluye como un dímero y que, a diferencia de la enzima nativa, MgATP no modifica su estado de agregación. Estudios de unión de ligandos, a través de fluorescencia intrínseca, demuestran que el fragmento es capaz de unir de manera hiperbólica el sustrato fructosa-6-P ($K_{\rm d}$ 3 μM) y el efector alostérico MgATP ($K_{\rm d}$ 20 μM). Los resultados demuestran cambios conformacionales importantes en Pfk-2 debido a la unión de MgATP y la presencia del sitio activo y alostérico en el fragmento de 28 kDa. A su vez, destacan la importancia de la región C-terminal para la actividad catalítica y la oligomerización inducida por ligando. (Fondecyt 1010645).

236.- EXPRESION Y LOCALIZACION SUBCELULAR DE ALDOLASA A EN DISTINTOS TEJIDOS DE RATA. (Expression and subcellular localization of aldolase A in rat tissue). Spichiger, C., Ludwig, H., Yañez, A.J., Núñez, M.A., Bertinat, R., Gatica, R., Brito, M., Concha I.I. y Slebe, J.C. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

La fructosa-1,6-bisfosfato aldolasa (aldolasa) cataliza la conversión reversible de fructosa-1,6-bisfosfato en gliceraldehido-3-fosfato y dihidroxi-acetona, participando en glicólisis y gluconeogésis. Existen tres isoenzimas de aldolasa: las isoformas muscular (A), hepática (B) y cerebral (C). Resultados de nuestro laboratorio han demostrado que la aldolasa B colocaliza con FBPasa en los túbulos epiteliales proximales del riñón y en los hepatocitos de la zona periportal. Sin embargo, se requieren estudios de expresión y localización celular y subcelular, para la isoenzima A, en tejidos de rata diferentes a músculo y riñón. Estudios de RT-PCR mostraron que esta isoenzima se expresó diferencialmente en diversos tejidos, encontrándose una fuerte expresión en músculo, riñón y testículo. Para determinar la localización se prepararon anticuerpos policionales en conejo y gallina, los cuales mostraron tener un buen titulo (1:1000) y un alta especificidad. Se encontró inmunotinción positiva en tejidos en cuales no se había detectado actividad (próstata, estómago, intestino delgado, pulmón y testículo). En estos tejidos aldolasa A se expresa en varias células especializadas, y al contrario de lo que se observa en riñón e hígado, muestra una colocalización con aldolasa B. Mediante microscopía confocal se encontró que aldolasa A tiene una localización subcelular nuclear en células de la medula y de los túbulos distales del riñón. Estos resultados sugieren que diferentes isoenzimas se podrían encontrar separadas en diferentes tipos celulares o compartimentos citoplasmáticos, lo que sería importante en su función biológica. (DID-UACH 200178; FONDECYT 1010720).

237.- EXPRESION DE FRUCTOSA-1,6-BISFOSFATASA HEPATICA EN HIGADO Y RIÑON DE RATA DURANTE EL DESARROLLO. (Expression of liver fructose-1,6-bisphosphatase during developing of rat liver and kidney issues). Núñez M. A., Yañez, A.J., Brito, M., Spichiger, C., Concha, I.I. y Slebe, J.C. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Uno de los aspectos relevantes en la multimodulación de enzimas es la regulación de su expresión. Por esta razón, determinamos la expresión de la isoenzima hepática de fructosa-1,6-bisfosfatasa (FBPasa) en hígado y riñón de rata durante el desarrollo. Se determinó la expresión de FBPasa mediante RT-PCR, Western blot, inmunohistoquímica y detección de la actividad enzimática en ratas de 1, 6, 12, 20 30 y 60 días de desarrollo. En ambos tejidos la FBPasa se expresa desde el primer día post natal alcanzando su mayor expresión en el día 20. Sin embargo, en riñón advertimos una localización compartimentalizada en todos los estadíos. Entre los días 1 y 6 observamos inmuno-reacción sólo en la zona cortical interna, que limita con la región medular. A partir del día 12 la reacción se detectó en los túbulos proximales corticales internos y externos. Al contrario, en los primeros días del desarrollo, la localización en hígado no fue compartimentalizada, y sólo a partir del día 12, se observó compartimentalización de la enzima en los hepatocitos periportales. Los resultados indican que la expresión de FBPasa, en hígado y riñón, es tejido específica y está definida por la diferenciación celular. Además sugieren que la expresión se encuentra coordinada durante el desarrollo de ambos tejidos. (DID-UACH 200178; FONDECYT 1010720)

238.- CLONAMIENTO, EXPRESION Y LOCALIZACION DE LA FRUCTOSA-1,6-BISFOSFATASA DE HIGADO DE RATA. (Cloning, expression and localization of rat liver fructose-1,6-bisphosphatase). Bertinat R., Calderon A., Ludwig, H. Slebe, J. C., y Yañez, A.J. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

La fructosa-1,6-bisfosfatasa de hígado de rata (FBPasa) presenta un 85% de identidad con la secuencia primaria de la FBPasa de riñón de cerdo. Hemos demostrado que el anticuerpo preparado contra la FBPasa renal de cerdo reconoce la enzima hepática de rata. Estudios de inmunocitoquímica en tejido de rata, revelados con peroxidasa, no permitieron aseverar sí la enzima se localiza en el núcleo de los hepatócitos. Por lo tanto, decidimos comprobar sí la FBPasa hepática de rata presenta una localización nuclear. Para esto, decidimos clonar y estudiar la expresión y localización subcelular de esta enzima en la línea celular hepática Clone 9 y en la línea celular de riñón COS1, en condiciones fisiológicas (5 mM glucosa). Para analizar la localización también utilizamos las propiedades fluorescentes de la proteína verde (GFP) y preparamos la proteína de fusión GFP-FBPasa. Los resultados, mediante RT-PCR y Western Blot, muestran que la FBPasa hepática se expresa en Clone 9. La localización subcelular, visualizada por inmunofluorescencia y transfección con GFP-FBPasa (microscopía confocal), mostró que esta enzima se encuentra principalmente compartimentalizada en el núcleo de estas células. Sin embargo, al analizar la localización de FBPasa en COS-1, observamos que la enzima se encuentra solamente en el citoplasma. Estos resultados sugieren que la localización subcelular de la FBPasa depende del tipo celular y/o de la condición metabólica de las células. (DID-UACH 200178; FONDECYT 1010720).

239.- EFECTO DE MUTACIONES E INSERCIONES EN UN LOOP POSIBLEMENTE INVOLUCRADO EN LA ESPECIFICIDAD DE LA AGMATINASA DE ESCHERICHIA COLI. (Effect of mutations and insertions in a loop probably involved in the specificity of Escherichia coli agmatinase). Enríquez, P., Correa, P., Salas, M., Uribe, E., Carvajal, N. Laboratorio de Enzimología, Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción.

La agmatinasa cataliza la hidrólisis de agmatina en putrescina y urea. En base a importantes homologías de secuencias con las arginasas, desarrollamos un modelo estructural para la enzima de Escherichia coli, usando como referencia la arginasa de Bacillus caldovelox. La comparación de estas estructuras sugiere que las diferencias de especificidad de sustrato radican, al menos en parte, en un loop ubicado en la entrada de sus sitios activos, por lo cual iniciamos un estudio sistemático de esta región en la agmatinasa. En este trabajo, insertamos la secuencia Glu-Tre-Ser en la mutante Y155N/C159S/F161N.. Para la mutante, se obtuvo una K_m de 10mM y una k_{cat} de 46 seg-1, siendo los valores correspondientes para la enzima silvestre de 1 mM y 140 seg-1. Ambas especies fueron inactivas con arginina. La putrescina inhibió no competitivamente a la mutante y competitivamente a la silvestre. Las K_i para arginina como inhibidor competitivo fueron 40 y 6 mM para las formas mutante y silvestre, respectivamente. Sugerimos que las diferencias de especificidad resultan de diferencias en la conformación global de sus respectivos loops y proponemos generar quimeras para abordar este problema. Proyectos Fondecyt 2990049 y 2990039

240.- EVIDENCIAS CINETICAS PARA UN SITIO ALOSTERICO EN LA ARGINASA HUMANA II. (Kinetic evidence for an allosteric site in human arginase II) Alarcón, R., López, V., Martinez, N., Carvajal, N. Laboratorio de Enzimología, Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

La arginasa tipo II predomina en tejidos extrahepáticos y cataliza la hidrólisis de arginina, generando la ornitina necesaria para la síntesis de poliaminas, glutamato y prolina. Regularía, además, los niveles de arginina para la síntesis de NO. La enzima humana ha sido clonada y su secuencia de aminoácidos muestra residuos altamente conservados, definidos como catalíticamente críticos, en base a estudios de la arginasa hepática tipo I. En este trabajo, se describen algunas propiedades cinéticas de la forma recombinante de la enzima humana. La arginasa II resultó ser activa en ausencia o presencia de Mn^{2+} agregado, duplicando su actividad al ser incubada con Mn^{2+} 5 mM a 60 °C. Esto sugiere que, como la arginasa I, su actividad es estrictamente dependiente de un Mn2+ firmemente unido, y que la formación de un centro bimetálico resulta en su hiperactivación. La hidrolisis de arginina por la arginasa II presenta una cinética hiperbólica a pH 9.0 y una cinética cooperativa a pH 7.0 (coeficiente de Hill 2.8). La homoarginina se comportó como un inhibidor competitivo e indujo un cambio en la cinética de hidrólisis desde cooperativa a hiperbólica, lo que sugiere la existencia de un sitio alostérico en la arginasa II.

Proyecto Fondecyt 1000164 y Conicyt para Tesis doctoral

241.- CAPTACION DE GLUCOSA Y VITAMINA C EN CELULAS DE OLIGODENDROGLIOMA HUMANO. (Uptake of glucose and vitamin C in human oligodendroglioma cells). Rodríguez, F., Nualart, F. Lab. de Neurobiología, Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

El cerebro tiene altas concentraciones de la vitamina C, la cual cumple una función neuroprotectora como agente antioxidante. Los transportadores de vitamina C y sodio (SVCT), median el transporte de ácido ascórbico, la forma reducida de la vitamina C. Paralelamente, los trasportadores de hexosas (GLUTs) transportan la forma oxidada de la vitamina C, el ácido deshidroascórbico. Se desconoce como las células cerebrales tumorales incorporan la vitamina C, de esta forma, utilizamos células de oligodendroglioma humano TC620 para analizar la expresión de los transportadores GLUTs y SVCTs. Los estudios de localización fueron realizados con microscopía confocal y complementados con análisis funcionales cinéticos y de inhibición, utilizando 2-DOG, ácido ascórbico y ácido deshidroascórbico. La expresión de los mensajeros fue analizada mediante RT-PCR. Encontramos que las células TC620 expresan GLUT1 y SVCT2 . GLUT1 presentó un patrón vesicular y además se observó en la membrana celular. SVCT2 se localizó preferentemente en la región perinuclear, presentando una menor localización en la membrana celular. Las células captaron glucosa con parámetros cinéticos que confirmaron la expresión de GLUT1. Las células tumorales captaron, al menos, 8 veces más deshidroascórbico que ácido ascórbico, demostrando que un fenómeno oxidativo inducido por el crecimiento tumoral puede cargar eficientemente de vitamina C oxidada las células tumorales.

FONDECYT 1010843. DIUC-GIA 201.034.006-1.4.

242.- MODELAMIENTO TRIDIMENSIONAL DE LA ENZIMA XILANASA B DE PENICILIUM PURPUROGENUM. DETERMINACIÓN DE MUTANTES SITIO DIRIGIDAS. (Tridimensional Modelling for Xylanase B from Penicillium purpurogenum. Site directed mutant construction) 'Rubio, S.; 'Olivares, F.; 'Pérez-Acle, T.; 2Sigala, C. Y 2Eyzaguirre, J. 1 Centro de Genómica y Bioinformática. 2 Laboratorio de Bioquímica. Pontificia Universidad Católica de Chile

Obtuvimos una estructura tridimensional por métodos in silico, de la enzima Xilanasa B del hongo Penicillium purpurogenum. El modelo fue llevado a cabo sobre la base de homología de secuencia y refinamientos energéticos. La identidad de secuencia obtenida para los alineamientos, entre la proteína a modelar y sus patrones fue de 78%, siendo el 98.5% de residuos positivos. Las proteínas usadas como patrones, ambas Xilanasas B, fueron los números de acceso de PDB, 1BK1 y 1UKR, provenientes de de Aspergilus kawachi y Aspergilus niger, respectivamente. Ambas proteínas fueron resueltas por cristalografía de rayos X a 2.00 y 2.40 Å. El modelo fue realizado utilizando programas de transferencia de coordenadas basados en el alineamiento de secuencias. Le fueron aplicadas correcciones energéticas y se determinó su estabilidad bajo simulaciones de dinámica molecular en presencia de solvente. Las mutantes estructurales fueron resueltas por la eliminación del bloqueo estérico de entrada al sitio activo, tomando en cuenta la estabilidad estructural, así como los mínimos energéticos, patrones de carga e hidrofobicidad y los datos aportados por dinámicas moleculares. Se propone la estructura de la Xilanasa B de Penicillium purpurogenum, así como la de sus mutantes estructurales.

243.- IDENTIFICACION DE ISOFORMAS DE CALICREINA GLANDULAR EN EL PEZ Cyprinus carpio Y EFECTO DE LA ACLIMATIZACION Y DE 17 β-ESTRADIOL. (Identification of glandular kallikrein isoforms in the fish Cyprinus carpio and effect of acclimatization and 17 β-estradiol). Haussmann, D., y Figueroa, J. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia. E-mail: denisehaussmann@uach.cl

Calicreina glandular (CG) es una serina-proteasa que genera péptidos bioactivos de precursores inactivos, en mamíferos es inducida por estrógenos y está involucrada en procesamiento de Prolactina (PRL). Sin embargo, el conocimiento en organismos no mamíferos es escaso. Por ello, se estudió CG mediante inmunocitoquímica (ICQ) y Western-blot con anticuerpos heterólogos (anti-CG-C. striata). Paralelamente, se purifico CG de músculo de carpa y se generó anticuerpos homólogos anti-CG-C. carpio.

El Western-blot (anti-CG-C. striata,) mostró CG en músculo (39KDa), riñón y branquias (52KDa) y pituitaria (72 y 46KDa). La ICQ, mostró fuerte inmunotinción en músculo, en riñón inmunotiñó la región apical de túbulos colectores y ductos mesonéfricos, en branquias algunas células epiteliales y en pituitaria células lactotropas (PRL). El Western-blot con anti-CG-C.carpio mostró bandas de 39kDa (músculo, riñón y branquias) y 72kDa (pituitaria). Paralelamente, se desarrollo un nuevo método de tinción de proteínas totales en Western. La ICQ mostró similar inmunotinción al anticuerpo CG-C.striata y se evidenciaron diferencias entre carpas aclimatizadas. Por otro lado, sólo riñón evidenció respuesta al tratamiento con estrógenos.

Concluimos que la inmunotinción de células lactotropas con anti-CG y anti-PRL, implica coexpresión de ambas proteínas y que la expresión de CG en riñón y branquias implicaría un rol osmorregulatorio.

Financiamiento: FONDECYT 1990710, DID-UACh-2002-17

244.- MODIFICACION DE LA ESPECIFICIDAD DE SUSTRATO DE LA ACETILXILANO ESTERASA II DE Penicillium purpurogenum POR MUTAGENESIS SITIO DIRIGIDA. (Substrate specificity modification of the acetylxylan esterase II from Penicillium purpurogenum by site directed mutagenesis). ¹Colombres, M.; ²Pérez, T.; ²Rubio, S.; ¹Peirano, A. y ¹Eyzaguirre, J. ¹Laboratorio de Bioquímica; ²Centro de Genómica y Bioinformática. Pontificia Universidad Católica de Chile.

La enzima acetil xilano esterasa II es parte del sistema xilanolítico de Penicillium purpurogenum y pertenece a la familia de las α/β serina hidrolasas. AXE II es muy específica para ácidos cortos(acetato). A partir de su estructura (PDB:1G66) determinada por difracción de rayos X, y tomando en cuenta la similitud estructural con la enzima cutinasa (PDB:1CEX) de Fusarium solani, se eliminó la zona entre los residuos 104 al 114 para mejorar el acceso del sustrato al sitio activo. Se realizó un modelo de la mutante "in silico" por homología de secuencias y correcciones energético-dinámicas. Se transformó la cepa A722 de Aspergillus nidulans con el plásmido que contiene la deleción. El hongo fue crecido en medio rico y el sobrenadante de cultivo es capaz de hidrolizar ésteres de ácidos grasos de al menos 12 carbonos. Se analizó mediante "docking" in silico la posición de sustratos en el modelo de la enzima mutante.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 8990004.

245.- UNA ACETIL XILANO ESTERASA (AXEI) DEL HONGO Penicillium purpurogenum: CLONAMIENTO, SECUENCIACION Y CARACTERIZACION DEL GEN. (An acetyl xylan esterase (AXEI) from Penicillium purpurogenum: cloning, sequencing and characterization of the gen). ¹Gordillo F., ²Van Beeumen J., ²Claeyssens M., ³Jörnvall H. y ¹Eyzaguirre J. ¹Laboratorio de Bioquímica. Pontificia Universidad Católica de Chile. ²Universidad de Gante, Bélgica. ³Instituto Karolinska, Estocolmo, Suecia.

El hongo Penicillium purpurogenum secreta numerosas enzimas que participan en la degradación del xilano, entre ellas, varias esterasas. Una de éstas, la acetil xilano esterasa I, ha sido purificada y caracterizada. A partir de AXEI pura se obtuvo secuencias del extremo amino terminal y de péptidos internos. Se diseñaron oligonucleótidos degenerados para amplificar por PCR una secuencia parcial de su cDNA. Se completó la secuencia del gen utilizando técnicas de RACE 3' y PCR inverso. axel presenta un marco de lectura abierto de 1278 pb, incluyendo dos intrones de 68 y 61 pb. Codifica para una proteína madura de 351 residuos con una masa de 36693 Daltons. Presenta en su extremo amino terminal, un módulo catalítico perteneciente a la familia 1 de las esterasas de carbohidratos. En su extremo carboxilo terminal contiene un módulo de unión a carbohidratos de la familia 1 de los CBMs. Ambos módulos se conectan por una secuencia rica en serina y treonina. Esta es la primera proteína de las enzimas purificadas de P. purpurogenum por nuestro grupo que presenta esta estructura modular.

Financiamiento: Proyecto Fondecyt Nº 8990004.

246.- METILXANTINAS INHIBEN POR UNION DIRECTA AL TRANSPORTADOR DE HEXOSAS GLUT1. (Methylxantines do inhibit the hexose transporter GLUT1 by direct binding). Ojeda, P. y Reyes, A.M.. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia (email: areyes@uach.cl).

GLUT1 es un transportador facilitativo de hexosas que se expresa ubicuamente en células y que es responsable del transporte basal de glucosa. En esta comunicación presentamos evidencia que las metilxantinas pentoxifilina y cafeína inhiben la actividad funcional del transportador de glucosa GLUT1 en eritrocitos humanos, a través de una interacción directa con el transportador. Para caracterizar la inhibición, estudiamos el efecto de pentoxifilina y cafeína sobre el transporte de metilglucosa y D-glucosa en condiciones de intercambio en equilibrio y cero-trans de entrada y salida en presencia de los inhibidores, usando sustratos radiactivos y midiendo variaciones en la dispersión de luz. En ensayos de intercambio en equilibrio y de salida, pentoxifilina inhibió a GLUT1 con un valor de K_i cercano a 1 mM, mientras que cafeína fue menos eficiente, con un valor de K_i cercano a 10 mM. Como se conoce que las metilxantinas se particionan en membranas biológicas y afectan su fluidez, estos resultados podrían explicarse por este efecto, o bien por la unión directa de las metilxantinas al transportador. Para probar si pentoxifilina y cafeína se unen a GLUT1, ensayamos su capacidad de desplazar la unión de citocalasina B (CCB) al transportador en membranas aisladas y su habilidad para perturbar a GLUT1 purificado y reconstituido en proteoliposomas. Pentoxifilina y cafeína desplazaron de manera competitiva a CCB unida a GLUT1 y afectaron la fluorescencia del transportador purificado. En conjunto, los datos sugieren que pentoxifilina y cafeína bloquean la actividad de GLUT1 por competencia directa con el sustrato y confirman que las metilxantinas se unen al transportador. (Financiado por Proyecto FONDECYT 1020908.)

247.- ¿GOSSYPOL MODIFICA QUIMICAMENTE AL TRANSPORTADOR DE HEXOSAS GLUT1? (¿Did gossypol chemically modifies the hexose transporter GLUT1?). Sánchez, C., Pérez, A. y Reyes, A.M. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Hemos descrito que gossypol, un sesquiterpeno policíclico natural, abundante en semillas de algodón y que se analizó farmacológicamente como un agente de antifertilidad masculina, es un eficiente bloqueador de la actividad funcional del transportador de hexosas GLUT1 en eritrocitos humanos. Con el propósito de caracterizar el mecanismo de la inhibición por gossypol, en esta oportunidad analizamos el efecto de este compuesto y de ciertos análogos estructurales (apogossypol, gossypolona) sobre la unión de citocalasina B a GLUT1, en membranas aisladas de eritrocitos humanos. Gossypol desplazó a la citocalasina B de su sitio de unión en GLUT1 y el bloqueo fue de carácter no competitivo. Asimismo, gossypol perturbó la fluorescencia del transportador GLUT1 purificado y reconstituido en proteoliposomas, pero lo hace de manera diferente al sustrato natural, D-glucosa. Estos datos sugieren que gossypol se une al GLUT1 en un sitio (o sitios) diferente tanto a los del sustrato como al sitio de unión de citocalasina B. Por otra parte, apogossypol y gossypolona fueron incapaces de afectar la unión de citocalasina B a GLUT1, lo cual sugiere que la presencia del grupo aldehído en el compuesto es fundamental para que gossypol se una al transportador. Una posible interpretación de estos resultados es que gossypol modifica químicamente al transportador GLUT1 en un sitio distinto a los de otros ligandos, efecto que mediaría la inhibición del transporte de hexosas. En acuerdo con lo anterior, hemos encontrado que la inhibición del transporte de hexosas por gossypol en los eritrocitos humanos es dependiente del tiempo.

(Financiado por proyecto FONDECYT 1020908)

248.- ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ESTABILI-DAD DE QUITINA DESACETILASA DE C. lindemuthianum Y A. nidulans SOMETIDA A ALTAS TEMPERATURAS. (Comparative study of the stability of chitin deacetylase from C. lindemuthianum and A. nidulans at High temperatures). Toro, J., Bustos, R. Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Santiago de Chile. Patrocinante: Antonio Castillo.

La quitina desacetilasa ha sido purificada y caracterizada desde diversos hongos, y es una glicoproteína que exhibe una importante estabilidad térmica. Una ventaja que ofrecen las enzimas obtenidas a partir de A. nidulans y C. lindemuthianum es que no son inhibidas por acetato, un producto de la reacción. En el presente estudio se ha examinado el efecto de la incubación a altas temperaturas sobre la actividad desacetilasa en extractos de estos hongos.

Extractos crudos y purificados de ambos hongos fueron incubados a temperaturas desde 40°C hasta 80°C por periodos de hasta 8 días. Durante esta incubación se midió actividad a 50°C, expresada en ppm de ácido acético liberado. En todos los casos se observa un aumento significativo de la actividad 4.60% y 318% en extractos crudos de *C. lindemuthianum* y *A. nidulans* incubados a 50°C y 40°C respectivamente; 156% y 341% en extractos puros de *C. lindemuthianum* y *A. nidulans* incubados a 60°C y 40°C respectivamente. Por lo tanto, una incubación previa a estas temperaturas permite la obtención de una enzima considerablemente más activa que ofrece buenas perspectivas para la aplicación del método enzimático a la obtención de quitosano a escala industrial.

249.- ESTABILIDAD TERMICA COMPARATIVA DE LA ACTIVIDAD DE CARBOXIQUINASAS FOSFOENOLPIRÚVICAS DEPENDIENTES DE ATP DE DIFERENTE ESTRUCTURA CUATERNARIA (Comparative thermal stability of the activity of ATP-dependent phosphoenolpyruvate carboxykinases of variable quaternary structure). Ravanal, C., Cardemil, E., Departamento Ciencias Químicas, Facultad Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

La estructura cuaternaria de las carboxiquinasas fosfoenolpirúvicas (PEPCKs) dependientes de ATP es variable. La enzima de Escherichia coli es un monómero, la de Trypanosoma brucei es un dímero, y la de Saccharomyces cerevisiae es un tetrámero. Estudios previos [Encinas et al. (1998) Eur. J. Biochem. 255, 439-445; Encinas et al. (2002) Int. J. Biochem. Cell Biol. 34, 645-656] mostraron que la enzima de bacteria es más resistente a la desnaturación por urea que la de levadura. En este trabajo estudiamos el efecto que ejerce la temperatura en la estabilidad de la actividad de PEPCKs de estructura cuaternaria variable: monómero (bacteria), dímero (protozoo) y tetrámero (levadura). Los resultados indican que la estabilidad térmica de la actividad de estas enzimas es monómero > dímero > tetrámero. Se encontró que la presencia de sustratos produce un aumento en la estabilidad térmica de la actividad de las tres enzimas, y que el proceso de inactivación sigue en todos los casos cinética de primer orden con respecto a la actividad residual. Los resultados muestran que en las PEPCKs la adquisición de estructura cuaternaria se hace a expensas de su estabilidad, sugiriendo que la estructura cuaternaria confiere algún tipo de característica importante a estas enzimas in vivo.

Financiado por FONDECYT 1000756.

250.- FUNCION DE ARGININA 70 EN LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRÚVICA DE Saccharomyces cerevisiae. (Rol of arginine 70 in Saccharomyces cerevisiae phosphoenolpyruvate carboxykinase). Aroca, F., Flores, M., Llanos, L., Jabalquinto, A. M., Cardemil E. Departamento de Ciencias Químicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

La carboxiquinasa fosfoenolpirúvica cataliza la descarboxilación y fosforilación de oxaloacetato en presencia de ATP/GTP y Mn⁺² para dar fosfoenolpiruvato, ADP/GDP y CO2, y es una de las etapas iniciales en la biosíntesis de glucosa a partir de compuestos de 3 y 4 átomos de carbono. La estructura cristalina del complejo de la enzima de Escherichia coli-ATP-oxalato-Mn²⁺-Mg²⁺ [Tari et al. (1996) Nat. Struct. Biol. 3, 355-363] sugiriere que arginina 65, un residuo altamente conservado en estas enzimas (equivalente a arginina 70 en la enzima de levadura) interacciona con grupos cargados negativamente de los sustratos. Para comprender la función de este residuo se obtuvieron varios mutantes en arginina 70 de la carboxiquinasa fosfoenolpirúvica de levadura (48 % de identidad de secuencia con la enzima de E. coli) y se determinaron sus parámetros cinéticos. El análisis mostró que las proteínas alteradas no presentan alteraciones importantes en los valores de $K_{\rm M}$ para los distintos sustratos. Las $V_{\rm max}$ (µmol min-1mg-1) para las carboxiquinasas fosfoenolpirúvicas silvestre, Arg70Lis, Arg70Gln y Arg70Met fueron 62, 54, 11 y 0,8, respectivamente. Concluimos que el grupo guanidinio de arginina 70 cumple una función secundaria en la catálisis, probablemente interaccionando con los sustratos a través de un puente de hidrógeno.

Financiado por FONDECYT 1000756

251.- INTERACCION FICOERITRINA-FICOCIANINA: UN MODELO DE DOCKING PARA ESTUDIAR LA CONDUCCION DE LUZ (Phycoerythrin-Phycocyanin interaction: A docking model to study light conduction). Bruna, C.; Martínez-Oyanedel, J. y Bunster, M. Laboratorio de Biofísica Molecular. Departamento de Biología Molecular. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción. DIUC 99.081.084-1.0, 202.31.91-1.0

Los Ficobilisomas, o complejos auxiliares de fotosíntesis, captan y conducen luz hacia los centros fotoactivos en cloroplastos de algas eucarióticas. Las proteínas fluorescentes que los componen se organizan estructuralmente para que la transferencia de energía entre los grupos cromóforos que contienen sea un proceso factible y eficiente.

Para estudiar la conducción de luz en este sistema, se construyó un modelo de interacción entre ficoeritrina (PE) de Gracilaria chilensis y ficocianina (PC) de Cyanidium caldarium utilizando el programa BIGGER. La interacción fue tres veces más débil que la interacción entre trímeros de ficoeritrina, involucrando sólo contactos entre residuos de las subunidades beta.

Utilizando dicho modelo, se identificaron los pares de cromóforos separados por distancias menores a 30\AA , y basándose en la teoría de Förster, se determinó que la pareja más probable de cromóforos dador-aceptor entre ambas proteínas era PE β 82-PC β 84.

En este trabajo, se postula un modelo completo de la vía de transferencia de luz en un complejo PE-PC. Una posible vía de conducción en el hexámero de ficoeritrina que culmina en PEβ82 ya había sido propuesto por nuestro laboratorio. La vía se continuó con el aceptor PCβ84 propuesto para ficocianina, y a partir de este, se estudiaron las posibles vías para el hexámero de ficocianina.

252.- DOS MORFOLOGIAS DE FICOBILISOMAS EN EL ALGA ROJA Gracilaria chilensis. COMPOSICION POLIPEPTIDICA, ESTRUCTURA Y PROBABLE FUNCION. (Two phycobilisome morphologies in the red alga Gracilaria chilensis. Polypeptide composition, structure and probable function). Pouchucq, L. Guzmán, A. Bunster, M. Laboratorio de Biofísica Molecular, Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Proyecto DIUC 202.031.091-1.0

Los ficobilisomas (PBS) son los mayores complejos antena en algas rojas y cianoficeas, compuestos principalmente por proteínas cromoforiladas asociadas entre ellas gracias a proteínas de unión no cromoforiladas. Los PBS extraídos del alga roja Gracilaria chilensis, muestran una distribución bimodal dentro de los gradientes de concentración de sacarosa utilizados para su extracción (PBS1 y PBS2). Análisis electroforéticos y espectroscópicos indican que existen diferencias en el estado de agregación entre estos dos tipos de complejos (PBS), con la pérdida específica de los componentes periféricos por parte de uno de ellos, influyendo en su movilidad dentro de los gradientes de densidad. A partir de la diferencia existente entre estos dos tipos de PBS hemos propuesto un modelo estructural para los PBS de G. chilensis. Por otro lado, mediante un experimento sencillo, se ha relacionado la existencia de estos dos tipos de PBS con un proceso fisiológico de adaptación a frente a distintas intensidades de luz.

253.- FRET EN FICOBILISOMAS: CALCULO TEORI-CO DE LA VÍA PREFERENCIAL DE TRANSMISION DE LUZ. (FRET in Phycobilisomes: A theoretical calculation of light transmission preferential pathway) Bunster, M.*; Matamala, A.* Almonacid, D.** Laboratorio de Biofísica Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, y blaboratorio de Química Teórica y Computacional, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Concepción. Proyecto DIUC: 202.031.091-01

Usando el Mecanismo de Transferencia de Energía por Fluorescencia en Resonancia (FRET), se ha calculado la vía preferencial de transmisión de luz entre los cromóforos de la C-Ficocianina (C-PC) en la Fremyella diplosiphon. Utilizado el modelo de Förster-Dexter, las constantes de transmisión entre cada par dador-aceptor de cromóforos han sido evaluadas. En general, las constantes de transmisión dador-aceptor son altamente sensibles tanto a la separación de los cromóforos (medida entre los centros de masa) como al factor de orientación (orientación relativa entre sus respectivos momentos dipolares). Para el cálculo de ambas cantidades, se han usado las coordenadas de la estructura atómica de la proteína publicadas previamente por Huber et al(código PDB 1cpc). Comúnmente, el cálculo del factor de orientación se ha efectuado bajo aproximaciones no siempre bien justificadas para la dirección de los momentos dipolares. Haciendo uso de la teoría semiempírica AM1, el presente trabajo establece un protocolo preciso para el cálculo de los momentos dipolares y, de este modo, definir la via preferencial de transmisión de luz en cualquier ficobiliproteína e inclusive en un ficobilisoma completo.

254.- EXPRESION EN ESCHERICHIA COLI, PURIFICACION Y CARACTERIZACION DE γ-TUBULINA HUMANA. (Expression in Escherichia coli, purification and characterization of human γ-tubulin). Díaz C., Pérez D., Lagos R., Monasterio O. Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Los microtúbulos, formados por el heterodímero de α/β tubulina, juegan un papel importante en el transporte vesicular, organización celular y segregación de los cromosomas durante la división celular. In vivo se forman a partir del Centro Organizador de Microtúbulos (MTOCs), el cual participa en su nucleación y establece su polaridad. El estudio de las propiedades de la nucleación de los MTOCs llevó a la identificación de un tercer miembro de la superfamilia de las tubulinas, la γ-tubulina, responsable de llevar a cabo la nucleación y que se encuentra en todos los eucariontes. La participación de y-tubulina en la nucleación es casi desconocida. Para obtener la proteína pura y en cantidades adecuadas se transformó una cepa de expresión de E. coli con un vector que posee clonado el cDNA de γ-tubulina humana bajo el control del promotor T7, y se indujo la transcripción por IPTG. Se observó que la proteína era sintetizada como cuerpos de inclusión los cuales fueron purificados y solubilizados en urea, desde donde se purificó la γ-tubulina por cromatografía de intercambio aniónico. El replegamiento de la proteína se hizo por dilución rápida y se siguió por la emisión de fluorescencia intrínseca y dicroismo circular.

Financiado por Fondecyt 1010848

255.- CARACTERIZACION DE LA INTERACCION LATERAL DE FtsZ PARA LA FORMACION DEL ANI-LLO-Z EN LA DIVISION DE Escherichia coli. (Characterization of the FtsZ lateral interaction for the Z ring formation in Escherichia coli division) Shin, J.Y., Lagos, R. y Monasterio, O. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

La FtsZ polimeriza para formar el anillo Z en la división bacteriana y es el mayor componente del complejo protéico del divisoma. Es homóloga a la tubulina y la polimerización in vitro, induce la actividad GTPásica y forma protofilamentos que pueden asociarse en láminas y túbulos a través de interacciones laterales. Un análisis de homología estructural entre la tubulina y la FtsZ mostró que la hélice 3(H3) de FtsZ, donde se destacan algunos aminoácidos cargados, y la vuelta formada entre la hebra beta 3(S3) y H3, rica en glicinas, estarían involucradas en las interacciones laterales. Mutantes puntuales sitio dirigidas E83Q, R85Q en H3 y G56P en la vuelta presentan una viabilidad reducida con respecto al tipo silvestre en ensayos de funcionalidad in vivo. Esto indica que las interacciones laterales son necesarias para una división normal y requiere de estos. Ensayos bioquímicos de actividad GTPásica y de polimerización de la mutante E83Q mostraron un comportamiento similar a la FtsZ tipo silvestre a diferencia de la R85Q que mostró una actividad GTPásica muy baja y una polimerización nula. Esto demuestra por primera vez que para la división bacteriana las interacciones laterales de la FtsZ son necesarias.

Financiado por el Proyecto Fondecyt 1010848

256- "ANALISIS FILOGENETICO DE LOS AMINOACIDOS RESPONSABLES DE LA TERMOESTABILIDAD DE LAS PROTEINAS". ("Phylogenetic analysis of the aminoacids responsible for protein thermostability"). Santander V., Medina C. y Monasterio O. Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Las mutaciones de aminoácidos señaladas como responsables de la termoestabilidad de las proteínas poseen una elevada contribución de otras mutaciones producto del azar, pues han sido obtenidas de la comparación entre proteínas homólogas mesófilas y termófilas sin considerar el parentesco filogenético entre ellas. Con el objeto de eliminar este efecto, se comparó proteínas homólogas cercanamente emparentadas en los árboles filogenéticos construidos a partir de 51 familias de proteínas provenientes de organismos psicrófilos, mesófilos, termófilos e hipertermófilos. De las mutaciones encontradas se sustrajo aquellas que provenían exclusivamente del azar. Los resultados mostraron que tanto el aumento como la disminución de la termoestabilidad de las proteínas, en los sentidos evolutivos mesófilo -> termófilo -> hipertermófilo y viceversa, respectivamente, se encuentran favorecidos por la presencia de mutaciones que involucran principalmente aminoácidos cargados y apolares. Sin embargo, en las proteínas psicrófilas el aumento de su termoestabilidad se encuentra impedido. Se concluye que el aumento de la termoestabilidad de las proteínas estaría dado principalmente por el fortalecimiento de las interacciones iónicas e hidrofóbicas en su estructura tridimensional. Cuando estas interacciones se encuentran muy debilitadas (psicrófilos), el aumento de la termoestabilidad no sería posible.

Financiado por proyecto Fondecyt 1010848.

257.- CONSTRUCCION DE UNA BASE DE DATOS CON LAS CONFORMACIONES DE LIGANDOS PARA EL ESTUDIO DE LA RELACION ESTRUCTURA-FUN-CION EN PROTEÍNAS (Building of a novel database of ligand conformations to be used for the study of the structure-function relationships in proteins). Melo, F. Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Laboratorio de Bioquímica, Alameda 340, Santiago, Chile.

En este trabajo se presenta el desarrollo, construcción, e implementación de una nueva base de datos que contiene todas las conformaciones tridimensionales de ligandos observadas experimentalmente que se encuentran depositadas en la actualidad en el banco de datos de estructuras de proteínas (PDB). Esta base de datos contiene además, para distintos rangos de distancia, las diversas constelaciones de todos los átomos proteicos que se encuentran en directo contacto con los diversos ligandos.

Toda esta información se encuentra asociada directamente a la totalidad del contenido de la base de datos PDB e integrada de manera transparente a la última versión de la base de datos de familias de proteínas (CATH).

La base de datos se denomina IntegraBase, es única en su tipo y está implementada en MySQL con un motor de búsqueda PHP transparente al usuario, permitiendo así que éste de manera simple realice búsquedas a través de una interface web gráfica. La base de datos se encuentra disponible públicamente y sin costo alguno en la dirección web de nuestro laboratorio: http://protein.bio.puc.cl

Provecto #1010959 financiado por FONDECYT

BIOINFORMATICA BIOTECNOLOGIA

258.- POSIBLE COEXISTENCIA DE DOS VIAS DE ACTIVACION DE SULFATO EN Acidithiobacillus ferrooxidans (Posible co-existence of two pathways for sulfate activation in Acidithiobacillus ferrooxidans). Valdes¹, J. y Holmes¹, D.S. (1) Laboratorio de Bioinformática y Biología Genómica, Universidad de Santiago. (2) ICBM, Universidad de Chile. Patrocinante: Dr. Omar Orellana.

La asimilación de sulfato es un proceso indispensable para todo organismo ya que es la primera etapa en la síntesis de biomoléculas sulfuradas como cisteína y metionina. El proceso de asimilación se inicia con la activación de sulfato mediante su incorporación en una molécula de ATP generando adenosina 5'-fosfosulfato (APS), tal como se ha descrito en plantas, algas y bacterias fototrópicas. Alternativamente en bacterias entéricas y hongos el producto de la activación de sulfato es fosfoadenosina 5'-fosfosulfato (PAPS). A través de una reconstrucción bioinformática mediante el uso de mapas metabólicos y programas computacionales se predijo la vía de asimilación de sulfato utilizando el genoma de Acidithiobacillus ferrooxidans parcialmente secuenciado. Mediante este análisis se identificaron dos grupos de genes responsables de la activación de sulfato, uno involucrado en la síntesis de APS y otro en la síntesis de PAPS. Además se han identificado ortólogos de los genes CysB y CysQ involucrados en la regulación del proceso de asimilación. Estos resultados indican la probable coexistencia de las dos vías en esta bacteria, hecho que hasta la fecha no se ha informado en otros organismos. Se discute las posibles implicancias de este hallazgo. Proyecto FONDECYT 1010623.

259.- ANOTACION Y ANALISIS DEL GENOMA DE Acidithiobacillus ferrooxidans (Annotation and analysis of the Acidithiobacillus ferrooxidans genome). Lefimil^{1,2}, C., Veloso¹, F., Jedlicki², E. y Holmes¹, D. 1. Laboratorio de Bioinformática y Biología Genómica. USACH y 2. ICBM. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Acidithiobacillus ferrooxidans es una bacteria gram negativa. quimiolitoautotrófica y acidófila que participa en la biolixiviación de metales. El 99% de su genoma se encuentra secuenciado y disponible en la base de datos de Integrated Genomics y The Institute for Genomic Research (TIGR). En nuestro laboratorio anotamos y analizamos los 3Mbp secuenciados mediante el uso de la Bioinformática. Usando el programa GLIMMER seguido de varios programas computacionales, se predijeron aproximadamente 3000 potenciales genes. A gran parte de estos se les asignó función conocida y se identificaron probables operones. Se encontraron 6 genes para rRNA distribuidos en dos operones y 77 genes para tRNA organizados en diferentes locus. Se encontró un probable sitio de origen de replicación y se identificó una secuencia consenso para el sitio de unión a ribosoma previo a algunos genes predichos. Disponemos ahora de una visión más completa de la fisiología de A. ferrooxidans, que nos permite analizar y comprender mejor lo interesante de su metabolismo y formular diversos modelos que ahora restan por comprobarse experimentalmente. Agradecimientos: Proyecto Fondecyt 1010623

260.- GENES POTENCIALMENTE INVOLUCRADOS EN LA SÍNTESIS DE EXOPOLISACARIDOS EN Acidithiobacillus ferrooxidans. (Genes Potentially Involved in the Synthesis of Exopolysaccharides in Acidithiobacillus ferrooxidans). Barreto¹, M., Rivas², M., Jedlicki², E. y Holmes¹, D·1. Laboratorio de Bioinformática y Biología Genómica, Universidad de Santiago y 2. ICBM, Universidad de Chile.

Debido a sus características fisiológicas, la bacteria Acidithiobacillus ferrooxidans se ha usado en procesos de biolixiviación para extraer metales a partir de los sulfuros correspondientes. Un aspecto importante es cómo el microorganismo interactúa con el mineral sustrato. Se sabe, en A. ferrooxidans, que la producción de exopolisacáridos (EPS) es esencial para su unión al sustrato sólido y que su composición cambia dependiendo del tipo de sustrato en el que crece la bacteria. Pero, los genes involucrados en la producción del EPS y su mecanismo de regulación son desconocidos.

Debido a la necesidad de entender la interacción bacteriasustrato en A. ferrooxidans, se realizó una búsqueda en el genoma de los genes pgm (fosfoglucomutasa), galE (UDPgalactosa-4-epimerasa) y galU (UDP-glucosa-pirofosforilasa) que codifican para las enzimas involucradas en la síntesis de EPS en otros organismos.

Usando herramientas de bioinformática, ortólogos de los tres genes fueron encontrados con valores de similitud significativos. En este trabajo presentamos un análisis bioinformático de estos genes y su organización genética. Adicionalmente, mostramos los resultados de experimentos monitoreando la expresión de los genes en diferentes condiciones de crecimiento de la bacteria.

Proyecto FONDECYT 1010623.

261.- ANALISIS AUTOMATICO DE ELEMENTOS REPETITIVOS EN GENOMAS COMPLETOS. (Automated Analysis of Repetitive Elements in Whole Genomes). Riadi, G, y Holmes, D. Laboratorio de Bioinformática y Biología Genómica, Universidad de Santia-

Elementos repetitivos, tales como secuencias de inserción en bacterias y varios tipos de transposones en eucariontes juegan un rol importante en la evolución de genomas y la expresión de genes.

En humanos y plantas, constituyen más del 50% de sus respectivos genomas. Sin embargo, debido a su abundancia y diversidad y también porque acumulan un número enorme de pseudo elementos, hay problemas para su identificación y caracterización.

Hemos desarrollado una aplicación, REFIND, basada en los programas en línea MEME, BLOCKS y MAST. Coordinados a través de rutinas en PERL, es capaz de clasificar y caracterizar elementos repetitivos. Adicionalmente a la ventaja de la automatización, REFIND puede identificar frameshifts y otras formas de pseudo elementos bastante intratables en un análisis bioinformático convencional. En esta presentación nosotros demostramos el uso de REFIND para la caracterización automática de secuencias de inserción bacteriana. Proyecto FONDECYT 1010623.

262.- DESARROLLO, PRODUCCION Y PURIFICACION DE VECTORES ADENOVIRALES PARA SER USADOS EN TERAPIA GENICA. (Development Production and Purification of Adenoviral Vectors for Gene Therapy) Manosalva, H.¹, Karahanian, E.², Andrews, B.A.¹ y Asenjo, J.A.¹ ¹Centro de Ingeniería Bioquímica y Biotecnología. Departamento de Ingeniería Química y ²Laboratorio de Farmacoterapia Génica, Instituto Milenio de Estudios Avanzados en Biología Celular y Biotecnología. Universidad de Chile.

El uso de vectores adenovirales es muy promisorio en la terapia génica, ya que éstos infectan todo tipo de células, no integran su material genético y son producidos en un alto título viral. Los vectores adenovirales de primera y segunda han sido utilizados en algunas pruebas clínicas, pero tienen la desventaja que provocan una respuesta inmune en el paciente. Por este motivo se han desarrollado vectores de tercera generación llamados helper dependent (HD) a los cuales se les ha delecionado las secuencias codificantes de las proteínas vírales, lo que ha disminuido casi por completo el problema de la respuesta inmune.

Nosotros estamos trabajando en el sistema de producción de estos vectores HD y desarrollando un adenovirus de tercera generación que posee el gen anti-sentido-ALDH-2 de rata, relacionado en la terapia génica del alcoholismo, ya que este gen inhibe la acción de la enzima ALDH-2 involucrada en la degradación del alcohol.

El éxito del uso de estos vectores, está bastante ligado a la factibilidad de su producción y purificación a gran escala. Por esto estamos estudiando estrategias de purificación que incluyen métodos como sistemas de extracción líquido-líquido (ATPS) y cromatografías, los cuales son factibles de escalar a nivel industrial.

Instituto Milenio P99-031F

263.- CARACTERIZACIÓN DEL GEN DE LA EXOPOLIFOSFATASA (ppx)DE Sulfolobus solfataricus. ASPECTOS EVOLUTIVOS DEL PRIMER GEN INVOLUCRADO EN EL METABOLISMO DE LOS POLIFOSFATOS EN ARCHAEA. (Characterization of the exopolyphosphatase gene (ppx) from Sulfolobus solfataricus. Evolutionary aspects of the first gene found to be involved in polyphosphate metabolism in Archaea). Chávez, F. P., Cardona, S. T. y Jerez, C. A. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Departamento de Biología e Instituto Milenio CBB., Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. cjerez@uchile.cl.

Los polifosfatos (poliP) son polímeros inorgánicos que se encuentran en todas los organismos. Aunque se ha encontrado poliP en Archaea, actualmente se conoce poco sobre la enzimología y el metabolismo del poliP en este dominio. En este trabajo hemos clonado, secuenciado y sobreexpresado en Escherichia coli un gen que codifica para una exopolifosfatasa (PPX) del arqueón termofílico Sulfolobus solfataricus. El gen ppx posee un marco abierto de lectura de 417 aminoácidos que codifica para una exopolifosfatasa funcional. La enzima de S. solfataricus purificada desde E. coli degrada in vitro poliP de cadena larga (700-800 residuos) a una temperatura óptima de 50/60°C.

Al analizar la distribución de los genes PPX entre los genomas microbianos conocidos, encontramos que los únicos posibles genes ppx presentes en los genomas de arqueas presentaban una similitud mayor al gen PPX1de Saccharomyces cerevisiae. En contraste, el análisis de la secuencia aminoacídica de la PPX de S. solfataricus presentó una similitud más alta (25-45%) con las PPXs bacterianas.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1000-679, ICM P99-031-F e ICGEB (Project CRP/CHI004-04/01/001).

264.- ANALISIS IN SILICO DE LOS GENES INVOLUCRADOS EN LA ADQUISICION Y ALMACENAMIENTO DE FOSFATO EN GENOMAS DE Archaea. (In silico analysis of genes involved in phosphate acquisition and storage in Archaeal genomes). Vera, M., Chávez, F.P., Remonsellez, F., Alvarez, S.A. y Jerez, C.A. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, Departamento de Biología e Instituto Milenio CBB., Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. cierez@uchile.cl.

El fosfato (Pi) es un nutriente esencial de las células para la biosíntesis de macromoléculas y el metabolismo. Los microorganismos han desarrollado eficientes sistemas para la adquisición, almacenamiento y utilización de Pi, que son regulados por los niveles extracelulares de este elemento. Entre Bacterias y Eucariontes inferiores se observan grandes diferencias en los mecanismos de adquisición y almacenamiento de Pi y en su regulación.

El conocimiento del dominio Archaea ha aumentado gracias a la disponibilidad de las secuencias de 18 genomas completos. Sin embargo, la información sobre el metabolismo del fosfato en el dominio Archaea es escasa. Para identificar los genes que participarían en el metabolismo del fosfato en Archaea, realizamos un análisis in silico, utilizando la Base de datos de Clusters de grupos Ortólogos (COG) y programas de análisis de secuencias. Identificamos los posibles genes que estarían involucrados en el transporte y almacenamiento del fosfato en el dominio Archaea. Observamos que este dominio presenta componentes tanto bacterianos como eucariónticos en el metabolismo del Pi, lo que plantea interesantes interrogantes acerca de su funcionamiento y regulación.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1000-679, ICM P99-031-F e ICGEB (Project CRP/CHI004-04/01/001).

265.- REMOCION DE COBRE EN SOLUCION MEDIAN-TE RIZOFILTRACION. (Copper extraction from solutions through rhyzofiltration) Ortiz, C., Mujica, E., y Li Kao, J. Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. Departamento de Química y Biología, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Atacama. cortiz@lauca.usach.cl

La rizofiltración es el uso de raíces vegetales para absorber, concentrar y precipitar metales pesados desde sistemas acuosos. La habilidad para absorber diferentes iones metálicos es una propiedad común a todas las raíces vegetales pero varía entre especies de plantas. Por ejemplo, las raíces de girasoles han sido usadas para tratar aguas con plomo, cesio, cobalto y zinc, reduciendo el contenido de los metales a niveles bajo los estándares aceptados. La utilización de un sistema basado en la rizofiltración dependerá de aspectos económicos tanto como de las ventajas técnicas que este presente. El uso de rizofiltración debe considerar el tratamiento de grandes volúmenes, el uso mínimo de compuestos químicos, un volumen pequeño de residuos secundarios, la posibilidad de reciclar el agua recuperada y aspectos regulatorios y de aceptación pública.

Se implementó un sistema de rizofiltración en tanque o «batch», con plántulas de alfalfa crecidas hidropónicamente por aproximadamente un mes, usando soluciones de Cu⁺⁺ de 5 ppm, con un volumen de 300 ml. Se determinó que el porcentaje de remoción de Cu⁺⁺ en los tanques de tratamiento llegó a 40% a los 15 días de tratamiento. Por otro lado, las plantas usadas en el tratamiento no presentaron diferencias significativas en el crecimiento de raíces, tallos y número de hojas desarrolladas respecto a las plantas control crecidas en ausencia de cobre. La determinación del contenido de cobre en plantas completas, mostró que existe una acumulación gradual de Cu⁺⁺ en las plantas, directamente proporcional a la remoción del metal desde las soluciones.

Se propone el uso de rizofiltración como una tecnología adecuada y económicamente ventajosa para la remoción de Cu⁺⁺ desde sistemas acuosos contaminados con bajos niveles del metal.

266.- SERVIDOR DE MODELAJE AUTOMATICO DE PROTEÍNAS. (Automatic protein modeling server). Palacios, J., Canales, M. Centro de Biotecnología, Universidad Técnica Federico Santa Maria, #Avda. España 1680. Valparaíso, juan.palacio@biotec.ufsm.cl, mauricio.canales@biotec.utfsm.cl

El modelaje molecular se ha constituido en una herramienta valiosa en el estudio de fenómenos a nivel molecular. Ya que el completo aprovechamiento de esta técnica no esta al alcance de los centros Regionales de Investigación se ha desarrollado este servicio que contempla la predicción de la estructura terciaria de proteínas con una identidad de secuencia superior a un 30%. Este trabajo presenta el desarrollo de un servicio Web de modelaje automático de proteínas conectado a la base de datos de estructura terciaria de proteínas (PDB) localmente. El modelaje esta basado en Modeller y constituye una interfase simple de usar. El sitio contempla además enlaces a bases de datos de secuencia y Procheck, para la comprobación de la geométrica y esteroquímica del modelo. Los resultados que consiste en el archivo de estructura en formato PDB y el archivo diagnostico de modelaje son enviados por correo electrónico. El servicio contempla además consultas en línea al grupo de soporte del sitio.

Agradecimientos: Financiamiento Centro de Biotecnología. Universidad Técnica Federico Santa Maria.

267.- RECONSTRUCCION DE RUTAS METABOLICAS Y REGULATORIAS A PARTIR DEL GENOMA. (Reconstruction of metabolic and regulatory pathways from the genome). Huaquimilla, H., Canales, M. Centro de Biotecnología, Universidad Técnica Federico Santa Maria, #Avda. España 1680, Valparaíso, hhuaquim@elo.utfsm.cl, mauricio.canales@biotec.utfsm.cl

KEGG es la base de datos de genes y genomas de la Universidad de Kioto. Contiene además de la lista de todos los genes identificados de un organismo, 221 mapas de imágenes de las rutas metabólicas conocidas de microorganismos, plantas e invertebrados. Su implementación es difícil ya que no esta bien documentada sin embargo contiene herramientas para la comparación de rutas metabólicas y reacciones individuales que son importantes para aclarar la función de genes aún no identificados. En este trabajo se presenta la descripción y ejemplos de su utilización. Las bases de datos Pathway, Enzyme y Ligands que utiliza KEGG fueron bajadas del sitio ftp publico, otros archivos fueron volcados directamente del sitio de KEGG. La interconexión de los componentes requirió el desarrollo de nuevos scripts perl, redireccionamiento y modificación de algunos elementos dinámicos a estáticos. KEGG esta en un 95% operando y esta totalmente funcional para visualizar rutas metabólicas de referencia y activar la rutas específicas de más de 100 organismos diferentes. El acceso a KEGG local se hace a través de www2.biotec.utfsm.cl/ kegg/ y esta imágen permitirá colaborar con el posterior desarrollo y contar con este servicio en forma independiente de las dificultades de acceso a través de Internet.

Agradecimientos. Financiamiento Centro de Biotecnología, UTFSM-2002

ECOLOGIA

268.- ESTRUCTURA GENETICA Y FILOGEOGRAFÍA EN POBLACIONES CHILENAS DE Bufo spinulosus (ANURA: BUFONIDAE) (Genetic structure and phylogeography in Chilean populations of Bufo spinulosus (ANURA: BUFONIDAE)). Correa, C.^{1,2}; E. R. Soto¹; P. Iturra²; A. Veloso¹ & M. Méndez^{1,3}. 1.-Laboratorio de Vertebrados, Fac. de Ciencias; 2.- Programa de Genética Humana, ICBM, Fac. de Medicina; 3.-INTA, Universidad de Chile.

Bufo spinulosus presenta una distribución disjunta entre las regiones del Norte Grande y la Zona Central de Chile. La variación genética en este rango de distribución fue examinada utilizando marcadores RAPDs y secuencias de la Región Control del DNA mitocondrial. Un total de 105 ejemplares de 13 poblaciones fueron incluidos en los análisis de RAPDs y 45 ejemplares de 10 poblaciones para la Región Control. Los RAPDs fueron analizados utilizando métodos multivariados y AMOVA. Para las secuencias se utilizó análisis de Neighbor-Joining (K2P) y el soporte de cada grupo fue evaluado mediante bootstrap no paramétrico. La correlación entre la variabilidad genética detectada con ambos marcadores a nivel poblacional y las respectivas distancias geográficas entre poblaciones fue establecida usando la prueba de Mantel. Ambos marcadores independientemente muestran niveles similares de diferenciación y alta correlación entre distancia genética y geográfica. La comparación entre secuencias nucleotídicas evidencian alta divergencia entre los linajes que habitan las Regiones Primera, Segunda y la Zona Central. Estos resultados muestran una marcada estructuración genética para esta especie y sustentan la hipótesis de colonización por dispersión en sentido norte-sur.

Financiado por: FONDECYT 3000048-2000.

269.- MORFOMETRIA DEL PEPINO DE MAR ATHYONIDIUM CHILENSIS (SEMPER, 1868) (HOLOTHUROIDEA: CUCUMARIIDAE) Y SU RELA-CON CANGREJO SIMBIONTE \mathbf{EL} HOLOTHURIOPHILUS PACIFICUS (POEPPIG, 1836) (DECAPODA: PINNOTHERIDAE): ¿QUE TIPO DE SIM-BIOSIS ES? (Morphometry of the sea cucumber Athyonidium chilensis (Semper, 1868) (Holothuroidea: Cucumariidae) and its relationship with the endosymbiotic crab Holothuriophilus pacificus (Poeppig, 1836) (Decapoda: Pinnotheridae): what kind of symbiosis is it? Mellado A & George-Nascimento M., Departamento de Ecología Costera, Facultad de Ciencias, Universidad Católica de la Santísima Concepción.

Se estudiaron efectos recíprocos en la asociación simbiótica entre el pepino de mar Athyonidium chilensis como hospedador, y el cangrejo pinotérido Holothuriophilus pacificus como endosimbionte, a través de evaluar si existían relaciones morfométricas entre ellos que pudiesen dar cuenta de la biología de asociación. Para ello se comparó si existian diferencias entre pepinos con y sin el simbionte en su biomasa corporal e indice gonádico, y se indagó si la morfometría y fecundidad del decápodo estaban asociadas con las de su hospedador. El 35% de los pepinos de mar presentaban al simbionte, ocurriendo tanto en hembras como machos. El tamaño de H. pacificus aumenta con el tamaño del pepino, y a su vez, los cangrejos grandes tenían mayor fecundidad. La presencia de H. pacificus mostró ser determinante para explicar las variaciones tanto de la biomasa corporal como del índice gónadico de sus hospedadores los que fueron menores en comparación con los de pepinos de mar sin el simbionte. Se deduce que es una asociación parasitaria, por el efecto que tendría sobre la reproducción del hospedador.

270.- HABILIDAD COMPETITIVA INTER E INTRAESPECIFICA DE DROSOPHILA SUBOBSCURA. (Inter and intraspecific competitive ability of Drosophila subobscura) Ruiz G.; Kohler N.; Cid I. y Zuleta V. Instituto de Ecología y Evolución, Universidad Austral de Chile.

Recolecciones realizadas periódicamente en la Xª región, desde el año 1994 a la fecha, han demostrado que *Drosophila subobscura* ha ido incrementando paulatinamente su frecuencia.

Sin embargo, numerosos experimentos de competencia interespecífica, considerando solo una generación, han permitido inferir que esta especie, posee una habilidad competitiva inferior, con relación a las otras especies con que coexiste. Por otra parte, estudios realizados en nuestro laboratorio han mostrado que *D. subobscura* además de coexistir un mismo sitio de crianza (frutos) con otros drosofílidos, ha colonizado nuevos sustratos aún no utilizados por las otras especies. En consecuencia, postulamos que la competencia intraespecífica de *D. subobscura*, debería ser significativamente superior a las especies coexistentes.

Para poner a prueba esta hipótesis, se trabajó con *D. subobscura*, *D. immigrans* y *D. melanogaster*, en condiciones de monocultivo y escasez de alimento, con densidades de 60, 100 y 200 hembras. Los resultados mostraron que *D. subobscura* presenta una mayor eficiencia; el número de huevos ovipositados es menor, pero la proporción de éstos que llegan al estado de adulto es significativamente superior que las otras especies.

Los experimentos de competencia interespecífica a largo plazo, considerando pares de especies, indicaron que *D. subobscura* desplaza a *D. immigrans* después de 8 generaciones aproximadamente. Junto a *D. melanogaster*, los resultados son totalmente opuestos.

Financiado por DID S-200161, U. A.CH.

272.- VARIACIONES EN LAS CONDICIONES DE HABITAT FLUVIAL EN EL RIO BIO-BIO: EMBALSAMIENTO O ESTACIONALIDAD? Ginger Martínez¹ Manuel Contreras¹.², F. Fernando Novoa¹.². ¹Centro de Ecología Aplicada Ltda. ²Universidad de Chile. Santiago.

Cambios en las condiciones hidrodinámicas y una segregación espacial de la biota son los principales efectos del embalsamiento de los cursos de aguas. Sin embargo, no son tan evidentes las variaciones de condiciones fisicoquímicas en sistemas templados, en donde la marcada estacionalidad enmascara los potenciales efectos sobre el ecosistema fluvial. En este estudio se determina la importancia relativa de los factores: 1)Estacionalidad, 2)Embalsamiento del curso de agua y 3) Variación espacial, sobre la dinámica espacial de numerosas variables fisicoquímicas en el río Bio-Bio (45'N-73'W), bajo dos escenarios: Pre y Pos-Embalse. Bajo una condición de preembalsamiento las variables temperatura, pH, nutrientes y Clorofila a, respondieron principalmente al factor Estacionalidad del sistema (Andeva, p<0,05), lo cual contrastó con el escenario de Pos-Embalse, bajo el cual surgió el factor Embalsamiento como significativo en explicar los patrones de temperatura (Andeva; t=2,81; p<0,05), de PO₄ (Andeva, t=1,84; p=0,06) y fósforo orgánico (Andeva; t=1,85; p=0,06). Si bien, las otras variables limnológicas respondieron a la estacionalidad del sistema, el efecto del embalse sobre el régimen térmico y los nutrientes fosforados tendría significativas implicancias sobre los diversos componentes abióticos y bióticos del ecosistema fluvial.

Estudio desarrollado en el marco del Programa de Monitoreo Ambiental de ENDESA S.A.

271.- PATRONES DE DISTRIBUCION Y MOVIMIEN-TO DE LA TRUCHA ARCOIRIS ONCORHYNCHUS MYKISS (WALBAUM 1792) EN LA ZONA DEL ALTO BIOBÍO. (Distribution and migration patterns of the rainbow trout Oncorhynchus mykiss in the BioBío river). Cáceres, CW; Contreras, M¹;. Departamento de Ecología Costera, Facultad de Ciencias, Universidad Católica de la Ssma. Concepción; Casilla 297; Concepción, Chile.¹Centro de Ecología Aplicada, Suecia 3304, Santiago.

Uno de los tópicos mas relevantes y enigmáticos dentro de la biología de los peces lo constituyen los patrones de movimientos de estos organismos, tanto dentro de un ambiente (dulce o marino) como entre ambientes.

La fauna íctica dominante en las aguas de Chile continental son especies introducidas, la mayoría de ellas pertenecientes al Orden Salmoniformes, que incluye a truchas y salmones. Algunas de estas especies se han adaptado exitosamente completando su ciclo vital en estos ambientes y desplazando a las especies nativas.

En este trabajo se describen los patrones de movimiento de la trucha arcoiris entre ríos y esteros tributarios del río BioBío (VIII región). Esta zona fue visitada periódicamente entre 1998 y 2001, los individuos fueron capturados mediante pesca eléctrica, pesados y marcados electrónicamente.

Los resultados señalan que el 60% de los individuos se desplazó entre los diversos cursos de agua, no observándose un movimiento cíclico con retorno al lugar de origen.

Los ejemplares de mayor tamaño se encontraron en lagunas, en promedio los individuos que se desplazaron presentaron un tamaño corporal menor pero tasas de crecimiento similares a los que permanecieron en un mismo sitio. 273.- IMPLICANCIAS DEL EMBALSAMIENTO DE AGUAS EN EL REGIMEN TERMICO Y EN LA DISPONIBILIDAD DE NUTRIENTES: EL CASO DEL EMBALSE PANGUE. Manuel Contreras^{1,2}, Ginger Martínez¹. F. Fernando Novoa^{1,2}, ¹Centro de Ecología Aplicada Ltda.. ²Universidad de Chile. Santiago.

La concentración de nutrientes fosforados y el patrón de variación térmica en los cursos de agua regulados dependen del régimen de escorrentía de la cuenca y del régimen de descarga del embalse. Variaciones de estos parámetros solo serían predecibles durante el periodo de mayor metabolismo autotrófico (estival). El presente estudio analiza el patrón de variación de nutrientes fosforados y de temperatura en el río Bio-Bio (45'N-73'W), a través de dos periodos hidrológicos: otoño-invierno y primavera-verano, bajo una condición de embalsamiento del curso de agua. Los resultados mostraron diferencias de temperatura independientes de los periodos considerados, detectándose un aumento significativo de 2 °C en el tramo aguas abajo del embalse (Andeva de dos vías: Periodo: t=16,92; p<0,001; Tramo: t=-4,52; p<0,001). En este mismo periodo no se observaron diferencias de PO₄ y fósforo orgánico aguas abajo del embalse, lo que contrastó con los resultados obtenidos para primavera-verano, donde los nutrientes fosforados mostraron una significativa disminución en el tramo inferior al embalse de hasta 50% del valor detectado aguas arriba (Andeva de dos vías; PO₄: t=1,82: p=0,07; P_{tot} ; t=2,22; p=0,03). Se discuten las implicancias de una menor disponibilidad de fósforo y del aumento de temperatura en torno a potenciales modificaciones de la estructura ecosistémica del río Bio-Bio.

Estudio desarrollado en el marco del Programa de Monitoreo Ambiental de ENDESA S.A.

274.- VULNERABILIDAD DE LAS AVES DEL BOSQUE RELICTO DE FRAY JORGE (Bird vulnerability in the relict forest of Fray Jorge). Meynard, C. N.¹, Marquet, P. A.². ¹Department of Environmental Science and Policy, University of California. ²Centro de Estudios Avanzados en Ecología y Biodiversidad & Departamento de Ecología, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Es sabido que algunas especies son más afectadas que otras por las actividades humanas. Sin embargo, pocas veces se ha logrado entender cuales son las características que distinguen a estas especies. El bosque relicto de Fray Jorge constituye una oportunidad única para estudiar este tipo de relaciones, debido a su aislamiento y fragmentación. En este estudio, analizamos datos de censos de aves realizados en el bosque de Fray Jorge y matorral circundante, desde Mayo de 1996. La abundancia y frecuencia de las aves en los distintos hábitats fue analizada en relación a rasgos de historia de vida de las especies. Algunas de las características incluidas fueron el tamaño corporal, estrategias reproductivas, estrategias de alimentación y migración. Además se consideraron índices de vulnerabilidad descritos por otros autores, así como el estado de conservación de las especies.

Los resultados revelan diferencias importantes entre especies migratorias y residentes, así como entre las especies dependientes del bosque y las más generalistas. Este tipo de análisis puede ayudarnos a evaluar con mayor objetividad la vulnerabilidad de las aves frente a la fragmentación del bosque y crear estrategias de conservación coherentes.

Agradecimientos: Fulbright otorgada a C.M y FONDAP-FONDECYT N°1501-0001.

276.- LAS LARVAS DE ALSODES VANZOLINII Y A. VERRUCOSUS (ANURA: LEPTODACTYLIDAE)CON LAS DESCRIPCIONES DE LA MORFOLOGÍA DE LA CAVIDAD ORAL Y EL CONDROCRANEO. (The tadpoles of Alsodes vanzolinii and A. verrucosus (Anura: Leptodactylidae) with descriptions of their internal oral and chondrocranial morphology). Formas, J.R. y Brieva, L. Instituto de Zoología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Los renacuajos de Alsodes vanzolinii y A. verrucosus son descritos por primera vez. Estas descripciones incluyen morfología externa, cavidad oral y condrocráneo. Las larvas de ambas especies, al igual que aquellos renacuajos conocidos de las otras especies de Alsodes, son exotróficas y de hábitos bentónicos. Los caracteres de la morfología externa (pigmentación, aparato bucal, espiráculo, altura de la cola y origen de la aleta dorsal) y de la cavidad oral (papilas infralabiales) de las larvas de las especies de Alsodes son útiles en la comparación e identificación de las especies. Tomando en consideración los caracteres morfológicos de los adultos (machos) y las características externas de las larvas el género Alsodes es redefinido.

Trabajo financiado por el proyecto FONDECYT 1000426.

275.- ANALISIS CITOGENETICO DE CUATRO ESPECIES DEL GENERO ALSODES (ANURA: LEPTODACTYLIDAE) CON COMENTARIOS ACERCA DE SUS RELACIONES FILOGENETICAS Y EVOLUCION CROMOSOMICA. (Cytogenetic analysis of four species of the genus Alsodes (Anura: Leptodactylidae) with comments about their phylogenetic relationships and chromosomal evolution). Cuevas C.C. y Formas J.R. Instituto de Zoología, Universidad Austral de Chile.

Un análisis cromosómico comparativo entre Alsodes pehuenche, A. vanzolinii, A. verrucosus y A. aff. vittatus, muestra que todas estas especies comparten la formula 2n = 26; El número fundamental (NF) es 50 en A. vanzolinii, y 52 en A. aff. vittatus, A. pehuenche y A. verrucosus. Los cariotipos de A. pehuenche y A. aff vittatus son descritos por primera ves; así como los patrones de bandeo-C, la localización de las regiones organizadoras del nucléolo (NOR) y los patrones de bandeo-Q para las cuatro especies. De acuerdo con nuestros resultados los patrones de bandeo-C son específicos y útiles para identificar los taxa. Por otra parte la utilidad de los datos cromosómicos en la taxonomía y sistemática de Alsodes es discutida. Transformación de eucromatina a heterocromatina y fisiones céntricas son consideradas como los mecanismos principales que han gobernado la evolución cromosómica en el género Alsodes.

 $Trabajo\,financiado\,por\,el\,PROYECTO\,FONDECYT\,1000426$

277.- INFECCIONES Y RESISTENCIA A EPIFITOS EN Gracilaria chilensis (RHODOPHYTA) (Infection and resistance to epiphytes in Gracilaria chilensis (Rhodophyta). Beltrán J., Flores V., Rodríguez G., Henríquez C., Faugeron S., Martínez E.A. & Correa J.A. Centro de Estudios Avanzados en Ecología y Biodiversidad, Departamento de Ecología, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El fenómeno de epifitismo es de ocurrencia general en poblaciones naturales de macroalgas y alcanza condición de peste en cultivos comerciales. A pesar de sus consecuencias ecológicas y económicas, las bases bioquímicas de resistencia y susceptibilidad en sistemas epífito-hospedero son desconocidas. Este trabajo reporta la primera parte de un estudio de largo alcance cuyo objetivo es descifrar los sistemas de reconocimiento entre hospederos y sus epífitos que sirven de base para el establecimiento de resistencia. Usando praderas naturales y comerciales de G. chilensis, se evalúa la diversidad y abundancia relativa de los epífitos. Simultáneamente, en cultivos de laboratorio se obtiene la expresión de propágulos de epífitos asentados pero no detectables macroscópicamente. Los epífitos muestran una prevalencia dinámica, fluctuando entre 20 y 99% en 4 meses. Sin embargo, el 90% de los individuos aparentemente libres de epífitos expresa, en cultivos de laboratorio, una flora epifítica cuya composición es significativamente distinta a la que aparece en condiciones naturales. Estos mismos talos permanecen con carga epifítica reducida en condiciones naturales. Se postula que la resistencia en Gracilaria chilensis consiste principalmente en evitar la expresión macroscópica de los epífitos y/o el asentamiento de los propágulos infectantes.

Proyecto INCO-EPIFIGHT.

278.- SEXO EN ALGAS CON CICLO DE VIDA COM-PLEJO (Sex in algae with complex life cicle) Rodríguez, G., Cárdenas, L., González, A., Martínez, E. Departamento de Ecología, Centro de Estudios Avanzados en Ecología y Biodiversidad, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Gracilaria chilensis es un alga roja, dióica, que presenta un ciclo de vida haplo-diploide y una herencia mendeliana de los caracteres sexuales. Alternativamente, su multiplicación es de tipo vegetativo, característica usada en la propagación de individuos en las praderas comerciales. Tanto para esta especie, como para las macroalgas en general, se desconocen los mecanismos de determinación del sexo, particularmente si son sólo genes o cromosomas los que determinan tanto el sexo, como la alternancia de generaciones. Como primer paso en el estudio de estos mecanismos es necesario encontrar al menos los sectores del genoma asociados a la expresión del sexo. En este estudio se buscaron y describen marcadores moleculares ligados a esta determinación. Se utilizó el ADN genómico de gametofitos masculinos y femeninos y tetraesporofitos de G. chilensis, material con el que se realizó un rastreo molecular aleatorio mediante la técnica de Bulked Segregant Analysis (BSA) usando partidores arbitrarios RAPD (Random Amplified Polymorphic Dna).Los resultados indican que los marcadores moleculares encontrados aparecen 100% asociados a la determinación del sexo en Gracilaria chilensis. Esta metodología permite avanzar significativamente en estudios demográficos y en el entendimiento de la determinación del sexo en macroalgas. FONDAP-FONDECYT 15010001-1, INCO-EPIFIGTH.

279.- IMPACTO DE LA MINERIA DEL COBRE SOBRE LA DIVERSIDAD BIOLOGICA EN UNA ZONA COSTERA DEL NORTE DE CHILE (Copper tailing impact over the biological diversity in a coastal zone of Northern Chile). Camus, C., Mella, D., Ramírez, M & Correa, J.A. Centro de Estudios Avanzados en Ecología y Biodiversidad, Departamento de Ecología, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La Bahía de Chañaral y zonas aledañas han recibido durante décadas las descargas de la mina de cobre El Salvador, lo que ha provocado cambios topográficos en la costa y la desaparición inicial casi total de la biota bentónica del lugar. Caleta Palito, 10 km al norte de Chañaral, ha recibido desde 1976 las descargas directas de la mina, y aunque desde 1990 estas aguas llegan libres de sedimentos, el sistema permanece aún bajo los efectos de las descargas, lo que se asocia a una persistente ausencia de especies bentónicas.

El presente estudio realiza un análisis comparativo de la situación actual con la descrita por nuestro grupo para 1995. Las comparaciones incluyen cambios en la biota y en el nivel de metales disueltos en la columna de agua y se centra en cuatro sitios cercanos al punto de descarga. Se consideran, además, dos sitios controles, no afectados por el relave, ubicados a 50 y 70 km al norte y al sur de éste. Nuestros resultados muestran que las diferencias entre sitios impactados y control persisten, tanto en los niveles de metales como en la diversidad biológica. Se observa una relación inversa entre la concentración de cobre y la diversidad, especialmente en macroalgas. Se discuten posibles factores adicionales al enriquecimiento por metales para explicar la mantención de la aún baja diversidad biológica del lugar.

FONDAP 15010001-1

280.- ABUNDANCIA Y USO DEL ESPACIO DE UNA POBLACION DE GUANACOS (Lama guanicoe) EN CHILE CENTRAL. C. Veloso¹, B. Gonzáles², F. Novoa1¹, M. Contreras¹ y A. Peñaloza¹. ¹ Centro de Ecología Aplicada Ltda. y ² P. Universidad Católica de Chile.

Lama guanicoe se distribuye entre los 8° y los 55° S y es considerada como especie en peligro de extinción en la zona central de Chile. El objetivo de este trabajo es analizar el estado actual de la población de Guanacos de las quebrada Manque, Piuquenes y Hualtatas (IV Región).

Los resultados corresponden a 3 años de monitoreo bimensual. Se determinó la abundancia de cada clase de edad. El ámbito de hogar se determinó utilizando telemetría satelital (5 animales) y el método del mínimo polígono convexo.

El tamaño poblacional máximo fue 228 y el mínimo de 17 individuos. Los ámbitos de hogar van entre las 1.048 ha y las 24.397 ha. El rango de distribución altitudinal va entre los 1.000 y los 4.000 m.s.n.m.

Los animales muestran una mantención de los ámbitos de hogar, y una relativa baja movilidad a lo largo del tiempo. Los tamaños de los grupos tienden a ser mayores en invierno que en verano. Los individuos que se quedan en las quebradas tienden a concentrarse en las áreas bajas durante el invierno y utilizan proporcionalmente todas las quebradas en verano (desplazamiento altitudinal). Finalmente, el tamaño poblacional se ha mantenido constante a lo largo de los 3 años de monitoreo.

Estudio desarrollado en el marco del Programa de Monitoreo Ambiental de Minera Los Pelambres Ltda.

281.- CAMBIO A TRAVES DEL TIEMPO EN LA CO-MUNIDAD DIATOMOLOGICA ESTUARINA DESPUES DE UN EVENTO SISMICO. (Changes Through Time Of The Estuary Diatoms Assemblage After Seismic Event). Torres, L*; Araneda A **& Cisternas, M***. *Depto. Botánica. Facultad de Cs Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción. ** Centro de Estudios Ambientales Eula-Chile. *** Facultad de Agronomía, Universidad Católica de Valpáraiso. latorres@udec.cl

Existe interés científico en estudiar los cambios en las comunidades de diatomeas a través del tiempo para su utilización como indicadoras de eventos sísmicos. Esto se basa en que junto con el terremoto el continente se hunde, tornándose el ambiente estuarino más halófito, provocando un cambio en las comunidad de diatomeas. Esta condición cambiaría a través del tiempo hacia ensambles continentales debido a un levantamiento progresivo del continente.

Sobre la base de lo anterior se estudiaron los cambios, a través del tiempo, en la comunidad de diatomea desde un periodo previo al terremoto de 1960 y hasta la actualidad. Para cumplir con este objetivo se trabajo con el registro diatomológico contenido en una columna sedimentaria del Estuario del río Imperial (IX región, Chile) de 30 centímetros dentro del cual está el registro del terremoto del año 1960.

Las especies Cymbella minuta, Diatoma tenue, Nitzschia parvula, Nitzschia levidensis y Roiscosphenia curvata son las más abundantes a través de toda la columna sedimentaria. No existe un cambio notorio en la comunidad después del terremoto, ni aparición de especies marinas. Los principales cambios se dan en especies de poca abundancia. El análisis de cluster muestra que los centímetros de sedimento analizados tienen una alta similitud, dividiéndolos en tres grupos. Los centímetros más profundos (pre-terremoto) más similares con los superficiales, diferenciándolos levemente de los centímetros inmediatamente posteriores al terremoto.

282.- ASPECTOS DE LA ECOLOGIA TROFICA DE POBLACIONES DE PECES DEL RIO CHILLAN (VIII REGION, CHILE). (Trophic ecological aspects of the fish populations from Rio Chillan, VIII Region, Chile). Berrios, P.¹, Araya, E.², Figueroa, R.², Ruiz, V.¹ & Palma, A.¹¹ Departamento de Zoología, Universidad de Concepción. ² Laboratorio de Ecología Bentónica, Centro de Estudios Am-bientales EULA – Chile.

Se estudiaron las especies ícticas tanto nativas como introducidas que habitan en el curso principal del Río Chillán. Se estableció la amplitud del espectro trófico de cada especie. importancia relativa de las presas en la dieta y grado de selección que los depredadores realizan en el sistema. Se determinó, también, el grado de solapamiento dietario de las especies analizadas en el estudio. La información entregada por el contenido estomacal fue analizada cuantitativamente mediante el empleo de índices alimentarios, de heterogeneidad trófica, diversidad, electividad v el Índice de Morisita Simplificado (CH). Se aplicaron también análisis de conglomerados. Test U de Mann - Whitney v el Coeficiente de Correlación de Spearman. Los resultados muestran diferencias significativas (p> 0.05) en la composición del espectro trófico de las diferentes especies, así como en la importancia relativa (IIR%) de las presas que componen sus respectivas dietas. El grado de selección que los depredadores realizan en el ambiente es marcadamente diferente entre las especies ícticas nativas e introducidas. El nivel de solapamiento dietario de las diferentes especies analizadas se acentúa al interior de los grupos "nativos" e "introducidos" y disminuve al comparar entre estos dos grupos.

Agradecimientos: Proyecto SAG Nº VIII 4-36-0199, del Dr. Ricardo Barra.

283.- EFECTOS FRATERNALES, PATERNALES Y DE SEXO SOBRE EL RECONOCIMIENTO DE PARENTESCO EN Octodon degus (Fraternal, paternal and sex effects on kin recognition in Octodon degus) Villavicencio C.P., Márquez N., Cecchi M.C. & Vásquez R.A. Departamento de Ciencias Ecológicas, Universidad de Chile.

La influencia inequívoca de parentesco genético y familiaridad sobre el reconocimiento de parientes en mamíferos ha sido escasamente estudiada, particularmente dadas las dificultades asociadas al aislamiento del ambiente temprano compartido. En este trabajo utilizamos individuos de generaciones diferentes y comparamos (i) parejas "fraternales" (de hermanos o hermanas), y (ii) parejas "paternales" (padre e hijo). Cada grupo se comparó con parejas control sin parentesco genético y con clases etarias similares. Los roedores no tuvieron contacto previo, salvo por los individuos fraternales durante gestación y lactancia. Se realizaron experimentos de discriminación evaluando exploración y agresión. Se encontró una interacción significativa entre familiaridad y parentesco genético en exploración y agresividad en los experimentos "fraternales". Las parejas de machos exploraron más tiempo que las hembras, particularmente entre hermanos. Las parejas de machos no-emparentados mostraron niveles de agresividad mayores que otras parejas. En los experimentos "paternales" no se encontraron diferencias significativas entre parejas "padre-hijo" y controles, tanto en exploración como agresividad. Los degus machos logran reconocer hermanos completos después de largo tiempo de separación, pero son incapaces de discriminar individuos paternales a pesar de poseer el mismo coeficiente de parentesco. Postulamos que la familiaridad y las diferencias entre clases etarias juegan un papel importante en la discriminación social. (FONDECYT 1020550, Milenio P99-103-F ICM)

284.- ESTUDIO RURAL Y PERIURBANO DE ROEDO-RES ASOCIADOS A CASOS CONFIRMADOS DE SIN-DROME CARDIOPULMONAR POR HANTAVIRUS EN CHILE CENTRAL. (Rural and periurban rodent's study involved in confirmed cases by hantavirus cardiopulmonary syndrome in central Chile). Torres-Pérez,F.\frac{1.2}{2}, Navarrete-Droguett,J.\frac{3.4}{2}, Vial, P.\frac{5}{2}, Palma,R.E.\frac{6}{2}. \frac{1}{2}Programa Graduados, Universidad de Concepci\u00f3n. \frac{2}{2}Departamento de Ecolog\u00eda, Facultad Ciencias Biol\u00f3gicas, P.Universidad Cat\u00f3lica de Chile. \frac{3}{2}Facultad Medicina, P. Universidad Cat\u00f3lica de Chile. \frac{5}{2}Facultad Medicina, Universidad del Desarrollo. \u00e3Centro de Estudios Avanzados en Ecolog\u00eda y Biodiversidad, P.Universidad Cat\u00f3lica de Chile.

Los casos de enfermedad por Síndrome Cardiopulmonar por Hantavirus han sido registrados en nuestro país desde 1995, ocurriendo la mayor parte de ellos en áreas rurales y periurbanas, siendo transmitida en nuestro país principalmente por roedores sigmodontinos. Realizamos un estudio para evaluar las relaciones entre la presencia de especies de roedores que han resultado ser serológicamente positivos a anticuerpos de Hantavirus, con casos confirmados humanos de la enfermedad en Chile central. Los resultados de 17 sitios muestreados entre la V y VIII regiones, que involucraron las capturas de 263 roedores durante julio 2001 – junio 2002, mostraron la presencia de nueve especies de micromamíferos, de las cuales, cuatro especies han sido previamente descritas como seropositivas al virus Hanta. Se entregan los resultados de abundancias relativas de las especies por sitio, y los análisis serológicos de los micromamíferos capturados. Su principal reservorio, Oligoryzomys longicaudatus, fue la única especie seropositiva en este estudio. Se discute la importancia de la enfermedad en torno a la biología del roedor.

Financiado por proyecto NIH-ICIDR 1 U19 AI45452-01 (USA)

285.- TRANSMISION INTRA E INTERESPECIFICA DE HANTAVIRUS (CEPA ANDES) EN DOS ROEDORES SIGMODONTINOS. (Intra and interespecific transmissions of hantavirus (Andes strain) in two sigmodontine rodents). Murúa, R¹., Jofré, C¹. Figueroa, R¹., Cádiz, R¹., Navarrete, M². Pizarro, E³. Rodríguez, E³. Padula, P⁴. & L. Zaror². Universidad Austral de Chile, Institutos ¹de Ecología y Evolución, ²de Microbiología Clínica, ³Instituto de Histología y Patología, ⁴Carlos Malbrán, Argentina.

En el bosque San Martín se construyó un bioterio al aire libre equivalente a un laboratorio de nivel bioseguridad 4, con nidos consistentes en 20 tambores de 200 lt enterrados en el suelo, con jaulas de crianza de 300 x 300 x 145 mm en su interior, donde se realizaron experimentos de transmisión directos e indirectos entre animales seropositivos v seronegativos a hantavirus, Oligoryzomys longicaudatus y Abrothrix olivaceus. En los experimentos indirectos se introdujeron animales seronegativos en jaulas utilizadas previamente por seropositivos. En los directos se realizaron encuentros simultáneos por 24 horas en la misma jaula. Todos los animales seronegativos utilizados fueron dejados en cuarentena previa, obteniéndose muestras de sangre al ingreso y después de 40 días. Se realizaron en total 115 experimentos directos y 65 indirectos. Se obtuvieron 12 animales infectados, todos por encuentros directos, 10 en encuentros intraespecíficos de Oligoryzomys longicaudatus y 2 interespecíficos O. longicaudatus (+) x Abrothrix olivaceus (-). De esta forma, se postula que la transmisión necesita de un contacto físico directo, no necesariamente agresivo.

Financiamiento: Fondef D99i1105

286.- INFERENCIAS SOBRE LA LOCOMOCION DE DINOSAURIOS TEROPODOS VÍA MODIFICACIONES MORFO-FUNCIONALES EN Gallus gallus (Inferences about theropod dinosaur locomotion via morpho-functional modifications in Gallus gallus). Grossi, B., Larach, O. & Vásquez, R. A. Depto. Cs. Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Patrocinio: R. A. Vásquez

Estudios recientes han utilizado aves para el estudio de la locomoción de dinosaurios terópodos sustentados por la proximidad filogenética de ambos grupos. Sin embargo, algunas diferencias morfológicas entre grupos sugieren cautela en las inferencias hacia la biología de terópodos. Por ejemplo, la orientación del fémur en aves se mantiene con poca variación durante la zancada, mientras que en terópodos, el pivote se realizaba en la cadera, por lo que el fémur tenía mayor movimiento. Estas diferencias serían producto de la existencia de cola en el grupo extinto y su virtual inexistencia en el grupo actual. La cola de dinosaurios bípedos movilizaba el centro de masa en sentido posterior, determinado un patrón de locomocióin diferente al observado en aves. En este trabajo, extendimos un estudio de Carrano & Biewener (1999), con el fin de reproducir la locomoción terópoda primitiva. Para esto realizamos manipulaciones fenotípicas en gallos (Gallus gallus) modificando el centro de masa a través de la adición de colas artificiales. Los animales con colas artificiales tuvieron desplazamientos del fémur significativamente mayores durante la locomoción, apoyando la hipótesis que predice mayor movilidad ha medida que el centro de masa se aproxima a la cadera. Nuestros resultados destacan la importancia de incorporar el desarrollo ontogenético en los estudios que utilizan aves como análogos para analizar la locomoción de dinosaurios terópodos.

Financiamiento: P99-103-F ICM

287.- PRESENCIA DE PAHS EN SEDIMENTOS PROVENIENTES DE LA PARTE BAJA DEL RIO BIOBIO: EFECTOS EN EL SISTEMA ENZIMATICO CYP4501A1 Y DAÑO CITOGENETICO EN Oncorhynchus mykiss (WALBAUM, 1792)(*). (Presence of PAHS in sediments from the mouth of the Biobío River: Effects in the enzymatic system CYP4501A1 and cytogenetic damage in O. mykiss). Inzunza, B¹. Gavilán, JF². Peñalosa, M² y Barra, R¹. Unidad de Sistemas Acuáticos, Centro EULA-Chile¹. Facultad de Ciencias Biológicas². Universidad de Concepción. Chile. binzunza@udec.cl.

La inducción del citocromo P4501A1 (CYP1A1) se utiliza ampliamente como biomarcador para determinar exposición a hidrocarburos poliaromáticos (PAHs) en peces, así como también, el ensayo del cometa permite determinar y cuantificar el daño inducido en el ADN de células aisladas. Este estudio evaluó las respuestas del CYP1A1 (medida como actividad etoxiresorufina-o-detilasa EROD y benzopirenomonoxigenasa BPMO) en hígados y se cuantificó el daño inducido en el ADN de eritrocitos de Oncorhynchus mykiss, expuestos en bioensayos a sedimentos colectados en el área de la Desembocadura del río Biobío, Chile. Los sedimentos fueron obtenidos en el punto de descarga (zona de impacto y postimpacto) y en áreas cercanas (zona de preimpacto y Desembocadura) a un efluente industrial en el río Biobío. El sedimento control provino del río Itata. Análisis químicos indicaron la presencia de PAHs en sedimentos de las áreas impacto y postimpacto. Los resultados, muestran una inducción significativa del CYP1A1 y la presencia de cometas (núcleos dañados) sólo en peces expuestos a los sedimentos contaminados con PAHs. Esto permiten concluir que los PAHs presentes en los sedimentos (zona de impacto y postimpacto)fueron incorporados por los peces provocando: a) la inducción del CYP1A1 en el hígado y b) daño genotóxico en eritrocitos.

(*)Financiamiento Proyecto DIC P.I. Nº 202.031.090-1.0

288.- EFECTO DE LA DENSIDAD Y LA TEMPERATURA SOBRE LA TASA METABOLICA EN LARVAS DE Bufo spinulosus. (Effects of density and temperature on the metabolic rates of Bufo spinulosus larvae). Benavides A.G.¹, A. Veloso¹, P. Jiménez¹ y M. Méndez. ^{1,2}. 1. Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias. 2.- INTA, Universidad de Chile.

En los anfibios el efecto de la densidad y la temperatura sobre el tiempo y el tamaño a la metamorfosis estaría mediado por su relación inversa sobre la disponibilidad de energía para crecer. Un aspecto que no ha sido considerado es la posibilidad de que la densidad por si misma afecte las tasas metabólicas de las larvas, independientemente de la disponibilidad de alimento. El objetivo del presente trabajo fue determinar experimentalmente si la densidad y la temperatura de crecimiento afectan la tasa metabólica en larvas del anfibio Bufo spinulosus. Para ello, se determinó el consumo de oxígeno en larvas provenientes de una misma postura (hermanas), las que fueron mantenidas a tres densidades (5, 15 y 30 individuos por 600 ml) y alimentadas ad libitum. Un grupo de densidad intermedia se mantuvo a dos temperaturas (15°C y 25°C). Los resultados sugieren que la densidad y la temperatura afectan la tasa respiratoria, no existiendo compensación metabólica. La densidad de larvas afectaría la energía destinada al crecimiento, independiente de la disponibilidad de alimento. Adicionalmente, en larvas que crecen en ambientes de temperatura alta, se descartaría la existencia de compensación metabólica.

Financió FONDECYT 3000048; MILENIO P99-103F ICM y BECA DID.

289.- RESTRICCION HIDRICA DURANTE LACTAN-CIA EN OCTODON DEGUS: CONSECUENCIAS FISIO-LOGICAS Y REPRODUCTIVAS. (Water restriction during lactation in Octodon degus: physiological and reproductive consequences) C. Veloso, Centro de Ecología Aplicada (CEA), E-mail: c.veloso@entelchile.net.

El agua es un elemento limitante durante el período de lactancia, restricciones en su disponibilidad son centrales en el éxito reproductivo. El objetivo de este trabajo es estudiar algunos mecanismos fisiológicos asociados al balance hídrico durante lactancia y sus consecuencias reproductivas en una especie que naturalmente se ve enfrentada a fuertes variaciones intra e interanuales en la disponibilidad de agua durante su ciclo reproductivo.

Tres grupos de 5 hembras lactantes cada uno fueron mantenidas con un régimen de agua diferencial (ad lib., 23 ml y 14 ml). A lo largo de 17 días, se determinó la masa corporal de hembras y crías durante 17 días, la composición química de la leche, el contenido de agua en fecas y su producción, la concentración de la orina, y 3 variables digestivas.

Los valores de ingesta y asimilación de materia son significativamente mayores en el tratamiento ad lib., la digestibilidad se mantuvo constante. Se detectó coprofagia y una capacidad de concentración de orina significativamente mayor y una pérdida de agua fecal significativamente menor en los dos tratamientos con restricción hídrica. La calidad de la leche no se afectó significativmente, pero sí la producción. Enfrentadas a condiciones de restricción hídrica, las hembras de O. degus presentan mecanismos digestivos y urinarios de ahorro de agua que permitirían llevar a término la lactancia, sin embargo, si estas condiciones son severas, las madres y las crías pagarán altos costos, los que pueden llegar incluso a afectar su sobrevivencia.

Fondecyt 3970027.

290.- EFECTO DE LA DIETA EN LA BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE ISOPODOS TERRESTRES (Diet effect in breeding biology of terrestrial isopods)Carter,M. Centro Estudios Avanzados en Ecología & Biodiversidad, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile

Aclimatación se define como un ajuste fisiológico frente a un cambio en una variable ambiental. Si este ajuste es o no beneficioso no es trivial, debido a sus implicancias adaptativas. Para la mayoría de los artrópodos herbívoros, la composición de la dieta varía notoriamente en el ambiente. Exploramos cómo la calidad de la dieta afecta los rasgos de historia de vida en el isópodo Porcellio laevis y si esta aclimatación tiene un efecto a mediano plazo (intergeneracional). Se sometieron 90 hembras a tres tratamientos, control (igual proporción de proteínas y carbohidratos), alto proteínas y alto carbohidratos. Se estimó tasa de crecimiento en los adultos (TCA), número de juveniles por hembra (NJ), período de incubación (PI), tamaño del juvenil al eclosionar (TJ) y tasa de crecimiento de juveniles (TCJ). Los resultados fueron: PI más corto en hembras cultivadas en el tratamiento alto en carbohidratos, NJ mayor en dieta control, TCA no difiere entre tratamientos, TJ mayor en dieta alto carbohidratos y TCJ mayor en dieta alta en proteínas. Se concluye que los requerimientos energéticos difieren significativamente durante la ontogenia del individuo y que existen compromisos entre rasgos que son balanceados por decisiones de asignación de recursos por parte de la hembra.

Agradecimientos: FONDAP 1501-001.

291.- FORRAJEO Y DIGESTION EN EL PEZ ENDEMICO DE CHILE, DIPLOMYSTES NAHUELBUTAENSIS (PISCES; DIPLOMYSTIDAE). (Foraging and digestion in the Chilean endemic fish Diplomystes nahuelbutaensis). Astete-Espinoza,L.; Inostroza,J; Contreras, M; Cáceres, CW¹. Centro de Ecología Aplicada, Suecia 3304, Santiago. ¹Departamento de Ecología Costera, Facultad de Ciencias, Universidad Católica de la Ssma. Concepción; Casilla 297; Concepción, Chile.

Diplomystes nahuelbutaensis es una especie endémica en peligro de extinción que se distribuye en las hoyas hidrográficas de la zona centro sur de Chile. El conocimiento acerca de la biología de esta especie es escaso. En este trabajo se estudia la biología trófica esta especie a través de caracterizar sus patrones de forrajeo y su relación con la composición química de los diferentes ítemes dietarios, la eficiencia de asimilación, el tiempo de transito de los alimentos por el tracto digestivo y los patrones de actividad de enzimas digestivas.

Los resultados indican que la dieta de esta especie esta compuesta exclusivamente por invertebrados de pequeño tamaño. Los ítemes tróficos principales son el crustáceo Aegla sp y larvas del díptero Orthoclapius sp.. En laboratorio D. nahuelbutaensis selecciono activamente los individuos de Aegla sp. por sobre los de Orthoclapius sp., el tiempo de tránsito medio fue de 14 h y la eficiencia de asimilación fue de 74% para el principal ítem dietario.

Esta especie presenta un tracto digestivo diferenciado con un estómago ácido e intestino alcalino. En ambas secciones se detecto actividad enzimática, principalmente proteasas, amilasas, quitinasas y lipasas.

292.- COSTO-BENEFICIO EN LA TERMORREGULACION DE Chinchilla brevicaudata (Cost-benefit in termoregulation of Chinchilla brevicaudata) Cortés, A., y Tirado, C., Depto. Biología, Fac. Ciencias, Universidad de La Serena.

Chinchilla brevicaudata, habita en ambientes extremos. Postulamos que este roedor presentaría atributos fisiológicos que minimizarían el costo energético e hídricos. Para probar esta hipótesis, se midió: consumo de O_2 (atmósferas aire y He- O_2), evaporación pulmocutánea (EWL) y temperatura corporal (T_b) a diferentes T_a . Se estimaron T_a @ (MWP=EWL) y MR-WB, que evalúan la eficiencia de la regulación del agua y el costo energético de mantención del balance hídrico (BH), respectivamente.

Los resultados indican que *C. brevicaudata* presentó: 1) Baja tasa metabólica basal (BMR = 0,498 mlO₂/g h) y baja conductancia térmica (C^{aire} = 0,0239 ml O₂/g h °C), equivalente al 67,2 y 51,0% del predicho para mamíferos euterios de similar masa corporal (m_b). 2) Una C^{He} = 0,0544 y una tasa metabólica máxima (MMR = 2,52 ml O₂/g h). MMR/BMR = 5,1, indicando escasa capacidad termorregulatoria a bajas T_a . Sin embargo, su temperatura crítica letal (T_{LL} = - 67,8°C), fue baja respecto a otros roedores. 3) EWL = 0,498 mg H₂O/g h, similar a lo esperado para roedores de hábitat xéricos. 4) T_a @ = 10,6°C, lo que indica baja T_a . @ (MWP=EWL). Sin embargo, MR-WB = 3,71 cal/g h, equivale al 85,3% del estimado para roedores de hábitat xérico de similar m_b .

En síntesis, *Chinchilla brevicaudata*, posee atributos fisiológicos que favorecen ahorro de energía y agua para su termorregulación.

Financiado: FONDECYT 1920797.

293.- COSTO METABOLICO ASOCIADO CON LA INGESTA DE FRUTOS DE PIMIENTO (SCHINUS MOLLE) EN EL ZORRO PSEUDALOPEX CULPAEUS (Metabolic costs associated with the ingestion of peppertree fruits (Schinus molle) in the fox, Pseudalopex culpaeus), Silva, SI.¹, Jaksic, FM.² & Bozinovic, F³, Centro de Estudios Avanzados en Ecología & Biodiversidad, P. Universidad Católica de Chile, E-mail: 1ssilva@genes.bio.puc.cl, 2fjaksic@genes.bio.puc.cl, 3fbozinov@genes.bio.puc.cl.

Estudiamos los costos metabólicos asociados con la ingesta de frutos de pimiento (Schinus molle) en el zorro culpeo, Pseudalopex culpaeus. El zorro culpeo es el segundo cánido más grande de Sudamérica. A lo largo de su rango de distribución, se alimenta de roedores y vertebrados pequeños, pero también se alimenta de frutos de pimiento, el que representa el 98% del total de frutos consumidos por el zorro culpeo en ambientes semiáridos del norte de Chile. Los frutos de pimiento contienen una alta diversidad de fitoquímicos. Los zorros alimentados con dietas compuestas por ratas y frutos de pimiento (dietas mixtas) exhibieron un 50% de incremento en la tasa metabólica basal en comparación a zorros alimentados solamente ratas. Así, la ingesta de frutos con defensas químicas como el pimiento tiene un costo energético para el zorro, reflejado en valores más altos de metabolismo basal. Este incremento de la tasa metabólica basal puede asociarse a un incremento de síntesis de proteínas detoxificantes y reparadoras de tejido, incluyendo la producción de enzimas biotransformantes.

294.- ANALISIS DE VIA DE LAS CAUSAS DEL META-BOLISMO ENERGETICO EN EL ROEDOR MÚRIDO PHYLLOTIS DARWINI: VARIABLES LATENTES, TA-MAÑO CORPORAL Y ACLIMATACION TERMICA (Path analysis of causes of energy metabolism in the murid rodent P. darwini: latent variables, body size and thermal acclimation). Nespolo RF, Arim M & Bozinovic F. Centro de Estudios Avanzados en Ecología y Biodiversidad, P. Universidad Católica de Chile.

El tamaño corporal ejerce profundas consecuencias sobre el metabolismo energético de los vertebrados. Sin embargo, su análisis se ve complicado cuando la variable de medición es una consecuencia del tamaño corporal o el metabolismo en cada caso, que incluyen error de medición. El modelamiento de ecuaciones estructurales permite incluir variables latentes, no medidas pero hipotéticamente relacionadas con las variables manifiestas. Se midieron 4 variables fisiológicas representativas del balance energético de mamíferos (metabolismo máximo, non-shivering thermogenesis, metabolismo basal y conductancia térmica) y cinco con el tamaño corporal (largo total, largo del pie, y tres masas corporales diferentes) en 108 individuos sometidos a aclimataciones térmicas contrastantes. Los modelos de vías fueron ajustados mediante mínimos cuadrados generalizados y máxima verosimilitud, y se pusieron a prueba en base a la distribución de X2 observada y la construída a través de bootstrap y simulaciones de Monte Carlo. Los diagramas de vías con mejor ajuste fueron aquellos que relacionaban al tamaño corporal directamente con las variables fisiológicas medidas (i.e., sin variables intermediarias). La aclimatación cambia radicalmente la bondad del ajuste y los coeficientes de vías entre masa y metabolismo. FONDAP 1501-001, DIPUC (MA).

295.- PATRONES ZOOGEOGRAFICOS DE CEFALOPODOS EN AGUAS CHILENAS (Zoogeographical patterns of cephalopods in Chilean waters) Ibáñez, C. M.¹ & Rocha, F. J.², ¹Departamento de Ecología Costera, Facultad de Ciencias, Universidad Católica de la Santísima Concepción, Casilla 297, Concepción, Chile. cibanez@ucsc.cl. ²Instituto de Investigaciones Marinas, Eduardo Cabello, 6-36208, Vigo, España. Frocha@iim.csim.es.

En este estudio, se realizaron análisis distribucionales, de riqueza y ordenación jerárquica, sobre las bases de datos disponibles de la distribución geográfica de 87 especies de cefalópodos reportados en aguas chilenas con objeto de indagar sobre los patrones de distribución latitudinal. La mayoría de las especies poseen un amplio rango de distribución geográfica a lo largo de la costa chilena, representados por seis grupos de especies asociados a las corrientes y masas de agua de la costa chilena, de las cuales 12 especies se distribuye desde 18° S - 56° S; 18 especies se distribuyen desde 18° S -30° S, 28 especies se distribuyen desde 18° S - 42° S, 7 especies se distribuyen desde los 30° - 56° S; 20 especies se distribuyen desde los 42° a 56° S, y solo 2 especies se distribuyen desde los 30° S - 42° S. Además se encontró una ausencia de endemismo; un decrecimiento en la riqueza latitudinal de especies, con una sobreposición máxima de 67 y 68 especies en los 30° S y 42° S respectivamente, y tres unidades biogeográficas con quiebres distribucionales en los 30° S y 42° S coincidiendo con trabajos previos.

296.- MIGRACION VERTICAL Y TRANSPORTE DE LARVAS DE CRUSTACEOS DECAPODOS BRAQUIUROS EN LA COSTA DE CHILE CENTRAL.

(Daily vertical migration and larval transport of decapods larvae in Central Chile) Juárez¹ S., Poulin¹ E., Palma² A., Ojeda¹ P. ¹ Centro de Estudios Avanzados en Ecología & Biodiversidad, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago. ² Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias, Universidad Católica de la Ssma. Concepción, Casilla 297, Concepción, Chile

En este trabajo se estudió el patrón de migración vertical diaria (DVM) de los estadíos larvales de crustáceos decápodos braquiuros (jaibas) en la costa de Chile central, mediante el muestreo estratificado a distintas profundidades, durante la transición noche- día. Se observa un patrón de DVM normal, en donde tanto zoeas (larva pre-competente) como megalopas (larva competente), suben a capas más superficiales durante la noche y bajan a capas más profundas durante el día. Además se estudió la distribución de larvas durante eventos de surgencia, encontrando una acumulación de larvas (zoeas y megalopas) entre el frente de surgencia y la costa. Los mecanismos por los cuales ocurre transporte y acumulación de especies de jaibas cerca de la costa, dependen principalmente del comportamiento larval (profundidad en la que permanecen en un tiempo determinado, tipo de migración vertical) y de los procesos oceanográficos locales.

Financiado por los proyectos FONDAP-FONDECYT 1501-0001 y FONDECYT 1020499

297.- EVALUACION DE CAMBIOS EN LOS NIVELES DE RADIACION UV UTILIZANDO LIQUENES COMO BIOINDICADORES. (The evaluation of changes in UV radiation levels using lichens as bioindicators). Rubio, C.*, Hidalgo, M.E. **, Fernández, E.*, Quilhot, W.* Facultad de Farmacia *, Facultad de Ciencias **, Universidad de Valparaíso, Casilla 5001, Valparaíso. cecilia.rubio@uv.cl

Existe un paralelismo entre el aumento exponencial del impacto humano en los ecosistemas y el aumento de la alteración del ambiente; cambios globales, contaminación ambiental y pérdida de biodiversidad son las señales más evidentes. Para monitorear estos cambios se requiere de organismos sensibles a los mismos. Los líquenes permiten evaluar variaciones en los niveles de radiación UV-B, debido a la disminución del ozono estratósferico; acumulan compuestos que presentan los cromóforos ortohidroxicarbonilo y oxolanocarbonilo que absorben radiación UV que disipan como fluorescencia.

El estudio de la variación espacial y temporal de las concentraciones de los compuestos fotoprotectores en líquenes ha demostrado que las tasas de acumulación aumentan en hábitats con elevada irradiación UV, como Antártica, zonas sur y alpinas de Chile; igual tendencia se ha observado en gradientes latitudinales; la mayor acumulación se ha registrado en especímenes de las zonas más australes. Las concentraciones de los compuestos aumentan al someter los líquenes a dosis adicionales de radiación UV. Los resultados son concluyentes; la síntesis de compuestos fotoprotectores es inducida por la radiación UV; proyectando a los líquenes como biomonitores o bioindicadores de este cambio global en el corto, mediano y largo plazo debido a la estabilidad química y fotoquímica de los compuestos.

Proyectos Biodiversidad Aysén, Unión Europea; DIPUV 26/2001 Universidad de Valparaíso.

298.- DEPREDACION DE SEMILLAS DE Jubaea chilensis (PALMACEAE): SELECCION DE TAMAÑO Y CONSECUENCIAS POBLACIONALES (Seed predation of Jubaea chilensis: seed size selection and population consequences) Marcelo W., Calderón L., Vásquez R.A. & Bustamante R.O. Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Patrocinio: R. O. Bustamante

Los depredadores pueden modificar la distribución de tamaños de semillas, y por lo tanto, podrían afectar la calidad de la nueva progenie. En este trabajo analizamos la influencia de depredadores de semillas de Jubaea chilensis presentes en el Parque Nacional La Campana sobre la distribución de tamaños de semillas. Se pesaron sobre mil semillas recién dispersadas (i.e. pre-depredación) y se establecieron ecuaciones de regresión entre la masa de semillas y medidas morfométricas de largo y ancho. Además, colectamos restos de semillas consumidas por roedores y se estimó su peso usando las ecuaciones de regresión obtenidas. La distribución de masas de semillas pre-depredación presenta una distribución normal $(5,729 \pm 0,028 \text{ g; media} \pm \text{EE}, \text{n} = 1047)$; la distribución de masas de semillas consumidas también fue normal (5,332 ± 0,032; n = 732). Las semillas consumidas fueron en promedio significativamente más pequeñas que las semillas disponibles. Los depredadores seleccionarían las semillas de menor tamaño y por lo tanto, tenderían a ejercer una presión selectiva de tipo direccional, favoreciendo a las semillas de J. chilensis de tamaños mayores.

FONDECYT 1020550

299.- DIVERSIDAD DE EPIFITAS VASCULARES EN FRAGMENTOS DE BOSQUE DE LA ISLA DE CHILOE, CHILE (Diversity of vascular epiphytes in forest fragments in Chiloé island, Chile) Salinas, M.F.Laboratorio de Sistemática y Ecología Vegetal, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Patrocinio: Armesto, J.J.

La investigación sobre epífitas en bosques templados es escasa. Se comparó la diversidad de especies de plantas epífitas vasculares en tres fragmentos de bosque frecuentes en la zona rural de la isla de Chiloé, un bosque primario, uno secundario y uno ribereño. Se encontraron 34 especies epífitas, con mayor abundancia de Pteridófitas (Hymenophyllaceae, 14 especies). Ocho especies se encontraban en estado de conservación vulnerable y 12 eran endémicas del bosque templado de Sudamérica austral. El bosque primario presentó la mayor diversidad de epífitas, 30 especies en 24 árboles, vs. 22 en el bosque secundario en 24 árboles y 16 en el bosque ribereño en 12 árboles. El bosque primario tenía mayor riqueza de especies de Magnoliophytas epífitas accidentales y dispersadas por endozoocoría. El análisis de la distribución vertical de especies en el tronco de cada árbol mostró que especies de Hymenophyllum sensibles a la desecación se distribuían con mayor frecuencia en el primer metro de altura, mientras que las especies tolerantes se encontraban más frecuentemente sobre un metro. Esta investigación documenta la importancia de los bosques antiguos para mantener la diversidad regional de epífitas. La conservación de las epífitas mantiene recursos importantes para los animales dispersores y polinizadores en bosques primarios.

Becaria CONICYT,I.C.M. P99-103-FICM, Cátedra Presidencial en Ciencias Dr. J.J. Armesto.

300.- EFECTO DE LA CAPA DE HOJARASCA SOBRE EL RECLUTAMIENTO DE BEILSCHMIEDIA MIERSII (GAY) KOSTERM. BAJO DOS CONTRASTANTES CONDICIONES EXPERIMENTALES DE PRECIPITACION. (Effects of litter on recruitment of Beilschmiedia miersii (Gay) Kosterm. under two contrasting experimental precipitation conditions) Becerra, P.¹ & Bustamante, R. Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

En plantas, la hojarasca afecta el reclutamiento poblacional. Sin embargo, su efecto puede estar modulado por un gradiente de precipitación, lo cual no ha sido evaluado aún. En este trabajo evaluamos el efecto de la capa de hojarasca sobre la germinación y sobrevivencia de plántulas de Beilschmiedia miersii (Gay) Kosterm. (Lauraceae), bajo dos contrastantes condiciones experimentales de precipitación. En laboratorio se sembraron 200 semillas bajo cuatro tratamientos de 50 semillas cada uno: con hojarasca-alta precipitación, con hojarasca-baja precipitación, sin hojarasca-alta precipitación, sin hojarasca-baja precipitación. Las semillas germinaron antes y tuvieron mayor probabilidad de germinación con hojarasca pero sólo en baja precipitación. La sobrevivencia de plántulas no difirió entre tratamientos. Así, las precipitaciones modulan el efecto positivo de la hojarasca sobre la germinación, a diferencia de la sobrevivencia de plántulas que no se afectó por estas variables ambientales. Proponemos que la hojarasca es un factor importante para el reclutamiento de B. miersii, pero sólo en la etapa de germinación, especialmente en años con baja precipitación y en su zona norte de distribución. ¹Becario CONICYT, FONDECYT 1980750

301.- EMERGENCIA DE PLANTAS ANUALES BAJO CONDICIONES EXPERIMENTALES DE HERBIVORIA, AGUA Y LUZ EN LA ZONA ARIDA DE CHILE (Emergence of Annual Plants Under Experimental Herbivory, Water and Light Conditions in the Arid Zone of Chile). Manrique, R. & Gutiérrez, J.R. Universidad de La Serena. Patrocinio: J.R. Gutiérrez

Investigaciones recientes han demostrado que el fenómeno de El Niño trae consigo fuertes cambios en la estructura y dinámica de las poblaciones vegetales y animales como resultado de un aumento de las precipitaciones. El impacto de este evento sobre la productividad primaria, en las zonas áridas, también depende de los mecanismos bióticos de facilitación (efecto sombra) o de los consumidores primarios (herbivoría). Se ha mostrado que plántulas de ciertas especies sobreviven mejor bajo la sombra de arbustos adultos. Por lo que modificando la presión de herbivoría, la sombra de arbustos y la disponibilidad de agua sería posible regular el establecimiento de plántulas en zonas áridas y semiáridas. El presente estudio muestra el resultado de la emergencia y establecimiento de hierbas anuales bajo condiciones controladas de humedad, sombra y herbivoría durante el primer año de evaluación de un sitio pastoreado aledaño al Parque Nacional Fray Jorge.

Financia: Proyecto ICA4-CT-2001-100051 Unión Europea

302.- EFECTO DE LA PRESENCIA DEL EMERGENTE Nothofagus dombeyi (Mirb.) Oerst. SOBRE LA PRODUC-TIVIDAD DEL LEÑO, EN EL TIPO FORESTAL SIEMPREVERDE, EN EL PARQUE NACIONAL PUYEHUE. . Parada T. 1 y Lusk C. H.2. 1 Facultad de Ciencias Forestales , Universidad de Concepción ,Casilla 160-C. 2 Departamento de Botánica , Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Casilla 160-C, Universidad de Concepción

El tipo forestal siempreverde ocupa un 31% del bosque nativo nacional, sin embargo son escasos los datos sobre su productividad primaria. En estos bosques se reconoce la presencia de árboles emergentes como una característica que determina uno de los subtipos de este tipo forestal, pero se sabe poco o casi nada del rol que los árboles emergentes tienen sobre la productividad del leño en este tipo forestal.

Para la realización del presente trabajo se midieron los árboles en ocho parcelas, cuatro de ellas con presencia de coigües como especie sobresaliente en el dosel y las otras cuatro sin esta característica. Las parcelas fueron ubicadas en rodales con un dosel alto y cerrado y en áreas que se caracterizaran por la ausencia de perturbaciones en un largo intervalo de tiempo. Se determinó que el área basal de las parcelas con coigües emergentes es un 45 % mayor que las parcelas sin coigües emergentes, pero ¿esto influye sobre la productividad de leño?

El objetivo principal de este trabajo es responder a esta interrogante a través de datos dasométricos y dendrocronológicos.

FONDECYT 1000367.

303.- VINCULANDO ESTRUCTURA Y FUNCION DEL BOSQUE: IMPORTANCIA DEL SOTOBOSQUE DE CHUSQUEA PARA AVES DEL SOTOBOSQUE EN FRAGMENTOS DE BOSQUE TEMPLADO (Linking forest structure and function: the importance of native bamboo for understory birds in temperate forest fragments, Chile). Reid, S., Díaz, I., Armesto J. J., & Willson, M. Fundación Senda Darwin y Departamento Biología, Facultad Ciencias, Universidad de Chile.

En bosques templados de Chile, cinco especies de aves endémicas (cuatro Rhinocryptidae y un Furnariidae) están asociadas al principal componente del sotobosque (Chusquea spp., Gramineae). Estudiamos el efecto de Chusquea sobre la abundancia y riqueza de especies y exploramos sus propiedades como recurso y refugio. En la Isla de Chiloé (42°S) en cuatro bosques primarios (> 100 ha), realizamos censos de aves en seis estaciones de radio 50 m separados por >200 m: tres con una cobertura de Chusquea > 60% y tres con una cobertura < 35%. La cobertura de Chusquea se relacionó positivamente con la abundancia y riqueza de especies ($r^2 = 0.622$, P = 0.019 y $r^2 = 0.637$, P = 0.017). La disponibilidad de invertebrados de follaje en las estaciones con Chusquea fue significativamente mayor. La disponibilidad de invertebrados en el suelo fue igual en ambas estaciones. Experimentos de liberación de Scelorchilus rubecula frente a dos escenarios: sotobosque con y sin Chusquea, mostraron una selección por Chusquea el 78% de las veces (n = 9). La mantención de remanentes de Chusquea en bosques intervenidos sería positiva para las aves del sotobosque.

FONDAP-FONDECYT 1501-0001, Núcleo Milenio P99 103

304.- REGIMEN DE DISTURBIOS EN UN BOSQUE NORD-PATAGONICO DE LA ISLA DE CHILOE, CHILE. Alvaro G. Gutierrez y Juan Armesto. Laboratorio de Sistemática y Ecología Vegetal, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. email: alvilgut@icaro.dic.uchile.cl

Se analizaron la frecuencia e intensidad de disturbios naturales que determinaron la estructura y composición actual de un fragmento de bosque nordpatagónico, ubicado en el norte de la Isla de Chiloé, Chile (41°53' S). Se estudió la estructura y composición florística en parcelas permanentes, obteniéndose además tarugos de incremento para estudiar la dinámica del bosque por medio de técnicas dendroecológicas.

El bosque presentó una gran diversidad florística, con Nothofagus nitida y Weinmannia trichosperma como individuos emergentes y un dosel compuesto principalmente por Podocarpus nubigena y Drimys winteri. Las estructuras de edades son propias de un bosque antiguo, alcanzando edades incompletas de hasta 498 años. Durante los últimos 350 años el rodal se mantuvo estable, mostrando patrones de reclutamiento continuos en las especies sombra-tolerantes (e.g. Podocarpus nubigena) y un aumento del establecimiento de especies sombra-intolerantes durante los últimos 50 años (e.g. Nothofagus nitida). Se detectaron disturbios frecuentes y de poca intensidad, probablemente producidos por caídas de árboles, que provocaron pequeños claros en el dosel. Estos disturbios generaron patrones de crecimiento radial con muchas liberaciones continuas en el tiempo. Una mayor cantidad de árboles liberados sincrónicamente entre 1950 y 1970, sugieren una alta intensidad de disturbios que produjeron una apertura significativa del dosel en este período.

Nuestros resultados indican que el reemplazo generacional obedece predominantemente a una dinámica de claros y no a disturbios naturales alogénicos de gran escala. Nuestros estudios indican que estas técnicas aportan antecedentes útiles para analizar e interpretar la dinámica ecológica de estos bosques. Financiamiento: Cátedra Presidencial en Ciencias (JJA), Proyecto BIOCORES, FONDAP – FONDECYT 1501-0001

305.- COMPARACION DE LAS PROPIEDADES DEL SUELO ENTRE MATORRAL SUCESIONAL Y BOS-QUES SIEMPREVERDES DE CHILOE. (A comparison of soil properties between successional shrublands and temperate forests in Chiloé), Díaz, M.F., Departamento de Biología. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Patrocinio: Paulina Chacón

En la Isla de Chiloé, la explotación de bosques, incendios y habilitación de zonas para pastoreo han transformado el paisaje de bosques continuos en fragmentos de bosque rodeados por extensos matorrales dominados por *Baccharis patagonica* y el musgo *Sphagnum fimbriatum*, y praderas que usualmente presentan anegamiento estacional.

La desaparición del dosel arbóreo produciría cambios en las propiedades físico-químicas del suelo disminuyendo el capital de nutrientes del ecosistema. En este estudio determinamos las diferencias en humedad del suelo, densidad aparente y pH entre bosques secundarios y sitios adyacentes de matorral post-perturbación. Resultados preliminares indican diferencias significativas en el contenido hídrico del suelo a lo largo de seis transectos de 100 metros cada uno, que atravesaban ambos hábitats. La humedad disminuye de matorral a bosque (80% a 68% respectivamente), con un componente estacional. El pH no mostró diferencias en el transecto, pero sí hay diferencias estacionales. Por último, la densidad aparente no presentó diferencias significativas. Las condiciones de alta humedad podrían explicar la escasa regeneración arbórea en matorrales.

Becaria CONICYT y FONDAP-FONDECYT 1501-0001.

306.- RIQUEZA DE ESPECIES Y FRECUENCIA DE VISITAS DE POLINIZADORES EN BOSQUES TEM-PLADOS DE LA ISLA DE CHILOE. (Species richness and frequency of visits of pollinators in temperate forests of Chiloé Island). Smith-Ramírez, C*, González, C**, Martinez, P.*, Nuñez, M.*, Vidal, P.*** & Armesto, J.* Universidad de Chile, Fundación Senda Darwin, ** Dpto. de Biología, Universidad Metropolitana, *** Entomología, Museo Nacional de Historia Natural.

Durante la primavera-verano de 1999-2000, 2000-2001 y 2001-2002, se determinó el número y frecuencias de visitas de especies de polinizadores de 26 especies de árboles, arbustos y enredaderas del bosque templado de la isla de Chiloé, Chile. Se encontraron 172 especies de polinizadores en total, variando de 1 a 60 especies por especie de planta (media=6.6). Las plantas fueron en su mayoría generalistas con la excepción de dos especies de Luzuriaga. No todos los polinizadores fueron generalistas (media= 2,6 plantas / polinizador), las especies de polinizadores más especialistas fueron aves paserinas y una especie de himenóptero. Los polinizadores fueron Coleópteros (N = 75 spp), Dípteros (N = 56 spp), Himenópteros (N = 30 spp) y en menor proporción, Lepidópteros, Megalópteros y Hemípteros (seis especies). El polinizador más frecuente fue Bombus dalhbomii (Apidae), con 33 % de todas las visitas. A nivel de comunidad, no hubo una correspondencia entre máximos de floración y riqueza de polinizadores. Las especies con morfología floral especializada presentaron menos riqueza de polinizadores, aunque las tasas de visitas fueron similares a las demás especies.

Cátedra Presidencial en Ciencias (JJA), Núcleo Milenio No. P99-103FICM, BIOCORES, FONDAP-Fondecyt 1501-0001.

307.- "VARIACION GEOGRAFICA EN EL TAMAÑO DE LA SEMILLA Y LA CAPACIDAD DE DISPERSION DE EMBOTHRIUM COCCINEUM J.R. ET G. FORSTER". (Geographic variation in seed size and wing loading in Embothrium coccineum). Souto, C.P.; Premoli, A.C.; Rovere, A.E. Laboratorio Ecotono, CRUB, UNC, Quintral 1250, 8400 Bariloche, Argentina, E-mail: csouto@crub.uncoma.edu.ar. Patrocinador: Dr. Juan, Armesto

El estudio de la variación geográfica en caracteres específicos es una herramienta útil para explorar respuestas adaptativas de los organismos a factores de selección que varían con el ambiente físico. En este trabajo evaluamos la variación en el tamaño de las semillas y la capacidad de dispersión de Embothrium coccineum en toda de su distribución en la región andino-patagónica de Argentina y Chile. Colectamos semillas de 5 árboles semilleros en 10 poblaciones a ambos lados de los Andes mediante el simple método de embolsar 2 ramas/ árbol y colectar las semillas a su madurez. Pesamos 50 semillas por población y medimos su carga de ala. Encontramos que las poblaciones ubicadas a latitudes y alturas mayores produjeron semillas de menor tamaño y con menor carga de ala. Estos resultados muestran una respuesta adaptativa a una estación de crecimiento más corta y/o más fría, limitando el tamaño de las semillas que podrían madurar en un árbol dado y afectando su potencial dispersión. Estos caracteres afectarían la estructura genética de las poblaciones incluido el flujo génico interpoblacional y la historia biogeográfica de la especie en relación con la expansión posglacial en Patagonia. Menciones: PNA, CONAF, CONICET, BIOCORES (Europ.Com.N°ICA4-2000-10029)

308.- DISPERSION DE SEMILLAS DE EMBOTHRIUM COCCINEUM J.R.ET G. FORSTER. (PROTEACEAE) EN EL BOSQUE TEMPLADO DE CHILOE. (Seed dispersal of Embothrium coccineum in the temperate forest of Chiloé).. Rovere, A.E. y Premoli, A.C. Laboratorio Ecotono. Centro Regional Universitario Bariloche. Universidad Nacional del Comahue, Argentina. Patrocinio: Juan Armesto

La dispersión de semillas posee un importante impacto sobre la estructura genética de las poblaciones, debido a que un reducido transporte de semillas desde el árbol semillero resultará en un limitado flujo génico entre y dentro de las mismas. El objetivo de este trabajo fue describir la dispersión de las semillas de *Embothrium coccineum*, una especie anemócora endémica del bosque templado del sur de Sudamérica. Este estudio se realizó colocando trampas para semillas alrededor de los árboles, en un ambiente fragmentado de la Estación Biológica "Senda Darwin".

Los resultados muestran que la mayor cantidad de semillas caen en los primeros 5 m, ajustándose su distribución a una curva exponencial negativa; con una máxima distancia de dispersión de 17 m. La sombra de semillas fue asimétrica en la dirección del viento predominante. Estos datos sugieren una reducida dispersión de semillas restringida a decenas de metros que podrían resultar en una marcada estructura genética en *Embothrium*. Debido a que el patrón de dispersión puede variar a lo largo del rango geográfico, particularmente en especies de amplia distribución como *Embothrium*, es posible encontrar otras distancias de dispersión, en el caso de variar la altura de los árboles, el tipo de bosque, la carga de ala o la velocidad del viento.

Mención: Senda Darwin y BIOCORES (European Comm.) N° ICA4-2000-10029.

309.- SOBREVIVENCIA, CRECIMIENTO Y AREA FOLIAR ESPECIFICA DE PLANTULAS DE Drimys winteri Y Gevuina avellana EN HABITATS CON DIFERENTE DISPONIBILIDAD DE LUZ (Survival, growth and specific leaf area of Drimys winteri and Gevuina avellana seedlings in habitats differing in light availability) Chacón, P. Departamento Biología, Facultad Ciencias, Universidad de Chile y Fundación "Senda Darwin".

Especies con tolerancia a la sombra intermedia, pueden establecerse tanto en claros como bajo el dosel cerrado. Sin embargo, el desempeño medido en términos de sobrevivencia y crecimiento, puede variar entre estos hábitats. En este trabajo, se determinó la sobrevivencia, crecimiento y área foliar específica (AFE) de plántulas de Drimys winteri y Gevuina avellana en tres hábitats que difieren en disponibilidad de luz: claros del dosel, borde del bosque y dosel cerrado en un fragmento de bosque en Chiloé. En ambas especies, la sobrevivencia fue mayor en claros y menor bajo dosel. Por otra parte, aunque las plántulas de G. avellana sobrevivieron en mayor proporción que las de D. winteri en dos de los tres hábitats, estas diferencias no fueron significativas. En cuanto a la tasa de crecimiento, las dos especies crecieron más en los claros y menos bajo dosel. Finalmente, en ambas especies, el AFE fue mayor bajo dosel, intermedia en claro y menor en borde. Sin embargo, en los tres hábitats, D. winteri presentó valores de AFE mayores que G. avellana. Se discuten las consecuencias de estos resultados en las dinámicas de regeneración de estas especies.

Financiamiento: FONDECYT 2010008 y FONDAP-FONDECYT 1501-0001. P. Chacón es becaria CONICYT.

310.- LAS BALLENAS JOROBADAS (Megaptera novaeangliae) DEL ESTRECHO DE MAGALLANES Y SU RELACION CON LAS DE COLOMBIA. (Humpback whales (Megaptera novaeangliae) from Magallanes Strait and their relationship to the Colombian stock). Sabaj, V.¹, Guerrero, S.², Gibbons, J.³, Vilina, Y.², Capella, J⁴, Flórez-González, L⁴. ¹Biología Celular Molecular, Fac. Medicina, U.Chile. ²Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Santo Tomás. ³Instituto de la Patagonia, Universidad de Magallanes. ⁴Fundación Yubarta, Colombia. Patrocinador: Dr. Juan Venegas

Recientes investigaciones han determinado la existencia de un nuevo sitio de alimentación para ballenas jorobadas, ubicado en el Estrecho de Magallanes (EM). Es el único sitio de alimentación descrito en el continente Sudamericano y se ubica 2000 km más cerca de Colombia (área reproductiva) que el área de alimentación conocida, en Península Antártica (PA). Para determinar la relación que tiene esta población de ballenas jorobadas con las de Colombia y otros sitios, analizamos la secuencia nucleotídica (nucleotipos) de un segmento de DNA mitocondrial y, mediante fotoidentificación de colas, comparamos individuos de EM y Colombia.

Según nuestros resultados, todos los nucleotipos de EM se encuentran en ballenas colombianas; uno de los más frecuentes en EM, es el más frecuente en Colombia y también en PA. Otro dos nucleotipos encontrados en EM, hasta ahora se describían como exclusivos de Colombia y PA.

Mediante fotoidentificación, registramos individuos de Colombia presentes en EM.

Concluimos que al menos parte de la población que se reproduce en Colombia, se alimenta en EM, y discutimos los resultados respecto a las poblaciones de Colombia, PA y otras del mundo.

311.- DIVERSIDAD DE PRESAS Y PRODUCTIVIDAD PARA SEIS DEPREDADORES TOPE (Prey diversity and productivity for six top predators). Arim M & Jaksic FM. Centro de Estudios Avanzados en Ecología y Biodiversidad, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La productividad ha sido repetidamente asociada con la diversidad de especies coexistentes y con la estructura trófica que las conecta. El presente trabajo analizó la asociación entre productividad y riqueza de conexiones tróficas para seis depredadores tope (Tyto alba, Falco sparverius, Pseudalopex culpaeus, Glacidium nanum, Bubo magellanicus y Speotyto cunicularia) en Chile central durante 15 años. La precipitación fue tratada como variable representativa de la productividad. Para todos los muestreos y depredadores se estimó por rarefacción la riqueza esperada en 20 individuos presa vertebrados y en 20 invertebrados. La suma de estas riquezas se utilizó como variable respuesta en regresiones múltiples. También se trabajó como variable dependiente a la riqueza esperada promedio. Las potenciales variables independientes fueron las precipitaciones del año y hasta dos años anteriores, además del valor cuadrático de estas tres variables. No se detectó asociación entre la riqueza promedio de presas por depredador y las precipitaciones. En cambio, la riqueza de conexiones sí estuvo asociada con la productividad en todos los depredadores. La relación funcional o el retraso temporal de esta asociación varió en cada caso. Se destaca una respuesta idiosincrásica en la riqueza de presas de los depredadores frente a variaciones de productividad ambiental y la naturaleza dinámica de las redes tróficas.

Agradecimientos: CASEB, FONDECYT-FONDAP, DIPUC

312.- MODELOS TRIDIMENSIONALES DE AUTO-RALEO EN ESPECIES DOMINANTES DEL INTERMAREAL ROCOSO. (Tridimensional self-thinning models in dominant species at the intertidal rocky shores. Guiñez, R. Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Casilla 114.-D. Santiago, Chile. Patrocinio: Dr. Juan Carlos Castilla.

A pesar de recurrentes episodios de criticismos sobre sus bases empíricas y conceptuales, la regla del auto-raleo (AR) es una de las pocas proposiciones cuantitativas en la ecología que ha sobrevivido por muchas décadas. El AR es un proceso intraespecífico que relaciona la densidad (N) y la biomasa total (B), tal que: . Sin embargo, que la competencia sólo se exprese como efectos numéricos denso-dependientes (N), es una presunción válida sólo para especies que ocupan el espacio conformando monoestratos. Para explorar las consecuencias del sobreagregamiento (i.e. conformación de matrices multi-estratificadas de individuos), se desarrolló un índice de agregamiento (L), un nuevo concepto de densidad: la densidad efectiva, y un nuevo tipo de modelo tridimensional de AR, tal que: . Pese a la vasta literatura no había intentos en definir la regla de auto-raleo como una superficie de respuesta que resulta de procesos denso-dependientes conducidos por la densidad y el grado de agregamiento. Los datos de muestras de Perumytilus purpuratus de Chile central y de Pyura praeputialis de Antofagasta, se ajustan significativamente mejor a estos nuevos modelos tridimensionales que a los clásicos modelos bidimensionales. Se discute las perspectivas de este nuevo acercamiento de AR en el estudio experimental de la competencia intraespecífica.

Financiamiento Proyecto FONDECYT # 1020484.

Indice de autores

A	Aneiros, E	R-24
	Angelo, S	
Abarzúa, A.M R-93	Angelo, S	R-72
Aboitiz, F R-116	Angulo, C	R-63
Aboitiz, F R-41	Aqueveque, P	R-87
Aburto, R	Aracena, P	R-76
Accatino, L R-119	Arancibia, S	R-29
Aceituno, PR-11	Arancibia, S	R-33
Acevedo, C R-30	Aranda, E.J	R-127
Acevedo, C	Araneda, A	R-148
Acevedo, E R-81	Araneda, O.F.	R-85
Acuña-Castillo, C R-121	Araneda, OF	R-37
Acuña-Castillo, C R-121	Aravena, M	R-121
Acuña-Castillo, ClaudioR-62	Aravena, R	R-84
Adasme, T R-44	Araya, E	R-149
Agredo, M	Araya, P	R-104
Aguayo, L.G R-117	Araya, P	R-104
Aguilar, L R-61	Araya, V	R-61
Aguilera, M R-122	Ardid, D	R-77
Aguilera, LE R-112	Arim, M	R-152
Aguillón, JC R-15	Arim, M	R-156
Aguillón, JCR-61	Armesto J. J	R-154
Aguillón, JC R-115	Armesto, J	R-155
Aguirre, A R-61	Armesto, J. J	R-57
Aguirre, A R-115	Armesto, J.J	R-21
Aguirre, E	Armesto, J.J	R-31
Ahumada, F	Armesto, Juan	R-154
Aita, Carlos A.M R-8	Aroca, F	R-140
Alaback, P. B R-17	Arriagada, G	R-97
Alarcón, R	Arroyo, M.T.K.	R-40
Alberdi, M R-46	Arroyo, M.T.K.	R-58
Alberdi, M. R-90	Arroyo, M.T.K.	R-81
Alcaíno, J R-109	Asenjo, J.A.	R-143
Alcaíno, J R-109	Aspillaga, E	R-83
Alcayaga, JR-37	Astete-Espinoza, L	R-151
Alfaro, J R-136	Astroza, A	R-131
Aliaga, E	Avalos, AM	R-133
Allende, C.C R-98	Avello, M	R-75
Allende, J.E	Ávila, G	
Allende, J.ER-98	Avila, M	R-98
Allers, C	Avila, M	R-131
Alloui, A R-77	Aybar, MJ	R-43
Almonacid, DR-141	Azócar, R	R-100
Alvarez, M R-54		
Alvarez, M R-91		
Alvarez, M R-100	В	
Alvarez, M R-100		
Alvarez, R R-70	Babul, J	R-60
Alvarez, R	Babul, J.	
Alvarez, S.A R-48	Babul, J	
Alvarez, S.A R-144	Bacigalupe, LD.	
Alviña, K.A R-70	Bacigalupo, J	
Amenábar, AR-55	Bacquet, C.	
Ampuero, S R-107	Badano, E.I.	
Amthauer, R R-34	Báez, A	
Añazco, C.C R-73	Baez, M	
Andréola, M R-26	Báez, M	R-59
Andrés, M.ER-97	Báez, P	
Andrés, M.E R-52	Balanya, J	
Andrews, B.A R-143	Balkenhol, C	
Andrews, E	Baquedano, P	
Andrews, E	Barahona, S	

Barahona, S	P 100	Bravo, L. A	R-14
Barahona, S		Bravo, L. A.	
		Bravo, L.A	P_03
Barra, P.		Bravo, L.A.	
Barra, R.			
Barrera, N.		Bravo, L.A.	
Barreto, M.		Brieva, L	
Barría, M.I		Briones, M	
Barros, L.F.	R-24	Briones, M	
Barros, LF	R-132	Brito, M	
Bátiz, F	R-122	Broitman, BR	R-50
Bátiz, F	R-122	Bronfman, M	R-122
Bátiz, F	R-123	Bruce, E	R-45
Becerra, J	R-83	Brücher, R	
Becerra, J.		Bruna, C.	
Becerra, J.A.		Buchuk, D.	
Becerra, P.		Bueno, S.	
Becerra, P.		Bull, P.	
Becker, M.I.		Bunster, M.	
Becker, M.I.		Bunster, M.	
Becker, M.I.		Bunster, M.	
Behn, C		Bunster, M	
Behn, C.	R-67	Burgos, H.	
Behn, C	R-85	Burzio, L	
Beltrán, J	R-147	Burzio, L. O	R-103
Benavente, C	R-123	Burzio, L. O	R-104
Benavides, A.G.	R-150	Burzio, L.O	R-101
Bengtson, Mario H	R-8	Burzio, L.O	R-104
Benitez, DA.		Burzio, L.O	R-100
Bernal, G.		Burzio, V	
Berón, W.		Burzio, V.	
Berríos, C.G.		Burzio, V.	
Berrios, P.		Bustamante, D.	
Bertinat, R		Bustamante, J.	
		, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	
Bertinat, R.		Bustamante, J.	
Bertinat, R.		Bustamante, R.	
Betancourt, J.		Bustamante, R. O	
Bittner, C.X.		Bustamante, R.O.	
Bittner, M		Bustamante, R.O.	
Blanco, R		Bustos, J.C.	
Blanco, C	R-13	Bustos, R	R-139
Blanco, C.E			
Blanco, CE	R-19		
Blanco, M.F	R-53	С	
Boetscher, C	R-91		
Bonansco, C	R-38	Cabello, G	R-72
Bono, MR		Cabezas, J	
Borg, TK.		Cabezón, C.	
Boric, M		Cabrera H.M.	
Boric-Bargetto, D			
		Cabrera, G	
Bórquez, P		Cabrera, H.M.	
Bosco, C		Cabrera, H.M.	
Bozinovic, F.		Cabrera, R	
Bozinovic, F.		Cabrera, R	
Bozinovic, F		Cáceres, CW	R-151
Bozinovic, F		Cáceres, CW	R-146
Bozinovic, F	R-50	Cádiz, R	R-149
Brañes, M.C.	R-70	Cadiz, R	
Brañes, M.C	R-117	Cajas, D	
Bravo, D		Cajigal ,J	
Bravo, JA		Calderon, A.	
Bravo, JA		Calderón, L.	
Bravo, L.		Calmels, C	
		Camicis, C	K-20

Campos, E.O.	R-118	Celedón, G	R-37
Campos, M		Celis, J.L.	R-51
Campos, X.	R-123	Celis, Julio E	R-6
Camus, C	R-148	Cerda, O	R-111
Camus, P.A.	R-11	Cereceda, P	R-91
Canales, M.	R-144	Cerpa, W	R-117
Canales, M	R-145	Cerva, J.L.	R-101
Cancino, I	R-134	Céspedes, C	
Canessa, P.		Céspedes, S	
Capella, J		Chacón, M.	
Cárcamo J.G.		Chacón, P.	
Cardemil, E.		Chacón, P.	
Cardemil, E.		Chávez, F.P	
Cardemil, E.		Chávez, FP.	
Cardemil, L.		Chiong, M.	
Cárdenas, C.		Christie, D.A.	
Cárdenas, H.		Cid, G.	
Cárdenas, H.			
Cárdenas, L.		Cid, I.	
Cárdenas, L		Cifuentes, V.	
•		Cifuentes, V.	
Cárdenas, M.L.		Cifuentes, V.	
Cárdenas, SP.		Cisternas, M.	
Cárdenas, SP.		Claeyssens, M.	
Cardona, S. T		Colin, Christian	
Carmona, M. R.		Collao, A.	
Carrasco, L		Colombo, Alicia	
Carrasco, M.		Colombo, MI	
Carrasco, M.A.		Colombres, M	
Carter, M.		Concha, I.I.	R-59
Carvajal, A. P.		Concha, I.I.	R-136
Carvajal, C	R-54	Concha, I.I.	R-137
Carvajal, N		Concha, M	
Carvajal, N	R-137	Concha, M.I.	R-34
Carvallo, G	R-58	Constandil, L	R-77
Carvallo, P	R-54	Constandil, L	R-78
Carvallo, P	R-103	Contreras, A	R-102
Carvallo, P	R -103	Contreras, C.	R-72
Carver, W	R-44	Contreras, J.	R-134
Casanello, P	R-68	Contreras, L	R-80
Casanello, Paola		Contreras, M.	R-146
Casanueva, M.E.		Contreras, M.	R-148
Castillo, A.		Contreras, M.	
Castillo, A		Contreras, Manuel	
Castillo, J.L.		Corcuera, J.L.	
Castillo, K.		Corcuera, L.	
Castro, A.		Corcuera, L. J.	
Castro, A.		Corcuera, L.J.	
Castro, J.		Corcuera, L.J.	
Castro, L.		Córdova, J.	
Castro, M.		Córdova, JL.	
Castro, M.		Cordovez, C.	
Castro, P.		Cornejo, M	
Castro, R		Cornejo, P.	
-		Cornigh Boundar A	
Cavieres, L.A.		Cornish-Bowden, A.	
Cavieres, L.A.		Coronado, Ximena	
Cavieres, L.A.		Corral, L	
Cavieres, L.A.		Correa, C.	
Cavieres, L.A.		Correa, J.A.	
Cea, A.P.		Correa, J.A.	
Cea, P		Correa, J.A	
Cecchi, M.C.	R-149	Correa, P.	R-137

Corta, A	Díaz-Araya, G	R-4
Cortés, A	Dinamarca, M.C.	
Cortés, C R-61	Distelhorst, C.W.	
Cortés, C	Donoso, G.	
Cortés, M R-70	Droppelmann, C.	
Cortés, Marcelo	Dünner, N.	
Cortés-Gutierrez, M R-24	Dupont, C-H.	
Craievich, A. F	Dupont, C-11	K-2
Criollo, A		
Croxatto, HB		
	E	
Croxatto, HB		
Croxatto, HB	E. Ugarte	
Cruces, F	Ebensperger, G	
Cruz, C R-79	Ebensperger, G	
Cruz, Luciana O R-8	Echeverría, C	
Cruzat, A R-115	Eguiguren, A.L	R-7
Cuchacovich, M R-15	Eguiguren, A.L	R-2
Cuchacovich, M R-115	Ehleringer, J.R.	R-8
Cuenca, J R-115	Eisner, V.	R-13
Cuenca, J R-61	Elgueta, R.	
Cuevas C.C R-147	Ellies, A.	
Cuevas, J R-40	Elorza, A.	
Cuevas, R R-34	Engel, E.	
Cuezva, José M R-8	Engel, E.	
Cuitino, L R-97	Enríquez, P.	
Cullen, D R-33	Erazo, E.	
Cullen, D	Erices, A.	
Cumming, G R-21	Escala, M.	
oumming, o		
	Eschalier, A.	
D	Escobar, A	
υ	Espinoza, I	
D 11 T T	Espouyes, O.	
Darlix ,Jean-Luc	Espoz, C	
Darlix ,Jean-Luc	Estay, A.	
Darnell, T.M R-20	Estay, D	
De Diego, M R-75	Estrada, M	
	Eyzaguirre, J.	
De Ioannes, A.ER-114	Eyzaguirre, J	R-13
De Ioannes, A.E	Eyzaguirre, JEyzaguirre, J	R-13
De Ioannes, A.E	Eyzaguirre, J	R-13
De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, P. R-62	Eyzaguirre, JEyzaguirre, J	R-13
De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, P. R-62 de la Fuente, M. R-69	Eyzaguirre, JEyzaguirre, J	R-13
De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, P. R-62 de la Fuente, M. R-69 de la Fuente, M. R-116	Eyzaguirre, J	R-13
De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, P. R-62 de la Fuente, M. R-69 de la Fuente, M. R-116 de la Fuente, M. R-117	Eyzaguirre, JEyzaguirre, J	R-13
De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, P. R-62 de la Fuente, M. R-69 de la Fuente, M. R-116 de la Fuente, M. R-117 De la Iglesia, R. R-48	Eyzaguirre, J Eyzaguirre, J Eyzaguirre, J	R-13 R-13 R-13
De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, P. R-62 de la Fuente, M. R-69 de la Fuente, M. R-116 de la Fuente, M. R-117 De la Iglesia, R. R-48 De la Parra, G. R-75	Eyzaguirre, J	R-13 R-13 R-13 R-13
De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, P. R-62 de la Fuente, M. R-69 de la Fuente, M. R-116 de la Fuente, M. R-117 De la Iglesia, R. R-48 De la Parra, G. R-75 De los Ríos, P. R-51	Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. F Fardella, C. Farías, G.Ch.	R-13 R-13 R-13 R-13
De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, P. R-62 de la Fuente, M. R-69 de la Fuente, M. R-116 de la Fuente, M. R-117 De la Iglesia, R. R-48 De la Parra, G. R-75 De los Ríos, P. R-51 Debels, P. R-90	Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. F Fardella, C. Farías, G.Ch. Faugeron, S.	R-13 R-13 R-13 R-14
De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, P. R-62 de la Fuente, M. R-69 de la Fuente, M. R-116 de la Fuente, M. R-117 De la Iglesia, R. R-48 De la Parra, G. R-75 De los Ríos, P. R-51 Debels, P. R-90 Decimo, D. R-25	Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. F Fardella, C. Farías, G.Ch. Faugeron, S. Faundez, J.	R-13 R-13 R-13 R-14 R-8-8
De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, P. R-62 de la Fuente, M. R-69 de la Fuente, M. R-116 de la Fuente, M. R-117 De la Iglesia, R. R-48 De la Parra, G. R-75 De los Ríos, P. R-51 Debels, P. R-90 Decimo, D. R-25 Degaki, Theri L. R-8	Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. F Fardella, C. Farías, G.Ch. Faugeron, S. Faundez, J. Faúndez, M.	R-13 R-13 R-13 R-14 R-8-8 R-7
De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, P. R-62 de la Fuente, M. R-69 de la Fuente, M. R-116 de la Fuente, M. R-117 De la Iglesia, R. R-48 De la Parra, G. R-75 De los Ríos, P. R-51 Debels, P. R-90 Decimo, D. R-25 Degaki, Theri L. R-8 Deglin, M. R-103	Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. F Fardella, C. Farías, G.Ch. Faugeron, S. Faundez, J. Faúndez, M. Faundez, P.	R-13 R-13 R-13 R-14 R-8 R-7 R-10
De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, P. R-62 de la Fuente, M. R-69 de la Fuente, M. R-116 de la Fuente, M. R-117 De la Iglesia, R. R-48 De la Parra, G. R-75 De los Ríos, P. R-51 Debels, P. R-90 Decimo, D. R-25 Degaki, Theri L. R-8 Delpiano, M. R-70	Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. F Fardella, C. Farías, G.Ch. Faugeron, S. Faundez, J. Faúndez, M. Faundez, P. Faunes, F.	R-13 R-13 R-13 R-14 R-8 R-7 R-10 R-10
De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, P. R-62 de la Fuente, M. R-69 de la Fuente, M. R-116 de la Fuente, M. R-117 De la Iglesia, R. R-48 De la Parra, G. R-75 De los Ríos, P. R-51 Debels, P. R-90 Decimo, D. R-25 Degaki, Theri L. R-8 Delpiano, M. R-70 Delpiano, M. A. R-70 Delpiano, M. A. R-70	Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. F Fardella, C. Farías, G.Ch. Faugeron, S. Faundez, J. Faúndez, M. Faundez, P. Faunes, F. Fernández, A.	R-13 R-13 R-13 R-14 R-8 R-7 R-10 R-11
De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, P. R-62 de la Fuente, M. R-69 de la Fuente, M. R-116 de la Fuente, M. R-117 De la Iglesia, R. R-48 De la Parra, G. R-75 De los Ríos, P. R-51 Debels, P. R-90 Decimo, D. R-25 Degaki, Theri L. R-8 Delpiano, M. R-70 Delpiano, M. A. R-70 Desjobert, C. R-26	Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. F Fardella, C. Farías, G.Ch. Faugeron, S. Faundez, J. Faúndez, M. Faundez, P. Faunes, F. Fernández, A. Fernández, E.	R-13 R-13 R-13 R-14 R-8 R-7 R-10 R-11 R-4
De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, P. R-62 de la Fuente, M. R-69 de la Fuente, M. R-116 de la Fuente, M. R-117 De la Iglesia, R. R-48 De la Parra, G. R-75 De los Ríos, P. R-51 Debels, P. R-90 Decimo, D. R-25 Degaki, Theri L. R-8 Delpiano, M. R-70 Delpiano, M. A. R-70 Desjobert, C. R-26 Destefano-Beltrán, L. R-46	Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. F Fardella, C. Farías, G.Ch. Faugeron, S. Faundez, J. Faúndez, M. Faundez, P. Faunes, F. Fernández, A. Fernández, E. Fernández, J.	R-13 R-13 R-13 R-14 R-8 R-7 R-10 R-11 R-4 R-15 R-10
De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, P. R-62 de la Fuente, M. R-69 de la Fuente, M. R-116 de la Fuente, M. R-117 De la Iglesia, R. R-48 De la Parra, G. R-75 De los Ríos, P. R-51 Debels, P. R-90 Decimo, D. R-25 Degaki, Theri L. R-8 Delpiano, M. R-70 Delpiano, M. A. R-70 Desjobert, C. R-26 Destefano-Beltrán, L. R-46 Devés, R. R-72	Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. F Fardella, C. Farías, G.Ch. Faugeron, S. Faundez, J. Faúndez, M. Faundez, P. Faunes, F. Fernández, A. Fernández, E. Fernández, J. Fernández, J. Fernández, J.	R-13 R-13 R-13 R-13 R-14 R-8 R-7 R-10 R-11 R-4 R-15 R-10 R-11
De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, P. R-62 de la Fuente, M. R-69 de la Fuente, M. R-116 de la Fuente, M. R-117 De la Iglesia, R. R-48 De la Parra, G. R-75 De los Ríos, P. R-51 Debels, P. R-90 Decimo, D. R-25 Degaki, Theri L. R-8 Delpiano, M. R-70 Delpiano, M. A. R-70 Desjobert, C. R-26 Destefano-Beltrán, L. R-46 Devés, R. R-72 Devés, R. R-72	Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. F Fardella, C. Farías, G.Ch. Faugeron, S. Faundez, J. Faúndez, M. Faundez, P. Faunes, F. Fernández, A. Fernández, E. Fernández, J.	R-13 R-13 R-13 R-13 R-14 R-8 R-7 R-10 R-11 R-4 R-15 R-10 R-11
De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, P. R-62 de la Fuente, M. R-69 de la Fuente, M. R-116 de la Fuente, M. R-117 De la Iglesia, R. R-48 De la Parra, G. R-75 De los Ríos, P. R-51 Debels, P. R-90 Decimo, D. R-25 Degaki, Theri L. R-8 Delpiano, M. R-70 Delpiano, M. A. R-70 Desjobert, C. R-26 Destefano-Beltrán, L. R-46 Devés, R. R-72 Dévés, R. R-72 Díaz, C. R-141	Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. F Fardella, C. Farías, G.Ch. Faugeron, S. Faundez, J. Faúndez, M. Faundez, P. Faunes, F. Fernández, A. Fernández, E. Fernández, J. Fernández, J. Fernández, J.	R-13 R-13 R-13 R-13 R-14 R-8 R-7 R-10 R-11 R-4 R-15 R-10 R-11 R-17 R-10 R-11 R-17 R-10 R-11 R-17 R-10
De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, P. R-62 de la Fuente, M. R-69 de la Fuente, M. R-116 de la Fuente, M. R-117 De la Iglesia, R. R-48 De la Parra, G. R-75 De los Ríos, P. R-51 Debels, P. R-90 Decimo, D. R-25 Degaki, Theri L. R-8 Deglin, M. R-103 Delpiano, M. A. R-70 Desjobert, C. R-26 Destefano-Beltrán, L. R-46 Devés, R. R-72 Devés, R. R-72 Díaz, C. R-141	Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. F Fardella, C. Farías, G.Ch. Faugeron, S. Faundez, J. Faúndez, M. Faundez, P. Faunes, F. Fernández, A. Fernández, E. Fernández, J. Fernández, M. Fernández, Ma. J. Fernández, V.	R-13 R-13 R-13 R-13 R-14 R-8 R-7 R-10 R-11 R-15 R-10 R-11 R-11 R-17 R-10 R-11 R-11 R-11 R-11
De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, P. R-62 de la Fuente, M. R-69 de la Fuente, M. R-116 de la Fuente, M. R-117 De la Iglesia, R. R-48 De la Parra, G. R-75 De los Ríos, P. R-51 Debels, P. R-90 Decimo, D. R-25 Degaki, Theri L. R-8 Deglin, M. R-103 Delpiano, M. A. R-70 Desjobert, C. R-26 Destefano-Beltrán, L. R-46 Devés, R. R-72 Devés, R. R-72 Díaz, C. R-141 Díaz, I. R-154	Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. F Fardella, C. Farías, G.Ch. Faugeron, S. Faundez, J. Faúndez, M. Faundez, P. Faunes, F. Fernández, A. Fernández, E. Fernández, J. Fernández, J. Fernández, M.	R-13 R-13 R-13 R-13 R-13 R-14 R-8 R-7 R-10 R-11 R-15 R-10 R-11 R-16 R-11 R-11 R-16 R-11 R-16 R-11 R-17
De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, P. R-62 de la Fuente, M. R-69 de la Fuente, M. R-116 de la Fuente, M. R-117 De la Iglesia, R. R-48 De la Parra, G. R-75 De los Ríos, P. R-51 Debels, P. R-90 Decimo, D. R-25 Degaki, Theri L. R-8 Deglin, M. R-103 Delpiano, M. A. R-70 Desjobert, C. R-26 Destefano-Beltrán, L. R-46 Devés, R. R-72 Dévés, R. R-72 Díaz, C. R-141 Díaz, J. R-99	Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. F Fardella, C. Farías, G.Ch. Faugeron, S. Faundez, J. Faúndez, M. Faundez, P. Faunes, F. Fernández, A. Fernández, E. Fernández, J. Fernández, M. Fernández, M. Fernández, M. Fernández, M. Fernández, V. Fernández, V. Fernández, V.	R-13: R-13: R-13: R-13: R-13: R-13: R-13: R-14: R-8: R-7: R-10: R-11: R-15: R-10: R-11: R-13: R-13: R-13: R-7:
De Ioannes, A.E. R-62 De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, A.E. R-114 De Ioannes, P. R-62 de la Fuente, M. R-69 de la Fuente, M. R-116 de la Fuente, M. R-117 De la Iglesia, R. R-48 De la Parra, G. R-75 De los Ríos, P. R-51 Debels, P. R-90 Decimo, D. R-25 Degaki, Theri L. R-8 Deglin, M. R-103 Delpiano, M. A. R-70 Delpiano, M. A. R-70 Desjobert, C. R-26 Destefano-Beltrán, L. R-46 Devés, R. R-72 Díaz, C. R-141 Díaz, J. R-99 Diaz, M. R-73 Díaz, M.F. R-154	Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. Eyzaguirre, J. F Fardella, C. Farías, G.Ch. Faugeron, S. Faundez, J. Faúndez, M. Faundez, P. Faunes, F. Fernández, A. Fernández, E. Fernández, J. Fernández, M. Fernández, V. Fernández, V.	R-13: R-13: R-13: R-13: R-13: R-13: R-13: R-14: R-8: R-7: R-10: R-11: R-15: R-10: R-11: R-13: R-13: R-7: R-7: R-7: R-7: R-7: R-7: R-7:

Ferreira, V. R. 61 García, C. R. 24 Ferreira, J. R. 114 Ferstia, Fernanda R. 8 García, M. R. 23 Fiedler, JL. R. 24 Fiedler, JL. R. 23 Fiedler, JL. R. 8.53 García, R. R. 116 Fiedler, JL. R. 8.74 Fiedler, JL. R. 8.74 García, P. R. 74 Fiedler, JL. R. 74 Fiedler, JL. R. 74 Fiedler, JL. R. 74 Fiedler, JL. R. 74 Figueroa, C. R. 114 Figueroa, C. R. 114 Figueroa, C. D. R. 131 Figueroa, C. D. R. 131 Figueroa, J. R. 89 Garrido, I. R. 79 Figueroa, J. R. 89 Figueroa, J. R. 89 Garrido, I. R. 18 Figueroa, J. R. 89 Figueroa, R. R. 130 Figueroa, R. R. 149 Gavilan, Jr. R. 150 Figueroa, R. R. 149 Figueroa, R. R. 149 Gavilando, IV. R. 150 Figueroa, R. R. 149 Figueroa, R. R. 149 Figueroa, R. R. 160 Fisher, A. R. 131 Goorge-Nascimento, M. R. 151 Fisher, A. R. 161 Flores, C. R. 87 Gidekel, M. R. 86 Flores, C. R. 87 Gidekel, M. R. 86 Flores, C. R. 87 Gidekel, M. R. 86 Flores, V. R. 166 Flores, V. R. 167 Flores, V. R. 17 Flores, R. R. 187 Flores, R.	Ferreira, J.		Garcés, G	R-37
Festa Fernanda R.8 García, P. R.24 Ficoller, IL R.24 García, P. R.44 Ficoller, IL R.53 García, R. R.116 Ficoller, IL R.74 García, P. R.24 García, P. R.24 García, P. R.24 García, P. R.24 García, P. R.25 García, R. R.26 García, P. R.27 Figueroa, C. D. R.13 Garrido, A. R.13 Figueroa, J. R.29 Garrido, I. R.27 Figueroa, J. R.29 Garrido, I. R.27 Figueroa, J. R.29 Garrido, I. R.27 Figueroa, J. R.27 Figueroa, J. R.29 Garrido, I. R.27 Figueroa, J. R.27 Figueroa, R. R.29 Garrido, P. R.27 Figueroa, R. R.20 Gavilian, Jr. R.25 Figueroa, R. R.20 Gavilian, Jr. R.25 Figueroa, R. R.20 Gaviliando, JV. R.25 Figueroa, R. R.20 Gaviliando, JV. R.25 Figueroa, R. R.20 Geobauer, M. R.20 Gidekel, M. R.20 Geobauer, M. R.20 Gidekel, M. R.20 Gide	Ferreira, V.	R-61	García, C	R-24
Fiedler, JL. R.24 García, P. R.46 Fiedler, JL. R.53 García, R. R.116 Fiedler, JL. R.74 García-Olivares, J. R.38 Figuero, C. R.14 Garretón, V. R.13 Figuero, C. R.14 Garretón, V. R.13 Garrido, A. R.75 Figueroa, J. R.99 Garrido, A. R.75 Figueroa, J. R.99 Garrido, N. R.47 Figueroa, J. R.99 Garrido, N. R.48 Figueroa, J. R.138 García-Olivares, J. R.48 Figueroa, J. R.138 García-O. R.15 Figueroa, J. R.138 García-O. R.15 Figueroa, J. R.138 García-O. R.15 Figueroa, J. R.149 Garlido, J. R.15 Figueroa, R. R.149 Garlido, JV. R.15 Figueroa, R. R.149 Garlidon, JV. R.15 Figueroa, R. R.116 Garlidon, JV. R.15 Fischer, H. R.60 Gebauer, M. R.90 Fisher, A. R.131 García-O.	Ferreira. J.	R-114	García, F	R-106
Fiedler, JL	Festa, Fernanda	R-8	García, MA	R-32
Fiedler, JL.	Fiedler, JL.	R-24	García, P.	R-46
Fiedler, JL	Fiedler, JL.	R-53		
Figueroa, C. R-114 Figueroa, C. R-131 Figueroa, C. R-131 Figueroa, J. R-99 Garrido, N. R-137 Figueroa, J. R-99 Garrido, N. R-17 Figueroa, J. R-99 Garrido, N. R-18 Figueroa, J. R-99 Garrido, N. R-18 Figueroa, J. R-18 Figueroa, J. R-18 Figueroa, J. R-18 Figueroa, J. R-18 Figueroa, R. R-149 Gavilando, J. R-15 Figueroa, R. R-149 Figueroa, R. R-140 Gavilondo, JV. R-15 Figueroa, R. R-16 Gavilondo, JV. R-15 Figueroa, R. R-17 Figueroa, R. R-18 Figueroa, R. R-18 George-Nascimento, M. R-140 Fisher, A. R-131 George-Nascimento, M. R-145 Fiores, C. R-87 Gidekel, M. R-46 Fiores, C. R-87 Gidekel, M. R-16 Fiores, SV. R-106 Gilchrist, G. R-6 Fiores, SV. R-106 Gilchrist, G. R-6 Fiores, C. R-16 Fiores, C. R-17 Fiores, C. R-16 Gilchrist, G. R-16 Fiores, C. R-17 Fiores, C. R-17 Fiores, C. R-18 Fiores, C. R-10 Fiores, C.	Fiedler, JL.	R-74		
Figueroa C. R-114 Garretón, V. R-13 Figueroa C. R-13 Garrido, A. R-75 Figueroa, J. R-99 Garrido, L. R-127 Figueroa, J. R-99 Garrido, N. R-87 Figueroa, J. R-89 Garrido, N. R-87 Figueroa, J. R-89 Garrido, N. R-87 Figueroa, J. R-818 Gatica C. R-125			·	
Figueroa C.D. R-131 Garrido A. R-75 Figueroa I. R-99 Garrido, I. R-127 Figueroa J. R-138 Gatrido N. R-87 Figueroa J. R-138 Gatrido N. R-87 Figueroa J. R-138 Gatrido C. R-125 R-138 Gatrido C. R-125 R-134 R-140 Gatrida, IF. R-150 R-15 Gatrida, IF. R-150 R-15 Gatrida, IF. R-150	•			
Figueroa J. R-99 Garrido, L. R-127 Figueroa J. R-99 Garrido, N. R-87 Figueroa, J. R-138 Gatica C. R-125 Figueroa, J. R-138 Gatica C. R-125 Figueroa, J. R-138 Gatica C. R-125 Figueroa, J. R-140 Gavilondo, JV. R-5 Figueroa, R. R-149 Gavilondo, JV. R-5 Figueroa, R. R-149 Gavilondo, JV. R-5 Figueroa, R. R-140 Gavilondo, JV. R-5 Figueroa, R. R-140 Gavilondo, JV. R-15 Fischer, H. R-60 Gebauer, M. R-105 R-15 Fischer, H. R-60 Gebauer, M. R-105 R-15 Fischer, H. R-60 Gebauer, M. R-145 Fischer, H. R-87 Gidekel, M. R-145 Gidekel, M. R-145 Fiores, C. R-87 Gidekel, M. R-146 Gidekel, M. R-147 Ginocchio, R. R-57 Flores, V. R-147 Ginocchio, R. R-57 Flores-Flatschart, Aurea R-88 Glavic, A. R-147 Ginocchio, R. R-72 Folgueras-Flatschart, Aurea R-88 Glavic, A. R-147 Godoy-Herrera, R. R-147 Godos-Herrera, R. R-148 Gomez, A. R-148 Flouries, J. R-147 Godos-Herrera, R. R-108 Flouries, J. R-147 Gomez, J. R-148 R-148 R-147 Gomez, J. R-148 R-148 R-149 Gomez, J. R-148 R-148 R-149 Gomez, J. R-148 R-148 Gomez, J.				
Figueroa J. R-99 Garrido, N. R-87 Figueroa, J. R-138 Gatica C. R-125 Figueroa, J. R-144 Gavilán, JF. R-136 Figueroa, R. R-149 Gavilando, JV. R-15 Figueroa, R. R-149 Gavilondo, JV. R-15 Figueroa, R. R-140 Gavilondo, JV. R-15 Figueroa, R. R-160 Gebauer, M. R-90 R-90 Fisher, A. R-131 George-Nascimento, M. R-146 Fisher, A. R-131 George-Nascimento, M. R-145 Fiores, C. R-87 Gidekel, M. R-96 Gidekel, M. R-96 Fisher, A. R-166 Gidekel, M. R-96 Gidekel, M. R-96 Fiores, C. R-87 Gidekel, M. R-96 Fiores, S. R-166 Gidekel, M. R-96 Giderist, G. R-6 Fiores, S. R-147 Ginocchio, R. R-5 Fiores, S. R-147 Ginocchio, R. R-5 Fiores, S. R-147 Ginocchio, R. R-5 Fiores, S. R-147 Ginocchio, R. R-19 Folgueras-Flatschart, Aurea R-8 Giavic, A. R-13 Foliqueras-Flatschart, Aurea R-8 Giavic, A. R-14 Foliqueras-Flatschart, Aurea R-8 Giavic, A. R-14 Foliqueras-Flatschart, Aurea R-8 Giavic, A. R-14 Foliqueras-Flatschart, Aurea R-8 Giavic, A. R-15 Formas J. R. R-147 Goic, B. R-108 R-108 Formas J. R. R-147 Goic, B. R-108 R				
Figueroa J. R.138 Gatica C. R.125 Gatica C. R.125 Gatica C. R. R.136 R. R.140 Gatica R. R.136 R.136 R. R.137 R. R.138 R.				
Figueroa JA R-40 Gatica R R-135 Gavilán JF R-150 R-150 Figueroa R R-149 Gavilán JF R-150				
Figueroa, R. R. 149 Gavilondo, JV R.5-5 Figueroa, R. R. 149 Gavilondo, JV R.5-5 Figueroa, R. R. 1416 Gavilondo, JV R.5-5 Figueroa, R. R. 1416 Gavilondo, JV R.5-5 Figueroa, R. R. 1416 Gavilondo, JV R.5-5 Fisher, A. R. 131 George-Nascimento, M. R.90 Fisher, A. R. 131 George-Nascimento, M. R.145 Flatschart, Roberto B. R.8 Gibbons, J. R.156 Flores, C. R.87 Gidekel, M. R.40 Flores, L. R.106 Gidekel, M. R.40 Flores, M. R.140 Gil, F. R.112 Flores, V. R.140 Gil, F. R. 112 Flores, V. R.141 Gilnecthio, R. R.5 Flores, V. R.147 Gilnecthio, R. R.5 Flore-González, L. R.55 Gilussani, D.A. R.72 Folch, H. R.63 Gilussani, D.A. R.72 Folch, H. R.63 Gilussani, D.A. R.19 Flores, D. R.72 Godoy-Herrera, R. R.106 Flores, D. R.72 Godoy-Herrera, R. R.106 Flormas, J.R. R.141 Gilo, B. R.108 Formas, J.R. R.147 Gilo, B. R.108 Formas, J.R. R.147 Gomez, A. R.55 Flournier, M. R.26 Gomez, C. R.121 Frias, J.R. R.147 Gomez, A. R.52 Flournier, M. R.26 Gomez, C. R.121 Frias, J.R. R.147 Gomez, A. R.52 Flournier, M. R.26 Gomez, C. R.121 Frias, J.R. R.147 Gomez, J. R. R.131 Gomez, J. R. R.33 González, A. R.54 Fluenzalida, K. R.131 González, A. R.54 Fluenzalida, M. R.38 González, A. R.134 Fluenzalida, M. R.38 González, A. R.135 González, A. R.136 Galanti, N. R.41 González, C. R.116 Galanti, N. R.42 González, C. R.116 Galanti, N. R.43 González, C. R.116 Galanti, N. R.41 González, C. R.116 Galanti, N. R.41 González, C. R.116 Galanti, N. R.42 González, C. R.116 Galanti, N. R.43 Galanti, N. R.41 González, C. R.116 Galanti, N. R.42 González, C. R. R.43 Galanti, N. R.44 González, C. R. R.43 Galanti, N. R.44 González, C. R. R.43 Galanti, N. R.44 González, C. R. R.45 Galanti, N. R.49 G	C ·			
Figueroa, R. R. 149 Gavilondo, JV. R.5 Figueroa, R. R. 161 Gavilondo, JV. R.15 Fischer, H. R.60 Gebauer, M. R.90 Fisher, A. R.131 George-Nascimento, M. R.145 Flatschart, Roberto B. R.8 Gibbons, J. R.156 Flores, C. R.87 Gidekel, M. R.46 Flores, L. R.106 Gidekel, M. R.90 Flores, L. R.106 Gidekel, M. R.90 Flores, SV. R.106 Gilchrist, G. R.6 Flores, SV. R.106 Gilchrist, G. R.6 Flores, SV. R.106 Gilchrist, G. R.6 Flores, SV. R.107 Gilchrist, G. R.6 Flores, V. R.107 Gilchrist, G. R.6 Flores, C. R.107 Gilchrist, G. R.6 Flores, V. R.107 Gilchrist, G. R.108 Gilchrist, G. R.6 Flores, V. R.107 Gilchrist, G. R.6 Flores, V. R.107 Glody-Plerrera, R. R.106 Gilchrist, G. R. R.108 Glore, R. R.107 Gilchrist, G. R. R.108 Gilchrist, G. R. R.108 Gilchrist, G. R. R.107 Gilchrist, G. R. R.107 Gilchrist, G. R. R.107 Gilchrist, G. R. R.107 Gilchrist, G. R. R.108 Gilchrist, G. R. R.1				
Figueroa R. R-116 Gavilondo, JV. R-15 Fischer, H. R-60 Gebauer, M. R-90 Fisher, A. R-131 George-Nascimento, M. R-145 Flatschart, Roberto B. R-8 Gibbons, J. R-156 Flores, C. R-87 Gidekel, M. R-90 Flores, L. R-106 Gidekel, M. R-90 Flores, N. R-140 Gilchrist, G. R-6 Flores, V. R-106 Gilchrist, G. R-6 Flores, V. R-147 Ginocchio, R. R-5 Flórez-González, L. R-56 Giussani, D.A. R-72 Folch, H. R-63 Giussani, D.A. R-12 Folch, H. R-63 Giussani, D.A. R-19 Folgueras-Flatschart, Aurea R-8 Glavic, A. R-43 Foncea, R. R-132 Godoy, P. R-67 Formas J.R. R-147 Gione, A. R-106 Formas J.R. R-147 Gonez, A. R-158 Fournier, M. R-26 Gómez, C. R-121 Fráss, J.R. R-147 Gómez, A. R-55 Fuentes, D. R-103 González, B. R-188 Fuentes, D. R-103 González, A. R-188 Fuentes, D. R-81 González, A. R-148 Fuentes, D. R-81 González, A. R-148 Fuentes, D. R-81 González, A. R-148 Fuentes, D. R-103 González, A. R-148 Fuentes, D. R-104 González, A. R-148 Fuentes, D. R-105 González, A. R-148 Fuentes, D. R-105 González, A. R-148 Fuentes, D. R-106 Gajardo, J. R-99 González, A. R-118 González, B. R-148 González, B. R-148 González, B. R-149 González, C. R-116 Gajardo, J. R-99 González, C. R-116 Galanti, N. R-41 González, C. R. R-131 González, C. R. R-148 González, C. R. R-153 Galanti, N. R-41 González, C. R. R-160 Galanti, N. R-41 González, C. R. R-173 Gallardo, J. R-99 González, C. R. R-174 Golzález, C. R. R-175 Gallardo, J. R-99 González, C. R. R-174 Golzález, C. R. R-175 Gallardo, J. R-99 González, C. R. R-174 Golzález, C. R. R-175 Gallardo, J. R-18 González, C. R. R-173 Gallardo, M. R-118 González, C. R. R-173 Gallardo, M. R-118 González, C. R. R-174 González, C. R. R-175 Gallardo, M. R-106 González, C. R. R-176 Gallardo, M. R-106 González, C. R. R-178 Gallardo, M. R-106 González, C. R. R-178 Gallardo, M. R-107 González, D. R. R-178 González, D. R. R-178 Gallardo, M. R-106 González, M. R-28 González, D. R. R-28 González, D. R. R-37 Gallardo, M. R-106 González, M. R-29 González, D. R. R-37 González, D. R. R-37 González, D. R. R-37 González, M. R-292 González, D				
Fischer, A. R-50 Gebauer, M. R-90 Fisher, A. R-131 George-Nascimento, M. R-145 Flatschart, Roberto B. R-8 Gibbons, J. R-156 Flores, C. R-87 Gidekel, M. R-46 Flores, C. R-87 Gidekel, M. R-90 Flores, M. R-140 Gil, F. R-112 Gilchrist, G. R-156 Gilchrist, G. R-6 Flores, V. R-140 Gil, F. R-112 Gilchrist, G. R-6 Flores, V. R-147 Gilocchio, R. R-5 Flores, V. R-147 Gilocchio, R. R-5 Flores, V. R-148 Gilchrist, G. R-6 Flores, V. R-149 Gilchrist, G. R-6 Flores, V. R-147 Gilocchio, R. R-7 Flore-González, L. R-156 Gilussani, D.A. R-72 Folch, H. R-63 Gilussani, D.A. R-79 Flore, Flores, V. R-147 Gilocchio, R. R-7 Flore, Goody, P. R-7 Flore, Goody, Good				
Fisher, A. R-131 George-Nascimento, M. R-145 Flores, C. R-87 Gibbons, J. R-156 Flores, C. R-87 Gidekel, M. R-46 Flores, L. R-106 Gidekel, M. R-90 Flores, N. R-140 Gil, F. R-112 Flores, SV. R-106 Gildekel, M. R-90 Flores, V. R-106 Gildekel, M. R-90 Flores, V. R-106 Gildekel, M. R-90 Flores, V. R-147 Ginocchio, R. R-5 Ginocchio, R. R-72 Flore, H. R-156 Ginosani, D.A. R-72 Folch, H. R-63 Ginosani, D.A. R-19 Folgueras-Flatschart, Aurea R-8 Glavic, A. R-43 Foncea, R. R-132 Godoy, P. R-67 Forlivesi, D. R-12 Godoy, P. R-67 Forlivesi, D. R-72 Godoy-Herrera, R. R-106 Formas J.R. R-147 Goic, B. R-108 Formas, J.R. R-147 Goice, B. R-108 Formas, J.R. R-147 Goice, B. R-108 Formas, J.R. R-147 Goice, B. R-108 Formas, J.R. R-149 Gonze, C. R-121 Frias, J.R. R-107 Gomez, L. R-53 Fuentealba, R. R-131 Gómez, A. R-88 Fuentes, D. R-81 González, A. R-88 Fuentes, N. R-81 González, A. R-148 Fuentes, N. R-88 González, A. R-148 Fuentes, N. R-88 González, A. R-148 Fuentes, N. R-89 González, A. R-148 Fuentes, N. R-80 González, A. R-148 Fuentes, N. R-81 González, B. R-45 González, B. R-45 González, B. R-45 González, B. R-45 González, C. R-110 González, B. R-418 Fuentes, N. R-80 González, C. R-110 González, B. R-110 González, C. R-1	•			
Flatschart, Roberto B. R-8 Gibbons, J. R-156	•			
Flores, C. R-87 Gidekel, M. R-46 R-90			George-Nascimento, M	R-145
Flores, L. R-106 Gidekel, M. R-90 Flores, S. R. R-140 Gil, F. R-112 Flores, S. V. R-106 Gilchrist, G. R-6 Flores, V. R-147 Ginocchio, R. R-5 Flores, V. R-147 Ginocchio, R. R-5 Flores, V. R-148 Ginocchio, R. R-5 Flores, V. R-149 Gilssani, D.A. R-72 Flolch, H. R-63 Giussani, D.A. R-19 Folgueras-Flatschart, Aurea R-8 Florese, R. R-132 Godoy, P. R-67 Forlivesi, D. R-72 Godoy-Herrera, R. R-106 Formas J.R. R-147 Goic, B. R-108 Formas, J.R. R-147 Gomez, C. R-121 Frías, J.R. R-107 Gomez, I. R-53 Fuenteaba, R. R-131 Gómez, M. R-88 Fuentes, D. R-103 González, B. R-148 Fuenzalida, K. R-122 González, A. R-148 Fuenzalida, K. R-122 González, A. R-148 Fuenzalida, M. R-38 González, A. R-148 Fuller, B. R-32 González, B. R-111 Gainato, A. R-48 González, B. R-111 Gainato, A. R-78 González, B. R-111 Gainato, A. R-78 González, C. R-166 Gajardo, J. R-99 González, C. R-166 Galanti, N. R-41 González, C. R-166 Galanti, N. R-42 González, D. F. R-60 Galanti, N. R-41 González, C. R-73 Galanti, N. R-41 González, C. R-73 Galanti, N. R-41 González, C. R-73 Galanti, N. R-41 González, D. F. R-60 Galanti, N. R-81 González, C. R-103 Gallardo, M. R-42 González, D. F. R-60 Gallardo, M. R-43 González, C. R-103 Gallardo, M. R-103 González, C. R-103 Gallardo, M. R-104 González, D. F. R-60 González, D. F. R-60 Gallardo, M. R-106 González, C. R-103 Gallardo, M. R-106 González, D. F. R-60 González, D. R. R-73 Gallardo, M. R-106 González, D. F. R-60 González, D. R. R-73 Gallardo, M. R-106 González, D. F. R-60 González, D. R. R-73 Gallaguillos, M. R-73 González, L. R-89 González, L. R-80 González, L. R-80 González, L. R-80 González, L. R-80 González, M. R-68	Flatschart, Roberto B	R-8	Gibbons, J	R-156
Flores, M. R-140 Gil, F. R-112 Flores, SV. R-106 Gilchrist, G. R-6 Flores, V. R-147 Ginocchio, R. R-5 Flores, V. R-147 Ginocchio, R. R-5 Flores, V. R-148 Ginocchio, R. R-5 Flores, V. R-149 Ginocchio, R. R-5 Flores, V. R-147 Ginocchio, R. R-5 Flores, V. R-147 Ginocchio, R. R-7 Flores, González, L. R-156 Giussani, D.A. R-12 Folch, H. R-63 Giussani, D.A. R-19 Folgueras-Flatschart, Aurea R-8 Glavic, A. R-43 Foncea, R. R-132 Godoy, P. R-67 Forlivesi, D. R-72 Godoy-Herrera, R. R-106 Formas J.R. R-147 Goic, B. R-108 Formas, J.R. R-147 Goic, B. R-108 Fournier, M. R-26 Gómez, C. R-121 Frías, J.R. R-107 Gomez, I. R-53 Fuenteslaba, R. R-131 Gómez, M. R-88 Fuentes, D. R-103 Gonzáles, B. R-148 Fuentes, N. R-81 González, A. R-148 Fuentes, N. R-81 González, A. R-54 Fuenzalida, K. R-122 González, A. R-134 Fuenzalida, M. R-38 González, A. R-134 Fuller, B. R-32 González, B. R-418 González, B. R-110 Gaines, SD. R-50 González, B. R-110 Gaines, SD. R-50 González, C. R-155 Galanti, N. R-41 González, C. R-156 Galanti, N. R-42 González, C. R-136 Galanti, N. R-43 González, C. R-136 Galanti, N. R-44 González, C. R-136 Gallardo, M. R-36 González, C. R-136 Gallardo, M. R-42 González, C. R-136 Gallardo, M. R-43 González, C. R-136 Gallardo, M. R-40 González, C. R-136 Gallardo, M. R-410 González, F. R-43 Gallardo, M. R-106 González, F. R-103 Gallardo, M. R-106 González, G. R-37 Gallardo, M. R-108 González, G. R-37 Gallardo, M. R-108 González, G. R-37 Gallaguillos, M. R-31 González, L. R-132 González, M. R-88 Galleguillos, M. R-33 González, L. R-132 González, M. R-88 Galleguillos, M. R-73 González, M. R-89 Gallaguillos, M. R-103 Gamonal, J. R-102 Gamonal, J. R-102 Gamonal, J. R-102 Gamonal, J. R-103 González, M. R-68	Flores, C	R-87	Gidekel, M	R-46
Flores, M. R-140 Gil, F. R-112 Flores, SV. R-106 Gilchrist, G. R-6 Flores, V. R-147 Ginocchio, R. R-5 Flores, V. R-147 Ginocchio, R. R-5 Flores, V. R-148 Ginocchio, R. R-5 Flores, V. R-149 Ginocchio, R. R-5 Flores, V. R-147 Ginocchio, R. R-5 Flores, V. R-147 Ginocchio, R. R-7 Flores, González, L. R-156 Giussani, D.A. R-12 Folch, H. R-63 Giussani, D.A. R-19 Folgueras-Flatschart, Aurea R-8 Glavic, A. R-43 Foncea, R. R-132 Godoy, P. R-67 Forlivesi, D. R-72 Godoy-Herrera, R. R-106 Formas J.R. R-147 Goic, B. R-108 Formas, J.R. R-147 Goic, B. R-108 Fournier, M. R-26 Gómez, C. R-121 Frías, J.R. R-107 Gomez, I. R-53 Fuenteslaba, R. R-131 Gómez, M. R-88 Fuentes, D. R-103 Gonzáles, B. R-148 Fuentes, N. R-81 González, A. R-148 Fuentes, N. R-81 González, A. R-54 Fuenzalida, K. R-122 González, A. R-134 Fuenzalida, M. R-38 González, A. R-134 Fuller, B. R-32 González, B. R-418 González, B. R-110 Gaines, SD. R-50 González, B. R-110 Gaines, SD. R-50 González, C. R-155 Galanti, N. R-41 González, C. R-156 Galanti, N. R-42 González, C. R-136 Galanti, N. R-43 González, C. R-136 Galanti, N. R-44 González, C. R-136 Gallardo, M. R-36 González, C. R-136 Gallardo, M. R-42 González, C. R-136 Gallardo, M. R-43 González, C. R-136 Gallardo, M. R-40 González, C. R-136 Gallardo, M. R-410 González, F. R-43 Gallardo, M. R-106 González, F. R-103 Gallardo, M. R-106 González, G. R-37 Gallardo, M. R-108 González, G. R-37 Gallardo, M. R-108 González, G. R-37 Gallaguillos, M. R-31 González, L. R-132 González, M. R-88 Galleguillos, M. R-33 González, L. R-132 González, M. R-88 Galleguillos, M. R-73 González, M. R-89 Gallaguillos, M. R-103 Gamonal, J. R-102 Gamonal, J. R-102 Gamonal, J. R-102 Gamonal, J. R-103 González, M. R-68	Flores, L.	R-106		
Flores, SV. R-106 Gilchrist, G. R-6-Flores, V. R-147 Ginocchio, R. R-5-Flórez, V. R-147 Ginocchio, R. R-5-Flórez-González, L. R-156 Giussani, D.A. R-72 Folch, H. R-63 Giussani, D.A. R-19 Folgueras-Flatschart, Aurea R-8 Glavic, A. R-43 Foncea, R. R-132 Godoy, P. R-67 Forlivesi, D. R-72 Godoy-Herrera, R. R-165 Formas J.R. R-147 Goic, B. R-108 Formas J.R. R-147 Goic, B. R-108 Formas, J.R. R-147 Goice, A. R-52 Fournier, M. R-26 Gómez, A. R-52 Fournier, M. R-26 Gómez, C. R-121 Frias, JR. R-107 Gomez, I. R-53 Fuentes, D. R-103 González, B. R-148 Fuentes, D. R-103 González, A. R-148 Fuentes, N. R-81 González, A. R-149 Fuenzalida, M. R-38 González, A. R-148 González, A. R-149 Fuenzalida, M. R-38 González, B. R-149 González, B. R-110 González, C. R-155 González, C. R-156	Flores, M.	R-140		
Flores, V				
Flórez-González, L. R-156 Giussani, D.A. R-72 Folch, H. R-63 Giussani, D.A. R-19 Folgueras-Flatschart, Aurea R-8 Flogueras-Flatschart, Aurea R-8 Forneca, R. R-132 Godoy, P. R-67 Forlivesi, D. R-72 Godoy-Herrera, R. R-106 Formas, J.R. R-147 Gómez, A. R-52 Fournier, M. R-26 Gómez, A. R-52 Fournier, M. R-26 Gómez, C. R-121 Frías, JR. R-107 Gomez, I. R-53 Fuentealba, R. R-131 Gómez, M. R-88 Fuentes, D. R-103 Gonzáles, B. R-148 Fuenzalida, K. R-122 González, A. R-131 Fuenzalida, K. R-122 González, A. R-131 Fuenzalida, M. R-38 González, A. R-148 Fuller, B. R-32 González, B. R-110 González, B. R-110 González, B. R-110 González, B. R-110 González, C. R-150 Gajardo, A. R-78 González, C. R-166 Gajardo, J. R-99 González, C. R-156 Galanti, N. R-41 González, C. R-73 Galanti, N. R-42 González, C. R-73 Galanti, N. R-42 González, C. R-73 Galanti, N. R-42 González, F. R-74 Galanti, N. R-73 Gallardo, M. R-73 Gallardo, M. R-73 Gallardo, M. R-74 Gallardo, M. R-74 Gallardo, M. R-75 Gallardo, M. R-76 González, F. R-74 Gallardo, M. R-76 González, C. R-75 Gallardo, M. R-76 González, C. R-73 Gallardo, M. R-76 González, C. R-73 Gallardo, M. R-76 González, F. R-74 Gallardo, M. R-73 Gallardo, M. R-73 Gallardo, M. R-74 Gallardo, M. R-74 Gallardo, M. R-76 González, F. R-74 Gallardo, M. R-76 González, G. R-73 González, F. R-74 Gallardo, M. R-76 González, F. R-78 Galleguillos, M. R-77 González, L. R-78 González, M. R-79 González, M. R-79 González, M. R-79				
Folch, H. R-63 Giussani, DA. R-19 Folgueras-Flatschart, Aurea R-8 Glavic, A. R-43 Foncea, R. R-132 Godoy, P. R-67 Forlivesi, D. R-72 Godoy-Herrera, R. R-106 Formas, J.R. R-147 Goic, B. R-108 Formas, J.R. R-147 Gomez, A. R-53 Fournier, M. R-26 Gómez, C. R-121 Frías, JR. R-107 Gomez, I. R-53 Fuenteaba, R. R-131 Gómez, A. R-88 Fuentes, D. R-103 Gonzáles, B. R-148 Fuentes, N. R-81 González, A. R-54 Fuenzalida, K. R-122 González, A. R-131 Fuenzalida, M. R-38 González, A. R-148 Fuller, B. R-32 González, B. R-148 Fuller, B. R-30 González, B. R-110 González, B. R-111 González, B. R-111 González, C. R-105 Gaigardo, A. R-78 González, C. R-116 Gaigardo, J. R-99 González, C. R-16 Gaigardo, J. R-99 González, C. R-16 Galanti, N. R-41 González, C. R-16 Galanti, N. R-42 González, C. R-16 Gallardo, M. R-38 González, C. R-16 Gallardo, M. R-18 González, F. R-40 González, F. R-40 González, F. R-40 González, F. R-40 Gallardo, M. R-106 González, F. R-40 Gallardo, M. R-106 González, F. R-43 Gallardo, M. R-106 González, L. R-37 Galleguillos, M. R-120 González, L. R-38 González, L. R-13 González, L. R-16 González, L. R-18 González, L. R-18 González, L. R-18 González, L. R-18 González, L. R-19 González, L. R-18 González, L. R-19 González, M. R-102 González, M. R-103 González, M. R-103 González, L. R-19 González, M. R-103 González, M. R-103 González, M. R-103 González, M. R-103 González, M. R-104 González, M. R-104 González, M. R-105 González, M. R-104 González, M. R-105 González, M. R-104 González, M				
Folgueras-Flatschart, Aurea R-8 Glavic, A. R-43 Foncea, R. R-132 Godoy, P. R-67 Forlivesi, D. R-72 Godoy-Herrera, R. R-106 Formas J.R. R-147 Goic, B. R-108 Formas, J.R. R-147 Gomez, A. R-52 Fournier, M. R-26 Gómez, C. R-121 Frías, JR. R-107 Gomez, I. R-53 Fuentealba, R. R-131 Gómez, M. R-88 Fuentes, D. R-103 González, A. R-54 Fuenzalida, K. R-122 González, A. R-14 Fuenzalida, K. R-122 González, A. R-148 Fuller, B. R-32 González, B. R-118 Fuller, B. R-35 González, B. R-110 Gaines, SD. R-50 González, C. R-110 Gaines, SD. R-50 González, C. R-116 Gaines, SD. R-50 González, C. R-166 Gaines, SD. R-73 González, C. R-166 Galanti, N. R-41 González, C. R-73 Galanti, N. R-41 González, C. R-73 Galanti, N. R-41 González, C. R-73 Gallardo, M. R-18 González, C. R-73 Gallardo, M. R-18 González, C. R-166 Gallardo, M. R-18 González, C. R-73 Gallardo, M. R-18 González, C. R-73 Gallardo, M. R-18 González, C. R-73 Gallardo, M. R-19 González, C. R-80 Gallardo, M. R-19 González, C. R-80 Gallardo, M. R-19 González, C. R-103 Gallardo, M. R-106 González, F. R-48 Gallardo, M. R-106 González, F. R-48 Gallardo, M. R-106 González, C. R-89 Galleguillos, M. R-73 González, L. R-80 Gamonal, J. R-102 González, M. R-68				
Foncea, R. R-132 Godoy, P. R-67 Forlivesi, D. R-72 Godoy-Herrera, R. R-106 Formas J.R. R-147 Goic, B. R-108 Formas, J.R. R-147 Gomez, A. R-52 Fournier, M. R-26 Gómez, C. R-121 Frías, JR. R-107 Gomez, I. R-53 Fuentealba, R. R-131 Gómez, M. R-88 Fuentes, D. R-103 Gonzáles, B. R-148 Fuentes, N. R-81 González, A. R-54 Fuenzalida, K. R-122 González, A. R-131 Fuenzalida, M. R-38 González, A. R-148 Fuller, B. R-32 González, B. R-45 González, B. R-110 Gaines, S.D. R-50 González, C. R-116 Gajardo, A. R-78 González, C. R-116 Gajardo, J. R-99 González, C. R-116 Galanti, N. R-41 González, C. B. R-73 Galanti, N. R-42 González, C. B. R-73 Gallardo, J. R-99 González, F. R-48 Gallardo, J. R-18 Gallardo, J. R-19 Gallardo, J. R-10 Gallardo, M. R-10 Gallardo, M. R-10 Gallardo, M. R-10 Gallardo, M. R-10 González, F. R-10 Gallardo, M. R-10 González, C. R-106 Gallardo, M. R-106 González, F. R-48 Gallardo, M. R-106 González, F. R-13 Gallardo, M. R-106 González, C. R-106 Gallardo, M. R-106 González, C. R-106 Gallardo, M. R-106 González, C. R-106 Gallardo, M. R-106 González, F. R-48 Gallardo, M. R-106 González, F. R-49 Gallardo, M. R-106 González, G. R-37 Gallardo, M. R-108 González, L. R-89 Galleguillos, M. R-73 González, L. R-89 Galleguillos, M. R-73 González, M. R-78 Gallardo, M. R-103 González, M. R-68				
Forlivesi, D. R-72 Godoy-Herrera, R. R-106				
Formas J.R. R-147 Goic, B. R-108 Formas, J.R. R-147 Gómez, A. R-52 Fournier, M. R-26 Gómez, C. R-121 Frías, J.R. R-107 Gomez, I. R-53 Fuentealba, R. R-131 Gómez, M. R-88 Fuentes, D. R-103 Gonzáles, B. R-148 Fuentes, N. R-81 González, A. R-131 Fuenzalida, K. R-122 González, A. R-113 Fuenzalida, M. R-38 González, A. R-113 Fuenzalida, M. R-38 González, B. R-45 González, B. R-10 González, B. R-110 González, B. R-110 González, B. R-110 González, C. R-166 Gaines, S.D. R-50 González, C. R-166 Gajardo, A. R-78 González, C. R-166 Gajardo, J. R-99 González, C. R-73 Gajardo, J. R-94 González, C. R-73 Galanti, N. R-41 González, C. R-73 Galanti, N. R-41 González, C. R-73 Galanti, N. R-42 González, C. R-60 Gallardo, J. R-73 Gallardo, M. R-74 Golzález, F. R-73 Gallardo, M. R-74 Gallardo, M. R-74 Gallardo, M. R-74 Gallardo, M. R-74 Gallardo, M. R-706 González, C. R-73 Gallardo, M. R-706 González, C. R-73 Gallardo, M. R-706 Gallardo, M. R-706 González, C. R-73 Gallardo, M. R-706 González, L. R-89 Galleguillos, M. R-73 González, L. R-89 Galleguillos, M. R-73 González, M. R-792 Gamonal, J. R-710 González, M. R-793 González, M. R-793 Gamonal, J. R-710 González, M. R-793 González, M. R-794	·			
Formas, J.R. Formas, J.R. Formas, J.R. Formas, J.R. Formas, J.R. Formas, R. Frías, R. R-26 Gómez, C. R-121 Frías, R. R-107 Gomez, I. R-53 Fuentealba, R. R-131 Gómez, M. R-88 Fuentes, D. R-103 Gonzáles, B. R-148 Fuentes, N. R-81 González, A. Fuenzalida, K. Fuenzalida, M. R-838 González, A. Fuenzalida, M. R-38 González, B. R-44 Fuller, B. R-32 González, B. R-45 González, B. R-48 González, B. R-110 González, B. R-110 González, C. R-1155 Gaines, S.D. R-50 González, C. R-116 Gaines, S.D. R-70 Gajardo, A. R-78 Gajardo, J. R-99 González, C. R-17 Galanti, N. R-41 González, C. R-74 Galanti, N. R-41 González, C. R-74 Galanti, N. R-41 González, C. R-73 Galanti, N. R-41 González, C. R-106 Galanti, N. R-42 González, C. R-106 Galanti, N. R-43 González, C. R-106 Galanti, N. R-44 González, C. R-106 Galanti, N. R-45 González, C. R-106 Galanti, N. R-18 González, C. R-106 Galanti, N. R-18 González, C. R-106 Galanti, N. R-18 González, F. R-60 Gallardo, M. R-106 González, F. R-103 Gallardo, W. R-106 González, F. R-103 Gallardo, W. R-106 González, L. R-13 Galleguillos, D. R-97 González, L. R-13 Galleguillos, M. R-73 González, L. R-89 Galleguillos, M. R-73 González, L. R-78 Gaívez, A. R-78 González, M. R-78 Gamonal, J. R-61 González, M. R-68				
Fournier, M. R-26 Gómez, C. R-121 Frías, JR. R-107 Gomez, I. R-53 Fuentealba, R. R-131 Gómez, M. R-88 Fuentes, D. R-103 Gonzáles, B. R-148 Fuentes, N. R-81 González, A. R-54 Fuenzalida, K. R-122 González, A. R-13 Fuenzalida, M. R-38 González, A. R-148 Fuller, B. R-32 González, B. R-148 Fuller, B. R-32 González, B. R-148 González, B. R-140 González, B. R-110 González, B. R-110 González, C. R-150 Gaines, SD. R-50 González, C. R-166 Gajardo, A. R-78 González, C. R-116 Gajardo, J. R-99 González, C.B. R-73 Galanti, N. R-99 González, C.B. R-73 Galanti, N. R-41 González, D. F. R-60 Gallardo, M. R-42 <				
Frías, JR. R-107 Gomez, I. R-53 Fuentealba, R. R-131 Gómez, M. R-88 Fuentes, D. R-103 Gonzáles, B. R-88 Fuentes, N. R-81 González, A. R-54 Fuenzalida, K. R-122 González, A. R-113 Fuenzalida, M. R-38 González, A. R-148 Fuller, B. R-32 González, B. R-148 Fuller, B. R-36 González, B. R-148 González, B. R-110 González, B. R-110 González, B. R-110 González, B. R-110 Gaines, Caroline R-25 González, C. R-155 Gabus, Caroline R-25 González, C. R-116 Gaines, SD. R-50 González, C. R-116 Gajardo, A. R-78 González, C. R-116 Gajardo, A. R-78 González, C.B. R-73 Gajardo, J. R-99 González, C.B. R-73 Galanti, N. R-41	•			
Fuentealba, R. R-131 Gómez, M. R-88 Fuentes, D. R-103 Gonzáles, B. R-148 Fuentes, N. R-81 González, A. R-148 Fuenzalida, K. R-122 González, A. R-113 Fuenzalida, M. R-38 González, A. R-148 Fuller, B. R-32 González, B. R-45 González, B. R-45 González, B. R-110 G González, B. R-110 González, C. R-155 Gabus, Caroline R-25 González, C. R-166 Gaines, SD. R-50 González, C. R-106 Gaijardo, A. R-78 González, C.B. R-73 Gajardo, J. R-99 González, C.B. R-73 Galanti, N. R-41 González, C.B. R-73 Galanti, N. R-41 González, C.B. R-73 Gallando, M. R-42 González, D.F. R-48 Gallardo, M. R-42 González, F. R-48 Gallardo, M. <td></td> <td></td> <td></td> <td></td>				
Fuentes, D. R-103 Gonzáles, B. R-148 Fuentes, N. R-81 González, A. R-54 Fuenzalida, K. R-122 González, A. R-138 Fuenzalida, M. R-38 González, A. R-148 Fuller, B. R-32 González, B. R-45 González, B. R-45 González, B. R-110 G González, B. R-110 Gabus, Caroline R-25 González, C. R-166 Gaines, SD. R-50 González, C. R-166 Gajardo, A. R-78 González, C.B. R-73 Gajardo, J. R-99 González, C.B. R-73 Galanti, N. R-99 González, C.B. R-73 Galanti, N. R-41 González, C.B. R-73 Gallardo, M. R-18 González, D. F. R-60 Gallardo, M. R-18 González, F. R-18 Gallardo, M. R-106 González, F. R-61 Gallardo, W. R-106 González, L. <td></td> <td></td> <td>•</td> <td></td>			•	
Fuentes, N. R-81 González, A. R-54 Fuenzalida, K. R-122 González, A. R-113 Fuenzalida, M. R-38 González, A. R-148 Fuller, B. R-32 Gonzalez, B. R-45 González, B. R-45 González, B. R-110 G González, B. R-110 Gabus, Caroline R-25 González, C. R-106 Gaines, SD. R-50 González, C. R-106 Gajardo, A. R-78 González, C. R-73 Gajardo, J. R-99 González, C.B. R-74 Galanti, N. R-41 González, C.B. R-74 Galanti, N. R-41 González, C.B. R-73 Galanti, N. R-42 González, D. F. R-60 Gallardo, M. R-42 González, F. R-48 Gallardo, J. R-31 González, F. R-61 Gallardo, M. R-106 González, F. R-61 Gallardo, M. R-106 González, G.				
Fuenzalida, K. R-122 González, A. R-113 Fuenzalida, M. R-38 González, A. R-148 Fuller, B. R-32 González, B. R-45 González, B. R-45 González, B. R-110 González, B. R-111 González, B. R-111 González, B. R-111 González, C. R-155 Gabus, Caroline R-25 González, C. R-166 Gaines, SD. R-50 González, C. R-166 Gajardo, A. R-78 González, C. R-116 Gajardo, J. R-99 González, C.B. R-74 Gallardo, J. R-41 González, C.B. R-73 Galanti, N. R-41 González, C.B. R-73 Gallardo, M. R-42 González, F. R-48 Gallardo, M. R-118 González, F. R-61 Gallardo, M. R-106 González, G. R-37 Gallardo, V. <td< td=""><td>Fuentes, D.</td><td> R-103</td><td>Gonzáles, B</td><td> R-148</td></td<>	Fuentes, D.	R-103	Gonzáles, B	R-148
Fuenzalida, M. R-38 González, A. R-148 Fuller, B. R-32 González, B. R-45 González, B. R-48 González, B. R-110 G González, B. R-111 Gabus, Caroline R-25 González, C. R-155 Gaines, SD. R-50 González, C. R-166 Gajardo, A. R-78 González, C.B. R-73 Gajardo, J. R-99 González, C.B. R-74 Galanti, N. R-41 González, CB. R-73 Galanti, N. R-42 González, CB. R-73 Galindo, M. R-42 González, F. R-60 Gallardo, J. R-31 González, F. R-103 Gallardo, M. R-106 González, F. R-61 Gallardo, M. R-106 González, F. R-61 Galleguillos, D. R-79 González, L. R-37 Galleguillos, D. R-97 González, L. R-89 Galvez, A. R-132 González, M.	Fuentes, N.	R-81	González, A	R-54
Fuller, B. R-32 González, B. R-45 González, B. R-48 González, B. R-110 G González, B. R-110 Gabus, Caroline R-25 González, C. R-155 Gaines, SD. R-50 González, C. R-116 Gajardo, A. R-78 González, C.B. R-73 Gajardo, J. R-99 González, C.B. R-74 Galanti, N. R-41 González, C.B. R-73 Galanti, N. R-42 González, D.F. R-60 Galanti, N. R-118 González, F. R-48 Galindo, M. R-42 González, F. R-103 Gallardo, J. R-31 González, F. R-34 Gallardo, M. R-106 González, F. R-61 Gallardo, W. R-106 González, F. R-61 Galleguillos, D. R-97 González, L. R-73 Galleguillos, D. R-97 González, L. R-78 Gálvez, A. R-132 González, M.	Fuenzalida, K	R-122	González, A	R-113
González, B. R-48 González, B. R-110 González, B. R-111 González, B. R-111 González, C. R-155 Gabus, Caroline R-25 González, C. R-106 Gaines, SD. R-50 González, C. R-106 Gajardo, A. R-78 González, C. R-116 Gajardo, J. R-99 González, C.B. R-73 Galanti, N. R-41 González, C.B. R-73 Galanti, N. R-41 González, C.B. R-73 Galanti, N. R-42 González, C.B. R-73 Galanti, N. R-48 González, D.F. R-60 Galanti, N. R-118 González, F. R-48 Galindo, M. R-42 González, F. R-103 Gallardo, J. R-31 González, F. R-34 Gallardo, J. R-31 González, F. R-34 Gallardo, M. R-106 González, F. R-61 Gallardo, M. R-106 González, G. R-37 Gallardo, V. R-120 González, L. R-13 Galleguillos, D. R-97 González, L. R-13 González, L. R-13 Galleguillos, M. R-73 González, L. R-78 Galleguillos, M. R-78 González, M. R-78 Ganzález, M. R-78 Ganzález, M. R-78 Ganzález, M. R-78 Ganzález, M. R-79 Ga	Fuenzalida, M.	R-38	González, A	R-148
González, B. R-48 González, B. R-110 González, B. R-111 González, B. R-111 González, C. R-155 González, C. R-155 González, C. R-166 Gaines, SD. R-50 González, C. R-166 Gajardo, A. R-78 González, C. R-166 Gajardo, J. R-99 González, C.B. R-73 González, C.B. R-74 Galanti, N. R-41 González, C.B. R-73 Galanti, N. R-42 González, C.B. R-73 Galanti, N. R-48 González, C.B. R-74 González, C.B. R-73 Galanti, N. R-118 González, D.F. R-60 Galanti, N. R-118 González, F. R-48 Galindo, M. R-42 González, F. R-48 Galindo, M. R-42 González, F. R-34 Gallardo, J. R-31 González, F. R-34 Gallardo, M. R-106 González, F. R-31 González, F. R-34 Gallardo, M. R-106 González, F. R-31 Gallardo, M. R-106 González, F. R-61 Gallardo, V. R-130 González, L. R-130 Gallardo, V. R-130 González, L. R-130 Gallardo, V. R-130 González, L. R-89 Galleguillos, M. R-73 González, L. R-78 Gallez, A. R-132 González, M. R-92 Gamonal, J. R-102 González, M. R-103 Gangi, L. R-61 González, M. R-103 Gangi, L. R-61 González, M. R-61 González, M	Fuller, B.	R-32	Gonzalez, B.	R-45
G González, B. R-110 Gabus, Caroline R-25 González, C. R-155 Gaines, SD. R-50 González, C. R-106 Gajardo, A. R-78 González, C.B. R-73 Gajardo, J. R-99 González, C.B. R-74 Galanti, N. R-41 González, CB. R-73 Galanti, N. R-42 González, D.F. R-60 Galanti, N. R-118 González, F. R-60 Galindo, M. R-42 González, F. R-103 Gallardo, J. R-31 González, F. R-104 Gallardo, M. R-106 González, F. R-61 Gallardo, W. R-106 González, G. R-37 Gallardo, V. R-120 González, L. R-13 Galleguillos, D. R-97 González, L. R-89 Galleguillos, M. R-73 González, M. R-92 Gamonal, J. R-102 González, M. R-103 Gangi, L. R-61 González, M.	,			
G González, B. R-111 Gabus, Caroline R-25 González, C. R-155 Gaines, SD. R-50 González, C. R-106 Gajardo, A. R-78 González, C.B. R-73 Gajardo, J. R-99 González, C.B. R-74 Galanti, N. R-41 González, C.B. R-73 Galanti, N. R-42 González, D.F. R-60 Galanti, N. R-118 González, F. R-60 Galindo, M. R-42 González, F. R-103 Gallardo, J. R-31 González, F. R-34 Gallardo, M. R-106 González, F. R-61 Gallardo, V. R-106 González, G. R-37 Gallardo, V. R-120 González, L. R-13 Galleguillos, D. R-97 González, L. R-89 Galleguillos, M. R-73 González, L.F. R-78 Gálvez, A. R-132 González, M. R-92 Gamonal, J. R-61 González, M. <td></td> <td></td> <td></td> <td></td>				
Gabus, Caroline R-25 González, C. R-106 Gaines, SD. R-50 González, C. R-116 Gajardo, A. R-78 González, C.B. R-73 Gajardo, J. R-99 González, C.B. R-74 Galanti, N. R-41 González, CB. R-73 Galanti, N. R-42 González, D. F. R-60 Galanti, N. R-118 González, F. R-48 Galindo, M. R-42 González, F. R-103 Gallardo, J. R-31 González, F. R-34 Gallardo, M. R-106 González, F. R-61 Gallardo, V. R-106 González, G. R-37 Galleguillos, D. R-72 González, L. R-78 Galleguillos, M. R-73 González, L.F. R-78 Gálvez, A. R-132 González, M. R-79 Gamonal, J. R-102 González, M. R-103 Gangi, L. R-61 González, M. R-61				
Gabus, Caroline R-25 González, C. R-106 Gaines, SD. R-50 González, C. R-116 Gajardo, A. R-78 González, C.B. R-73 Gajardo, J. R-99 González, C.B. R-74 Galanti, N. R-41 González, CB. R-73 Galanti, N. R-42 González, D. F. R-60 Galanti, N. R-118 González, F. R-48 Galindo, M. R-42 González, F. R-103 Gallardo, J. R-31 González, F. R-34 Gallardo, M. R-106 González, F. R-61 Gallardo, V. R-106 González, G. R-37 Galleguillos, D. R-97 González, L. R-13 Galleguillos, M. R-73 González, L.F. R-78 Gálvez, A. R-132 González, M. R-92 Gamonal, J. R-102 González, M. R-103 Gangi, L. R-61 González, M. R-68	<u> </u>			
Gaines, SD. R-50 González, C. R-116 Gajardo, A. R-78 González, C.B. R-73 Gajardo, J. R-99 González, C.B. R-74 Galanti, N. R-41 González, CB. R-73 Galanti, N. R-42 González, D. F. R-60 Galanti, N. R-118 González, F. R-48 Galindo, M. R-42 González, F. R-103 Gallardo, J. R-31 González, F. R-34 Gallardo, M. R-106 González, F. R-34 Gallardo, W. R-106 González, G. R-37 Gallardo, V. R-120 González, L. R-37 Galleguillos, D. R-97 González, L. R-89 Galleguillos, M. R-73 González, L.F. R-78 Gálvez, A. R-132 González, M. R-92 Gamonal, J. R-102 González, M. R-103 Gangi, L. R-61 González, M. R-68	Cabus Carolina	D 05		
Gajardo, A. R-78 González, C.B. R-73 Gajardo, J. R-99 González, C.B. R-74 Galanti, N. R-41 González, CB. R-73 Galanti, N. R-42 González, D. F. R-60 Galanti, N. R-118 González, F. R-48 Galindo, M. R-42 González, F. R-103 Gallardo, J. R-31 González, F. R-34 Gallardo, M. R-106 González, F. R-34 Gallardo, W. R-106 González, G. R-37 Gallardo, V. R-106 González, L. R-13 Galleguillos, D. R-97 González, L. R-89 Galleguillos, M. R-73 González, L.F. R-78 Gálvez, A. R-132 González, M. R-92 Gamonal, J. R-102 González, M. R-103 Gangi, L. R-61 González, M. R-68				
Gajardo, J. R-99 González, C.B. R-74 Galanti, N. R-41 González, CB. R-73 Galanti, N. R-42 González, D. F. R-60 Galanti, N. R-118 González, F. R-48 Galindo, M. R-42 González, F. R-103 Gallardo, J. R-31 González, F. R-34 Gallardo, M. R-106 González, F. R-61 Gallardo, W. R-106 González, G. R-37 Gallardo, V. R-120 González, L. R-13 Galleguillos, D. R-97 González, L. R-89 Galleguillos, M. R-73 González, L.F. R-78 Gálvez, A. R-132 González, M. R-92 Gamonal, J. R-102 González, M. R-103 Gangi, L. R-61 González, M. R-68	•			
Galanti, N. R-41 González, CB. R-73 Galanti, N. R-42 González, D. F. R-60 Galanti, N. R-118 González, F. R-48 Galindo, M. R-42 González, F. R-103 Gallardo, J. R-31 González, F. R-34 Gallardo, M. R-106 González, F. R-61 Gallardo, V. R-106 González, G. R-37 Galleguillos, D. R-97 González, L. R-13 Galleguillos, M. R-73 González, L.F. R-89 Gálvez, A. R-132 González, M. R-92 Gamonal, J. R-102 González, M. R-103 Gangi, L. R-61 González, M. R-68				
Galanti, N. R-42 González, D. F. R-60 Galanti, N. R-118 González, F. R-48 Galindo, M. R-42 González, F. R-103 Gallardo, J. R-31 González, F. R-34 Gallardo, M. R-106 González, F. R-61 Gallardo, M. R-106 González, G. R-37 Gallardo, V. R-120 González, L. R-13 Galleguillos, D. R-97 González, L. R-89 Galleguillos, M. R-73 González, L.F. R-78 Gálvez, A. R-132 González, M. R-92 Gamonal, J. R-102 González, M. R-103 Gangi, L. R-61 González, M. R-68				
Galanti, N. R-118 González, F. R-48 Galindo, M. R-42 González, F. R-103 Gallardo, J. R-31 González, F. R-34 Gallardo, M. R-106 González, F. R-61 Gallardo, M. R-106 González, G. R-37 Gallardo, V. R-120 González, L. R-13 Galleguillos, D. R-97 González, L. R-89 Galleguillos, M. R-73 González, L.F. R-78 Gálvez, A. R-132 González, M. R-92 Gamonal, J. R-102 González, M. R-103 Gangi, L. R-61 González, M. R-68				
Galindo, M. R-42 González, F. R-103 Gallardo, J. R-31 González, F. R-34 Gallardo, M. R-106 González, F. R-61 Gallardo, M. R-106 González, G. R-37 Gallardo, V. R-120 González, L. R-13 Galleguillos, D. R-97 González, L. R-89 Galleguillos, M. R-73 González, L.F. R-78 Gálvez, A. R-132 González, M. R-92 Gamonal, J. R-102 González, M. R-103 Gangi, L. R-61 González, M. R-68	•		•	
Gallardo, J. R-31 González, F. R-34 Gallardo, M. R-106 González, F. R-61 Gallardo, M. R-106 González, G. R-37 Gallardo, V. R-120 González, L. R-13 Galleguillos, D. R-97 González, L. R-89 Galleguillos, M. R-73 González, L.F. R-78 Gálvez, A. R-132 González, M. R-92 Gamonal, J. R-102 González, M. R-103 Gangi, L. R-61 González, M. R-68	Galanti, N	R-118	•	
Gallardo, M. R-106 González, F. R-61 Gallardo, M. R-106 González, G. R-37 Gallardo, V. R-120 González, L. R-13 Galleguillos, D. R-97 González, L. R-89 Galleguillos, M. R-73 González, L. R-78 Gálvez, A. R-132 González, M. R-92 Gamonal, J. R-102 González, M. R-103 Gangi, L. R-61 González, M. R-68	Galindo, M	R-42		
Gallardo, M. R-106 González, G. R-37 Gallardo, V. R-120 González, L. R-13 Galleguillos, D. R-97 González, L. R-89 Galleguillos, M. R-73 González, L.F. R-78 Gálvez, A. R-132 González, M. R-92 Gamonal, J. R-102 González, M. R-103 Gangi, L. R-61 González, M. R-68	Gallardo, J	R-31		
Gallardo, M. R-106 González, G. R-37 Gallardo, V. R-120 González, L. R-13 Galleguillos, D. R-97 González, L. R-89 Galleguillos, M. R-73 González, L.F. R-78 Gálvez, A. R-132 González, M. R-92 Gamonal, J. R-102 González, M. R-103 Gangi, L. R-61 González, M. R-68	Gallardo, M.	R-106	González, F	R-61
Gallardo, V. R-120 González, L. R-13 Galleguillos, D. R-97 González, L. R-89 Galleguillos, M. R-73 González, L.F. R-78 Gálvez, A. R-132 González, M. R-92 Gamonal, J. R-102 González, M. R-103 Gangi, L. R-61 González, M. R-68			González, G	R-37
Galleguillos, D. R-97 González, L. R-89 Galleguillos, M. R-73 González, L.F. R-78 Gálvez, A. R-132 González, M. R-92 Gamonal, J. R-102 González, M. R-103 Gangi, L. R-61 González, M. R-68			González, L	R-13
Galleguillos, M. R-73 González, L.F. R-78 Gálvez, A. R-132 González, M. R-92 Gamonal, J. R-102 González, M. R-103 Gangi, L. R-61 González, M. R-68				
Gálvez, A. R-132 González, M. R-92 Gamonal, J. R-102 González, M. R-103 Gangi, L. R-61 González, M. R-68	•		•	
Gamonal, J. R-102 González, M. R-103 Gangi, L. R-61 González, M. R-68	_			
Gangi, L. R-61 González, M. R-68				
~ 4 1				
Garay, D K-40 Gonzaicz, W K-08	_			
	Garay, D	K-40	Conzaicz, Wi	K-00

González, P	R-62	Herrera, E.A.	R-72
González, R		Herrera, EA.	
González, Ruth		Herrera, EA.	
González-Arratia, M		Herrera, FJ.	
Gordillo, F.		Herrera-Marschitz, M	
Gotteland, M.		Herrera-Marschitz, M.	
Gregory-Wodzicki, KM.		Herrera-Marschitz, M.	
Greiner, M.		Hershkovitz, M.	
Grez, A.A.		Hershkovitz, M.	
Grez, A.A.		Hershkovitz, M	
Griffith, M.		Hershkovitz, Mark A.	
Gringas, A		Hertz, P.E.	
		•	
Grossi, B.		Hess, S	
Guacucano, M.			
Guaitiao, J.P.		Hess, S.	
Guerra, M.		Hetz, C.	
Guerrero, J.		Hidalgo, A.	
Guerrero, J		Hidalgo, A.A.	
Guerrero, S.		Hidalgo, C.	
Guiñez, R.		Hidalgo, M.E.	
Guixé, V.		Hinojosa, LF	
Guixé, V		Hinrichs, M.V.	
Gutiérrez, A		Hinrichs, M.V.	
Gutiérrez, Alvaro G		Hinrichs, M.V.	
Gutiérrez, C.		Hinrichs, M.V.	
Gutiérrez, H		Hinrichsen, P.	
Gutiérrez, J.		Hinrichsen, P.	
Gutierrez, J.E.		Hinrichsen, P.	
Gutiérrez, J.R	R-12	Holmes, D	
Gutiérrez, J.R.		Holmes, D	R-48
Gutiérrez, J.R.	R-86	Holmes, D	
Gutiérrez, J.R.	R-153	Holmes, D	R-143
Gutierrez, MG		Holmes, D	R-143
Gutiérrez-Pajares, J.L.	R-126	Holmes, D.S.	R-142
Guzmán, A	R-140	Holuigue, L	R-13
Guzmán, C.G.	R-122	Holuigue, L	R-78
Guzmán, L	R-133	Holuigue, L	R-53
		Huaiquín, P	R-74
		Huaquimilla, H	R-145
Н		Huaracán, B	R-104
		Huber, A	R-85
Hancke, J.L.	R-118	Huey, R.B.	
Hanson, M.A.	R-72	Huey, R.B	
Hanson, MA	R-19	Huidobro, C	R-30
			D 72
Hatton, F.	N-1U1	Humeres, A	K-/3
,		Humeres, A Hunt, Donald F	
Haussmann, D.	R-138		
Haussmann, D. Hebert, EM.	R-138 R-107		
Haussmann, D. Hebert, EM. Hedden, P.	R-138 R-107 R-59		
Haussmann, D. Hebert, EM. Hedden, P. Henríquez, C.	R-138 R-107 R-59 R-147	Hunt, Donald F.	
Haussmann, D. Hebert, EM. Hedden, P. Henríquez, C. Henríquez, H.	R-138 R-107 R-59 R-147 R-47	Hunt, Donald F.	R-5
Haussmann, D. Hebert, EM. Hedden, P. Henríquez, C. Henríquez, H. Herbreteau, C.	R-138 R-107 R-59 R-147 R-47 R-25	Hunt, Donald F. I Ibacache, E.	R-5
Haussmann, D. Hebert, EM. Hedden, P. Henríquez, C. Henríquez, H. Herbreteau, C. Hermoso, M.	R-138 R-107 R-59 R-147 R-47 R-25 R-71	Hunt, Donald F. Ibacache, E. Ibacache, W.	R-5
Haussmann, D. Hebert, EM. Hedden, P. Henríquez, C. Henríquez, H. Herbreteau, C. Hermoso, M. Hernández, A.	R-138 R-107 R-59 R-147 R-47 R-25 R-71 R-76	Hunt, Donald F. I Ibacache, E. Ibacache, W. Ibáñez, C. M.	R-5 R-84 R-101 R-152
Haussmann, D. Hebert, EM. Hedden, P. Henríquez, C. Henríquez, H. Herbreteau, C. Hermoso, M. Hernández, A. Hernández, A.	R-138 R-107 R-59 R-147 R-47 R-25 R-71 R-76	Hunt, Donald F. I Ibacache, E. Ibacache, W. Ibáñez, C. M. Ibarra, C.	R-5 R-84 R-101 R-152 R-44
Haussmann, D. Hebert, EM. Hedden, P. Henríquez, C. Henríquez, H. Herbreteau, C. Hermoso, M. Hernández, A. Hernández, A. Hernández, A.	R-138 R-107 R-59 R-147 R-47 R-25 R-71 R-76 R-77 R-78	Hunt, Donald F. I Ibacache, E. Ibacache, W. Ibáñez, C. M. Ibarra, C. Illanes, S.	R-5 R-84 R-101 R-152 R-44 R-62
Haussmann, D. Hebert, EM. Hedden, P. Henríquez, C. Henríquez, H. Herbreteau, C. Hermoso, M. Hernández, A. Hernández, A. Hernández, A. Hernández, A.	R-138 R-107 R-59 R-147 R-47 R-25 R-71 R-76 R-77 R-78 R-78 R-78	Hunt, Donald F. Ibacache, E. Ibacache, W. Ibáñez, C. M. Ibarra, C. Illanes, S. Imarai, M.	R-5 R-84 R-101 R-152 R-44 R-62 R-114
Haussmann, D. Hebert, EM. Hedden, P. Henríquez, C. Henríquez, H. Herbreteau, C. Hermoso, M. Hernández, A. Hernández, A. Hernández, A. Hernández, A. Hernández, A. Hernández, A.	R-138 R-107 R-59 R-147 R-47 R-25 R-71 R-76 R-77 R-78 R-78 R-75 R-70	Hunt, Donald F. Ibacache, E. Ibacache, W. Ibáñez, C. M. Ibarra, C. Illanes, S. Imarai, M. Imarai, M.	R-5 R-84 R-101 R-152 R-44 R-62 R-114
Haussmann, D. Hebert, EM. Hedden, P. Henríquez, C. Henríquez, H. Herbreteau, C. Hermoso, M. Hernández, A. Hernández, A. Hernández, A. Hernández, A. Hernández, A. Hernández, C.	R-138 R-107 R-59 R-147 R-47 R-25 R-71 R-76 R-77 R-78 R-78 R-75 R-104 R-104	Hunt, Donald F. Ibacache, E. Ibacache, W. Ibáñez, C. M. Ibarra, C. Illanes, S. Imarai, M. Imarai, M. Imarai, M.	R-5 R-84 R-101 R-152 R-44 R-62 R-114 R-114 R-62
Haussmann, D. Hebert, EM. Hedden, P. Henríquez, C. Henríquez, H. Herbreteau, C. Hermoso, M. Hernández, A. Hernández, A. Hernández, A. Hernández, A. Hernández, C. Hernández, C. Hernández, C.	R-138 R-107 R-59 R-147 R-47 R-25 R-71 R-76 R-76 R-78 R-78 R-75 R-104 R-104 R-57	Hunt, Donald F. Ibacache, E. Ibacache, W. Ibáñez, C. M. Ibarra, C. Illanes, S. Imarai, M. Imarai, M. Imarai, M. Imarai, M. Imarai, M. Imschenetzky, M.	R-5 R-84 R-101 R-152 R-44 R-62 R-114 R-62 R-52
Haussmann, D. Hebert, EM. Hedden, P. Henríquez, C. Henríquez, H. Herbreteau, C. Hermoso, M. Hernández, A. Hernández, A. Hernández, A. Hernández, C. Hernández, C. Hernández, C. Hernández, C. Hernández, E.H. Hernández, P.L.	R-138 R-107 R-59 R-147 R-47 R-25 R-71 R-76 R-77 R-78 R-78 R-75 R-104 R-104 R-57 R-37	Hunt, Donald F. Ibacache, E. Ibacache, W. Ibáñez, C. M. Ibarra, C. Illanes, S. Imarai, M. Imarai, M. Imarai, M. Imschenetzky, M. Inestrosa, N.C.	R-5 R-84 R-101 R-152 R-44 R-62 R-114 R-114 R-52 R-52 R-117
Haussmann, D. Hebert, EM. Hedden, P. Henríquez, C. Henríquez, H. Herbreteau, C. Hermoso, M. Hernández, A. Hernández, A. Hernández, A. Hernández, A. Hernández, C. Hernández, C. Hernández, C.	R-138 R-107 R-59 R-147 R-47 R-47 R-25 R-71 R-76 R-77 R-78 R-78 R-104 R-104 R-57 R-37 R-37 R-55	Hunt, Donald F. Ibacache, E. Ibacache, W. Ibáñez, C. M. Ibarra, C. Illanes, S. Imarai, M. Imarai, M. Imarai, M. Imarai, M. Imarai, M. Imschenetzky, M.	R-5 R-84 R-101 R-152 R-44 R-62 R-114 R-114 R-62 R-52 R-117 R-118

Inestrosa, NC	R-97	Kalin Arroyo, Mary T	R-8
Inestrosa, NC		Kalin, M.T.K.	
Infante, C.		Karahanian, E	
Inostroza, C		Kato, S	
Inostroza, J		Kausel, G.	
Inostroza, P.		Kausel, G.	
Inzunza, B		Kausel, G.	
Israel, Y		Keitt, T.H.	
Israel, Y.		Kerr, B.	
Israel, Y.		Kessi, E.	
Iturra, P.		Klattenhoff, C.	
Ituria, 1		Koenig, C.	
Iturrieta, J		Kohler N.	
Itumieta, J	K-124	Köhler, N.	
-		Köhler, N Krause, F	
J			
*	7. 440	Krauskopf, M.	
Jabalquinto, A. M		Krauskopf, M.	
Jacob, G		Kreither, J.	
Jaimovich, E		Krogh, Karin	
Jaimovich, E		Krsulvic, J	
Jaksic, FM		Kunz, M	R-48
Jaksic, FM			
Jaksic, FM			
Jaksic, FM		L	
Jalil, J	R-29		
Jamett, A		Labarca, P.	
Jamett, A	R-104	Labarca, P	
Jamett, A	R-104	Lagos, F	R-76
Jamett, A	R-108	Lagos, R.	R-141
Jara, C.K	R-82	Lagos, R	R-141
Jara, L	R-107	Lamperti, L	R-68
Jara, M.P	R-122	Lamperti, L	R-75
Jara, P	R-54	Lara, A	R-20
Jara, P	R-89	Lara, HE	R-24
Jashés, M	R-108	Lara, HE	R-29
Jedlicki, E	R-33	Lara, HE	R-53
Jedlicki, E	R-48	Larach, O	R-150
Jedlicki, E	R-142	Lardies, M.A	R-50
Jedlicki, E	R-143	Larraín, H	R-91
Jerez, C. A	R-143	Larrondo, L	R-99
Jerez, C.A	R-48	Larrondo, L. F	R-131
Jerez, C.A	R-144	Larrondo, LF	R-33
Jiménez, A		Larrondo, Milton	R-120
Jiménez, D		Lastra, Olga	R-120
Jiménez, L		Latorre, C	
Jiménez, P		Laurido, C	R-77
Jiménez-Castillo, M		Lavandero, S.	
Jofré, C		Lavandero, S.	
Jofre, SC		Lavandero, S.	
Jordan, M.,		Lavandero, S.	
Jordana, X.		Lavandero, S.	
Jörnvall, H		Lay-son, G.	
Jorquera, C		Lazarte, R.	
Jorquera, O		Le Blanc, Pascal	
Jorquera, Ramón A		Ledger, T.	
Juárez, S		Lefimil, C.	
Juaicz, S	K-132		
		Lefimil, C	
	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	Lehnebach, C.	
K	 	Leiva-Salcedo, Elías	
		León, A.L.	
Kalergis, Alexis M	R-32	León, M.F	K-85

Leon, O	R-108	Manosalva, H	
León, O		Manrique, R	
León, R		Manríquez, G	
eón, R		Manríquez, G	
.eppe, M		Manríquez, J.	
eppe, M		Manterola, C	
erdner, M		Manubens, A	
etelier, I		Marcelo, W	
etelier, M. E		Marchand, F.	
etelier, M. E		Marchant, C.	
etelier, M. E		Marcoleta, A	
evican, G		Mardones, L	
eyton, L		Marín, J.	
eyton, L		Marín, J.C.	
eyton, L		Marquet, P. A	
eyton, L		Marquet, P.A.	
i Kao, J		Marquet, PA.	
i Kao, J		Márquez, N.	
iberona, M		Marshall, Janice	
ijs, K		Marticorena, A	
isbona, F		Martínez, E.A.	
itvak, S		Martínez, E.A.	
itvak, S		Martínez, Ginger	
lanos, A.J		Martínez, Ginger	
lanos, AJ		Martínez, J.	
lanos, AJ		Martínez, J.	
lanos, JA		Martínez, M.	
lanos, L		Martínez, M	
lop, E		Martinez, N	
obos, S		Martinez, P.	
ocher, J		Martínez, P	
odato, P.		Martínez, R	
odato, P.		Martínez, R	
odato, P		Martínez-Oyanedel, J	
ópez, D		Marusic, E	
ópez, E		Matamala, A	
ópez, J		Matsuhiro, B	
ópez, J		Matthei, O	
ópez, M		Maturana, C	
ópez, M		Matus, M.V.	
ópez, V		Maureira, C	
ópez, V		Maureira, L.	
ópez-Calleja, M. V		Mauricio, L	
ozano, C		Mayor, R.	
ozano, C.		McCoil, K	
udwig, H		Medel, R.	
udwig, H		Medel, R	
usk, C		Medina C	
usk, C		Meisel, L.	
usk, C.H		Mejía, N	R-86
usk, CH		Mejías, E	
uza, S		Mella, D.	
yrene, P	R-47	Mellado, A	R-145
		Melo, F	R-60
		Melo, F.	R-142
M		Méndez, M	R-145
	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	Méndez, M	
fac Donald, R	R-56	Mendoza, L	
1aisey, K		Mercado, A	
Ialdonado, A		Merdinoglu, D	
Ialdonado, C.		Meserve, PL	
Aldonado, E		Metcalfe, M. J.	

Meynard, A.P.	R-50	Mujica, E	R-144
Meynard, C. N.	R-147	Müller, I	
Michea, L.	R-71	Müller, M	R-6′
Milinarsky, A	R-115	Munafó, DB.	R-11:
Milla, L.	R-88	Muñoz, A.A	R-58
Millán, P	R-41	Muñoz, C	R-78
Minguell, J.J.	R-123	Muñoz, C	R-102
Minguell, J.J.	R-124	Muñoz, C	R-113
Minguell, Jose J	R-7	Muñoz, G	R-13
Miño, V	R-42	Muñoz, G	R-82
Miquel, A	R-104	Muñoz, L	R-40
Miquel, A		Muñoz, P	
Moenne, A.		Munroe, D.	
Moenne, A.	R-79	Murillo, A	
Moenne, A.	R-80	Murua, R.	
Moisan, P.		Murúa, R.	
Moisan, Ph		Murúa, R.	
Molina, A		,	
Molina, A.			
Molina, A. M.		N	
Molina, G.		IN .	
Molina, MC.		Narria, M.	D 94
Molina-Montenegro, M.A		Navarrete, M.	
Moltedo, B.		Navarrete, M	
Moltedo, B.		Navarrete, S.	
Monasterio, O		Navarrete-Droguett, J.	
Monasterio, O			
Monasterio, O		Navarro, C.	
Moncada, C.		Navarro, S	
Moncada, C.		Neely, A.	
Moncada, X.		Neira, M.	
Mondaca, M.		Nespolo, RF.	R-50
•		Nespolo, RF.	
Monsó, C.		Nickel, F.	
Montecino, M.		Nieto, S.	
Montecino, M.		Nishimura, S	
Montecino, M.		Noé, G	
Montenegro, G.		Noelle, R.J.	
Montenegro, G		Noemí, I.	
Montiel, J.		Noseda, R.	
Montoya, M		Novoa, F.	
Mora, G		Novoa, F. Fernando	
Mora, G.		Novoa, F. Fernando	
Mora, G		Nualart, F	
Moraga, M.		Nualart, F	
Moraga, M		Nualart, F	
Morales, C.		Nualart, F	R-138
Morales, I		Nualart, Francisco	R-7
Morales, I		Núñez, H	R-107
Morales, J.		Nuñez, M	R-155
Morales, P	R-24	Núñez, M.A	
Morales, P	R-53	Núñez, M.A.	
Morales, P.		Núñez, MT.	
Morales, PG	R-114	Núñez, MT	
Moreno, J	R-132	Núñez-Millacura, C	
Moreno, P.I.	R-23	,	
Moreno, P.I.			
Moreno, R.D	R-121	0	
Morera, F.J.			
Morgado, N		Obreque, J	TD_109
Motles, E		Ocaranza, M.	
Moya, Mario		Ohlmann, T.	
Mujica, C			
· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		Ojeda, F. P	K-40

Olada E Daminia	1 Domadas D D 07
Ojeda, F. Patricio	
Ojeda, J.M	
Ojeda, N	, · · · · · · · · · · · · · · · ·
Ojeda, P	
Ojeda, P	
Ojeda, R	
Olate, J	
Olave-Concha, N	
Olave-Concha, N	
Oliva, Carolina	
Olivares, D	
Olivares, F	
Oliveira, L R-	
Olivero, P R-	
Oñate, A	,
Oñate, A	·
Oñate, A	
Ordóñez, A.M R-	
Orellana, MR-	
Orellana, MR-1	
Orellana, O	
Orellana, O	9 Peñaloza, E
Orellana, S	3 Penco, V R-37
Orihuela, PA R-12	5 Perdomo, G R-73
Orihuela, PA R-12	5 Pereira, I
Orihuela, PA R-12	6 Pérez, A
Ortega, R R-:	8 Pérez, A
Ortega, R R	1 Pérez, C
Ortega, X R	4 Pérez, C R-121
Ortiz, C R-	
Ortiz, C R-1	
Ortiz, S R-1	,
Ortiz, SylviaR-1	
Oses, R R-	
Osorio, J R-	
Ossa-Zazzali, P R-1	
Osses, P R-	
	Pérez, JM R-89
	Pérez, LM
P	Pérez, LM
	Pérez, M
Padula, P R-1	
Padula, PJ R-1	T 1 1 T
Paeile, C	D. D. 1 D. D. 111
Delegion I	
Palacios, JR-1	- 11 1 6
Palma, AR-1	9 Pezzoli, M
Palma, A	9 Pezzoli, M
Palma, A. R-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1	9 Pezzoli, M
Palma, A. R-1 Palma, A. R-1 Palma, R. E. R- Palma, R. E. R-	9 Pezzoli, M. R-72 2 Phung, Le T R-110 6 Pieper, D. R-111 0 Pimentel, A. R-76
Palma, A. R-1 Palma, A. R-1 Palma, R. E. R- Palma, R. E. R- Palma, R. E. R- Palma, R. E. R-	9 Pezzoli, M. R-72 2 Phung, Le T R-110 6 Pieper, D. R-111 0 Pimentel, A. R-76 9 Pinto, M. R-42
Palma, A. R-1 Palma, A. R-1 Palma, R. E. R- Palma, R. E. R- Palma, R. E. R-1 Palma-Heldt, S. R-	9 Pezzoli, M. R-72 2 Phung, Le T R-110 6 Pieper, D. R-111 0 Pimentel, A. R-76 9 Pinto, M. R-42 4 Pinto, R. R-55
Palma, A. R-14 Palma, A. R-15 Palma, R. E. R-16 Palma, R. E. R-16 Palma, R. E. R-16 Palma-Heldt, S. R-16	9 Pezzoli, M. R-72 2 Phung, Le T R-110 6 Pieper, D. R-111 0 Pimentel, A. R-76 9 Pinto, M. R-42 4 Pinto, R. R-55 3 Pinto, R. R-91
Palma, A. R-14 Palma, A. R-15 Palma, R. E. R-16 Palma, R. E. R-17 Palma-Heldt, S. R-18 Palma-Heldt, S. R-19 Parada, T. R-17 Parada, T. R-17	9 Pezzoli, M. R-72 2 Phung, Le T R-110 6 Pieper, D. R-111 0 Pimentel, A. R-76 9 Pinto, M. R-42 4 Pinto, R. R-55 3 Pinto, R. R-91 4 Piontelli, E. R-115
Palma, A. R-14 Palma, A. R-15 Palma, R. E. R-16 Palma, R. E. R-17 Palma, R. E. R-18 Palma-Heldt, S. R-18 Parada, T. R-18 Parada-Bustamante, A. R-17	9 Pezzoli, M. R-72 2 Phung, Le T R-110 6 Pieper, D. R-111 0 Pimentel, A. R-76 9 Pinto, M. R-42 4 Pinto, R. R-55 3 Pinto, R. R-91 4 Piontelli, E. R-115 5 Piper, FI. R-39
Palma, A. R-1 Palma, A. R-1 Palma, R. E. R-1 Palma, R. E. R-1 Palma, R. E. R-1 Palma-Heldt, S. R-1 Parada, T. R-1 Parada-Bustamante, A. R-1 Parada-Bustamante, A. R-1 Parada-Bustamante, A. R-1	9 Pezzoli, M. R-72 2 Phung, Le T R-110 6 Pieper, D. R-111 0 Pimentel, A. R-76 9 Pinto, M. R-42 4 Pinto, R. R-55 3 Pinto, R. R-91 4 Piontelli, E. R-115 5 Piper, FI. R-39 6 Pizarro, E. R-116
Palma, A. R-14 Palma, A. R-15 Palma, R. E. R-16 Palma, R. E. R-17 Palma, R. E. R-16 Palma-Heldt, S. R-17 Parada, T. R-17 Parada-Bustamante, A. R-17	9 Pezzoli, M. R-72 2 Phung, Le T R-110 6 Pieper, D. R-111 0 Pimentel, A. R-76 9 Pinto, M. R-42 4 Pinto, R. R-55 3 Pinto, R. R-91 4 Piontelli, E. R-115 5 Piper, FI. R-39 6 Pizarro, E. R-116 0 Pizarro, E. R-149

Pizarro, R	R-89	Reyes, A.M	R-139
Pohl, N	R-58	Reyes, A.M.	
Polanco, R	R-98	Reyes, C.E.	
Poniachik, J	R-134	Reyes, J	
Pooley, A		Reyes, J.M	
Pouchucq, L.		Reyes, L.	
Poulin, É	R-152	Reyes, R.	
Poulin, E	R-46	Reyes, VR	
Prado, E		Reyes, VR.	
Preller, A		Riadi, G.	
Preller, A.		Richard de Soultrait, V	
Premoli, A.C.		Rigotti, A	
Prevot, D.		Rioseco, T.	
Prieto, A.		Rioseco, T.	
Pulgar, V.M		Riquelme, M.A	
Pulgar, VM.		Riquelme, R.A.	
Pulgar, VM.		Riquelme, RA	
Pulgar, VM		Riquelme, RA	
z 41841,		Riquelme, RA	
		Rivas, M.	
Q		Rivas, M.	
Q		Rivera-Milla, E.	
Overthist B	D 40	Riveros, A.	
Quatrini, R.		Riveros, M.	
Quest A.F.G.		Riveros, M.	
Quest, A.F.G.		Riveros, R.	
Quest, A.F.G.			
Quest, A.F.G.		Roa, J Rocha, F. J	
Quest, A.F.G.		*	
Quest, A.F.G		Rodas, C.	
Quevedo, S.		Rodrigo, R.	
Quezada, C		Rodrigues, Leonardo O	
Quezada, S.A		Rodríguez, D	
Quilhot, W		Rodríguez, E	
Quiñones, L		Rodríguez, E	
Quiñones, L		Rodríguez, EM.	
Quiñones, L	R-134	Rodríguez, F.	
Quintanilla, ME	R-53	Rodríguez, G	
Quiroga, C		Rodríguez, G	
Quiroz, C.L	R-92	Rodríguez, J	
		Rodríguez, J	
		Rodríguez, N	
		Rodríguez, S	
		Rodriguez, S.R.	
Rabinovitch, M	R-115	Rojas, A	
Rada, F.		Rojas, A.M.	
Ramírez, C		Rojas, A.M.	
Ramírez, C.		Rojas, C	R-75
Ramirez, G.		Rojas, G	R-56
Ramírez, M		Rojas, G	R-83
Rapoport, Eduardo H		Rojas, M	R-89
Ratkevicius, N		Rojas, M.C.	R-59
Ravanal, C.		Rojas, M.C.	
Raya, B		Rojas, R	
Reid, S.		Rojas, S	
Reinicke, K.		Román, O	
Remonsellez, F.		Romero, A.	
		Romero, M	
Retamal, D.		Romero, M	
Retamal, M		Romero-Oliva, F	
Retamal, R		Romo, X	
Retamales, P.		Roncagliolo, M.	
Retamales, P.		Rosas, R.	
Reyes, A. M	R-45	22000, 121	1x-T1

December M	0.71	D 100
Rosemblatt, M		
Rosemblatt, M		
Roth, M.		
Rothhammer, F.		
Rothhammer, F		
Rougier, D.		
Roveraro, C.		
Rovere, A.E. R	1 0.	
Rubio, C		
Rubio, S R		
Rubio, S		
Ruiz G		
Ruiz, S.		
Ruiz, V		
Ruiz-Tagle, N		
Rutherford, P.		
1,010,10,10,10,10,10,10,10,10,10,10,10,1	Seelenfreund, D.	
	Seguel, M.	
S	Serra, L.	
	Sfeir, A	
Saavedra, V.		
Sabaj, V	~ .	
Sabaj, V	~. ~	
Sadarangani, A.		
Sadarangani, A	~· ~	
Saez, D.		
Sáez, H.	a	
Sáez, J.C.	AL 1 A TT	
Sáez, J.C.		
Saez, M		
Salas, A. R	0.1	
Salas, C	7.7	
Salas, L		
Salas, M		
Salazar, E. R		
Salazar, J		
Salazar, M	~	
Salazar-Onfray, F		
Salazar-Onfray, F		R-151
Salcedo, Margarital		R-75
Salinas, M.		R-115
Salinas, M		R-49
Salinas, M.F.	C' E	R-24
Salinas, P.	a. —	R-71
Salvo, H		
San Martín, C.		
San Martin, J.	a: 5	R-22
San Martín, Jl	C' D'I ICM	R-18
San-Martín, R	G1 1 7 G	
Sánchez, A		R-136
Sánchez, C	C1 1 T C	R-137
Sanchez, G		
Sanchez, G.	a a	
Sánchez, H.A.	G 24 D	
Sandino, Ana María		
Sandoval, M		
Sanhueza, EM.		
Sanhueza, EM.	a	
Sanhueza, EM.		
Sanhueza, J	~	
Santander V		

Sogayar, M.C		
Sogayar, Mari C	R-8 Torres, P. A	R-83
Solari, Aldo R	120 Torres, P. A	R-87
Solari, M.E]	R-20 Torres, R	R-24
Solari, M.E 1	R-84 Torres, V	R-133
Solís, N R	119 Torres, W	R-93
Soll, D 1	R-49 Torres-Pérez, F	R-149
Soll, D		
Somoza, R R	± '	
Soto, D		
Soto, E. R R		
Soto, R.E 1		
Soto, X R		
Soto-Moyano, R		
Sotomayor, C.P	* * '	
Souto, C.P R		K-0
Soza, C		
Spencer, E		
Spichiger, C R		
Spichiger, CR		
Spotorno, A I		
Spotorno, A I	0 110w, 11	R-127
Squeo, F.A I		R-75
Squeo, F.A I		R-90
Squeo, F.A I		R-13
Squeo, F.A I		R-59
Stehberg, R I	2-83 Ureta, T	
Stenseth, N. Chr I	L-22 Uribe, E	
Stutzin, A I	L-24 Urra, C	
Stutzin, A I	L-71 Urrutia, H.	
Stutzin, A I		
Suwalsky, M I	1-37 Urrutia, R	
•	Urrutia, R.	
	Urzúa, B.	
T	Urzúa, B.	
Гатріег, L І	-53	
Гаріа, G R.		
Гаріа, G	•	<u> </u>
Гаріа, G R. R.		D 61
Tapia, V R.	t with, or minimum.	
Tapia, V	4.04	
Tapia-Arancibia, L I		
Tarrago-Litvak, L		
	.,	
Tarrago-Litvak, L I	10	
Teillier, S I	-40 Valenzuela A	R-134
Teneb, E		
Firado, C R-	-92 Valenzuela, C	
m· 11 37	Valenzuela, C	R-111
Tischler, N	151 Valenzuela, C	R-111
Titarelli, A I	1-92 Valenzuela, C	R-111
Fitarelli, A I Fobar, D I	1-92 Valenzuela, C. 151 Valenzuela, M. 104 Valenzuela, P. 1-88 Valenzuela, P. 1-90 Valenzuela, P.	R-111 R-103 R-104 R-104
Fitarelli, A	4-92 Valenzuela, C. 151 Valenzuela, M. 104 Valenzuela, P. 4-88 Valenzuela, P. 4-90 Valenzuela, P. 45 Valenzuela, P.	R-111 R-103 R-104 R-104 R-104 R-104
Titarelli, A. I Tobar, D. I Tobar, J. I Tobar, N. R	1-92 Valenzuela, C	
Titarelli, A	1-92 Valenzuela, C	R-111 R-102 R-104 R-104 R-104 R-104 R-104 R-104
Fitarelli, A. I Fobar, D. I Fobar, J. I Fobar, N. R Fobella, L. R Foledo, ED. I	1-92 Valenzuela, C	R-111 R-102 R-102 R-104 R-104 R-104 R-104 R-104 R-104 R-108
Titarelli, A	Valenzuela, C. Valenzuela, M. Valenzuela, P. Valenzuela, V.	R-111 R-102 R-102 R-104 R-104 R-104 R-104 R-104 R-104 R-108 R-108 R-134
Titarelli, A. I Tobar, D. I Tobar, J. I Tobar, N. R Tobella, L. R Toledo, ED. I Toledo, H. R	Valenzuela, C. Valenzuela, M. Valenzuela, M. Valenzuela, P. Valenzuela, V. Valladares, L.	R-111 R-102 R-104 R-104 R-104 R-104 R-104 R-104 R-108 R-108 R-134 R-76
Fitarelli, A. I Fobar, D. I Fobar, J. I Fobar, N. R Fobella, L. R Foledo, ED. I	1-92 Valenzuela, C. 151 Valenzuela, M. 104 Valenzuela, P. 1-88 Valenzuela, P. 1-90 Valenzuela, P. 1-45 Valenzuela, P. 119 Valenzuela, P. 112 Valenzuela, P. 1-97 Valenzuela, V. 111 Valladares, L. 111 Valle, A.	R-111 R-102 R-104 R-104 R-104 R-104 R-104 R-104 R-105 R-108 R-134 R-76 R-53
Titarelli, A. I Tobar, D. I Tobar, J. I Tobar, N. R Tobella, L. R Toledo, ED. I Toledo, H. R Toledo, H. R Toledo, H. R	1-92 Valenzuela, C. 151 Valenzuela, M. 104 Valenzuela, P. 1-88 Valenzuela, P. 1-90 Valenzuela, P. 1-45 Valenzuela, P. 119 Valenzuela, P. 112 Valenzuela, P. 1-97 Valenzuela, V. 111 Valladares, L. 111 Valle, A. 139 Van Beeumen, J.	R-111 R-102 R-104 R-104 R-104 R-104 R-105 R-108 R-108 R-134 R-76 R-53 R-139
Titarelli, A. I Tobar, D. I Tobar, J. I Tobar, N. R Tobella, L. R Toledo, ED. I Toledo, H. R Toledo, H. R Toro, J. R	4-92 Valenzuela, C. 151 Valenzuela, M. 104 Valenzuela, P. 4-88 Valenzuela, P. 4-90 Valenzuela, P. 4-45 Valenzuela, P. 119 Valenzuela, P. 112 Valenzuela, P. 4-97 Valenzuela, V. 111 Valladares, L. 111 Valle, A. 139 Van Beeumen, J. 115 Varela, D.	R-111 R-102 R-102 R-104 R-104 R-104 R-104 R-104 R-108 R-134 R-76 R-53 R-139 R-139 R-139 R-139
Titarelli, A I Tobar, D I Tobar, J I Tobar, N R Tobella, L R Toledo, ED I Toledo, H R Toledo, H R Toro, J R Toro, M R	1-92 Valenzuela, C. 151 Valenzuela, M. 104 Valenzuela, P. 1-88 Valenzuela, P. 1-90 Valenzuela, P. 119 Valenzuela, P. 112 Valenzuela, P. 1-97 Valenzuela, V. 111 Valladares, L. 111 Valle, A. 1139 Van Beeumen, J. 115 Varela, D. 115 Varela, D.	R-111 R-102 R-104 R-104 R-104 R-104 R-104 R-104 R-108 R-134 R-76 R-53 R-139 R-24 R-77
Titarelli, A. I Tobar, D. I Tobar, J. I Tobar, N. R Tobella, L. R Toledo, ED. I Toledo, H. R Toledo, H. R Toro, J. R Toro, M. R Torrealba, F. R	1-92 Valenzuela, C. 151 Valenzuela, M. 104 Valenzuela, P. 1-88 Valenzuela, P. 1-90 Valenzuela, P. 1-45 Valenzuela, P. 119 Valenzuela, P. 112 Valenzuela, P. 1-97 Valenzuela, V. 111 Valladares, L. 111 Valle, A. 1139 Van Beeumen, J. 115 Varela, D. 115 Varela, D. 112 Varela, N.	R-111 R-102 R-104 R-104 R-104 R-104 R-104 R-108 R-108 R-134 R-76 R-53 R-139 R-24 R-71 R-134

Varela-Nallar, L	R-97	Villanueva, J	R-34
Vargas, M		Villavicencio, C.P	
Vasquez, B		Villegas, J	
Vásquez, G		Villegas, J	
Vásquez, R. A		Villegas-Delgado, P	
Vásquez, R.A		Villena, F.	
Vásquez, R.A.		Villota, C.	
Vásquez-Del Carpio, R		Villota, C.	
Vedoy, Cleber G		Vinet, R	
Vega-Zúñiga, T		Vio, CP	
Velarde, V		Vio, K	
Velarde, V		Viola, T.	
Velasquez, L		Von Benhardi, R.	
Velásquez, L		Von Bennardi, K	K-154
Velásquez, L		XX/	
Vélez, P.		W	
Véliz, L.P.			
Veloso, A		Wagner, C.,	
Veloso, A		Walter, R	
Veloso, C		Walter, S	R-70
Veloso, C		Wilhelm, V	R-104
Veloso, F		Wilhelm, V	R-104
Veloso, F	R-142	Wilkens, M	R-112
Venegas, A		Willson, M	R-154
Venegas, A	R-99	Willson, M.F.	R-20
Venegas, J	R-101	Wolff, D	
Vera, J	R-108	Wolff, D	
Vera, J.C	R-122	Wood, A.J	
Vera, M	R-144	,, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	
Vera, M.I	R-100		
Vera, M.I		Y	
Vera, S		<u> </u>	
Vera-Otarola, J		Yañez, A.J	D 50
Vergara, C			
Vergara, P.		Yañez, A.J	
Vial, P		Yañez, A.J	
Vicuña, R		Yañez, A.J.	
Vicuña, R		Yates, T.L.	
Vicuña, R		Yévenes, A	
Vicuña, R.		Yévenes, G.E.	
Vidal, A		Yori, A	
Vidal, A		Youderian, P	
Vidal, P.		Yudelevich, A	R-104
Vidal, R			
•			
Vidal, R		Z	
Videla, L.A			
Videla, L.A		Zaror, L	R-116
Videla, L.A		Zaror, L	
Vigil. P.		Zaviezo, T	
Vilina, Y.		Zuleta, V.	
Villablanca, C		Zúñiga, A	
Villagra, N		Zuñiga, A	
Villagrán, C	R-88	•	
		Ziiniga Cr E.	IX-72
Villagrán, C.		Zúñiga, G.E	
	R-93	Zúñiga, LM	R-125
Villagrán, C	R-93 R-116	Zúñiga, LMZuñiga, R	R-125 R-26
Villagrán, CVillalón, A	R-93 R-116 R-67	Zúñiga, LM Zuñiga, R. Zúñiga, R.	R-125 R-26 R-49
Villagrán, C Villalón, A Villalón, M	R-93 R-116 R-67 R-43	Zúñiga, LMZuñiga, R	R-125 R-26 R-49
Villagrán, C Villalón, A Villalón, M Villalón, M.J.	R-93 R-116 R-67 R-43 R-126	Zúñiga, LM Zuñiga, R. Zúñiga, R.	R-125 R-26 R-49

Articles (cont.)

X. ORTEGA, R. POLANCO, P. CASTAÑEDA, L. M. PEREZ Signal transduction in lemon seedlings in the hypersensitive response against *Alternaria alternata*: participation of calmodulin, G-protein and protein kinases

H. Campos-de Quiroz

Plant genomics: an overview

L. M. PÉREZ, X. BESOAÍN, M. REYES, G. PARDO and J. MONTEALEGRE The expression of extracellular fungal cell wall hydrolytic enzymes in different *Trichoderma harzianum* isolates correlates with their ability to control *Pyrenochaeta lycopersici*

M. CANALS M, C. ATALA, R. OLIVARES, F. F. NOVOA, M. ROSENMANN Departures from the physical optimality in the bronchial tree of rats (*Rattus norvegicus*)

M. P. NAIR, C. KANDASWAMI, S. MAHAJAN, H. N. NAIR*, R. CHAWDA, T. SHANAHAN and S. A. SCHWARTZ

Grape seed extract proanthocyanidins downregulate HIV-1 entry coreceptors, CCR2b, CCR3 and CCR5 gene expression by normal peripheral blood mononuclear cells

J. L. Córdova, J. Astorga, W. Silva and C. Riquelme
Characterization by PCR of *Vibrio parahaemolyticus* isolates collected
during the 1997-1998 Chilean outbreak

Short - Communication

F. BAPTISTA and M. AVEZUM ALVES DE CASTRO-PRADO uvsZ1 mutation shows epistatic relations with uvsD153 and uvsJ1 mutations without any involvement with checkpoint control in Aspergillus nidulans

Resúmenes

XLV Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile

Indexed by Scielo, Medline, Biosis, Embase, Lilacs, Periodica, Research Alert, Science Citation Index Expanded (ISI), Web of Sciencie (ISI)

Abstracted in Biological Abstracts, Excerpta Medica, Index Medicus and Mediars

ISSN: 0716-9760

ISSN versión electrónica: 0717-6287

Versión electrónica: http://www.scielo.cl/bres.htm