BR Biological Research

Volumen 39 (Suplemento B) 2006

XLIX REUNIÓN ANUAL DE LA SOCIEDAD DE BIOLOGÍA DE CHILE

XXIX REUNIÓN ANUAL SOCIEDAD DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE CHILE

XVIII REUNIÓN ANUAL SOCIEDAD DE BOTÁNICA DE CHILE

XXXVIII REUNIÓN ANUAL DE GENÉTICA DE CHILE - 2005

Biological Research

is the continuation since 1992 of
ARCHIVOS DE BIOLOGÍA Y 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 Nº 2.521 (4.6.54)
RUT 70-397.400-7
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 Comission 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 3º, 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

Lee Meisel
Universidad Andrés Bello
Santiago, Chile
Rodolfo Medina
Universidad Andrés Bello
Santiago, Chile
Jorge Garrido
P. Universidad Católica de Chile
Santiago, Chile

Assistant Editors

Laura Olguín (Production)
Deborah Meacham (Editing and Proofreading)
Universidad Andrés Bello

Editorial Board

Oscar Burrone ICGEB, Trieste
Juan Bacigalupo Universidad de Chile
Enrique Brandan P. Universidad Católica de Chile
Philipe Bouvet École Normale Supérieure du Lyon
Gonzalo Bustos P. Universidad Católica de Chile
Juan José Cazzulo Universidad Nacional San Martín
Víctor Cifuentes Universidad de Chile
Leopoldo De Meis U. Federal Rio de Janeiro
Sonia Dietrich Institute of Botany, São 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
Martín Montecino Universidad de Concepción
Juan Olate Universidad de Concepción
Adrián Palacios Universidad de Valparaíso
Manuel Rieber IVIC
M.A.Q. Siddiqui State University of New York
Marc Thiry Université de Liège
Tito Ureta Universidad de Chile
Pablo Valenzuela Fundación Ciencia para la Vida
Claudio Vázquez Universidad de Santiago, Chile
Ennio Vivaldi Universidad de Chile

Directorio Sociedad de Biología de Chile 2006-2007

Mesa Directiva

Dr. Octavio Monasterio
Presidente
Facultad de Ciencias
Universidad de Chile
Las Palmeras 3425
Fono: 9787244
Fax: 2763870
Email: monaster@uchile.cl

Dr. Manuel Santos
Vicepresidente
Facultad de Ciencias Biológicas
P. Universidad Católica de Chile
Alameda 340
Fono 3542835
Fax: 2255515
Email: msantos@bio.puc.cl

Dr. Fabián Jaksic
Past-President
Facultad de Ciencias Biológicas
P. Universidad Católica de Chile
Alameda 340
Santiago
Fono: 3542641
Fax: 3541615
Email: fjaksic@bio.puc.cl

Dr. Héctor Toledo
Tesorero
Facultad de Medicina
Universidad de Chile
Independencia 1027
Fono: 9786053
Fax: 7355580
Email: htoledo@med.uchile.cl

Dra. María C. Rojas
Secretaria
Facultad de Ciencias
Universidad de Chile
Las Palmeras 3425
Fono: 9787317
Fax: 2713888
Email: crojas@uchile.cl

Dr. Francisco Bozinovic
Director
Facultad de Ciencias Biológicas
P. Universidad Católica de Chile
Alameda 340
Fono: 3542618
Fax: 3541615
Email: fbozinov@bio.puc.cl

Dr. Eduardo Kessi
Director
Facultad de Cs. Veterinarias y Pecuarias
Universidad de Chile
Santa Rosa 11735
Fono: 9785654
Fax: 7372783
Email: ekessi@uchile.cl

Presidente Sociedades Afiliadas

Dr. Julio Gutiérrez
Sociedad de Ecologia de Chile
Facultad de Ciencias
Universidad de La Serena
Casilla 599
Fono: 51-204376 - Fax: 51-204383
Email: jgutierr@userena.cl

Dr. Martin Montecino
Sociedad de Biología Celular de Chile
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción
Fono: 41-203815 - Fax: 41-239687
Email :mmonteci@udec.cl

Dr. Claudio Vásquez
Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular de Chile
Facultad de Química y Biología
Universidad de Santiago de Chile
Alameda 3363
Fono: 6810357 - Fax: 6812108
Email: cvasquez@usach.cl

Dr. Hérnan Lara
Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas
Universidad de Chile
Olivos 1007
Fono: 9782882 - Fax: 7378920
Email: hlara@ciq.uchile.cl

Dr. León Bravo
Sociedad de Botánica de Chile
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Universidad de Concepción
Casilla 160-C
Concepción
Fono: 41-234985 - Fax: 41-246005
Email: lebravo@udec.cl

Dr. Iván Saavedra
Sociedad de Farmacología de Chile
Facultad de Medicina
Universidad de Chile
Independencia 1027
Fono: 9786414
Email: isaavedra@med.uchile.cl

Dr. Luis Sobrevia
Sociedad Chilena de Ciencias Fisiológicas
Centro de Investigaciones Médicas
Facultad de Medicina
P. Universidad Católica de Chile
Fono: 3548116 - Fax: 6321924
Email: sobrevia@med.puc.cl

Dr. Michael Seeger
Sociedad de Microbiología de Chile
U. Técnica Federico Santa María
Av. España 1680
Valparaíso
Fono:32-654236 - Fax: 32-654782
Email: michael.seeger@usm.cl

Dr. Gonzalo Gajardo
Sociedad de Genética de Chile
Universidad de Los Lagos
Av. Fuschlocher 1306
Osorno
Fono: 64-333331
Email: ggajardo@ulagos.cl

Dr. Flavio Salazar
Sociedad Chilena de Inmunología
Facultad de Medicina
Universidad de Chile
Independencia 1027
Fono: 9786345 - Fax: 7353346
Email: fsalazar@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

Dra. María Isolde Rudoplh
Agrupación Regional Concepción
Universidad de Concepción
Casilla 160-C
Concepción
Fono: 41-234985 - Fax: 41-240280
Email: mrudolph@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. Mauricio Canals Lambarri
Presidente
Sección Zoología
Departamento de Ciencias Ecológicas
Facultad de Ciencias
Universidad de Chile
Las Palmera 3425
Nuñoa
Fono: 9787232 - Fax: 2727363
Email: mcanals@uchile.cl

La comunidad científica nacional celebra otra Reunión Anual de la Sociedad de Biología. En esta ocasión se tocarán tres temas importantes en el marco de la relación Ciencia y Sociedad. Uno relacionado con la enseñanza de la Biología como es la Evolución. Este paradigma en Biología, introducido por Sir Charles Darwin en el siglo XIX, cambió la manera de pensar no solo de los científicos, sino de la humanidad. El impacto producido por la evolución humana se ha manifestado de diversas formas. Se ha encontrado una fuerte evidencia que avala esta teoría. Sin embargo otras corrientes más fundamentalistas han instaurado otra teoría conocida como Creacionismo, disfrazada en estos días como la Teoría del Diseño Inteligente. Es esta última la que se está tratando de instaurar con ciertas medidas de "fuerza" como es la prohibición de la enseñanza de la evolución en algunos centros de enseñanza de Estados Unidos de América y en otros países europeos. Esta tendencia no cuenta con las bases teóricas y experimentales que la sustenten como válida. Es preocupante, entonces, que parte de la juventud se vea impedida de conocer la teoría de la evolución y con esto se le imponga una línea de pensamiento sesgado que los priva de libertad de pensamiento. Ante esta alarmante postura nuestra Sociedad desea adelantarse a las posibles complicaciones que esto pueda traer y ha invitado al Dr. Athel Cornish-Bowden para que nos entregue una visión global de lo que está sucediendo en este momento.

Otro tema importante es la falta de recursos humanos para enfrentar en forma objetiva hechos que se complican cuando se analizan desde un punto de vista político y social. Es el caso de la identificación de restos de osamentas en el caso de detenidos desaparecidos y en otras ocasiones más particulares como el acaecido en Concepción. Frente a esta situación nuestra Sociedad en conjunto con la Sociedad de Genética han considerado un deber tratar este tema desde un punto de vista científico. Es así como se ha organizado un Simposio-taller donde intervendrán especialistas de reconocido prestigio internacional para analizar en manera objetiva la forma y los recursos con que el país cuenta para enfrentar este tipo de situaciones. Esta actividad se ha enmarcado dentro de la iniciativa Bicentenario en la iniciativa denominada "Talleres de Articulación" donde el objetivo es establecer lazos para elaborar políticas e investigaciones conjuntas con expertos extranjeros para mejorar determinadas actividades. Es por esto que la Sociedad de Biología de Chile en conjunto con la Sociedad de Genética asumen este compromiso.

No de menor importancia es el comportamiento ético de los científicos y de quienes participan en estas actividades. Así, continuando con el compromiso asumido el año pasado, la Comisión de Ética y Bioética de la Sociedad hará entrega a la comunidad científica de un Código donde aparezcan, por ejemplo, los códigos de ética que se deben tener en cuenta para que no se produzcan "conflictos de intereses" entre los científicos y alguna entidad donde se desempeñen. Es importante hacer notar que en esta Reunión también se tratará una situación complicada como son los criterios que se toman en cuenta para la asignación de recursos públicos. En este contexto se presentarán las virtudes y debilidades de cada uno de ellos, los cuales serán sometidos a discusión.

En esta última Reunión de mi período como presidente deseo manifestar mi agradecimiento a quienes han contribuido a que la Sociedad de Biología continúe siendo un referente para la actividades científicas, en especial a la Mesa Directiva

y al Directorio que han hecho posible que en el marco de las actividades de la Reunión Anual se traten temas transversales. También mi agradecimiento al Dr. Manuel Krauskopf por su contribución a la Sociedad y su exitosa labor como editor de la revista Biological Research. A todos los socios, quienes con sus cuotas hacen posible el éxito de la Reunión, sobre todo en la actualidad donde es cada vez más difícil conseguir el apoyo económico para una institución sin fines de lucro.

OCTAVIO MONASTERIO OPAZO

XLIX
REUNIÓN ANUAL DE LA SOCIEDAD DE BIOLOGÍA DE CHILE

XXIX Reunión Anual
Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular de Chile

XVIII Reunión Anual
Sociedad de Botánica de Chile

22 al 25 de noviembre 2006
Gran Hotel Pucón

Sociedades Participantes

Sociedad de Biología Celular de Chile
Sociedad de Genética de Chile
Sociedad de Ecología de Chile

Auspiciadores

BIOSCHILE INGENIERÍA GENÉTICA S.A.

FERMELO S.A.

GALENICA S.A. BIOTECNOLOGÍA

GENEXPRESS

GENESYS CHILE LTDA..

MERCK S.A. - CHILE

PERKIN ELMER CHILE LTDA.

SUDELAB S.A.

TCL-ROCHE

Patrocinantes

DRI-CONICYT

V. I. D. UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS, UNIVERSIDAD DE CHILE

FUNDACIÓN CHILENA PARA BIOLOGÍA CELULAR

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN

ALFABETA ARTES GRÁFICAS

SOCIEDAD DE ECOLOGÍA DE CHILE

CONFERENCIAS

CONFERENCIA INAUGURAL

SER UNICELULAR O MULTICELULAR? - LA PREGUNTA EXISTENCIAL DE LAS BACTERIAS. (To be unicellular or multicellular? The existential question of bacteria).

Kolter, R.
Department of Microbiology and Molecular Genetics, Harvard Medical School, Boston, MA02115, USA.

Nuestro concepto general de las bacterias como entes unicelulares va cambiando más y más mientras más investigamos la capacidad de estas de construir comunidades multicelulares como las biopelículas (biofilms). En esta conferencia presentaré una introducción general al concepto de los biofilms - sus propiedades y sus efectos en varios contextos ambientales y clínicos. Luego entraré a presentar en detalle lo que hemos aprendido a través del análisis genético del sistema modelo que nos provee la bacteria *Bacillus subtilis* con el fin de presentar los mecanismos moleculares que rigen la transición entre unicelularidad y multicelularidad.

CONFERENCIA SOCIEDAD DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE CHILE

LAFORA DISEASE AND GLYCOGEN METABOLISM IN NEURONS.

Guinovart, J. J.
Institute for Research in Biomedicine and University of Barcelona. Spain.

Lafora Disease (LD) is a fatal autosomal recessive disorder characterized by the presence of progressive neurological deterioration, myoclonus and epilepsy. LD was first described in 1911 by Gonzalo R. Lafora. He reported the presence of intracellular inclusion bodies, Lafora bodies (LB), in the brain and spinal cord of a patient. LB are pathognomonic of LD and are not limited to the central nervous system (CNS). LB are comprised mainly of poorly branched and insoluble glucose polymers.
LD shows genetic heterogeneity. *EPM2A* is mutated in approximately 60% of LD cases and encodes laforin, a protein phosphatase. *EPM2B*, is mutated in another 30-40% and encodes malin, a E3 ubiquitin ligase. Patients with mutations in laforin or malin are neurologically and histologically indistinguishable, which suggests that they operate through common physiological pathways.
Since LB are aberrant molecules of glycogen, we hypothesized that they accumulate because of a dysregulation of glycogen metabolism. LB accumulate in soma and neural dendrites. However, the literature reflects the conviction that astrocytes are the only cells of the CNS that have the machinery required to synthesize glycogen. The consequence is a paradox: how can neurons, which apparently have no capacity to synthesize glycogen, accumulate this molecule, although aberrant, in LD? To understand the pathogenesis of LD, we have characterized the enzymatic machinery for glycogen synthesis in neurons. In addition, we have examined the role of laforin and malin in the control of glycogen metabolism.

CONFERENCIA DR. SEVERO OCHOA

LAS CHAPERONAS MOLECULARES: NANOMÁQUINAS PLEGADORAS DE PROTEÍNAS.

Valpuesta, J. M.
Centro Nacional de Biotecnología. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Campus de la Universidad Autónoma de Madrid. Darwin, 3. Madrid 28049. Spain. jmv@cnb.uam.es

Las chaperonas moleculares son un grupo de proteínas involucradas en la asistencia al plegamiento de otras proteínas, lo que hacen en muchas ocasiones a través de una compleja red de interacciones entre distintas chaperonas. Una de las familias mejor caracterizadas de las chaperonas es la de las chaperoninas o chaperonas Hsp60. Estas son grandes complejos macromoleculares compuestos por subunidades de 60 kDa, dispuestos normalmente en forma de dos anillos, cada uno de los cuales encierra una cavidad, que es donde se produce el plegamiento. En muchas ocasiones, las chaperoninas son ayudadas por otras chaperonas, que transportan la proteína desnaturalizada hasta la cavidad de la chaperonina, o bien la ayudan en su función plegadora. Este el caso de las prefoldinas o de las chaperonas Hsp10 (cochaperoninas), respectivamente, que poseen un mecanismo de actuación diferente. Hay dos tipos de chaperoninas, que difieren entre otras cosas en su mecanismo de actuación. En el primer grupo, entre las que se incluye GroEL de *E. coli*, el mecanismo de plegamiento es pasivo y la proteína desnaturalizada es reconocida por la chaperonina gracias a sus residuos hidrófobos presentes en la superficie, es atrapada por esta y liberada en el interior de la cavidad, que se cierra gracias a la interacción con la cochaperonina (que en el caso de *E. coli* se llama GroES). Ya en la cavidad, y libre de interacciones no deseadas que se pueden producir en el exterior de la chaperonina, el polipéptido puede alcanzar su conformación nativa utilizando la información codificada en su propia secuencia de aminoácidos. El otro tipo de chaperoninas, a la que pertenece la chaperonina eucariótica citosólica CCT, el mecanismo de plegamiento es más activo. Estudios de microscopía electrónica y bioquímicos han mostrado que CCT atrapa conformaciones intermedias de ciertas proteínas (entre otras actina y tubulina) y fuerza su plegamiento utilizando los cambios conformacionales que se producen en la chaperonina inducidos por la unión de núcleotido. El proceso de plegamiento es más eficiente en presencia de una cochaperona, prefoldina (PFD), una proteína heterohexamérica que se encuentra exclusivamente en arqueobacterias y eucariotas. La estructura de la PFD de la arquea de *M. thermoautotrophicum* se ha obtenido a resolución atómica y se parece a una medusa con una base compuesta por un doble barril beta y seis "tentáculos". La estructura de PFD sugiere un papel protector y transportador de la proteína desnaturalizada hasta la chaperonina, lo que ha sido corroborado por estudios de microscopía electrónica. Hay una clara similitud estructural entre las PFDs de arqueas y de eucariotas, y una aparente coevolución entre estas y sus correspondientes chaperoninas, de tal manera que mientras las PFDs y chaperoninas de arqueas tienen un número pequeño de distintas subunidades (1-3 en el caso de las chaperoninas, 2 en el caso de las PFDs) y asisten en el plegamiento de un gran número de proteínas, el número de distintas subunidades en eucariotas ha aumentado (8 en el caso de la chaperonina y 6 en el de las PFDs) y su función parece concentrarse en un reducido número de proteínas. Esto sugiere una coevolución de las chaperoninas y PFDs hacia una especialización en su función a través de una mayor complejidad de sus estructura.

CONFERENCIA DR. HERMANN NIEMEYER F.

LA CIRCULARIDAD METABÓLICA COMO VISION GUIADORA DE LA BIOLOGÍA DE SISTEMAS: LA MULTIFUNCIONALIDAD DE PROTEÍNAS ¿UNA NECESIDAD DE LA VIDA?. (Metabolic circularity as a guiding vision for Systems Biology: "Moonlighting" proteins, a necessity of Life?).

Cárdenas, M. de la L., Cornish-Bowden, A. & Letelier, J. C.
Institut de Biologie Structurale et Microbiologie, CNRS, Marsella, Francia.

La definición de la vida ha suscitado poco interés entre los biólogos moleculares, y el desarrollo de la biología en los últimos 50 años ha estado basado en un enfoque analítico. Sin embargo, adelantos futuros como la manipulación exitosa de genotipos y en general la transformación de la biología en una ciencia predictiva, requieren prestar atención a la pregunta ¿qué es la vida? La tecnología ha avanzado tanto que el factor limitante no es la obtención de datos, sino el pensar productivamente sobre ellos. El concepto de sistemas-*(M,R)* de Robert Rosen representa un avance fundamental en la comprensión de la esencia de un ser vivo: un ente que se autoorganiza, que permanece y conserva identidad. Abierto termodinámicamente, pero cerrado funcionalmente: el metabolismo es una función que actúa sobre sí mismo para producir nuevamente metabolismo (circularidad metabólica). La distinción entre proteoma y metaboloma deviene artificial, porque el proteoma es parte del metaboloma y muchos "metabolitos" son en cierto sentido "enzimas". La constancia de organización implica que el sistema debe tener codificada su organización en sí mismo. ¿Cómo se logra esto sin una regresión al infinito? El análisis de los sistemas-*(M,R)* nos ha llevado a postular que la multifuncionalidad de proteínas podría constituir un requisito indispensable para lograr circularidad metabólica sin regresión al infinito. El descubrimiento de un número creciente de proteínas con más de una función apoya esta idea. La multifuncionalidad de proteínas puede ser el factor clave tras el hecho que una compleja red de interacciones conecta genes a fenotipo.

CONFERENCIA PREMIO BIOS-CHILE-SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE

VARIABILIDAD VEGETACIONAL Y CLIMÁTICA EN LAS ALTITUDES TEMPLADAS DE SUDAMÉRICA DESDE Y DURANTE LA ÚLTIMA EDAD DE HIELO. (Vegetation and climate variability in the temperate altitudes of South America during and since the last ice age).

Moreno, P. I.
Instituto de Ecología y Biodiversidad, Departamento de Ciencias Ecológicas, Universidad de Chile.

El desarrollo de registros paleoclimáticos de alta resolución y continuidad temporal, desde inicios de la década de los 90's, han cambiado en forma radical nuestro entendimiento del sistema climático a escalas de tiempo centenal y supracentenal. Entre esos registros se encuentran estudios provenientes de archivos marinos, terrestres y testigos de hielo, los cuales muestran la persistencia de una banda de variabilidad climática a escalas de tiempo milenial superpuesta a la clásica banda orbital en el rango de decenas de miles de años, tanto durante la última glaciación como en el presente interglacial. Estos hallazgos han influenciado la manera como miramos actualmente las transformaciones del paisaje y la biota en un escenario ambiental altamente fluctuante. Por razones que serán expuestas en la conferencia, las altitudes templadas de Sudamérica son clave para poner a prueba hipótesis de cambio climático global a múltiples escalas temporales. Nuestros estudios en Patagonia Norte y Sur confirman la ocurrencia de cambios vegetacionales y climáticos a escalas de tiempo milenial, con transiciones entre estados a escalas de tiempo ecológico (rango multidecadal-centenal). Más aún, la cronología y dirección de algunas transiciones climáticas clave son idénticas a importantes registros en un ámbito intra e interhemisférico. El patrón espacio-temporal emergente, entonces, permite postular que la variabilidad a escalas de tiempo milenial es global y sincrónica, con transiciones muy rápidas entre estados. Los alcances (y limitaciones) de estos hallazgos serán objeto de discusión durante la conferencia.
ICM P05-002, Fondecyt 1030766, 1040204, 1050416.

CONFERENCIA SOCIEDAD DE BOTÁNICA DE CHILE

EFECTOS DE UNA GRAMINEA EXÓTICA SOBRE EL USO DEL AGUA Y DEL CARBONO EN UN ECOSISTEMA DE BOSQUE SECO DE HAWAII. (Effects of a non-native grass on water and carbon use in a Hawaiian dry forest ecosystem).

Sandquist, D.R.,
California State University, Fullerton, CA, 92834, USA.

Biological invasions are a worldwide problem leading to decline of native plant populations and ecosystem health. Invasion by the non-native grass, *Pennisetum setaceum*, into Hawaii's dry forests illustrates a case of the introduction of a novel functional type. This invasion has caused a visible decline in forest health, however, the mechanisms underlying this degradation are not known. We evaluated the impacts of *Pennisetum* on water-use and productivity in this forest over three years. Water potential was significantly greater in the absence of *Pennisetum* and trees used 20% more water from shallow sources than those competing with grasses. These differences were most pronounced in periods of intermediate water stress. In the presence of grasses, uptake of water pulses by seedling native plants was also reduced. Tree growth was significantly lower in the presence of *Pennisetum* but this was not due to a decline in photosynthesis. Instead, there was a decrease of leaf mass per area and greater canopy leaf area in the absence of the grasses. Grass invasion also led to greater carbon cycling rate and decomposition, suggesting that carbon sequestration will be decreased in grass invaded systems. These findings demonstrate the direct mechanisms by which alien plants negatively impact native-plant function in native communities.

CONFERENCIA SOCIEDAD DE BIOLOGÍA DE CHILE

LIBERACIÓN DE CALCIO, CONTRACCION MUSCULAR Y PLASTICIDAD SINAPTICA. (The role of calcium release in muscle contraction and synaptic plasticity).

Hidalgo, Cecilia
FONDAP CEMC e ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

La liberación de calcio de depósitos intracelulares a través de receptores de ryanodina (RyR) aumenta la concentración intracelular de calcio libre, lo que induce la contracción del músculo esquelético o cardíaco, y contribuye a la plasticidad sináptica en neuronas del hipocampo. Tanto los músculos como las neuronas funcionalmente activas generan especies reactivas de oxígeno (ROS) y de nitrógeno (RNS). Estas especies activan *in vitro* la liberación de calcio mediada por RyR, pues esta proteína posee algunas cisteínas altamente susceptibles a modificaciones redox, cuya oxidación aumenta la actividad de RyR y cuya reducción tiene el efecto opuesto. Por lo tanto, investigamos las vías de generación de ROS y el efecto de ROS o RNS exógenos sobre la actividad de RyR en músculo esquelético y cardiaco y en neuronas de hipocampo en cultivo. Para ello, se midieron señales de calcio por microscopía confocal, vías de transducción de señales dependientes de calcio y el estado redox de la proteína RyR (*S*-glutationilación y *S*-nitrosilación). En ambos tipos de músculo, encontramos que la estimulación aumenta los ROS generados por NADPH oxidasas, los que modifican RyR y lo activan. En neuronas, determinamos que la activación de RyR por ROS o RNS produce señales de calcio; las señales generadas por ROS aumentan la expresión de genes tempranos (c-fos y egr-1) mediante activación de la vía Ras/MEK/ERK/CREB. Se propone que la activación redox de RyR puede ser importante en condiciones de estimulación sostenida del músculo o en la plasticidad sináptica en el hipocampo. Financiado por FONDAP 15010006.

CONFERENCIA PABMB

MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION IN GENETICALLY HYPERLIPIDEMIC MICE.

Vercesi, A. E., H. C. F. Oliveira, L. C. Alberici.
Faculdade de Ciências Médicas, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brazil.

High plasma lipid levels are common features in atherosclerosis, diabetes and obesity. Since mitochondria (mito) have been implicated in cell death under a variety of metabolic disorders, we examined mitochondrial functions in two types of genetic dyslipidemias in mice, hypertriglyceridemia (HyperTG) due to an overexpression of apoprotein CIII and hypercholesterolemia (Hyperchol) due to the LDL receptor gene knockout. Liver mito and whole lymphocytes from HyperTG mice presented faster resting respiration (RR) rates. Accordingly, whole mice CO2 production rate and rectal temperature were higher in HyperTG than in control mice. Higher RR was not related to UCPs but could be explained by increased activity of the ATP sensitive K+ channel. Mito from Hyperchol mice presented respiratory control and phosphorylation efficiency similar to controls but higher net reactive oxygen species (ROS) production rate. In contrast to control, Hyperchol mito did not sustain a reduced state of matrix NADPH, the main source of antioxidant defense against ROS. Faster liver lipogenesis rate verified in Hyperchol mice probably depleted the reducing equivalents from NADPH. In conclusion, hypertriglyceridemia alters bioenergetic function and hypercholesterolemia alters the antioxidant capacity of mitochondria. Higher resting respiration in HiperTG mice may represent a regulated adaptation to oxidize excess of intracellular FFA. On the other hand, mitochondrial lower reducing power may explain the oxidative stress associated with hypercholesterolemia.

CONFERENCIA SOCIEDAD DE BIOLOGÍA DE CHILE

ORIGIN OF TETRAPODS AND THE TRANSITION FROM WATER TO LAND. (Origen de tetrápodos y la transición de agua a tierra).

Schultze, H. P.
Biodiversity Research Center, University of Kansas, Lawrence, Kansas 66045, U.S.A.

The osteichthyans or bony fishes comprise the actinopterygians (e.g., anchovies, trouts) and sarcopterygians (e.g., lungfishes, coelacanths). Following the current systematic approach, the tetrapods are included within the sarcopterygians so that within sarcopterygians we have the transition from piscine to tetrapod sarcopterygians. A dense, well-diversified fossil record of the transition from 'osteolepiform' to tetrapod sarcopterygians is known from Upper Devonian rocks (380-360 million years ago). The newest find (*Titaaklik* from the Upper Devonian of Ellesmere island) is important as complete specimen, whereas many other transitional forms are known by parts (e.g., head, lower jaw) only with the exception of *Panderichthys*. They have three paired bones on the skull roof, a choana and an internal fin skeleton comparable to that of tetrapods.
The earlier proposed diphyletic origin of tetrapods (either from lungfish and osteolepiforms or porolepiforms and osteolepiforms) has no support. Lungfishes and coelacanths are not in the direct ancestral line to tetrapods. One discusses today only which of the two is more closely related to tetrapods within the extant osteichthyans.
Transitional forms occur in northern and southern hemispheres. The transitional environment is in discussion. A freshwater environment is favored by many; nevertheless, the comparison of the faunal composition of different localities and the occurrences in marine or coastal marine paleoenvironments points to a coastal (tidal) transitional paleoenvironment.

CONFERENCIA SOCIEDAD DE ECOLOGÍA DE CHILE

EXTENDIENDO EL CONCEPTO DE METAMORFOSIS A PLANTAS, HONGOS Y MACROALGAS. (Expanding the concept of metamorphosis to land plants, fungi and macroalgae).

Santelices, B., Alvarado, J.
Centro de Estudios Avanzados en Ecología y Biodiversidad y Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago, Chile.

La metamorfosis es un cambio morfológico y fisiológico de importancia entre dos fases de desarrollo en el ciclo de vida de un organismo, a menudo marcando la transición entre etapas pre-reproductivas y reproductivas. Este proceso concita interés a varios niveles de análisis biológico porque implica regular y coordinar el desarrollo de distintas etapas ontogénicas y de estas con el medio. Evolutivamente estos procesos se han originado en forma independiente en distintos ambientes y organismos y su estudio ha estimulado el desarrollo de una variedad amplia de aproximaciones, hipótesis y métodos. El análisis comparativo de respuestas, de reguladores del desarrollo y de sistemas de señales entre organismos con distinto grado de relación filogenética, permite reconocer similitudes y convergencias entre distintos grupos en el reino animal. Además posibilita la aplicación del concepto de metamorfosis a procesos similares que ocurren en otros reinos de los Eukaryota (Protista, Mycota y Plantae). En este trabajo se revisa el concepto de metamorfosis y los modelos desarrollados para distintos tipos de animales. Luego se discute la expansión de este concepto a otros eucariontes, usando como casos de estudio las transiciones costra-eje erecto en algas rojas, micelio-cuerpo fructífero en hongos y tejido vegetativo-tejido floral en *Arabidopsis*.

CONFERENCIA SOCIEDAD DE BIOLOGÍA DE CHILE

BIOLOGY AND FAKE BIOLOGY. (Biología y pseudo-biología).

Cornish-Bowden, A.
Institut de Biologie Structurale et Microbiologie, CNRS, Marsella, Francia.

Until recently it was possible to regard the growth in popularity of creationism and the appearance of "intelligent design" as a problem purely in the USA. In the rest of the world we could sympathize with the difficulties that biology teachers face in the USA, but we were not personally involved. This is still to some degree true: as recently as 2002-2003 a survey of adults in various countries showed that only 12% in the USA believe that evolution is "definitely true", much less than half the proportions in countries like France, Germany, the UK or Spain. (Unfortunately data for Latin America are not given.) However, this comforting idea that "it's not our problem" is beginning to change - so rapidly in countries like the UK and Germany that it is creating considerable alarm in bodies such as the Royal Society that have an interest in maintaining high levels of scientific culture. In these countries creationism is no longer found only with fundamentalist Christians, but is seen also with many Muslims, and students who do not accept the scientific basis of biology are beginning to appear in medical schools. All this has induced the IUBMB and the ASBMB to try to provide information needed to counter the threat represented by attempts to introduce pseudo-science as science in Biology classrooms. Even countries where there appears to be no problem now can expect to have one in the next few years; they need to think now about how they will face it.

CONFERENCIA
DR. OSVALDO CORI

GENÓMICA COMPARATIVA E ISLAS GENÓMICAS EN *SALMONELLA ENTERICA*: DETERMINANTES GENÉTICOS DE DIFERENCIAS FENOTÍPICAS DE *S.* TYPHI Y *S.* TYPHIMURIUM.

Mora Longa G.
Facultad de Ciencias de la Salud, Departamento de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Microbiología, Universidad Andrés Bello.

Salmonella enterica, una de las dos especies del género *Salmonella*, comprende más de 2.200 serovares que causan una gran variedad de enfermedades, tales como gastroenteritis, bacteremia y fiebre entérica. Aunque en el ámbito genético estos serovares están estrechamente relacionados a nivel de genomas, cada uno de ellos presenta características específicas y propias tales como los síntomas de la enfermedad que producen y la especificidad de hospedero.
Las secuencias genómicas de los serovares más cercanamente relacionados, como *S.* Typhi y *S.* Typhimurium, difieren entre sí por inserciones/deleciones denominadas islas genómicas. Muchas de estas islas tienen genes presentes en uno o en unos pocos serovares, los cuales son candidatos a determinantes de la especificidad de hospedero y a codificar factores de virulencia. Mientras muchas islas genómicas de gran tamaño codifican genes de bacteriófagos, otras islas más pequeñas codifican factores de virulencia putativos de orígenes filogenéticos indeterminados.
S. enterica serovar Typhi (*S.* Typhi) es el agente etiológico de la fiebre tifoidea, una compleja infección sistémica endémica en países en vía de desarrollo. La infección por *S.* Typhi comienza con la ingestión de alimentos y aguas contaminados. En las primeras etapas del proceso infectivo, *S.* Typhi interactúa con las células epiteliales intestinales y las invade. Después de la internalización, *S.* Typhi alcanza el torrente sanguíneo y se disemina a otros órganos profundos, produciendo septicemia y fiebre entérica. A diferencia de S. Typhimurium, la cual puede infectar ratones, cerdos, bovinos, etc., *S.* Typhi solo infecta a humanos, presentando un rango de hospedero restringido. Si bien es cierto estos dos serovares de *S. enterica* comparten muchos genes cuyos productos son requeridos en virulencia, también deberían poseer genes de virulencia únicos necesarios para determinar las características individuales de cada uno, entre las que se encontraría la preferencia de hospedero.
De acuerdo a los que hemos visto en nuestro laboratorio, un grupo de genes requeridos en virulencia se ubican en islas genómicas que no están presentes en todos los serovares. Así, *S.* Typhi tiene islas que contienen marcos de lectura abiertos (MLAs) que codifican para factores de virulencia putativos cuyos papeles en virulencia no han sido aún explorados.
Según los hallazgos de nuestro laboratorio e información de la literatura, podemos clasificar a las islas genómicas en cuatro grupos, basándonos en su distribución en las distintas especies y serovares de *Salmonella*. Las islas como SPI-1 (*Salmonella* Pathogenicity Island -1), las cuales se encuentran en todas las cepas de *S. bongori* y *S. enterica* presumiblemente fueron adquiridas antes de la especiación. Las islas como SPI-2, las que se encuentran en todos los serovares de *S. enterica*, pero no en *S. bongori*, presumiblemente fueron adquiridas inmediatamente después de la especiación. Otras islas, como SPI-15, la cual se encuentra solo en unos poco serovares de *S. enterica* y ausente en *S. bongori*, aparentemente fue adquirida después de la especiación del género *Salmonella* durante etapas tempranas de la diferenciación de los serovares. Las islas como SPI-7, SPI-8 y SPI-10, las cuales están presentes solo en un pequeño grupo de serovares de *S. enterica* muy relacionados sería producto de un evento de transferencia lateral muchísimo más reciente, ya que incluso SPI-7 tiene la capacidad de escindirse, por lo que estaría en proceso de fijación. Esta hipótesis se ve sustentada por el hecho de que islas más antiguas han perdido genes y secuencias requeridos para su movilidad, y son estables en los genomas. Uno de los enigmas más interesantes es comprender cómo se transfieren estas islas genómicas, cómo se estabilizan y qué ventajas otorgan a las bacterias que las poseen.

SIMPOSIOS

SIMPOSIO SOCIEDAD DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE CHILE

CÁNCER, DESDE LA CÉLULA AL PACIENTE. BASES GENÉTICAS Y NUEVAS TECNOLOGÍAS EN DESARROLLO

Coordinador: Pilar Carvallo

GENÉTICA DEL CÁNCER DE MAMA HEREDITARIO: PARTICIPACIÓN DE LOS GENES BRCA1, BRCA2, ATM Y OTROS GENES SUPRESORES DE TUMORES. (Hereditary breast cancer: involvement of BRCA1, BRCA2, ATM and other tumour suppressor genes).

Carvallo, P.
Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.

El cáncer de mama hereditario constituye la tercera causa de muerte por cáncer en mujeres Chile, siendo cerca del 10% los casos atribuibles a cáncer hereditario. Hasta hoy solo dos genes han sido descritos como causantes de este tipo de cáncer, BRCA1 y BRCA2, con una penetrancia de más de 85%. Nuestro grupo realizó un rastreo de los genes BRCA1 y BRCA2 en 66 familias chilenas encontrando un 21% de estas con alguna mutación. Encontramos 3 mutaciones nuevas, y además un 40% de las familias presenta una mutación que también ocurre en España. Para las familias que no presentaron mutación en uno de estos genes, se realizó un rastreo del gen ATM. Este gen ha sido descrito como un gen de baja penetrancia para cáncer de mama hereditario. Se analizaron los 62 exones del gen ATM, y se detectaron 3 mutaciones de cambio de aminoácido, c5557G>A (D1853N), c1744T>C (F582L), c5558A>T (D1853V), y un cambio silente c.2082T>C (L694L). Los resultados entregaron una asociación para los dos primeros cambios, c5557G>A (D1853N), c1744T>C (F582L), y el cáncer de mama hereditario. Además hemos iniciado la búsqueda de nuevos genes supresores de tumores implicados en cáncer de mama hereditario a través del análisis de array-CGH en biopsias de tumores Estos resultados han revelado diferencias importantes en genes supresores de tumores en biopsias con y sin mutación en BRCA1/2. FONDECYT 1040779.

HIGH-THROUGHPUT MOLECULAR PROFILING PLATFORMS: DEVELOPMENT OF TOOLS FOR THE DIAGNOSIS AND MANAGEMENT OF CANCER.

Xaiolin Wu, Cassio Baptista, Ester Rozenblum, Claudia Stewart, Elizabeth Shannon, Lional Best, Kelly Banfield, James Cherry, Todd Hartley, Nicole Lum, Paola Quiñones-Olsen, José Núñez, and **Munroe, D. J.**
Laboratory of Molecular Technology, SAIC-Frederick, National Cancer Institute at Frederick, 915 Tollhouse Road, Suite 211, Frederick, MD, 21701, USA.

Cancer development and progression has been demonstrated to be attributed to specific molecular events including: 1) The accumulation of specific mutations, 2) Genomic instability and 3) Viral infection and integration. These events, occurring either alone or in tandem, can result in distorted patterns of gene expression and, in turn, lead to the onset and progression of disease. In addition, these events can also dictate the patients' response to therapy and/or prognosis.
We have developed a set of high-throughput platforms designed to profile genomic instability, mutation events, mRNA expression, miRNA expression, protein expression, and viral infection in cancer patient samples. Here we demonstrate the utility of these platforms and the application of the resulting molecular profiles to the diagnosis and management of cancer with a particular emphasis on ovarian, cervical and prostate cancers.Funded by NCI Contract NO1-CO-12400.

IMPLICACIONES CLÍNICAS DE RECIENTES AVANCES EN EL CONOCIMIENTO DE LA PATOGENIA MOLECULAR DEL CÁNCER.

Wistuba I. I.
Departments of Pathology and Thoracic/Head and Neck Medical Oncology, The University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, Texas 77030, USA.

Los tumores derivados de células epiteliales son los cánceres más frecuentes y con más alta mortalidad en el mundo. Aunque las terapias quirúrgicas y citotóxicas (radioterapia y quimioterapia) han mejorado la sobrevida de los pacientes afectados por estos cánceres, los resultados obtenidos aún no son aceptables. Los recientes avances tecnológicos (genómica, proteómica, quinómica) han permitido un progreso significativo en el conocimiento de las bases genéticas y moleculares de los cánceres, ayudando a la identificación de moléculas y vías moleculares de las cuales las células tumorales y el micro-ambiente tumoral dependen para sobrevivir, proliferar, invadir y producir metástasis. Así se han identificado mecanismos moleculares comunes a diferentes cánceres y mecanismos moleculares específicos para determinados subgrupos de cánceres. Las moléculas y vías metabólicas que se han identificado como importantes en la progresión de los tumores están siendo utilizadas como blancos tumorales terapéuticos específicos, dando lugar a la llamada terapia molecular dirigida. En este tipo de terapia, la selección del tratamiento dependería del tipo de molécula o vía molecular blanco activada en el tumor. Actualmente múltiples estudios clínicos en diferentes tipos de tumores están evaluando la efectividad de la selección del tratamiento antineoplásico basado en terapias dirigidas molecularmente. El conocimiento de las bases moleculares del cáncer se está aplicando también a otras áreas clínicas en cáncer, tales como para mejorar las técnicas de diagnóstico (imágenes diagnósticas moleculares) y terapias preventivas (quimio-prevención molecular dirigida).

SIMPOSIO SOCIEDAD DE ECOLOGÍA DE CHILE

ESTUDIOS MICROEVOLUTIVOS FUNCIONALES EN POBLACIONES NATURALES: INTEGRANDO GENÉTICA, ECOLOGÍA Y EVOLUCIÓN EN TIEMPO REAL

Coordinador: Roberto Nespolo

VALOR ADAPTATIVO DE ATRIBUTOS FUNCIONALES EN PLANTAS: APROXIMACIONES Y CASOS DE ESTUDIO. (Adaptive value of functional traits in plants: approaches and study cases).

Gianoli, E., Gonzáles, W.L., Saldaña, A. & González-Teuber, M.
Departamento de Botánica, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción.

Las plantas son organismos sésiles y por lo tanto no pueden evadir condiciones adversas para su crecimiento, supervivencia y reproducción. Las plantas exhiben ajustes fenotípicos frente a variaciones en el ambiente abiótico y biótico por medio de la expresión diferencial de atributos morfológicos y fisiológicos. El estudio del valor adaptativo de estos atributos funcionales es fundamental para entender los patrones de distribución y abundancia de las plantas. Existen distintas aproximaciones para la determinación del valor adaptativo de atributos funcionales en plantas en una escala ecológica, las cuales incluyen: análisis de selección fenotípica, ajuste del fenotipo a modelos de optimización funcional, asociación entre adecuación biológica y expresión de atributos funcionales en grupos experimentales, entre otras. En este trabajo presentamos resultados experimentales de estudios del valor adaptativo de atributos funcionales en tres especies de plantas nativas de Chile, enfatizando las distintas aproximaciones empleadas y el alcance de las conclusiones obtenidas en un contexto ecológico. Las especies y ambientes selectivos a discutir son: *Convolvulus chilensis* (Convolvulaceae) vs. disponibilidad de agua, *Blechnum chilense* (Blechnaceae) vs. Intensidad de luz, y *Madia sativa* (Asteraceae) vs. herbivoría + disponibilidad de agua.
FONDECYT 1030702

LA GENÓMICA COMO HERRAMIENTA PARA ESTUDIAR EVOLUCIÓN EN INSECTOS FITÓFAGOS. (Genomic studies in evolution of phytophagous insects).

Figueroa, C.C.
Instituto de Ecología y Evolución, Universidad Austral de Chile. Casilla 567, Valdivia. christianfigueroa@uach.cl

La química de la planta constituye la principal defensa contra insectos fitófagos. El impacto de los fitoquímicos de defensa (FQD) sobre los insectos, y su rol determinando rango de hospederos, formación de razas y especiación, es clave en evolución. Dado que los artrópodos poseen múltiples contramedidas para enfrentarse con FQDs, estudiar patrones de adaptación ecológicos, fisiológicos y genómicos relacionados con FQDs constituye un prometedor desafío ¿Qué genes se expresan cuando un insecto consume hospederos con o sin defensas, y cuál es el impacto sobre su fenotipo? ¿Cuál es la dinámica genómica subyacente a la tolerancia/resistencia hacia FQDs?
En la interacción áfido-cereal participan ácidos hidroxámicos (Hx), una familia de FQDs. Áfidos alimentados sobre plantas con diferentes niveles de Hx, expresan fenotipos cualitativa y cuantitativamente distintos respecto a sus potenciales adaptativos. Para probar esta hipótesis, se estudiará la dinámica genómica en genotipos generalistas y especialistas del áfido *Sitobion avenae*, expuestos a diferentes presiones de selección (niveles Hx). Con este fin, se está construyendo una dbEST de *S.avenae* para diseñar DNA microchips y evaluar expresión génica en cada genotipo crecido sobre plantas con diferentes niveles de Hx, los que generan diversos fenotipos ecológicos, fisiológicos y metabólicos. Esta aproximación genómica permitirá identificar genes involucrados en adaptación insecto-planta, entender la relación funcional entre genes, e interpretar el rol ecológico/evolutivo de los genes diferencialmente expresados.
Financiamiento: PBCT-Anillos ACT38; DID-UACh

SELECCIÓN MEDIADA POR POLINIZADORES EN POBLACIONES NATURALES: EVIDENCIAS Y PERSPECTIVAS. (Pollinator-mediated selection in natural populations: evidences and perspectives).

Medel, R., J. Nattero & N. Pohl.
Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Casilla 653, Santiago, Chile. Email: rmedel@uchile.cl

Uno de los fenómenos que más ha atraído la atención de los naturalistas es la polinización y una de las preguntas más relevantes en el estudio de esta interacción se refiere a la manera en que la evolución floral es moldeada por la selección natural. El estudio cuantitativo de la selección natural impuesta por los polinizadores en poblaciones naturales se inició hace aproximadamente 20 años. Desde entonces se han extraído una serie de conclusiones acerca del tempo, modo e intensidad de la selección así como de las restricciones ecológicas, evolutivas y de desarrollo a la selección natural. En esta presentación examinaremos los principales avances en esta línea, poniendo especial énfasis en el análisis cuantitativo de diversos coeficientes de selección. Se discutirán las ventajas y desventajas de separar la adecuación biológica de los organismos en componentes masculinos y femeninos. Asimismo, se expondrán las bondades de integrar los estudios de selección mediada por polinizadores con estimaciones de parámetros genético-cuantitativos. Recientes avances en esta dirección sugieren que la convergencia de ambas aproximaciones permitirá un avance sustancial en la comprensión de las rutas adaptativas de diversificación del fenotipo floral en los sistemas naturales.
Financiamiento FONDECYT 1050199

ESTUDIANDO LA POTENCIALIDAD DE RESPUESTA A LA SELECCIÓN NATURAL EN ESPECIES DE CICLOS COMPLEJOS: RESTRICCIONES A LA EVOLUCIÓN ADAPTATIVA Y LA MATRIZ G. (Studying the potencial for response to natural selection in species with complex cycles: constraints to adaptive evolution and the G-matrix).

[1]**Nespolo, RF,** [1]Figueroa, CC, [2]Plantegenest M & [2]Simon JC.
[1]Universidad Austral de Chile, [2]INRA Rennes, Francia.

Los organismos que se reproducen clonalmente representan uno de los modelos más paradigmáticos para el estudio de las consecuencias evolutivas del sexo. Entre ellos, los áfidos (Insecta: Homoptera) son uno de los ejemplos más interesantes, pues presentan partenogénesis obligada, partenogénesis cíclica/facultativa con producción de machos, y reproducción sexual obligada. Particularmente en *R. padi*, tanto individuos sexuales como partenogenéticos pueden coexistir espacialmente, donde clones especializados en reproducción sexual o partenogenética forman parte de un mismo sistema poblacional. Si bien este sistema ha sido bien caracterizado desde el punto genético-poblacional y molecular, existen numerosas interrogantes que surgen de esta coexistencia en los compromisos de historias de vida y la genética cuantitativa multivariada. En este trabajo se presentan las primeras evidencias que explican este polimorfismo balanceado en base a compromisos genéticos (i.e., correlaciones genéticas negativas) fluctuantes, entre rasgos de historia de vida. Mediante una batería de métodos cuantitativos basados en modelos multivariados mixtos, se presenta un análisis jerárquico de la matriz de varianza-covarianza genética partiendo por sus elementos (heredabilidades y correlaciones genéticas), las medias de los rasgos y la matriz en su globalidad. Los resultados muestran (1) que los eventos de reproducción sexual modifican fuertemente tanto la arquitectura genética como las medias de historias de vida de *R. padi*, y permiten concluir la existencia de varianza genética no aditiva (i.e., "*genetic slippage*") y (2) que la alternancia en modos reproductivos permite la coexistencia espacial de clones especializados en sexo y en partenogénesis.
Agradecimientos: ECOS-CONICYT, ANILLO BICENTENARIO "ACT-38".

CLINOS GEOGRÁFICOS, VARIACIÓN GENÉTICA HEREDABLE Y TRADE-OFFS EVOLUTIVOS. (Geographic clines, inheritable genetic variation and evolutionary trade-off).

Lardies, M. A.
Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Santo Tomás, Ejército 146, Santiago.

La distribución y abundancia de los organismos no solo se encuentra restringida por los factores bióticos y abióticos operando actualmente en el ambiente, sino también por la capacidad de desarrollar adaptaciones (evolucionar) al ambiente y ante el cambio de este ya sea por cambios naturales o inducidos por el hombre. La historia de vida es un componente crítico de la capacidad de un organismo de sobrevivir e invadir un determinado hábitat. La variación genética para los rasgos de historia de vida es un requisito para la expansión del rango ecológico de una especie. La hipótesis de trabajo es que los límites de los rangos ecológicos de una especie son determinados por la tasa de respuesta evolutiva que es variable espacial y temporalmente, la cual en efecto es dictada por la presencia (o ausencia) de variación genética para los rasgos críticos. En este sentido, esta variación es el material sobre el cual la selección natural opera y consecuentemente constituye la base de la biodiversidad que observamos en la naturaleza. Por lo tanto, un entendimiento de los procesos y mecanismos que ocurren en distintas escalas de organización comienzan por comprender cómo esta variación es generada, moldeada y perdida a niveles intrapoblacionales. Utilizando como modelos de estudio especies de ectotermos distribuidos latitudinalmente en Chile tanto en sistemas terrestres como acuáticos se mostrará los patrones de variación geográfica y cómo estos patrones (clinos) son consistentes en los distintos ambientes, luego se propondrán mecanismos que pueden explicar esta variación esencialmente a través de ejemplos de compromisos fisiológicos y evolutivos (trade-offs) para posteriormente finalizar con las potenciales consecuencias microevolutivas de esta variación a través de estudios genéticos cuantitativos de rasgos de historia de vida.
Agradecimiento: FONDECYT 3040042

SIMPOSIO

INVESTIGACIÓN BÁSICA Y SU APLICACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA

Coordinador: Víctor Cifuentes

BIOINFORMÁTICA Y SU APLICACIÓN EN LA CARACTERIZACIÓN DE CEPAS DE *M. TUBERCULOSIS*. Application of bioinformatic in M. tuberculosis strains characterization.

Zambrano, M. M.
Corpogen. Carrera 5 No. 66A-34, Bogotá, Colombia.

La tuberculosis se considera todavía un problema global de salud pública debido al gran número de muertes causadas cada año. El incremento en los casos asociados a VIH y la emergencia de cepas multirresistentes a drogas, resaltan la importancia de desarrollar pruebas rápidas y efectivas para identificar cepas circulantes. Con el fin de detectar polimorfismos en cepas de tuberculosis se hicieron una serie de análisis informáticos tanto de regiones específicas como de genomas completos. Por medio de alineamientos múltiples de genomas se identificaron regiones de alta y baja variabilidad que sirven como base para caracterizar más a fondo cepas del complejo tuberculosis y diferenciar estas cepas de otras micobacterias atípicas. Por otro lado, el estudio de la frecuencia de mutaciones reportadas en el gen *rpoB* permitieron diseñar una prueba para la identificación rápida de los alelos que más comúnmente confieren la resistencia a rifampicina. Finalmente, el análisis de genes involucrados en reparación de ADN identificó polimorfismos de nucleótido sencillos que se agruparon con aislados del linaje Haarlem y los hace particularmente interesantes como marcadores de esta familia de cepas. De esta manera se utilizaron análisis bioinformáticos para definir nuevas estrategias con miras a mejorar la caracterización de cepas circulantes de *M. tuberculosis*.

EL USO DE LA COMUNICACIÓN ENTRE ESPECIES MICROBIANAS PARA DESCUBRIR NUEVOS PRODUCTOS NATURALES. (Use of communication between microbe species to discover new natural products).

Kolter, R.
Department of Microbiology and Molecular Genetics, Harvard Medical School, Boston, MA02115, USA.

Durante muchas décadas se ha utilizado la inhibición del crecimiento de una especie microbiana en presencia de otra como una herramienta para el descubrimiento de antibióticos. Nosotros hemos estado investigando los efectos que muchas especies bacterianas pueden tener sobre el desarrollo de otras especies, sin necesariamente llegar a inhibirlas. De esta forma hemos descubierto nuevas funciones en compuestos ya conocidos así como también nuevos compuestos. Presentaré varias aproximaciones que estamos aplicando de este concepto de comunicación entre especie como un tamizaje para identificar nuevas actividades. También presentaré el caso particular de un compuesto de *Bacillus subtilis*, "bacillaene", que afecta a varias especies de *Streptomyces* en diferentes formas y como hemos caracterizado la síntesis, estructura y función de ese compuesto.

ACTIVIDAD CITOTÓXICA DE LA MICROCINA E492 Y SU USO EN EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER. (Cytotoxic activity of microcin E492 and its use in cancer treatment).

Lagos, R.
Laboratorio de Biología Estructural y Molecular (BEM), Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Casilla 653, Santiago, Chile. (rolagos@uchile.cl)

Las bacteriocinas se han definido por su acción bactericida o bacteriostática sobre especies relacionadas con la cepa productora, en tanto que las toxinas por su efecto tóxico en un huésped animal a través de una acción citotóxica en células específicas. En ambos casos la especificidad de acción está dada por la interacción entre la toxina y el receptor. Es por tanto inusual encontrar que una bacteriocina se comporte como una toxina y viceversa. Este es el caso de la microcina E492, una bacteriocina de bajo peso molecular que ejerce su acción mediante la formación de poros en la membrana de las células sensibles. Esta bacteriocina presenta un efecto citotóxico en varias líneas celulares humanas, y no es tóxica sobre cultivos primarios. Se encontró que dependiendo de la dosis empleada se inducía necrosis o apoptosis. En este último caso, las células son eliminadas sin la inducción de una respuesta inflamatoria. La modulación de la apoptosis tiene un inmenso potencial en el tratamiento de varias enfermedades, entre ellas el cáncer. Se discutirán las propiedades bioquímicas de esta bacteriocina, el mecanismo de acción, y sus aplicaciones en el tratamiento del cáncer.
Financiado por FONDECYT 1061128

LA LEVADURA ROJA *XANTHOPHYLLOMYCES DENDRORHOUS*, UNA FUENTE NATURAL DE ASTAXANTINA. (The red yeast *X. dendrorhous* a natural source of astaxanthin).

Cifuentes V[1]. y Jiménez A[2].
(1) Centro de Biotecnología. Depto de Cs. Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. (2) Centro de Biología Molecular, Universidad Autónoma de Madrid.

En los últimos años, la industria acuícola chilena ha mostrado un desarrollo creciente, ubicándonos como el 2° productor mundial de salmónidos. Esta actividad se basa principalmente en el cultivo de Salmones (del Atlántico y Coho) y la trucha Arco iris, siendo uno de los insumos más relevantes, el pigmento carotenoide astaxantina. Actualmente, la fuente principal de pigmento es sintetizado químicamente. Sin embargo, la producción natural de astaxantina es realizada por unos pocos microorganismos como bacterias, la microalga *Haematococcus pluvialis*, y la levadura *Xanthophyllomyces dendrorhous*. Atendiendo a las características del pigmento de *X. dendrorhous* (se encuentra 100% libre, no esterificada y en su mayoría corresponde al isómero geométrico all-trans) esta levadura se constituye como una excelente alternativa natural de astaxantina.
En *X. dendrorhous*, la biosíntesis de astaxantina a partir de fitoeno (el primer carotenoide) requiere de solo tres genes: *crtYB* que codifica la enzima bifuncional fitoeno beta-caroteno sintasa, PBS, la cual condensa dos moléculas de GGPP en fitoeno y posteriormente convierte el licopeno en beta-caroteno.
El gen *crtI* (fitoeno desaturasa, que convierte al fitoeno en licopeno mediante cuatro reacciones de desaturación) y finalmente el gen *ast* (astaxantina sintasa) que, mediante cuatro reacciones, produce astaxantina a través de la vía beta-caroteno > equinenona > 3-OH-equinenona > fenicoxantina > astaxantina.
El conocimiento básico del control genético de la ruta de biosíntesis de astaxantina y su regulación, son relevantes para desarrollar la producción industrial de astaxantina natural a partir de la levadura.
Agradecimientos: Fondecyt 1040450 y Acciones integradas C.S.I.C. de España - Universidad de Chile.

SIMPOSIO
SOCIEDAD DE BOTÁNICA DE CHILE

ADAPTACIÓN DE LAS PLANTAS A SUELOS ÁCIDOS; MECANISMOS Y ESTRATEGIAS MOLECULARES DE MEJORAMIENTO

Coordinador: Enrique Peñaloza

SUELOS ÁCIDOS DE CHILE: CAUSAS Y CONSECUENCIAS DE SU ACIDIFICACIÓN. (Acid soils of Chile; causes and consequences of their acidification).

Pinochet, D.
Instituto de Ingeniería Agraria y Suelos. Universidad Austral de Chile. Valdivia.

Los suelos ácidos en Chile pertenecen principalmente de los órdenes Alfisoles, Ultisoles, Andisoles e Inceptisoles ándicos. Se ubican desde la VII Región al sur en la cordillera de la Costa y desde la VIII Región al sur en el valle central del país. De todos estos suelos, los de mayor importancia agrícola son los derivados de cenizas volcánicas (Ultisoles y Andisoles), material original que le confiere características particulares (alto contenido de materia orgánica, presencia de Al reactivo en sus arcillas y una gran capacidad de retención de fosfato). Las causas de acidificación son el continuo lavado de bases por la alta pluviometría de los agroecosistemas, la adición de fertilizantes acidificantes y la extracción sin reposición de bases de intercambio. En el proceso de acidificación se produce principalmente solubilización de Al, y en menor medida un incremento en el Mn extractable. Seguido a una inicial resistencia a la acidificación debido al alto contenido de materia orgánica e hidróxidos de Al y Fe, se produce un incremento rápido del Al intercambiable. Como consecuencia, las plantas quedan expuestas a concentraciones elevadas de Al en solución, a una eventual toxicidad por Mn y a una disminución en la disponibilidad del P. Finalmente, son las reacciones químicas que ocurren en estos tres elementos las principales condicionantes del establecimiento de las plantas en suelos ácidos.

ESTRATEGIAS BIOTECNOLÓGICAS PARA MEJORAR LA ADAPTACIÓN DE LAS PLANTAS A LA DEFICIENCIA DE FÓSFORO EN SUELOS ÁCIDOS. (Biotechnological strategies to improve plant adaptation to phosphate deficiency in acid soils).

Peñaloza, E.
Unidad de Biotecnología, INIA Carillanca, Temuco.

Los suelos ácidos cubren aproximadamente el 40% de la capa arable de la tierra. Estos suelos representan ambientes de producción altamente restrictivos para el desarrollo de agriculturas sustentables. Además de niveles tóxicos de aluminio (Al) que los caracterizan, la disponibilidad de fósforo (P) está severamente restringida debido a reacciones de precipitación y adsorción a óxidos de Al y Fe. Como consecuencia, la adaptación de las plantas queda condicionada, principalmente, a su capacidad de adquisición y uso de P desde fuentes de P de baja solubilidad. Las estrategias actualmente utilizadas para mejorar la adquisición de P por las plantas en esta condición de suelos involucran tanto métodos convencionales de mejoramiento, como la aplicación de tecnologías transgénicas. Mientras el mejoramiento convencional explota principalmente la variabilidad genética para eficiencia de uso de P, las tecnologías transgénicas se han dirigido a la sobreexpresión de genes que codifican fitasas, transportadores de fosfato de alta afinidad, y proteínas asociados a la síntesis de ácidos orgánicos en raíces. Entre estas opciones, sin embargo, solo aquellas que contribuyan a movilizar el P ligado a Al y Fe tendrían relevancia desde una perspectiva sustentable. En esta presentación se discutirán los alcances de las tecnologías transgénicas como estrategia de mejoramiento, y los avances de esta línea de investigación en nuestro país.
Agradecimientos: Proyecto FIA (BIOT 01-A-36).

MECANISMOS DE TOLERANCIA DE LAS PLANTAS AL EXCESO DE MANGANESO EN SUELOS DEL SUR DE CHILE. (Mechanisms of plant tolerance to manganese excess in soils of southern Chile).

Mora, M. L. y Rosas, A.
Instituto de Agroindustria, Universidad de La Frontera, Temuco.

La acidez de los suelos del sur de Chile limita el crecimiento de las plantas debido a una combinación de factores que incluyen la toxicidad por Al y Mn. Entre ambos factores, parte importante de nuestra investigación se ha concentrado en los mecanismos de tolerancia a la toxicidad por Mn, con énfasis en *Trifolium repens* y *Lolium perenne*. En estas especies, los niveles críticos de toxicidad por Mn están en el rango de 420 y 280 mg kg^{-1}, para requerimientos internos de 136 y 145 mg kg^{-1}, respectivamente. En praderas mixtas *Lolium-Trifolium,* la concentración foliar de Mn fluctúa entre 50 y 1000 mg kg^{-1}, con presencia estacional de niveles tóxicos de Mn que podrían afectar la actividad fotosintética y persistencia de la pradera. Los estudios de tolerancia mostraron una clara correlación entre la exudación de ácido oxálico y el nivel de Mn en la planta, así como entre este y la actividad peroxidasa, en ambas especies forrajeras. Adicionalmente, se ha demostrado que un aumento de la nutrición fosforada disminuye la toxicidad por Mn. Estos resultados indican que el Mn tiene efecto pro-oxidante en plantas, que *Lolium perenne* es más tolerante a exceso a Mn que *Trifolium repens* y que, en estas especies, la tolerancia estaría asociada principalmente a la exudación de ácidos orgánicos.
Agradecimientos: Proyecto Fondecyt 1020934 y Fundación Andes C14055-12.

MAPEO E INTROGRESIÓN DE GENES QUE CONFIEREN TOLERANCIA A ALUMINIO FITOTÓXICO EN CEREALES. (Mapping and introgression of genes related to aluminium tolerance in cereals).

Salvo-G., H. y Soto, B.
Unidad de Biotecnología, INIA Carillanca, Temuco.

En cereales, las fuentes genéticas de tolerancia a aluminio fitotóxico (Al^{3+}) no están presentes en el "pool" elite de mejoramiento sino, más bien, en "landraces" y silvestres relativos. Nuestro laboratorio está utilizando estos materiales con el objetivo de incorporar tolerancia a Al^{3+} en cultivares comerciales de trigo y cebada. Para tal efecto, se han mapeado los genes y/o regiones genómicas asociadas a la tolerancia, se han ligado marcadores y se ha aplicado selección asistida (MAS) y "graphical genotype" en líneas recombinantes para disminuir el efecto del "linkage-drag" y mantener las características de los cultivares comerciales. En cebada hemos introgresado pequeñas regiones genómicas asociadas a la tolerancia, aumentando la tolerancia en más de seis veces, en un "background" genético 98,7% elite. En trigo se ha mapeado la región genómica de tolerancia en "background" genéticos elites y se continúa con la introgresión ligando marcadores más próximos al gen de tolerancia. También se está comparando la segregación de esta región genómica con aquella del gen *ALMT-1* recientemente asociado con la tolerancia a Al^{3+} en cereales. En esta presentación se discutirán las proyecciones de esta línea de investigación, así como los alcances de la biotecnología como opción para mejorar la adaptación de las plantas a la presencia de Al^{3+}.
Agradecimientos: FIA, INIA, Drs. J. Snape (UK), M. Delhaize (Australia) y P. Hayes (USA).

PLANT ADAPTATION TO ACID SOILS; STRATEGIES, CHALLENGES AND OPPORTUNITIES. (Adaptación de las plantas a suelos ácidos; estrategias, desafíos y oportunidades).

Delhaize, E.
CSIRO, Plant Industry, GPO Box 1600, Canberra ACT 2601, Australia.

Acid soils are widespread in agriculture worldwide and limit the production of both crops and pastures. Metals such as aluminium (Al) and manganese (Mn) present in soils are dissolved by the acidity and are the primary cause of poor plant growth. Al inhibits root growth whereas Mn, although an essential element, becomes toxic when present in high concentrations and primarily affects shoot growth. The mechanism of Al tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) is now well understood and is based on the Al-activated efflux of malate from root tips. Malate exuded from root tips chelates Al to protect root growth. The Al tolerance gene was recently cloned and shown to encode a malate transporter. By contrast, recent work on Mn tolerance indicates a mechanism based on sequestration of Mn to the vacuole. Two proteins belonging to the cation diffusion facilitator family of transporters are able to confer Mn tolerance to plants when over-expressed. These proteins are located on the tonoplast and are thought to transport Mn from the cytosol, where it is toxic, and into the vacuole out of harm's way. In my presentation I will summarise our recent research on Al and Mn tolerances and highlight the application of biotechnological strategies for enhancing the acid soil tolerance of crops and pastures.

SIMPOSIO
SOCIEDAD DE BIOLOGÍA DE CHILE
AVANCES EN LA HISTORIA EVOLUTIVA DE VERTEBRADOS DE CHILE Y SUDAMÉRICA

Coordinador: Mauricio Canals

LA FAUNA ÍCTICA DE CHILE EN EL CONTEXTO SUDAMERICANO: AVANCES Y NUEVAS PERPECTIVAS. (Chilean fishes in the South American context: advances and new perspectives).

Arratia, G.
Biodiversity Research Center, University of Kansas, Lawrence, Kansas 66045, USA.

La diversidad de peces continentales sudamericanos es enorme. De un total de aproximadamente 8.000 especies, 5% corresponde a especies chilenas entre las cuales los Siluriformes constituyen el grupo dominante. La escasez en número de especies se compensa con la presencia de formas que son filogenéticamente importantes: *Diplomystes* y *Nematogenys* son los más primitivos dentro de Siluriformes y Loricarioidei, respectivamente. Aunque las primeras descripciones se remontan a más de 300 años, el entendimiento de la evolución de los peces sudamericanos (y chilenos) es incompleto debido a causas mayores: 1. Escasa información sobre el origen de ríos y su evolución (casi inexistente para ríos australes); este conocimiento es mandatorio para explicar la presencia de peces en cuencas aisladas, para entender patrones de distribución y endemismo (los peces chilenos presentan un marcado endemismo) y procesos biogeográficos. 2. Escasa información sobre las relaciones filogenéticas de muchos grupos (incompleta para especies chilenas) 3. Información fragmentaria sobre la diversidad específica, especialmente en ciertas áreas de los Andes, Amazonia e islas continentales. Tales limitantes impactan no solo los estudios sistemáticos sino que también estudios ecológicos, reproductivos, genéticos y moleculares asociados a peces. Actualmente las investigaciones sistemáticas, ecológicas, genéticas y/o moleculares de peces continentales chilenos son limitadas o no existentes. Se analizan posibles causas y se proponen estrategias para corregir estas deficiencias.

ESTUDIOS EVOLUTIVOS EN ESPECIES DE ANFIBIOS (BUFONIDAE Y LEPTODACTYLIDAE) PRESENTES EN CHILE. (Evolutionary studies of amphibian species (Bufonidae and Leptodactylidae) in Chile).

Veloso, A.
Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Las tareas de la Sistemática son la taxonomía, la clasificación y el establecimiento de las relaciones filogenéticas. Los trabajos de campo y laboratorio son la base de estos estudios y el método de trabajo es el método comparativo. La batracofauna nativa comprende tres familias, 13 géneros y 55 especies. La familia Bufonidae es cosmopolita y está representada en Chile por el género *Bufo* (5 especies). Leptodactylidae con dos subfamilias en Chile, Telmatobiinae (45 especies) y Leptodactylinae (3 especies), está restringida al neotrópico. Rhinodermatidae (2 especies) es monogenérica, restringida a Chile central y el Bosque de *Nothofagus*. Durante los últimos diez años, diversas contribuciones de investigadores nacionales y extranjeros, han aportado 11 nuevas especies de Leptodactílidos para la fauna local, establecido relaciones filogenéticas entre taxa, que dejan en evidencia polifiletismo en Telmatobiinae, y un inesperado nivel de divergencia evolutiva entre los restantes leptodactílidos (Correa 2005). La validez de *Eupsophus* como grupo natural, se pone a prueba realizando su reconstrucción filogenética (Núñez 2003). La hipótesis filogenética más parsimoniosa, de *Bufo* (Grupo *spinulosus*) (Méndez, 2000), utilizando datos morfológicos y moleculares, corresponde a (*arenarum*(*variegatus*, *rubropunctatus*, (*chilensis*, *atacamensis*), (*spinulosus*, *papillosus*)))). Estos nuevos aportes, indican un renovado interés por el estudio sistemático-evolutivo en anfibios utilizando el enfoque metodológico proporcionado por la sistemática filogenética.
FONDECYT 1061256

EVOLUCIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE LOS LAGARTOS "TROPIDURIDOS" EN CHILE. (Evolution and distribution of the Tropidurides lizards in Chile).

Ortiz, J. C. Departamento de Zoología, Universidad de Concepción.

La familia Tropiduridae ha sido dividida en tres subfamilias: Leiocephalinae, Liolaeminae y Tropidurinae, pero recientemente estas han sido elevadas a la categoría de familia. De estas, la primera se distribuye en el Caribe y las dos últimas en Sudamérica, con géneros presentes en Chile. La subfamilia Tropidurinae se extiende especialmente en la mitad norte de Sudamérica mientras que Liolaeminae lo hace en la mitad sur. En Chile Tropidurinae está representado por el género *Microlophus* que se distribuye por la costa desde el sur de Huasco y por el interior desde el sur del río Loa hasta el límite con el Perú, colonizando todos los valles hacia el interior. Liolaeminae está conformado por *Ctenoblepharis*, *Liolaemus* y *Phymaturus*. De estos *Ctenoblepharis* presenta una distribución solo en Perú, mientras que *Liolaemus* presenta una distribución disjunta con *Microlophus* y se extiende por el resto de Chile. Finalmente, *Phymaturus* se restringe a sectores cordilleranos de los Andes.
En relación al origen de *Microlophus* se postula que este habría derivado de un grupo de Tropiduridos que se habrían diferenciado en la costa Pacífica luego de la orogénesis andina. *Liolaemus* y *Phymaturus* constituyen líneas filéticas tardías preglaciales que sufrieron repetidos procesos de aislamiento topográficos con adaptaciones morfo-fisiológicas que se manifiestan con gran intensidad en *Liolaemus*, grupo aún con fuerte proceso de especiación.

EVOLUCIÓN DE LOS MARSUPIALES NEOTROPICALES Y LA SITUACIÓN DE *THYLAMYS* EN EL CONO SUR DE SUDAMÉRICA. Evolution of Neotropical Marsupials and the situation of *Thylamys* in the southern cone of South America.

Palma E.[1], David Flores[2], Horacio Zeballos[1], Dusan Boric-Bargetto[1], Enrique Rodríguez-Serrano[1], M. Mónica Díaz, Rubén M. Bárquez[4]
[1]Centro de Estudios Avanzados en Ecología y Biodiversidad & Departamento de Ecología, Pontificia Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago; [2]American Museum of Natural History, USA; [3]Texas Tech University, USA; [4]PIDBA, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Tucumán, Argentina.

Tres órdenes de marsupiales se reconocen formalmente en la Región Neotropical, Didelphimorphia ("opossums" y "mouse opossums"), Paucituberculata (comadrejitas tipo musarañas) y Microbiotheria (monito del monte). El registro fósil más antiguo de marsupiales se adscribe al Cretáceo Tardío de Norte América siendo la mayoría de estos fósiles formas pertenecientes a la familia Didelphidae. Reconstrucciones recientes adscriben a este último taxon el origen de gran parte de los marsupiales de Norte y Sudamérica, así como algunos taxa de Australasia. Los microbiotherios, por otro lado, constituyen un orden monotípico con una única especie endémica, *Dromiciops gliroides*, habitante de los bosques temperados del sur de Chile. Todos los estudios filogenético-moleculares de la última década ratifican la hipótesis previa de Szalay (1982) basada en la morfología tarsal que propuso a *Dromiciops* como formando parte de un clado australiano de marsupiales. Finalmente, la radiación de los Paucituberculata se adscribe al Eoceno temprano de Sudamérica. Didelphimorphia, es el taxon que presenta la mayor diversidad de especies en el Neotrópico, con 87 especies, la mayoría de las cuales está en Sudamérica. Entre estas, las comadrejas grandes y pequeñas ("opossums" y "mouse opossums") habitan diferentes ambientes, desde el bosque amazónico, ríos, hasta áreas más abiertas o semidesérticas. Sin dudas, uno de los géneros de didélfidos más emblemáticos es *Thylamys*, comadrejitas tipo ratón que se caracterizan por habitar ambientes semidesérticos, tales como el Desierto Costero Chileno-Peruano, el Altiplano, el Monte argentino o el Chaco, entre otros.
Se presenta y discuten las relaciones evolutivas de los marsupiales sudamericanos, en base a las evidencias reportadas por antecedentes del registro fósil, biogeografía y filogenias moleculares de genes mitocondriales y nucleares. Se presenta además una actualización de la filogenia de *Thylamys*, basada en la secuencia completa del gen mitocondrial citocromo b. Esta última actualización agrega nuevas especies al género en el cono sur sudamericano.
FONDECYT-CASEB 1501-0001, Programa 2.

EVOLUCIÓN DE LOS EUTERIOS SUDAMERICANOS Y CHILENOS. (Evolution of South American and chilean Eutheria).

Spotorno, A.E.
Laboratorio de Genómica Evolutiva de Mamíferos, Programa de Genética Humana,Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

La actual fauna de mamíferos euterios en Sudamérica (48 Familias, 264 géneros y 752 especies) es el producto final de la evolución de cuatro horofaunas sucesivas; estas fueron aumentando la diversidad total, a pesar de la extinción de varios linajes, como el de todos los Notoungulados. De los más antiguos euterios de la Paleohorofauna, o Estrato I, con fósiles de 60 millones de años (MA), sobreviven hoy solo 26 especies de Edentados o Xenarthra (3 quirquinchos en Chile). Descendientes de la Cenohorofauna (Estrato II, del Oligoceno, 35 MA) quedan ahora 42 especies de Primates, y 123 especies de roedores Caviomorfos (18 en Chile), ambos grupos de origen africano, así como sus endo- y ectoparásitos; las dataciones moleculares de separación (genes nucleares, 4600 pb) confirman rangos de 35 a 42 MA. El subsecuente aumento de diversidad fue acompañando sucesivas elevaciones de la Cordillera de los Andes, con la formación de los nuevos habitat xéricos. De la Neohorofauna (Estrato III, Plioceno, fósiles de 5 MA), casi todos originalmente Neárticos como sus parásitos, evolucionaron 235 roedores Múridos actuales (51 especies en Chile), con dataciones moleculares superiores a 10 MA, 222 Quirópteros (12 en Chile), con un subgrupo de origen africano, 47 Carnívoros (15 en Chile), 20 Artiodáctilos (7 en Chile) y 3 Perisodáctilos. Finalmente, desde Asia y a través de Norteamérica, llegan hace unos 14.000 años, las poblaciones humanas y fauna asociada.
FONDECYT 1040762.

SIMPOSIO
SOCIEDAD DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE CHILE
BIOFÍSICA ESTRUCTURAL

Coordinador: Marta Bunster

INTERACCIONES PROTEÍNA-PROTEÍNA; UNA VARILLA DEL FICOBILISOMA COMO MODELO DE ESTUDIO. (Protein-Protein Interactions; Phycobilisome rod as a model of study).

Bunster, M.
Lab. Biofísica Molecular, Depto. Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. E-mail: mbunster@udec.cl.

El conocimiento sobre interacciones proteína proteína proviene de un conjunto considerable de resultados biológicos, bioquímicos y biofísicos que deben interpretarse en conjunto. Este trabajo se enfoca a aspectos particulares de la interacción proteína proteína como la descripción de tipos de interacción y motivos estructurales analizando casos particulares entre los que se consideran complejos transientes y complejos estables. Se revisarán algunas metodologías biofísicas utilizadas con este objeto. El modelo de estudio que se presentará es parte de la organización supramolecular de un ficobilisoma de *G. chilensis*.
Un ficobilisoma está formado por ficobiliproteínas y proteínas de unión o linkers, organizados en varillas compuestas por ficocianina y ficoeritrina formando un complejo estable cuya función es recolectar y conducir luz hasta el centro del ficobilisoma. La interacción entre los componentes proteicos resulta imprescindible para la función de estos macrocomplejos. Por esta razón se presenta el modelo de una varilla mínima compuesta por dos moléculas de ficocianina y dos de ficoeritrina que se analiza desde el punto de vista estructural y funcional mediante métodos biofísicos y bioinformáticos.
Agradecimientos: Proyecto DIUC. 205.037.002-01

SIMULACIÓN MOLECULAR DE PROTEÍNAS TRANSMEMBRANALES. CANALES DE K^+. (Molecular Simulations of Transmembrane Proteins. K^+ Channels).

González-Nilo, F. D.
Centro de Bioinformática y Simulación Molecular (CBSM), Universidad de Talca.

Dilucidar la estructura molecular de las proteínas transmembranales ha sido un enigma de los últimos tiempos, sin embargo, las revolucionarias técnicas de cristalografía de rayos X implementadas por Roderick Mackinnon (Nobel 2003), han permitido tener una visión real de la organización de estas proteínas en un medio lipídico. En este ámbito la simulación molecular ha cobrado un importante rol en el análisis de las propiedades energéticas, estructurales y dinámicas de estas proteínas. Uno de los sistemas más complejos de analizar son los canales iónicos, los que requieren de ser simuladas inmersas en una bicapa lipídica, debido a que las propiedades estructurales de estas proteínas son moduladas por interacciones proteína-lípido.
Recientemente, hemos realizado un importante hallazgo en el mecanismo de activación de los canales TASK2, en donde el estado de protonación de una Arg regula el flujo de los iones. La Arg, con pKa de 12,1, se caracteriza por estar eminentemente cargada, bajo casi cualquier condición del medio. Sin embargo, nuestros estudios de simulación molecular han logrado identificar *a priori* una Arg como sensor de canales activados por pH. Esta Arg, según su estado de protonación, actúa como un regulador del potencial electrostático del filtro de selectividad, modulando de esta forma la conductancia del canal. Esta hipótesis fue validada experimentalmente mutando este residuo por Lys, His y Ala, obteniendo resultados que indican que esta Arg posee un importante corrimiento de pKa. El descubrimiento de este fenómeno cuestiona dogmas clásicos sobre el estado de protonación de la Arg.
Agradecimientos: Fondecyt #1040254.

DISEÑO RACIONAL DE LIGANDOS BASADOS EN ESTRUCTURA: EJEMPLOS DE INHIBIDORES DE LA GLICÓLISIS E INHIBIDORES DE LA SÍNTESIS DE AMINOÁCIDOS RAMIFICADOS. (Rational ligand design based on structure: glycolysis and branched amino acid synthesis inhibitors).

Martínez-Oyanedel, J.
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Concepción.

Uno de los variados enfoques modernos para el desarrollo de nuevas drogas dirigidas contra blancos específicos del parásito, implica la identificación de una o más enzimas que jueguen un rol esencial en alguna vía metabólica del patógeno y la elucidación de la estructura tridimensional de ella. Luego de obtenida la estructura atómica de la enzima, se diseñan inhibidores explotando las diferencia con la correspondiente enzima del hospedero. Los compuestos diseñados se prueban en estudios *in vitro* y se optimizan para una unión específica más fuerte o irreversible utilizando las herramientas de la química combinatoria. Estos compuestos son los que se utilizan como modelos a partir de los cuales se iniciarán las modificaciones correspondientes, de acuerdo a los estudios farmacológicos, para finalmente obtener la nueva droga.
Actualmente la determinación de la estructura tridimensional de las proteínas además de resonancia magnética nuclear o difracción de rayos-X de cristales de la proteína, puede ser abordada mediante el modelaje molecular.
Se revisarán los ejemplos del diseño de inhibidores de enzimas de la glicólisis como modelo de compuestos anti-tripanosomas e inhibidores de la enzima hidroxiácido sintasa como modelos de herbicidas, basados en estructuras obtenidas por cristalografía de proteínas y por modelaje molecular.

MECANISMOS MOLECULARES QUE COMANDAN LA ACTIVACIÓN Y SELECTIVIDAD DE RECEPTORES GPCR: EL RECEPTOR CB COMO MODELO. (Molecular mechanisms that command the activation and selectivity of GPCR receptors: The CB receptor as a model).

Pérez-Acle, T.
Centro de Genómica y Bioinformática (CGB). Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile.

Los receptores acoplados a proteínas G (GPCRs) constituyen una de las mayores y más estudiadas familias de proteínas de membrana. Estos intervienen en numerosas respuestas celulares mediadas por moléculas bioactivas como hormonas, neurotransmisores y fotones, siendo uno de los blancos terapéuticos más atractivos en la industria farmacéutica. Estudios previos han concluido que estos existen en dos posibles conformaciones denominadas inactiva (R) y activa (R*). Nuestro objetivo es entender a nivel estructural los mecanismos que gobiernan la transición entre ambos estados, y como esta transición afecta la afinidad por los diferentes ligandos (agonistas-antagonistas). Para esto se utilizó cómo modelo de estudio el receptor de cannabinoides CB1, usando herramientas bioinformáticas de modelamiento y simulación molecular. Como resultado se proponen dos estructuras de CB1 correspondientes a los estados R y R*. Se presenta un extensivo análisis de los cambios producidos durante la transición R → R*, así como el resultado de simulaciones de acoplamiento molecular de diversos ligandos con actividad conocida que dan cuenta de los posibles mecanismos de selectividad de este receptor. Los resultados en su conjunto aportan luces a los mecanismos estructurales del proceso de activación de CB1, siendo estos extensivos a otros miembros de la familia de los GPCRs.

SIMPOSIO ACADEMIA CHILENA DE CIENCIAS SOCIEDAD DE BIOLOGÍA CELULAR DE CHILE CIENCIA DE FRONTERA

Coordinador: Miguel Allende

DESDE EL BIG BANG HASTA EL UNIVERSO ACTUAL: UNA HISTORIA DE 13 MIL MILLONES DE AÑOS.

Hamuy, M.
Departamento de Astronomía, Universidad de Chile. Santiago, Chile.

En esta charla resumiré los pilares sobre los cuales descansa el modelo del Big Bang: la expansión del Universo, el fondo de radiación cósmico y la formación de elementos químicos primordiales.

MODELACIÓN MATEMÁTICA DE REDES DE INTERACCIÓN BIOLÓGICA: UN MODELO DE HOMEOSTASIS EN BACTERIAS.

Maass, A. Elisabeth Pécou y Mauricio González
Departamento de Ingenieria Matematica y Centro de Modelamiento Matematico, UMR 2071 UCHILE-CNRS. Facultad de Ciencias Fisicas y Matematicas, Universidad de Chile. INTA, Universidad de Chile.

Copper is an essential micronutrient for life. It is required by a wide range of species, from bacteria to yeast, plants and mammals including humans. To prevent the consequences of the excess or deficit of copper, living organisms have developed molecular mechanisms that regulate the uptake, efflux, storage and use of the metal. However, the limits of homeostatic regulation are not known. Here, we take advantage of a simple biological mechanism involved in copper metabolism of*Enterococcus hirae*, to explore how the regulation is achieved by using a set of four proteins codified in the cop operon: two P-type ATP-ases copper transporters, one copper chaperon and one Cu-response transcription factor. We propose a mathematical model, based on differential equations and the power-law formalism, for the behavior of the cop operon and we show that homeostasis is a result of transient dynamics. The results derived from the mathematical model allow to measure qualitatively the adaptability of the system to its environment. This detailed model has been possible thanks to the available experimental biological information provided in a sequence of recent works by Solioz and co-workers.

MAGNETISMO HOY Y MAÑANA.

Altbir, D.
Departamento de Física Universidad de Santiago de Chile.

El magnetismo es un fenómeno que nos ha venido sorprendiendo desde hace ya muchos años. Siendo inicialmente utilizado como compás, sus usos en los últimos siglos han sido variados, siendo actualmente fundamental como medio y cabezal de grabación.
Conocido desde hace un milenio, sus fundamentos debieron esperar a la aparición de la mecánica cuántica para ser comprendidos y su explicación precisa aún mantiene numerosas incógnitas. Si bien, a diferencia de diversas bacterias y animales, los seres humanos no podemos percibirlo, sus aplicaciones son tan variadas que en el futuro próximo provocará una revolución en el ámbito del transporte y la medicina.
En esta charla se mostrarán algunas de las aplicaciones pasadas y futuras del magnetismo, con énfasis en medicina y biología.
Agradecimientos: Se agradece el apoyo del proyecto Milenio, Núcleo Científico de Materia Condensada.

INTELIGENCIA COMPUTACIONAL: DE LA BIOLOGÍA A LAS MÁQUINAS.

Ruiz del Solar, J.
Departamento de Ingeniería Eléctrica, Universidad de Chile.

La Inteligencia Computacional es una colección de paradigmas computacionales con inspiración biológica y lingüística, en los cuales se incluye la teoría, el diseño, la aplicación y el desarrollo de redes neuronales artificiales, algoritmos evolutivos, sistemas difusos (*fuzzy*), sistemas distribuidos tipo enjambre (*swarm*) y sistemas inteligentes híbridos. Actualmente la Inteligencia Computacional se aplica intensivamente en el diseño y la construcción de sistemas o máquinas autónomas. Se presentará en primer lugar una breve introducción a las principales técnicas asociadas a la Inteligencia Computacional, para luego presentar ejemplos de la aplicación de estas técnicas al desarrollo de sistemas de visión artificial y de robots.

SIMPOSIO SOCIEDAD DE BIOLOGÍA DE CHILE
VISIÓN ESTRUCTURAL DE LA FUNCIÓN DE PROTEÍNAS

Coordinador: Jorge Allende

ELEMENTOS ESTRUCTURALES INVOLUCRADOS EN LA EXPORTACIÓN DE LA HOLOENZIMA CK2.

Rodríguez, F., Connelly C. y **Allende, J. E.**
Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La proteína quinasa CK2, un tetramero compuesto de dos subunidades catalíticas (α y α') y dos subunidades regulatorias (β), se encuentra unida al lado externo de la membrana celular. Esta actividad de ectoquinasa le permite fosforilar vitronectina y otras proteínas de la matriz extracelular. Transfectando células HEK293 con ambos tipos de subunidades de CK2, hemos observado que la enzima es exportada solo cuando ambas subunidades α y β han sido expresadas. Usando una serie de deleciones, hemos establecido que la región entre los aminoácidos 20 y 33 de la subunidad β es esencial para la exportación de la holoenzima. Interpretamos este hallazgo postulando que esta secuencia de CK2β podría unirse a un receptor interno que sería responsable de exportar la proteína que se una a ella.
Este trabajo es apoyado por el Proyecto FONDECYT N° 1060107

ASPECTOS ESTRUCTURALES RELACIONADOS A LA UNIÓN DE MANGANESO CON LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRÚVICA. **Structural aspects related to manganese binding to phosphoenolpyruvate carboxykinase.**

Cardemil, E., Yévenes, A., Villarreal, J. M., Rivas, J., González, D., Jabalquinto, A. M.
Departamento de Ciencias Químicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Una de las primeras etapas en la biosíntesis de glucosa es la formación de fosfoenolpiruvato a partir de oxaloacetato (OAA) y ATP, en una reacción catalizada por la carboxiquinasa fosfoenolpirúvica. Esta enzima está presente en prácticamente todos los organismos, y en todos los casos la reacción es dependiente de iones metálicos bivalentes. El mecanismo de la reacción ocurre a través de la formación del intermediario enolpiruvato, el que puede ser carboxilado a OAA o fosforilado a PEP, dependiendo del sentido de la reacción. Mn^{2+} participa en la reacción formando parte del complejo metal-nucleótido y también unido directamente a la proteína a través de His233, Asp271 y Lis213 (numeración correspondiente a la enzima de levadura) en el llamado sitio del metal libre. Se ha propuesto que durante la reacción el Mn^{2+} unido a la enzima coordina a enolpiruvato, favoreciendo así su formación durante la catálisis. En esta presentación se discutirá cómo esta coordinación del Mn^{2+} a enolpiruvato explica la necesidad que uno de los ligandos del metal sea un residuo de lisina, y cómo la estructura de la proteína en el sitio activo permite que el grupo e-NH_2 de esa lisina se encuentre en un estado neutro, apropiado para tal coordinación. Financiado por FONDECYT 1030760.

DESARROLLO DE LA BIOLOGIA ESTRUCTURAL EN ESPAÑA.

Valpuesta, J. M.
Centro Nacional de Biotecnología. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid.

La Biología Estructural en España está asistiendo a un crecimiento espectacular durante los últimos años. Tal es así que el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (C.S.I.C.), el principal organismo de investigación pública español después de la Universidad, lleva ya varios años ofertando plazas de investigación específicas para dar salida al gran número de científicos jóvenes, formados en España o en el extranjero, que son especialistas en esta disciplina. En la actualidad hay en España aproximadamente 16 grupos de investigación que trabajan en cristalografía de rayos X para muestras biológicas, fundamentalmente en la elucidación de estructuras proteicas, 10 que lo hacen en Resonancia Magnética Nuclear, 5 en Microscopía Electrónica y 10 en biocomputación.
Sin embargo, esta situación no era así hace veinte años, y a principio de los años ochenta se puede decir que no había ningún grupo que trabajara exclusivamente en Biología Estructural. Para que esta evolución se haya podido producir, han tenido que ocurrir varios procesos:

1) La voluntad de ciertos científicos establecidos de importar técnicas de Biología Estructural a sus respectivos laboratorios.
2) El convencimiento de las autoridades político-científicas de la necesidad de esas técnicas y por lo tanto de:
a) La financiación del aparataje específico de Biología Estructural (difractómetros de rayos X, imanes para Resonancia Magnética Nuclear, microscopios electrónicos, ...), muy caro normalmente, a través de Acciones Especiales.
b) La creación de plazas para científicos jóvenes que después de su estancia en el extranjero, importan esas técnicas a España.
3) La creación de redes entre los laboratorios con intereses en Biología Estructural.
4) La creación de simposia específicos dentro de las Sociedades Científicas Nacionales (Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular, Sociedad de Biofísica de España, Sociedad de Microscopía de España, Real Sociedad de Química, ...).
5) El proselitismo activo de los científicos involucrados en la Biología Estructural sobre el resto de la comunidad científica a través de charlas, talleres, cursos de doctorado, ...

Todos estos puntos serán discutidos más en detalle.

FLEXIBILIDAD Y PLEGAMIENTO DE FtsZ DE *ESCHERICHIA COLI* DETERMINADOS POR MUTAGENESIS SITIO DIRIGIDA. (Flexibility and folding of *Escherichia coli* FtsZ determined by site-directed mutagenesis).

Monasterio, O., Rodrigo Díaz, Andrea Garcés, José Arbildua, Felipe Montecinos, Juan Brunet* y Rosalba Lagos.
Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile e *Instituto de Química, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

La división bacteriana depende de la formación de un anillo de FtsZ en la mitad de la célula. FtsZ posee dos dominios, uno amino con GTP (tipo Rossman) y otro carboxilo. Su actividad GTPasa se asocia a la división celular. Análisis bioinformático sugiere que las interacciones de las interfases interdominios y las interfases longitudinales de los protofilamentos son permanentes y no permanentes, respectivamente. La comparación de la posición en la estructura 3D, en estado GTP y GDP, de los Ca de las cadenas peptídicas de FtsZ de *Methanoccocus jannashii* y *Micobacterium tuberculosis* y el análisis de los factores B de sus respectivos cristales, sugieren un cambio conformacional asociado a la hidrólisis de GTP. Para caracterizar esta conducta se construyeron las mutantes F40W, F135W (domino amino) e I294W y la doble mutante I294W/F275A (dominio carboxilo). A diferencia de las dos primeras mutantes, I294W afectó severamente la funcionalidad, que se recuperó en la doble mutante. La inhibición se interpretó por la formación de un puente entre el triptofano 294 y la fenilalanina 275 que afectó el cambio conformacional. El plegamiento y desplegamiento de las mutantes mostró una estabilidad igual a la de la proteína silvestre, compatible con un mecanismo donde los dominios se pliegan y la estructura nativa se induce por la interacción entre ellos. Así, la expresión de los dominios en forma separada mantuvo la funcionalidad *in vivo*.
FONDECYT 1050677

LOCALIZACIÓN Y REGULACIÓN DE FRUCTOSA-1,6-BISFOSFATASA, LA ENZIMA INDISPENSABLE DE GLUCONEOGÉNESIS Y GLICONEOGÉNESIS. (Localization and regulation of FBPase, the key enzyme of gluconeogenesis and glyconeogenesis).

Slebe, JC, Droppelmann, C, Asenjo, J, Bertinat, R, Maureira, M, Spichiger, C, Montero, F, Ludwig, H. y Yañez, AJ.
Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile.

Hígado, músculo y riñón son órganos capaces de sintetizar y degradar glucosa simultáneamente, lo que implica la necesidad de un sistema de control muy sensible, para evitar la formación de ciclos fútiles. La regulación de la actividad enzimática depende no solo del estado activo de la enzima, si no que también de su localización celular y de la interacción con otras proteínas, como es el caso de la enzima fructosa 1,6-bisfosfatasa (FBPasa). Esta enzima es altamente sensible a la inhibición por AMP y Fru-2,6-P_2 y, en condiciones fisiológicas, estaría prácticamente inactiva. Es interesante que FBPasa y aldolasa interaccionan específicamente, formando un complejo heterologo FBPasa-aldolasa, en el cual FBPasa es insensible a AMP y Fru-2,6-P_2. La estabilidad del complejo es regulada por metabolitos tales como DHAP, Fru-6-P y los inhibidores de FBPasa. Asimismo, discutiremos que la zonación y compartimentación son importantes en su regulación y que FBPasa hepática presenta una localización subcelular dinámica, dependiente del estado metabólico de la célula y, probablemente, de la presencia de una secuencia de localización nuclear (NLS). Por otra parte, utilizando las propiedades cinéticas y de fluorescencia intrínseca de tetrámeros híbridos de FBPasa nativa y variantes de ella, se mostrara que la enzima presenta una asimetría en la unión de Fru-1,6-P_2 y Fru-2,6-P_2. (FONDECYT 1051122; DID-UACH S-200574).

TALLER

TALLER DE BIOÉTICA: ASPECTOS ÉTICOS EN LA EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

Coordinador: José Luis Arias

Arias, J.L.[1,5]; Ricardo Bull[2,5]; Manuel Santos[3,5]; Tito Ureta[3,5]; Carlos Valenzuela[2,5]
[1]Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile; [2]Facultad de Medicina, Universidad de Chile; [3,5]Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, [4]Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, [5]Comité de Ética y Bioética, Sociedad de Biología de Chile

En la mayor parte del mundo se ha venido incrementando la brecha entre la disponibilidad de recursos para la investigación científica y la demanda por estos. Adicionalmente, la propia sociedad está demandando de los organismos de gobierno que den cuenta del destino y prioridad en la asignación y uso de los recursos públicos. Esto ha generado la necesidad de diseñar y aplicar procedimientos para clasificar, jerarquizar y seleccionar la demanda. En este contexto, han ido perdiendo importancia los sistemas de revisión por pares, método muy habitual hasta la década de los 60, mientras se ha hecho cada vez más frecuente el uso de indicadores bibliométricos. Entre estos indicadores mencionaremos el factor de impacto, índice de inmediatez, vida media de un artículo, índices de citación y orden de la autoría. La mayoría de estos indicadores pueden estimar parcialmente la calidad de un artículo científico y eventualmente el medio de difusión utilizado (revista). Sin embargo, muchos de estos indicadores se han venido aplicando para evaluar la calidad de los investigadores con fines promocionales de la carrera académica, de calificación de individuos o el mérito para adjudicarse un proyecto de investigación. En el presente taller se revisarán los principales indicadores utilizados, las bondades y limitaciones de estos, y el uso y abuso que de ellos se hace.

TALLER ROCHE : APPLIED SCIENCE: HERRAMIENTAS NOVEDOSAS PARA MEJORES RESULTADOS

Coordinador: Andrés Araya

Una de las características de Roche Applied Science es entregar productos de primera calidad y obtenidos con tecnología de primera línea. Es por eso que durante estos últimos años hemos lanzado al mercado diferentes productos que facilitan la labor de los investigadores en los laboratorios. Al creciente mercado del PCR tiempo real LightCycler, en todas sus versiones de capilares se suma el lanzamiento del LightCycler 480, equipo especialmente diseñado para una precisa cuantificación y genotipificación de genes en estudio.
Adicionalmente, Roche Applied Science en conjunto con Exiqon han introducido en el mercado las sondas "Universal Probe Library", tecnología que presenta una performance igual a las sondas TaqMan pero tan económicas como el SybrGreen I. Usando un set de 165 sondas y un software en la web es posible diseñar protocolos de cuantificación de genes en un día.
Por último el campo de la secuenciación se ha materializado la alianza con la estadounidense 454-Life Science para el lanzamiento del secuenciador GS20, el más rápido del mercado y con tecnología innovadora de primer nivel. Comparado con otros instrumentos el GS20 exhibe 100 veces mayor rapidez utilizando las bases de la pirosecuenciación.
En este taller se pretende dar una visión teórica del funcionamiento de estos tres novedosos sistemas y analizar el campo de sus aplicaciones.

TALLER GALENICA: MICROFLUIDOS, ELECTROFORESIS AUTOMATIZADA FLASH

Coordinador: Nibaldo Apablaza

Expone: M. en C. Adriana Mata Villegas LSG Manager Bio-Rad, S.A. Adolfo Prieto Nº 1653, Col. del Valle México 03100, D.F.

1. Introducción al Sistema
2. Tecnología de Microfluidos
3. Aplicaciones en el análisis de Proteínas
4. Aplicaciones en el Análisis de RNA
5. Otras aplicacionesIntroducción al Sistema

TALLER: INVITROGEN Y BIOSCHILE "AYUDANDO A COMPRENDER EL PROTEOMA"

Coordinador: Tomás Mardones

Bravo M. (Gerente de Negocios para el área Académica Invitrogen América Latina)

"Los recientes avances en nuestra comprensión de cómo se organiza el material genético de múltiples especies (proyectos genoma), así como el aumento en el uso de proteínas como agentes terapéuticos, han gatillado una explosión de actividad dentro del campo de acción de la Proteómica. Cómo explicar por ejemplo las diferencias entre una oruga y una mariposa, cuando ambas formas comparten el mismo genoma?
Investigadores de múltiples disciplinas, están ahora trabajando para expresar, analizar y caracterizar proteínas en una extensión nunca antes vista.
Una etapa clave, en el trabajo con proteínas, es la reducción en la complejidad de la muestra y el aislamiento, caracterización e identificación de la proteína de interés a través de tecnologías de separación e identificación apropiadas.
Invitrogen es una de las compañías de biotecnología que actualmente posee un amplio portafolio de reactivos para análisis de proteínas, al alcance de cualquier laboratorio, incluyendo expresión in Vitro, purificación, separación, y detección, que serán cubiertos durante la presente exposición"

INCORPORACIONES

INCORPORACIONES I

BIOLOGÍA DE SISTEMAS Y GENOMICA FUNCIONAL PARA ENTENDER LOS MECANISMOS MOLECULARES DE LA RESPUESTA A NITROGENO EN *ARABIDOPSIS THALIANA*. (Systems biology and functional genomics to understand the molecular mechanisms of the nitrogen response in *Arabidopsis thaliana*).

Gutiérrez, R. A.
Departamento de Genética Molecular y Microbiología. P. Universidad Católica de Chile.
Patrocinio: Xavier Jordana

El objetivo a largo plazo de mi línea de investigación es entender los mecanismos moleculares que las plantas utilizan para responder al nitrógeno. El nitrógeno (N) es una señal potente que modula el crecimiento y desarrollo de las plantas. No obstante el enorme avance en el conocimiento de los aspectos bioquímicos y fisiológicos de la asimilación del N, los mecanismos moleculares involucrados en la percepción y respuesta a N y a metabolitos en general en plantas permanecen prácticamente desconocidos. Nitrato es la fuente principal de N asimilable en la biósfera y su disponibilidad es la limitante principal para el crecimiento de las plantas y la productividad agrícola. Nuestro grupo investiga los mecanismos moleculares de la respuesta a nitrato en *Arabidopsis thaliana* utilizando un enfoque novedoso que itera en el uso de: (1) Herramientas bioinformáticas para la integración de los datos genómicos existentes, modelaje y selección estratégica de genes regulatorios que juegan un papel central en la regulación de redes genéticas que responden a nitrato; (2) Enfoques de genética reversa para el estudio funcional de los genes de interés; (3) Análisis genómico para caracterizar molecularmente los mutantes seleccionados. Nuestros estudios actuales se enfocan en el papel de microRNAs y factores de transcripción selectos en la respuesta a nitrato. Un segundo proyecto investiga el papel de la vía de transducción de señales activada por la hormona vegetal citoquinina en la respuesta a nitrato. Micromatrices de ADN con el genoma completo de *Arabidopsis* se utilizarán para entender las bases moleculares de los fenotipos en los mutantes. Los datos obtenidos con las micromatrices se utilizarán para refinar nuestro modelo inicial y para seleccionar candidatos para nuevos ciclos de análisis funcional. Nuestro trabajo representa un ejemplo de la aplicación de tecnologías de punta en genómica y bioinformática para la comprensión de circuitos regulatorios en biología. Este enfoque de biología de sistemas trasciende la biología vegetal y pueden encontrar aplicación en las ciencias biológicas en general y en medicina.

PROTEÍNAS DE RECONOCIMIENTO DE LIPOPOLISACÁRIDOS (LPS) Y EFECTORES ANTIMICROBIANOS EN LA OSTRA *CRASSOSTREA GIGAS*. (Lipopolysaccharide recognition proteins and anti-microbial effectors in the oyster *Crassostrea gigas*).

González, M., Arenas, G., Marshall, S. Gueguen, Y.*, Bachère, E*.
Laboratorio de Genética e inmunología Molecular. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. *Laboratoire Génome Population Interaction Adaptation. Montpellier, France.
Patrocinio:Sergio Marshall.

Uno de los limitantes en el desarrollo de la acuicultura es la aparición de enfermedades infecciosas, por lo que la caracterización de moléculas implicadas en la respuesta inmune es particularmente atractiva. En este trabajo, a partir del suero de la ostra identificamos y caracterizamos dos proteínas con propiedades originales de asociación a los LPS, *Cg*-ECSOD y *Cg*-LBP. Adicionalmente, caracterizamos los genes que codifican para *Cg*-BPI (Bactericidal/Permeability Increasing protein) y para el péptido antimicrobiano de tipo defensina (*Cg*-Def). El análisis de expresión de estos genes confirmó que *Cg*-BPI y *Cg*-Def se expresan de manera continua en los epitelios. Por el contrario, cuando las ostras fueron estimuladas con bacterias los perfiles de expresión variaron. Los estudios funcionales de las proteínas recombinantes mostraron que *Cg*-BPI presentó propiedades de asociación a los LPS así como una acción de permeabilización de la membrana externa de *E. coli*. La defensina *Cg*-Def presentó un espectro de actividad antimicrobiana comparable a la de otras defensinas de invertebrados. Los resultados obtenidos han permitido progresar en la comprensión de los mecanismos para controlar o eliminar microorganismos potencialmente patógenos para la ostra.
Financiamiento: Beca Gobierno de Chile-BID (CONICYT). Proyectos IMMUNAQUA y PBCT-PUCV.

Arabidopsis PLANTS LACKING AtUTr7, a GOLGI-LOCALISED UDP-GLUCOSE/UDP-GALACTOSE TRANSPORTER EXHIBIT ALTERATIONS IN LATERAL ROOTS.

Handford, M.[1], Marchant L.[1], Rodríguez C.[2, 3], Segura M.[1], Gómez D.[2, 3], Alvarez-Buylla E.[4], Obel N.[5], Pauly M.[5] and Orellana A.[2, 3]
[1]Departamento de Biología, Universidad de Chile. [2]Núcleo Milenio en Biología Celular Vegetal and [3]Centro de Biotecnología Vegetal, Universidad Andrés Bello. [4]Instituto de Ecología, UNAM, Mexico. [5]MPI Molecular Plant Physiology, Germany.

Changes in the activity of nucleotide-sugar transporters (NSTs) can alter the lumenal synthesis of glycoconjugates and polysaccharides. Despite the importance of polysaccharides in plants, no study on the role of these proteins *in vivo* has been undertaken. The characterisation of AtUTr7, a close orthologue of multi-specific UDP-sugar transporters from *Drosophila*, humans and *C. elegans* is reported. AtUTr7 possesses the molecular features of an NST and we show that it is a Golgi-localised protein. Additionally, AtUTr7 is widely-expressed, especially in the vasculature and specific floral organs. Nucleotide-sugar transport assays indicate that AtUTr7 is capable of transferring UDP-galactose and UDP-glucose into the Golgi lumen, but not a range of other NDP-sugars. A mutant lacking *AtUTr7* expression exhibits premature proliferation of lateral roots as well as specific, conditional alterations in lateral root morphology, with swollen root apices and distorted root hairs when cultivated at high sucrose concentrations. Immunofluorescence labelling experiments were used to examine the distribution of specific cell wall epitopes. The physiological role of NSTs in delivering substrates to lumenal type II glycosyltransferases is discussed.
Funded by The Leverhulme Trust, Fondecyt 1030551/ 2010038, MNPCB P02-009-F and the German International Office CHL02/010.

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN GEN HOMÓLOGO AL GEN *N* DE RESISTENCIA A TMV. (Identification and characterization of a gene homologous to the TMV resistance N gene).

Stange, C.[1] y Arce-Johnson, P.[2]
[1]Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Universidad de Chile, [2]Laboratorio de Bioquímica, P. Universidad Católica, Patrocinio: Patricio Arce-Johnson.

El receptor N de tabacos Xanti NN, reconoce específicamente al virus del mosaico del tabaco (TMV-U1). La unión N-TMV inicia una cascada de señales de transducción que culminan con la respuesta de hipersensibilidad (HR), deteniendo la infección del patógeno. Plantas de tabaco Xanthi nn carecen del receptor N y son susceptibles al TMV-U1, el cual causa enfermedad en toda la planta. Pero, TMV-Cg induce en Xanthi nn síntomas similares a HR, denominándola "tipo-HR", pero sin restringir el movimiento del virus.
Considerando estos antecedentes propusimos que plantas Xanthi nn poseen un gen homólogo al gen N, cuyo producto podría estar relacionado con la respuesta tipo-HR frente a TMV-Cg.
Se presenta la identificación y caracterización de un gen homólogo al gen N, denominado NH. El gen NH posee un 57% de identidad nucleotídica respecto a N, posee 4 exones y 3 intrones y da origen a un transcrito de 2950 pb que codificaría para una proteína de estructura TIR/NBS/LRR. Se realizó modelamiento *in silico* del dominio LRR y se postuló la posible diferencia de especificidad de sustrato entre ambas proteínas. Además, se caracterizó histológica y molecularmente la respuesta tipo-HR y se correlacionó la presencia de NH con los síntomas producidos por TMV-Cg en tabacos.
Agradecimientos: Fondecyt 1040789.

INCORPORACIONES II

EFECTOS DEL PARENTESCO GENÉTICO Y LA CRIANZA COMÚN EN LA DISCRIMINACIÓN DE HERMANOS Y MEDIO-HERMANOS EN *OCTODON DEGUS*. (Effects of kinship and common rearing in the discrimination of siblings and half siblings in *Octodon degus*).

Villavicencio, C. P. I.N. Márquez, R.A. Vásquez
Institute of Ecology and Biodiversity, Depto. Cs. Ecológicas, Fac. Ciencias, Universidad de Chile.

Dos mecanismos de reconocimiento de parentesco se han descrito en mamíferos: (i) mecanismos de asociación (familiarización directa) y (ii) mecanismos de comparación de fenotipos (familiarización indirecta). Se evaluaron estos mecanismos en *Octodon degus*, a través de la observación de conductas diferenciales hacia parientes, en encuentros entre individuos, y en la discriminación de señales odoríficas entre parientes, utilizando el método de habituación-deshabituación, En ambos experimentos se utilizaron hermanos, medio-hermanos y no hermanos, familiarizados y no familiarizados. Los resultados indican que el degu tiene un tratamiento diferencial hacia individuos familiarizados. No hubo diferencias significativas en cuanto a la investigación de hermanos no-familiarizados e individuos familiarizados. Además, el degu discriminó entre odorantes de parientes y no parientes no-familiarizados, así como entre odorantes de no hermanos familiarizados; no discriminó entre odorantes de hermanos familiarizados. Estos resultados sugieren que la familiaridad juega un papel relevante en la interacción con otros individuos, así como en la discriminación de señales odoríficas. Sin embargo, el parentesco genético también influyó en la discriminación de parientes aunque solo en individuos cercanamente emparentados. Ambos mecanismos de reconocimiento explicarían en forma conjunta la discriminación de parientes en *O. degus*. ICM-P05-002, FONDECYT 1060186.

MODELACIÓN DE DISTRIBUCIÓN DE ESPECIES E IDENTIFICACIÓN DE SITIOS PRIORITARIOS PARA LA CONSERVACIÓN DE AVES DEL BOSQUE EN EL CENTRO-SUR DE CHILE. (Species distribution models and identification of areas for conservation of forest birds in south-central Chile).

Meynard, C.
FORECOS, Universidad Austral.
Patrocinio: A. Lara

La Comisión Nacional del Medio Ambiente (CONAMA) propuso una serie de sitios prioritarios para la conservación para complementar el actual Sistema Nacional de Áreas Protegidas del Estado (SNASPE) y proteger el 10% de los ecosistemas. El límite norte de la distribución del bosque templado de Chile ha sufrido importantes modificaciones debido a la concentración de actividades humanas. En este estudio la probabilidad de ocurrencia y la abundancia relativa de aves del bosque templado entre la sexta y novena región de Chile fueron modeladas. Se comparó así la calidad de hábitat en una muestra aleatoria del paisaje con los valores dentro de SNASPE y dentro de las áreas prioritarias definidas por CONAMA. Los resultados sugieren que las áreas dentro de SNASPE representan buen hábitat, pero no son suficientes para cumplir con los objetivos de conservación. Un algoritmo de selección sistemática de reservas muestra que algunos de los sitios prioritarios CONAMA, especialmente al norte de los 36°S, serían un complemento valioso para la conservación. Sin embargo, se necesita mayor representatividad en la depresión intermedia y en la costa, especialmente en la VI y VII región.
Agradecimientos: Rufford Small Grant, Jastro Shields, Universidad de California en Davis, Fulbright, Núcleo Milenio FORECOS, Universidad Austral de Chile.

FOTOPROTECCIÓN E INTERCONVERSIÓN DE LA ESPECIE SOMBRA-TOLERANTE, *Nothofagus nitida*, A UN FENOTIPO SOL-TOLERANTE. (Photoprotection and the interconversion of a shade-tolerant species, *Nothofagus nitida*, to a sun-tolerant phenotype).

Reyes-Díaz, M[1], Ivanov AG[3], Hüner NPA[3], Alberdi M[2], Corcuera LJ[1] y Bravo LA[1]
[1]Departamento de Botánica, Universidad de Concepción. [2]Instituto de Botánica, Universidad Austral. [3]Department of Biology and The Biotron, University of Western Ontario, Canada.

Nothofagus dombeyi (*Nd*) regenera en espacios abiertos y *Nothofagus nitida* (*Nn*) bajo el dosel. Ambas sobrepasan el dosel en estado adulto, sugiriendo que sus mecanismos fotoprotectores tienen una dinámica ontogenética distinta. Determinamos sus mecanismos de disipación de energía en plántulas y adultos. Sus patrones estacionales y valores de Fv/Fm, _PSII, 1-qP y NPQ fueron similares en ambas especies y estados. _PSII fue más alto en plántulas de *Nd* que *Nn*. El ciclo de las xantófilas a baja temperatura y alta intensidad lumínica fue más activo en plántulas de *Nd* que *Nn*, siendo consistente con un NPQ_f más alto en *Nd*. Plántulas de *Nn* presentaron mayores NPQ_s que *Nd*. La capacidad para realizar estados de transición fue más alta en plántulas de *Nn*. Se concluye que *Nd* (sol-tolerante) disipa la energía más eficientemente durante su ciclo de vida, mientras que plántulas de *Nn* fueron más sensibles a la fotoinhibición cambiando desde un fenotipo sombra-tolerante en plántulas a sol-tolerante en adultos emergentes. Esto ayuda a explicar las diferencias en los patrones de regeneración de ambas especies y la presencia de adultos de *Nn* en el dosel.
FONDECYT-1030663; MECESUP-UCO0214; BECA CONICYT.

EFECTO DE LA COMPETENCIA POR ALIMENTO SOBRE LA CONDUCTA DE VIGILANCIA: UN EXPERIMENTO DE CAMPO CON EL ROEDOR CAVIOMORFO *OCTODON DEGUS*. (Food competition effect over vigilance behaviour: a field experiment with the caviomorph rodent *Octodon degus*).

Parra, DV, Villavicencio, CP, Vásquez, RA.
Institute of Ecology and Biodiversity, Depto. Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Aunque la disponibilidad de alimento puede afectar las conductas antidepredatorias en animales sociales, pocos estudios han analizado el efecto de la competencia por alimento sobre estas conductas. Para evaluar este efecto se manipuló experimentalmente la disponibilidad de alimento en un población natural del roedor *Octodon degus*, en el Parque Nacional La Campana. Se utilizaron parches artificiales de madera perforados con semillas de maravilla cubiertos con arena, de manera que el animal no pudiese evaluar la riqueza del parche antes de la explotación de este. Se utilizaron 2 condiciones para la densidad de alimento: baja y alta. Se encontraron efectos significativos de la densidad de alimento en el forrajeo social de este roedor. En la condición de baja densidad se observó un aumento en el forrajeo y una disminución en la vigilancia al aumentar el tamaño de grupo. En cambio, este efecto no fue observado en la condición de alta densidad. Sin embargo, las conductas agresivas fueron mayores que las observadas en parches de baja densidad. Los degus parecieran asignar la conducta de vigilancia tanto a la detección de depredadores como a la vigilancia de conespecíficos. ICM P05-002, FONDECYT 1060186.

INCORPORACIONES III

EFECTO DE METALES EN LA EXPRESIÓN DEL SISTEMA LIGNINOLÍTICO DEL HONGO BASIDIOMICETE *CERIPORIOPSIS SUBVERMISPORA*. Effect of metals on the expression of the ligninolytic system from *Ceriporiopsis subvermispora* basidiomycete fungus.

Manubens, A., Canessa, P., Ávila, M., Folch, CC., Lobos, S., Vicuña, R.

Ceriporiopsis subvermispora es un hongo basidiomicete de pudrición blanca, capaz de degradar la lignina. El sistema ligninolítico esta conformado por manganeso peroxidasa (MnP) y lacasa (Lcs), las cuales son secretadas como una familia de isoenzimas. En nuestro laboratorio se han identificado tres genes *mnp* y un único gen que codifica para lacasa (*lcs1*), con sus respectivos alelos. En *C. subvermispora*, así como en otros hongos basidiomicete, se ha demostrado que la producción de MnP es dependiente de la presencia de Mn^{2+} en el medio de cultivo, sugiriendo una regulación transcripcional de la expresión de MnP dependiente de Mn^{2+}. También se ha observado que la actividad extracelular de Lcs aumenta en presencia de Mn^{2+}, pero se desconoce si el metal ejerce un efecto sobre los niveles de transcrito de *lcs1*. Por otra parte, se ha demostrado que los niveles de mRNA del gen *lcs1* aumentan fuertemente en presencia de Cu^{2+}. El objetivo del presente trabajo es estudiar la acción del manganeso y de otros metales sobre la expresión de MnP y lacasa en *C. subvermispora*. Los resultados confirmaron que el Mn^{2+} induce la actividad extracelular de MnP. Además, frente a la adición de Mn^{2+} en los medios de cultivo, se observó una regulación diferencial de la expresión de los genes *mnp*. No se detectó la presencia de mRNA del gen *mnp3* en ninguna de las condiciones estudiadas. En cuanto al efecto de otros metales, en ausencia de Mn^{2+}, los niveles de transcritos de *mnp1* aumentaron en presencia de altas concentraciones de Cu^{2+} y Zn^{2+}, además de Ag^{+} y Cd^{2+}, detectándose por primera vez transcritos de *mnp3*. Con respecto a la lacasa, los resultados mostraron un aumento de la actividad extracelular en presencia de Mn^{2+}, pero una disminución de los niveles de transcrito del gen *lcs1* en presencia del metal. Por otra parte, se observó un aumento tanto de la actividad extracelular como los niveles de mRNA de lacasa en presencia de Cu^{2+}, pero estos no se vieron afectados en presencia de Zn^{2+}. En conclusión, el Mn^{2+} causa un efecto diferencial del sobre la expresión de los tres genes *mnp* y no se observó una correlación entre los niveles de actividad extracelular de lacasa y los niveles de mRNA de este en cultivos con manganeso, siendo el primer trabajo en el cual se describe este fenómeno.

REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL DEL GEN *SDH2-3* DE *Arabidopsis thaliana*. (Transcriptional regulation of the *SDH2-3* gene in *Arabidopsis thaliana*).

Roschzttardtz, H.[1], Gómez I.[1], Vázquez M.[1], Araya A.[2] y Jordana X.[1]
[(1)]Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile; [(2)]Laboratoire de Réplication et Expression des Gènes Eucaryotes et Rétroviraux, UMR 5097, CNRS et Université Victor Segalen-Bordeaux II, 33076 Bordeaux-Cedex, Francia.

En *Arabidopsis* tres genes nucleares (*SDH2-1*, *SDH2-2* y *SDH2-3*) codifican para la subunidad hierro-azufre del complejo II de la cadena respiratoria mitocondrial. Los genes *SDH2-1* y *SDH2-2* se expresan en todos los tejidos de plantas adultas, mientras que el transcrito de *SDH2-3* solo es detectado en semillas durante la embriogénesis. Hemos demostrado que la regulación de la expresión de *SDH2-3* durante esta etapa del desarrollo en Arabidopsis es transcripcional. El análisis de su promotor muestra que posee elementos ABRE (respuesta a ácido abscísico) y RY (repetición de purinas y pirimidimas). En este trabajo se determinó que los elementos ABRE y RY son importantes para la actividad del promotor en semillas, y que el factor de transcripción ABI3 está involucrado en la regulación de la expresión del gen *SDH2-3*. Mutantes *abi3-5* afectan la acumulación del transcrito y la actividad del promotor *SDH2-3*, mientras que plantas 35S::ABI3 expresan *SDH2-3* en tejido vegetativo en respuesta a la fitohormona ácido abscísico (ABA).
FONDECYT 1060485, PICS 2179 (CNRS-Francia) y CONICYT AT-4040013.

ENZIMAS LIPOLÍTICAS DE KRILL ANTÁRTICO: PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN, ¿ENZIMAS ADAPTADAS AL FRÍO?

Barriga, G. A.
Facultad de Ciencias Químicas y Farmaceúticas, Universidad de Chile.

La temperatura es uno de los factores ambientales más importantes para la vida, siendo los ambientes fríos los que presentan la mayor distribución en la biosfera. Diferentes organismos han desarrollado diversas estrategias de tolerancia y adaptación al frío, entre ellas la síntesis de enzimas adaptadas/activas a bajas temperaturas. Estas enzimas especializadas se caracterizan por una alta eficiencia catalítica, temperaturas óptimas desplazadas a bajas temperaturas y termolabilidad a temperaturas moderadas. La disponibilidad del krill antártico, pequeño crustáceo explotado con fines comerciales, ha permitido el estudio de sus actividades enzimáticas. En el Centro de Ingeniería Bioquímica y Biotecnología los estudios se han centrado principalmente en la actividad proteasa y lipasa. Las enzimas lipolíticas están involucradas en el metabolismo lipídico, siendo las lipasas responsables de la hidrólisis y síntesis de triacilgliceroles.
Basados en estos antecedentes se propone la siguiente hipótesis de trabajo: "el krill antártico *Euphausia superba* Dana posee enzimas lipolíticas adaptadas al frío, capaces de actuar *in vitro* a bajas temperaturas", para el abordaje de esta hipótesis se desarrollaron tres objetivos específicos: (*i*) separación y obtención de enzimas lipolíticas de krill antártico, (*ii*) determinación de las características bioquímicas y fisicoquímicas de las enzimas lipolíticas purificadas y (*iii*) secuenciación y análisis de las secuencias de las enzimas lipolíticas de krill antártico.
Se examinaron las condiciones para la obtención de un adecuado extracto enzimático, el procedimiento de autólisis a 40°C durante 24 h o la homogeneización a 8.300 rpm durante 1-2 min a 4°C, permitió la obtención de un extracto con alta actividad lipasa específica. Se trabajó con dos enzimas lipolíticas de krill antártico, KL1 y KL2. La enzima lipolítica purificada KL1 presentó una masa molecular de 50 kDa y pI de 6,6 con una actividad sobre *p*-nitrofenilpalmitato (C16) de $2{,}9\times10^{-3}$ U/mg a 20°C y pH 8, presentó una temperatura óptima de 40°C y pH óptimo de 9. KL1 exhibió un comportamiento inusual a temperaturas moderadas, sin embargo, a 10°C retuvo el 23% de su actividad máxima. Se determinó una energía de activación de 24,7 kcal/mol (25-40°C). Adicionalmente se caracterizó la enzima lipolítica KL2 previamente purificada que presentó una temperatura óptima a 37°C y pH óptimo de 8, retuvo el 46% de su actividad máxima a 10°C. Se determinó una energía de activación de 4,9 kcal/mol (10-37°C). Las características de KL1 indicarían que corresponde a una enzima mesofílica, en cambio, KL2 presentaría las propiedades de adaptación al frío (baja energía de activación y actividad a bajas temperaturas). El análisis de las secuencias de lipasas eucariontes realizado para el diseño de partidores para la identificación y amplificación PCR de genes de lipasas de krill antártico indicó que las lipasas presentan una baja similitud entre sus secuencias aminoacídicas, la ausencia de aminoácidos conservados contiguos y la pequeña longitud de las zonas conservadas. El análisis de las secuencias amplificadas por PCR no indicó similitud con lipasas. De igual modo el análisis de la secuencia parcial de KL2 tampoco mostró similitud significativa con lipasas. La ausencia de similitud probablemente se debería a las características antes señaladas de las lipasas, como también la posibilidad que correspondan a nuevas lipasas.

CARACTERIZACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA POR PÉPTIDOS DEL TEJIDO BRANQUIAL DE *MYTILUS EDULIS CHILENSIS* (SOOT-RYEN, 1955). (Characterization of antimicrobial activity by peptides from gill tissue of *Mytilus edulis chilensis* (SOOT-RYEN, 1955)).

Mercado, L., Schmitt, P., Guzmán, F., Marshall, S. y Arenas, G.
Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular. Instituto de Biología. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

Los efectos bactericidas y fungicidas de los péptidos antimicrobianos, los vinculan a mecanismos de defensa inmune innata, por lo que han sido normalmente purificados de células inmunitarias de vertebrados e invertebrados. No obstante, hemos establecido un protocolo para la purificación de péptidos desde el tejido branquial del invertebrado marino *Mytilus edulis chilensis*. Considerando su cationicidad y anfipatía, la extracción ácida del tejido fue llevada a cromatografías sucesivas de intercambio catiónico e interacción hidrofóbica. El eluido post Sep-pak C-18® 20% ACN, fue llevado a RP-HPLC y las fracciones activas fueron caracterizadas bioquímica y fisiológicamente. Los péptidos de bajo peso molecular fueron activos contra las bacterias gram positivas *Microccocus luteus*, *Staphyloccocus epidermidis* y *S. aureus*, las gram negativas *E. coli*, *Aeromona hidrophyla*, Vibrio anguillarum y V. alginolyticus, y contra los hongos *Fusarium oxysporum* y *Saprolegnia parasitica*. Adicionalmente se determinó que se trata de moléculas termoestables, que conservan su actividad antibacteriana. Recientemente, por espectrometría de masas MALDI-Tof se determinó que su peso molecular es de 4.278,4 Da, y el análisis preliminar de su estructura determinado a través de dicroísmo circular, indicaría que el péptido es del tipo poliprolina.

COMUNICACIONES *Orales*

MICROBIOLOGÍA Y VIROLOGÍA

MODELAMIENTO COMPARATIVO DE LA SINTETASA NO RIBOSOMAL EntF DE *E. coli*. (Comparative modeling of nonribosomal synthetase EntF of *E. coli*).

Mercado,* G., Sepúlveda, L., Tello M., Arbildua, J., Monasterio, O. y Lagos R.
Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. mg_9071@hotmail.com

EntF es una sintetasa no ribosomal implicada en la síntesis del sideróforo enteroquelina, que está compuesta por cuatro dominios: de condensación (DomC), de AMPcilación (DomA), de proteína aceptora PCP (DomT), y de tioesterasa (DomTE). EntF estaría implicada directamente en el proceso de modificación de la microcina E492 (mccE492). Múltiples antecedentes sugieren que las interacciones interdominios son relevantes para la funcionalidad de esta enzima. Con el propósito de predecir las interfases de interacción entre los dominios de EntF y posibles zonas de interacción con proteínas involucradas en la modificación de la mccE492, generamos un modelo tridimensional de cada uno de los dominios de EntF. El protocolo de modelamiento consistió en dos etapas: primero, la obtención de modelos comparativos de los dominios por separado con el programa MODELLER, mediante la búsqueda de homólogos estructurales en las bases de datos, y que fueron utilizados para generar la estructura tridimensional de los dominios. En la segunda etapa se realizaron acoplamientos proteína-proteína de cuerpo rígido entre los dominios con el fin de obtener la estructura tridimensional completa que contemple la interacción entre dominios de EntF. Para disminuir el espacio de búsqueda conformacional en la creación del modelo, y para predecir cuáles son los residuos involucrados en las interfases interdominio, se utilizó información de mutaciones correlacionadas entre alineamientos múltiples de proteínas EntF de distintas especies. Esta información permitirá determinar las posibles zonas de interacción con las proteínas de maduración del sistema de producción de la mccE492.
Proyecto FONDECYT 1061128, *becaria CONICYT.

ESTUDIOS DE COMPLEMENTACIÓN HETERÓLOGA DE GENES DE CAROTENOGÉNESIS DE LA LEVADURA *Xanthophyllomyces dendrorhous* EN *E. coli*. (Studies of heterologous complementation of carotenoids genes of the yeast *Xanthophyllomyces dendrorhous* in *E. coli*).

Lozano, C., Sepúlveda, D., Marcoleta, A., Barahona, S., Wozniak, A., Baeza, M. y Cifuentes, V.
Depto. Cs. Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

En *Xanthophyllomyces dendrorhous*, dos genes de la carotenogénesis, *crtYB* (que codifica una proteína bifuncional con actividades fitoeno sintasa y licopeno ciclasa) y *crtI* (fitoeno desaturasa), sufren procesamiento alternativo. Durante el ciclo de crecimiento de la levadura se ha observado la presencia de estos mensajeros alternativos, sugiriendo un rol regulador.
Además, el análisis bioinformático de sus secuencias nucleotídicas indica que se generan codones de término de la traducción prematuros y, posteriormente, en ambos se reestablecería el marco de lectura. Como resultado, se generarían posibles productos génicos truncos, carentes de un segmento del extremo amino, de 153 (*crtYB*) y 80 (*crtI*) aminoácidos, respectivamente.
Con el fin de analizar si estas proteínas truncas tendrían actividad residual, se realizaron experimentos de complementación heteróloga en un sistema productor de -caroteno de *E. coli* portadora del cluster carotenogénico de *Erwinia uredovora*, el cual posee deleciones en los genes *crtB* o *crtY*. Nuestros resultados indican que hubo complementación al utilizar el cluster delecionado en el gen *crtB* (fitoeno sintasa), ya que se restaura la producción de -caroteno. Sin embargo, no hubo complementación al utilizar el cluster delecionado en el gen *crtY* (licopeno ciclasa). Por tanto, la proteína trunca crtYB tendría actividad (disminuída) de fitoeno sintasa y no licopeno ciclasa.
Financiamiento: Fondecyt Proyecto N°: 1040450 y Beca CONICYT (C.L. y A.M.) y DAAD (A.W.).

CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA DE AGUAS SUBTERRÁNEAS EN UNA CUENCA RURAL DE SECANO. (Microbiological contamination of groundwater at a dryland rural watershed).

Valenzuela, M.[1], Mondaca M.A.[2], Claret M.[3], Pérez C.[3], Lagos B.[4], Parra O.[1]
[1] Centro de Ciencias Ambientales EULA-Chile Universidad de Concepción, [2] Facultad de Ciencias Biológicas Universidad de Concepción, [3] Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias INIA Quilamapu, [4] Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas Universidad de Concepción.

En una cuenca rural del secano de la Octava Región se realizó una investigación de la calidad microbiológica del agua subterránea. Esta representa casi la única fuente de agua disponible para la agricultura y uso doméstico de sus habitantes, la que presenta problemas de tipo microbiológico. La contaminación puede provenir de varias fuentes, tanto puntuales como difusas. Aunque existen métodos de identificación de origen, ninguno lo hace de forma rápida y precisa. Caracterizar la calidad microbiológica del agua subterránea y determinar el origen de la contaminación y su dinámica temporal, permite resolver dos problemas ambientales: identificar si las fuentes son difusas o puntuales para facilitar su reducción o eliminación y determinar el riesgo para la salud. 44 pozos fueron analizados durante un año, en cuatro temporadas diferentes, midiendo concentraciones de microorganismos indicadores. Estos incluyeron bacterias coliformes fecales, coliformes totales y enterococos. El estudio del probable origen fue realizado utilizando la razón coliformes fecales a enterococcos, métodos de identificación bioquímica de especies de bacterias entéricas clínicamente significativas, la técnica de colifagos somáticos como indicador de presencia de virus entéricos humanos y la presencia / ausencia de ciertas cepas patógenas oportunistas de pseudomonas. La dinámica temporal se determinó con análisis estadísticos de la concentración de organismos indicadores. Los resultados sugieren que el origen principal de contaminación es animal. La distribución de frecuencias se ajustó a una distribución logística. Las concentraciones presentan una base temporal, con niveles muy variables entre estaciones, siendo mayor en invierno. Todos los pozos analizados presentan patógenos oportunistas.
Proyecto CADEPA (Convenio de Cooperación Gobierno de Chile - Gobierno de Japón)

REDUCCIÓN DEPENDIENTE DE NADH DE TELURITO DE POTASIO POR CATALASA: UNA NUEVA FUNCIÓN PARA ESTA ENZIMA ANTIOXIDANTE. (NADH-dependent reduction of tellurite by catalase: a novel function for this antioxidant enzyme).

Calderón I., Arenas F., Pérez J., Fuentes D., Araya M., Tantaleán J., Saavedra C., Youderian P. y Vásquez C.
Financiamiento: FONDECYT 1060022 - DICYT USACH.

La enzima catalasa forma parte de la línea defensiva frente a especies reactivas de oxígeno dismutando el H_2O_2 a oxígeno molecular y agua. Se ha sugerido que la catalasa de bovino utiliza NAD(P)H como protección frente al potencial daño oxidativo de su propio sustrato, pero no se le adjudica participación al NAD(P)H en la reacción de dismutación del peróxido. Por lo tanto, se desconoce a la fecha algún co-sustrato para esta actividad NAD(P)H oxidasa de la catalasa.
En este trabajo demostramos que una catalasa purificada desde *Staphylococcus epidermidis* es capaz de reducir el telurito (TeO_3^{2-}) a teluro metálico (Te^0), al igual que una catalasa comercial *in vitro*. Por otra parte, un mutante de *E. coli* deficiente en catalasa (*kat*G$^-$) resultó ser sensible a telurito. Al expresar el gen de la catalasa de *S. epidermidis* en este sistema heterólogo se revirtió el fenotipo, argumentando a favor de que la catalasa constituye una línea de defensa frente a agentes elicitores de estrés oxidativo.
Finalmente, estudios cinéticos revelan que la catalasa comercial reduce telurito con una baja Km sugiriendo al telurito como un co-sustrato natural de la actividad NADH-oxidasa hipotética. Además se verificó que tal reducción conlleva a la génesis del radical superóxido.

DETERMINACIÓN DE ZONAS DE CONTACTO PROTEÍNA- PROTEÍNA DE LA CONFORMACIÓN DIMÉRICA DEL DOMINIO N-TERMINAL DE LA INTEGRASA DEL VIRUS DE LA LEUCEMIA MURINA DE MOLONEY (Mo-MLV). Determination of protein-protein contac zones in the dimeric conformation of the N-terminal domain of the integrase of Moloney murine leubemia virus (Mo-MLV).

Henríquez Gallardo D[1]., Toledo H.[2] y León O.[1]
Programas de Virología[1] y Biología Celular[2], ICBM, Facultad de Medicina, U. Chile.

Un paso esencial en el ciclo replicativo de los retrovirus es la integración del DNA viral en el genoma de la célula hospedera, esto es llevado a cabo por la enzima integrasa, la cual cataliza la integración coordinada de ambos extremos del DNA viral en el genoma del hospedero. Estructuralmente, la integrasa está constituida por un dominio N-terminal, un dominio central catalítico y un dominio C-terminal. La enzima posee una baja solubilidad y no ha sido posible obtener información cristalográfica de la enzima completa o de sus dominios por separado.
El dominio N-terminal de la integrasa es altamente conservado y varios estudios indican que participaría en procesos de multimerización y unión a DNA. A pesar de que se ha observado que este dominio actuaría como dímero en solución, sin embargo, no existen datos estructurales ni bioquímicos que ratifiquen cuál es el estado oligomérico adquirido por esta enzima y de qué forma se relacionarían con el mecanismo de integración. Con el fin de dilucidar lo antes mencionado, en este trabajo se muestran los resultados de entrecruzamiento químico utilizando el agente homo-bifuncional dirigido a aminas primarias bis-sulfosuccimidil suberato (BS3, Pierce) acoplado a espectrometría de masas (MALDI-TOF). El análisis de los picos diferenciales obtenidos entre la muestra entrecruzada y el control, fue llevado a cabo mediante el "software" ASAP (Automatic Spectrum Assignment Program, www.roswell.ca.sandia.gov), pudiéndose identificar las zonas de contacto proteína-proteína presentes en la especie dimérica del dominio N-terminal de la integrasa de Mo-MLV. En base a estos resultados se discuten los posibles modelos estructurales y su implicancia biológica en el proceso de integración de este retrovirus.

APAGAMIENTO DE LA TRADUCCIÓN CELULAR DURANTE LA INFECCIÓN POR IPNV. (Shut-off of the host-cell translation during the infection by IPNV).

Cartagena, J., Jorquera, P. y Sandino, A.
Laboratorio de Virología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

El virus de la Necrosis Pancreática Infecciosa (IPNV) es un virus sin envoltura de ~60 nm de diámetro, que posee dos segmentos genómicos de dsRNA. Este virus causa una elevada mortalidad en especies salmonídeas durante las primeras etapas de desarrollo. Los mensajeros de IPNV carecen de estructura 5'cap y 3'poli(A), además en ensayos *in vitro* observamos que la traducción sigue un mecanismo cap-independiente. Experimentos de marcación metabólica con [^{35}S]-metionina realizados en nuestro laboratorio mostraron que desde las 8 horas postinfección se produce una marcada disminución en la traducción celular, sin embargo se observa una eficiente traducción viral. Esto se corroboró por cuantificación de material radiactivo precipitado de los extractos proteicos obtenidos de células infectadas. Basándonos en que la infección por picornavirus induce una rápida inhibición de la traducción celular dependiente de cap, siendo este fenómeno principalmente atribuido a la actividad de las proteasas picornavirales sobre eIF4G y/o PABP, y que IPNV posee una proteasa (denominada VP4) la cual podría ser capaz de procesar proteolíticamente algunos de estos factores de inicio de la traducción durante el ciclo infectivo; se estudió *ex vivo* e *in vitro* el efecto de las proteasas picornavirales 2A y/o L-pro sobre la traducción de IPNV.
Financiado por: Proyecto Fondecyt N°1040282 (AS) y beca MECESUP-USA (JC).

VISUALIZACIÓN DE LA UNIÓN DE LA POLIMERASA VP1 DE ROTAVIRUS, AL mRNA TEMPLADO MEDIANTE MICROSCOPÍA DE FUERZA ATÓMICA. (Atomic Force Microscopy Visualization of Binding Polymerase VP1 of Rotavirus to Template mRNA).

Ricardo, A., Pavez J., Spencer E.
Laboratorio de Virología Molecular, Laboratorio de Química Superficial, Facultad de Química y Biología, Universidad Santiago de Chile.

Rotavirus posee un genoma compuesto de 11 segmentos de RNA de doble hebra. Para la replicación de estos segmentos se requiere de la RNA polimerasa viral dependiente de RNA, VP1, la cual usa los mRNAs virales de hebra positiva para sintetizar la hebra menos. El templado de RNA comienza con 5'-GGC$(A/U)_{6-8}$ (secuencia consenso 5', 5'CS) y finaliza en 5'-UGUGACC-3' (secuencia consenso 3', 3'CS). Estudios previos han demostrado la importancia de estas secuencias consenso en la síntesis del genoma de Rotavirus. Asimismo se sabe que la polimerasa VP1, reconoce de manera específica señales al extremo 3' de los mRNAs, algunas de estas, presentes en las secuencias no conservadas río arriba de la 3' CS.
En este trabajo se utiliza la Microscopía de Fuerza Atómica para observar cómo es la unión de la polimerasa VP1 a un mRNA templado correspondiente al gen 8 de Rotavirus. De igual manera se analizará la unión de VP1 a un mRNA con el extremo delecionado en el 5', dada la importancia de la región 3' CS en el reconocimiento por la polimerasa.

VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN, ¿UNA VÍA ALTERNATIVA EN EL CICLO REPLICATIVO DENTRO DE LOS ORTHOMYXOVIRIDAE?. (Infectious salmon anemia virus on alternative pathway in the replicative cycle of the Orthomyxoviridae?).

Goic, B.[1, 2], Bustamante J.[2], Valenzuela P.D.T.[1, 2] and Burzio L.O.[2]
[1]Fundación Ciencia para la Vida, [2]BiosChile, Av. Zañartu 1482, Santiago.

El virus de la anemia infecciosa del salmón (ISAV), es un agente etiológico que afecta principalmente a los cultivos de salmón Atlántico. Esta enfermedad se caracteriza por una severa anemia y altas mortalidades. Este virus representa el primer Orthomyxovirus aislado desde teleostatos y ha sido clasificado como un nuevo género dentro de la familia. Aunque los 8 segmentos génicos codifican para 10 putativas proteínas similares a las encontradas en influenza A, la organización genómica del ISAV es notablemente diferente.
El ciclo replicativo de los Orthomyxovirus incluye una entrada a la célula mediada por receptor, endocitosis, liberación de la ribonucleoproteína y translocación al núcleo donde ocurre tanto la transcripción del mRNA viral como la replicación del genoma viral. La mayoría de las proteínas virales, permanecen en el citoplasma o asociadas a la membrana celular, sin embargo, la NP migra de regreso al núcleo, donde se asocia con el vRNA nuevamente sintetizado formando una nueva RNP, la cual migra de regreso al citoplasma y la membrana celular.
Estudios del ciclo replicativo del ISAV realizados mediante inmunofluorescencia indirecta, co-localizaciones por microscopia confocal e hibridaciones *in situ* muestran una fase temprana nucleolar y una tardía en el aparato de Golgi que involucra tanto a NP como al vRNA, lo que sugiere una ruta alternativa en el ciclo replicativo del ISAV (ICM P04-071-F).

BIOLOGÍA MOLECULAR-BIOINFORMÁTICA

TRANSCRIPCIÓN DEL PROMOTOR SIN TATA-BOX NMT1 DE *SCHIZOSACCHAROMYCES POMBE*. (Transcription of the TATA-box-lacking NMT1 pomoter of *Schyzosaccharomyces pombe*).

Urbina, F., Contreras-Levicoy J. y **Maldonado, E.**
Programa de Biología Celular y Molecular, Facultad de Medicina, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

La transcripción de los genes que codifican para proteínas es llevada a cabo por la RNA polimerasa II y un conjunto de factores proteicos. En nuestro laboratorio estudiamos la transcripción del promotor nmt1 de *S. pombe* al cual se le mutó la TATA-box dejando solo el Iniciador. Nosotros hemos encontrado que extractos de *S. pombe* depletados del Mediador son incapaces de transcribir este promotor. Sin embargo, cuando los extractos depletados son suplementados con Mediador purificado, la transcripción es restaurada. La depleción de factores asociados a TBP (TAFs) no tiene ningún efecto sobre la transcripción. En ensayos de transcripción reconstituidos con RNA polimerasa II holoenzima (RNA polimerasa II + Mediador), factores de transcripción recombinantes, PC4 y CK2 no se observa transcripción del gen nmt1. Sin embargo, si a este ensayo se le adiciona una fracción semipurificada, proveniente de extractos, se obtienen altos niveles de transcripción. Por último hemos encontrado que el Mediador es capaz de unirse por si solo al Iniciador del gen nmt1.
Financiado por proyecto Fondecyt 1050475

OLIGONUCLEÓTIDOS "LOCKED" (LNA-ODN) Y FOSFOROTIOATO (PS-ODN) COMPLEMENTARIO A LOS RNAS QUIMÉRICO ANTISENTIDO INDUCE APOPTOSIS SELECTIVA EN CÉLULAS TUMORALES. Locked Oligonucleotides (LNA-ODN) and Phosphorothioate (PS-ODN) Complementary to the antisense chRNA Induce Apoptosis in Cancer Cells.

Vidaurre, S., **Villegas, J.,** Burzio., V y Burzio., L.O.
Universidad Andrés Bello, República 217. MIFAB, Fundación Ciencia para la Vida y BiosChile I.G.S.A. Av. Zañartu 1482, Santiago.

El término RNA quimérico (RNAq) define a una nueva y novedosa familia de RNAs no-codificantes, descubierta en nuestro laboratorio, de origen mitocondrial. Uno de ellos (RNAq S-1), se caracteriza por poseer un fragmento de 815 nt, unido covalentemente al extremo 5' del rRNA 16S mitocondrial, el cual es complementario a una región interna del 16S, formando en consecuencia un largo repetido invertido (RI). Mediante hibridación in situ, se ha encontrado evidencia de una estrecha asociación entre la expresión del RNAq y proliferación celular. Células normales en proliferación, además de expresar el RNAq S-1 expresan un RNAq antisentido (RNAq As-1). Sin embargo, en líneas de células tumorales se observa una dramática disminución solo del RNAq As-1. Estos resultados permiten diferenciar específicamente una célula normal en proliferación de una tumoral. Estos hallazgos permitieron plantear la hipótesis de que al interferir con el o los RNAq se produciría un arresto celular. La aproximación experimental fue el uso de oligonucleótidos antisentido "locked" (LNA-ODN) y fosforotioato (PS-ODN) dirigido contra los RNAq. El tratamiento con ODN complementarios al RNAq As-1, entre 0.3-1 μM, en células HL-60 y HeLa por 4 y 18 hrs induce un drástico fenómeno de muerte (>95%), que de acuerdo a lo observado, cambios morfológicos tales como, fragmentación nuclear, condensación de cromatina, fragmentación de DNA y translocación de fosfatidilserina corresponden a una muerte por apoptosis. En cambio, tratamiento de las células con ODN complementarios al RNAq S-1 evidencian un porcentaje de muerte celular muy inferior (15%), posiblemente debido al mayor número de copias de dicho RNA en estas células. Tratamiento de células normales en reposo (linfocitos periféricos) o células normales en proliferación (HUVEC, linfocitos activados con PHA) no muestran efecto. Ensayos de Northern blot, muestran que en las células tratadas con ODN se induce degradación del RNAq en comparación con células no tratadas. Esto resultados sugieren que el tratamiento con ODNs contra el RNAq en células tumorales podría convertirse en una efectiva herramienta selectiva en el tratamiento del cáncer (Proyecto UNAB DI-26-04, DI-57-04, DI-32-03; FONDEF D014I1338 y MIFAB P04-071-F)

EXPRESIÓN DE A-SAA EN LEUCOCITOS DE TRUCHA ARCO IRIS. (*ONCORYNCHUS MYKISS*) ESTIMULADOS CON LPS. (Expression of A-SAA in rainbow trout (*Oncorynchus mykiss*) leucocytes stimulated by LPS).

Casado A, Villarroel F, Amthauer R, Concha M.I.
Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Existe evidencia experimental que señala la importancia del sistema inmune innato en peces teleósteos y que el sistema inmune específico tiene menor relevancia en la respuesta a procesos infecciosos. Se ha sugerido que la proteína sérica amiloide A (A-SAA), componente humoral de la respuesta innata, ampliamente estudiada en mamíferos, participaría como reactante de fase aguda en peces. En mamíferos, se ha demostrado que A-SAA estimula el estallido respiratorio, la quimiotaxis y la expresión y secreción de citoquinas en neutrófilos y macrófagos. En mamíferos, A-SAA es sintetizada mayoritariamente en el hígado, sin embargo existe evidencia de su expresión en tejido extrahepático y en leucocitos de ratón. En peces solamente ha sido identificado el transcrito para A-SAA, en hepatocitos. En el presente trabajo se demostró por primera vez la expresión y secreción de A-SAA en cultivos primarios de leucocitos de riñón anterior de trucha, en respuesta a lipopolisacarido bacteriano (LPS), mediante análisis de RT-PCR y Western blot. Estos resultados en su conjunto sugieren la participación de A-SAA en la respuesta inmune innata de trucha arco iris y plantean que los leucocitos podrían jugar un papel relevante en la respuesta de fase aguda.

SOBREEXPRESIÓN DEL GEN *LHCA1* PERTENECIENTE AL COMPLEJO ANTENA DEL PSI: EFECTO EN LA TOLERANCIA A ESTRÉS ABIÓTICO. (Overexpression of *LHCA1* gene from the light harvesting complex PSI. Effect on the tolerance to abiotic stress).

Chilian, J., Verdugo, I., Poblete, F., González, E.
Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, 2 Norte 685. Talca.

Cuando las plantas son expuestas a condiciones de estrés abiótico una de las principales consecuencias es la sobreexcitación del aparato fotosintético, lo que conduce a la producción y acumulación de radicales libres capaces de generar un estrés de tipo oxidativo. La disipación del exceso de energía de excitación en forma de calor (NPQ) es uno de los mecanismos protectores más importantes con el que cuentan las plantas frente a este tipo de estrés.
Estudios previos en la especie nativa *Lycopersicon chilense* indican que el gen que codifica para la proteína **LHCA1** perteneciente al complejo antena del fotosistema I, es diferencialmente expresado bajo condiciones que generan estrés oxidativo. Con el fin de analizar la contribución de esta proteína al proceso de NPQ, plantas transgénicas de *Lycopersicon esculentum* fueron generadas mediante transformación con el gen que codifica esta proteína. Una línea transgénica que sobreexpresa el gen ***LHCA1*** fue analizada para determinar su tolerancia a factores abióticos que propician el desarrollo de estrés oxidativo. Los resultados obtenidos indican que tales plantas poseen un mayor grado de tolerancia a estrés que plantas no transformadas. En el presente trabajo se discutirá los probables mecanismos asociados a la tolerancia exhibida por las plantas transgénicas.
Financiado por: FIA Biot-01-A-065, Programa de Biotecnología Vegetal (DPI-UTALCA) y Centro de Investigación en Biotecnología Silvoagricola (CIBS).

FRAGARIADB: MODELO DE BASE DE DATOS RELACIONAL PARA EL ESTUDIO Y ANÁLISIS DE ESTS EN *FRAGARIA*. (FragariaDB: data base model for the study and analysis of Fragaria ESTs).

Mendoza, H., González, A., Besuain, F., Valdés, J., Aguayo, D., Caligari, P. y González-Nilo, F.

El desarrollo de estudios de genómica funcional en agricultura permite el desarrollo de investigación orientada a mejorar la calidad de los productos hortofrutícolas.
En Chile, un interesante ejemplar a estudiar es el fruto *Fragaria chiloensis* L. Duch., conocida como frutilla blanca chilena, especie nativa de nuestro país.
La amplia adaptación de *Fragaria chiloensis* chilena a una gran variedad de condiciones agroecológicas y climáticas hace suponer la presencia de una gran diversidad genética, que podría ser fuente de genes de gran interés para los programas de mejoramiento genético de la especie o del híbrido cultivado.
La extracción precisa y confiable de la información proveniente de las colecciones de secuencias de ESTs (Expressed Sequence Tags), requiere de un correcto análisis y posterior asignación de función biológica. El ensamblaje, filtrado y organización de un gran volumen de información requiere de estrategias bioinformáticas basadas en el "data mining" de bases de datos.
Bajo el marco del proyecto Fragaria Chilena Integral, en este trabajo se presenta un protocolo de análisis de ESTs el cual se soporta en un modelo que relaciona bases de datos orientadas al ensamblaje, organización y clasificación de un gran número de secuencias.
Este modelo de análisis fue probado con ESTs de *Fragaria* y se presenta en una plataforma web para su consulta pública (http://fragaria.utalca.cl).

CONSTRUCCIÓN Y ANÁLISIS DE UN ÁRBOL DE SEMEJANZAS ESTRUCTURALES ENTRE DOMINIOS DE PLEGAMIENTO TIPO ROSSMANN. (Construction and analysis of a structure similitude tree of Rossmann fold domains).

Katz, A., Arbildua, J., Monasterio, O.
Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

El plegamiento tipo Rossmann, envuelto en la unión de nucleótidos, es la estructura más abundante entre los dominios proteicos conocidos. Según la clasificación de la base de datos CATH los dominios proteicos que poseen este plegamiento comprenden alrededor de 92 familias. Las características estrucuturales generales del plegamiento son conservadas en todas las familias. Sin embargo, cada familia también posee características estructurales particulares que le permiten cumplir con su función específica. Para dilucidar las propiedades estructurales que originan las distintas funciones en las proteínas con plegamiento Rossmann, se construyó un árbol de semejanzas estructurales de 2485 dominios Rossmann. El resultado se correlacionó con propiedades funcionales de las proteínas. Se observó una buena correlación entre la estructura y la actividad enzimática de estas proteínas. Del mismo modo, se observa una correlación entre la semejanza estructural del dominio Rossmann y su posición en la secuencia de la cadena polipeptídica, es decir, si se encuentra en la zona carboxilo terminal, central o amino terminal.
De las características estudiadas, la actividad enzimática y la unión de determinados ligandos a la proteína son las propiedades que mejor se correlacionan con la semejanza estructural.
Financiado por FONDECYT105677

ESTUDIO DEL GEN *ompL* DE *Salmonella enterica* serovar Typhimurium Y SU POSIBLE PARTICIPACION EN LA EXPULSIÓN DE SUSTANCIAS TÓXICAS GENERADORAS DE ESTRÉS OXIDATIVO. Study of the S.Typhimurium *ompL* gene and its putative role in the efflux of toxic substances that generate an oxidative stress status.

Villarreal J.M.[1]; Aspee, A.[2]; Gutiérrez, J.I. [1]; Muñoz C. [1]; Saavedra, C.
[1] Laboratorio Microbiología Molecular, UNAB; Laboratorio de Fotoquímica, USACH.

Las porinas son canales de la membrana externa de bacterias Gram negativas y su función es permitir la difusión pasiva de solutos hidrofílicos, sean estos nutrientes y/o tóxicos antibacterianos.
El gen *ompL* de *Escherichia coli* ha sido descrito como un modulador del potencial redox en el periplasma, cuyo producto participaría en la expulsión de moléculas oxidadas y/o reducidas hacia el espacio extracelular. Por otra parte, en *Salmonella* Typhimurium los genes *ompD* y *ompW*, son requeridos para la expulsión eficiente del tóxico metil viológeno (MV), generador de estrés oxidativo.
Dado lo anterior, proponemos estudiar el gen *ompL* de *S.* Typhimurium y evaluar su posible participación en la respuesta a estrés oxidativo en esta bacteria. En estudios preliminares hemos evaluado el efecto de sustancias generadoras de ROS en cepas mutantes y silvestres de *Salmonella* cuantificando carbonilación de proteínas y los TBARS. Encontramos un aumento de un 30% en el nivel de carbonilación en la cepa mutante *ompL::kan* tratada con MV comparado con la silvestre. Además, resultados de susceptibilidad frente a diferentes tóxicos muestran que se produce una inhibición del crecimiento de las cepas mutantes, lo que sugiere que *ompL* es requerido en la respuesta a ROS.
Financiado por Proyectos Fondecyt 1050037 y 1050137.

INACTIVACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LA MIOSTATINA EN EL PEZ CEBRA. (Myostatin bioactivity inactivation in zebrafish).

Delgado I., Álvarez M., Vera M.I. y Molina A.
Laboratorio de Biotecnología Molecular, Dpto. Cs. Biol. Universidad Andrés Bello; MIFAB.

Mutaciones que afectan la actividad biológica de la miostatina son responsables del fenotipo "musculatura doble" que se expresa en forma natural en algunos mamíferos. Miostatina regula negativamente el crecimiento muscular durante el desarrollo embrionario y también en el adulto. Este factor se sintetiza como un precursor que se procesa proteolíticamente originando un péptido activo que se mantiene unido al resto de la proteína (péptido asociado a la latencia LAP) por interacciones no covalentes, generándose un complejo latente incapaz de interactuar con su receptor. Este complejo se mantiene circulante hasta ser nuevamente escindido en el LAP por una proteasa sérica que libera el péptido activo, inhibiendo la proliferación de las células musculares.
Con el propósito de estudiar el efecto fenotípico de la inhibición de la actividad atrófica de la miostatina, se realizaron experimentos de expresión transitoria en embriones de pez cebra. Se utilizaron construcciones que codifican proteínas, que al expresarse, funcionan como dominantes negativos al impedir la separación de LAP y péptido activo (mutantes D76A y R265G). Asimismo, se estudió el efecto de la sobreexpresión de la miostatina silvestre. Nuestros resultados sugieren que estrategias destinadas a inhibir la actividad de este factor podrían ser utilizadas para aumentar la productividad de la industria de cultivo de peces.
UNAB DID15-03, DID23-05/R y DID04-02, FONDECYT 1050272

ECOLOGÍA

DIVERGENCIA ANTITROPICAL DE PECES DEL PACÍFICO ESTE, INFERENCIA MEDIANTE SEÑAL MOLECULAR. (Antitropical divergence of fishes from the East Pacific, inferred through molecular signal).

Silva, A.X.[1,2]; Ojeda, F.P.[3]; Poulin, E.[1,3]
[1]Instituto de Ecología y Biodiversidad, Universidad de Chile, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile [2]Instituto de Ecología y Evolución, Universidad Austral de Chile, [3]Center for Advanced Studies in Ecology and Biodiversity, P. Universidad Católica de Chile.

La presencia de taxa hermanos en zonas templadas y su ausencia en el ecuador es una característica común de muchos organismos terrestres y acuáticos. Sin embargo, los factores causales de esta antitropicalidad y la fecha de su ocurrencia son motivo de intensos debates. Una manera de abordar este problema es mediante la estimación de los tiempos de divergencia entre especies hermanas que presentan dicha distribución y analizar su coincidencia con hitos biogeográficos conocidos. Para el caso de los peces marinos, la distribución antitropical es un fenómeno típico de las costas chilenas y californianas, especialmente para jureles (*T. murphyi, T. symmetricus*), anchovetas (*E. ringens, E. mordaz*) y sardinas (*S. sagax, S. sagax caeruleus*). En base a estimaciones de distancia genéticas, construcción de árboles filogenéticos entre dichas especies, y utilizando dos marcadores moleculares (región control y citocromo b), pudimos observar patrones de divergencia distintos para cada par de especies hermanas. Entonces, dicha divergencia podría haberse originado en períodos muy distintos y no tener un origen común.
Agradecimientos: FONDECYT 1040785, BECA PG-2-2005 UNIVERSIDAD DE CHILE, CONICYT, INSTITUTO DE ECOLOGÍA Y BIODIVERSIDAD CÓDIGO P05-002.

ESTASIS FLORÍSTICA EN CHILE CONTINENTAL. (Floristic stasis in continental Chile).

Castro S.A. & Jaksic FM.
Center for Advanced Studies in Ecology & Biodiversity. Pontificia Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago, Chile.

La biodiversidad global y regional se encuentra en proceso de modificación de sus patrones de distribución y abundancia, fenómeno denominado cambio biótico global (CB). Los mecanismos proximales que subyacen al CB se reducen principalmente a dos: sustracción (extinción o extirpación), y adición (invasión por especies nativas o exóticas) de especies. Aunque la cuantificación de los cambios composicionales a escala regional y global han sido escasamente evaluados, la percepción generalizada plantea que regiones expuestas a extinción e invasión de especies transitan hacia una homogenización biótica, definida como un aumento en la similitud composicional entre áreas. Evaluamos esta hipótesis para Chile continental, estudiando los patrones de distribución geográfica de plantas vasculares nativas y naturalizadas, al mismo tiempo de cuantificar las modificaciones en similitud composicional de regiones administrativas. Nuestros principales resultados indican que a) la flora naturalizada muestra patrones similares de distribución geográfica que la flora nativa; y b) la mayor parte de los casos (97.4% de las comparaciones) no mostraron modificaciones significativas en los niveles de similitud; mientras que solo en el 2.6% registramos decrementos en la similitud actual. Estos resultados no apoyan la hipótesis de homogeneización biótica, y permiten concluir que bajo la presente escala de análisis, las modificaciones composicionales en flora vascular chilena pueden ser descrita como en estasis biótica. Finalmente, los presentes resultados contribuyen a expandir la concepción actual del cambio biótico, especialmente en relación a su sentido, magnitud y diversidad de escenarios posibles.
Agradecimientos: Fundación Mellon, DIPUC.

DAÑO FOLIAR EN *ALSTROEMERIA EXERENS* (ALSTROMERIACEAE) MODIFICA LA ATRACTIVIDAD FLORAL HACIA POLINIZADORES. (Foliar damage in *Alstroemeria exerens* modifies floral attractiveness to pollinators).

Suárez, LH[1]; Gonzáles WL[2] & Gianoli E[2]
[1]Departamento de Ciencias Ecológicas, Casilla 653, Universidad de Chile. [2]Departamento de Botánica, Casilla 160-C, Universidad de Concepción. lsuarez@udec.cl

La pérdida de tejido fotosintético por herbivoría puede reducir la disponibilidad de recursos en la planta. Esto puede afectar la expresión de atributos florales tradicionalmente asociados con la atracción de polinizadores (diseño: color, tamaño; despliegue: tasa diaria de floración), que frecuentemente manifiestan preferencia por ciertos estados de estos atributos, afectando así la adecuación biológica. Exploramos los efectos del daño foliar en la especie *Alstroemeria exerens* sobre atributos de diseño y despliegue floral. Evaluamos la preferencia de los polinizadores sobre los mismos atributos. *Alstroemeria exerens* es autocompatible y no autógama. Poblaciones cordilleranas presentan altos niveles de defoliación por larvas de lepidópteros. En un experimento de terreno se dañó artificialmente 100 plantas (previo a la aparición de yemas florales) y otras 100 fueron excluidas de herbívoros (control). Durante la floración, se evaluó: tasa de apertura floral, tamaño de la corola y área de la zona guía de néctar. También se evaluó número y duración de visitas de polinizadores en 101 plantas. Plantas dañadas presentaron menor tasa de apertura floral y tamaño del área guía de néctar que plantas control. Los polinizadores disminuyeron número y duración de visitas conforme disminuyó tasa de apertura floral y tamaño del área guía de néctar.
ICM P05-002.

EFECTO DE LAS PRECIPITACIONES EN LA COMPOSICIÓN DE LOS ENSAMBLES DE ESPECIES HERBÁCEAS EN UNA COMUNIDAD SEMIÁRIDA DE CHILE. (Rainfall effect on the structure of herbaceous species assemblages in a Chilean semiarid community).

Gutiérrez, J.R.[1] Meserve, P.L.[2], Kelt, D.A.[3], Squeo, F.A.[1]
[1]Universidad de La Serena, CEAZA e IEB; [2]Northern Illinois University; [3]University of California, Davis.

Las lluvias en ambientes áridos y semiáridos son la principal limitante para la germinación y establecimiento de plantas anuales. En Chile, las especies de plantas anuales invasoras provienen mayoritariamente de ambientes mediterráneos y la germinación ocurre con cantidades de lluvia menores a lo que ocurre con las especies nativas. Es de esperar, por lo tanto, que años con bajas precipitaciones sean más favorables para las especies herbáceas invasoras que para las especies nativas. Lo opuesto se observaría en años lluviosos, con un aumento del número de especies nativas. Se evalúa esta hipótesis usando información obtenida desde 1989 hasta el 2005 (16 años) en una comunidad semiárida localizada al interior del Parque Nacional Bosque Fray Jorge. Los resultados muestran que hay una correlación positiva entre las precipitaciones y la riqueza de especies herbáceas. Que la proporción de especies introducidas crece hacia los años secos, cuando la riqueza de especies de herbáceas es también baja. El aumento en la "aridización" del norte-centro de Chile en las últimas décadas estaría facilitando la incorporación de especies anuales introducidas.
Financiado por FONDECYT 1030225

AMPLIACIÓN DEL RANGO DE DISTRIBUCIÓN DE *OLIGORYZOMYS LONGICAUDATUS* (RODENTIA, SIGMODONTINAE) EN LA REGIÓN DE MAGALLANES, CHILE, Y PRIMER REGISTRO DE *HANTA* VIRUS EN LA REGIÓN. Range expansion of *Oligoryzomys longicaudatus* (Rodentia, Sigmodontinae) in the Chilean Patagonia and first record of Hanta virus in the region.

Belmar-Lucero S. A.[1], Godoy[2], P., Ferrés[2], M., Vial[3] P., & Palma[1], R. E.
Centro de Estudios Avanzados en Ecología y Biodiversidad y Departamento de Ecología, P. Universidad Católica de Chile[1]; Laboratorio de Infectología, Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile[2], Facultad de Medicina, Universidad del Desarrollo[3]

Actualmente se reconocen alrededor de 20 especies del género *Oligoryzmys* (Rodentia, Sigmodontinae) en la Región Neotropical. Gran parte de dichas especies se distinguen por su cariotipo, el cual fluctúa entre 46-70 cromosomas. En Chile, ocurren *Oligoryzomys longicaudatus* (2n = 56) hasta aproximadamente los 50° S, y *O. magellanicus* (2n = 54) en la Región de la Patagonia de Chile y Argentina. Realizamos muestreos de pequeños mamíferos en 3 localidades de la XII Región, Reserva Nacional Magallanes, Puerto de Hambre y Fuerte Bulnes. Analizamos los cariotipos en 10 individuos de las 3 localidades. Los resultados mostraron consistentemente que el cariotipo de estas formas era 2n = 56, idéntico al de *O. longicaudatus*. Adicionalmente, secuenciamos la región hipervariable I de la región control del mtDNA en individuos de las 3 localidades, más especímenes de Torres del Paine, comparando dichas secuencias con la filogenia de *O. longicaudatus*. Asimismo, se practicaron exámenes virológicos en todos los especímenes capturados para detectar la presencia del virus Andes a través de la determinación de anticuerpos IgG anti-ANDV mediante la técnica de Strip Immune Assay (SIA) y de genoma viral por medio de RT-PCR. Los resultados mostraron la presencia de anticuerpos IgG anti-ANDV y del genoma viral en el corazón, bazo y pulmones en un espécimen de *Oligoryzomys* de la localidad de Fuerte Bulnes.
Los resultados obtenidos indican que los individuos capturados en las 3 localidades corresponden a *Oligoryzomys longicaudatus*, ampliando así la distribución de esta especie desde los 50° S hasta los 53° S y, de manera asociada, la distribución de la cepa Andes del virus Hanta. De esta forma, al menos para las localidades analizadas, descartamos la presencia de *Oligoryzomys magellanicus*, especie descrita para esta región de la Patagonia.
FONDECYT FONDAP-CASEB 1501-0001, Proyecto NIH Hantavirus-Chile.

LA VIA AEREA DEL MURCIÉLAGO *Tadarida brasiliensis*: UN DISEÑO DE MÍNIMA PRODUCCIÓN DE ENTROPÍA. (The air way of the bat *Tadarida brasiliensis*: A minimum entropy production design).

Canals, M[1], Sabat, P[1,2], Veloso, C
[1]Laboratorio de Ecofisiología Animal, Departamento de Ciencias Ecológicas Universidad de Chile. [2]Center for Advanced Studies in Ecology & Biodiversity, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El requerimiento energético de los microquirópteros es elevado, lo que se encuentra asociado al elevado gasto del vuelo y a su pequeño tamaño. Esto requiere de refinamientos en su sistema respiratorio y cardiovascular que les permitan una adecuada adquisición y entrega de oxígeno a los tejidos. Se han demostrado ajustes en el pulmón. Utilizando modelos basados en árboles bronquiales simétricos se ha propuesto que existiría una optimización de la vía aérea proximal adecuada a un mínimo gasto de energía. En este trabajo estudiamos las 5 primeras generaciones de la vía aérea de *Tadarida brasiliensis* y las comparamos con las de 3 roedores (*Rattus norvegicus, Abrothrix olivaceus* y *A. andinus*) y el conejo (*Oryctolagus cuniculus*). La tráquea de *T. brasiliensis* tiene un diámetro relativo mayor que las demás especies; sin embargo tanto la resistencia como la producción de entropía absolutas son semejantes al del resto de los mamíferos. Sin embargo a lo largo de la vía aérea *T. brasiliensis* presenta una acentuada reducción de la razón entre la resistencia y el volumen, mientras el resto de los mamíferos presenta una relación ascendente o constante. El resultado es que después de la quinta generación reduce la disipación de energía a solo un 65% del inicial, mientras el resto de los mamíferos fluctúa entre un 97 y un 126%. Los resultado muestran que *T. brasiliensis* combina un alto gasto energético con un diseño adecuado a la mínima producción de entropía en su árbol bronquial.
PROYECTO FONDECYT 1040649

EFECTO DE LA ESTACIONALIDAD TÉRMICA SOBRE LA TASA DE DESARROLLO DEL PARASITOIDE *Phasmovora phasmophagae* (DIPTERA: TACHINIDAE). (Thermal seasonal effects over the developmental rate of the parasitoid *Phasmovora phasmophagae* (Diptera: Tachinidae).

C. Veloso
Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Los ciclos de vida de los organismos de alta montaña deben estar en fina sincronía con los fuertes cambios térmicos estacionales que ahí ocurren. En el caso de los parasitoides, estos deben coordinar su ciclo de desarrollo con los ciclos de desarrollo del hospedero y con el ambiente térmico. En este contexto, el objetivo de este trabajo es analizar el patrón de desarrollo del parasitoide koinobionte *P. phasmophagae*, antes y después de la etapa de dormancia hibernal. Se capturaron hospederos (*Agathemera crassa*) de una población de farellones en otoño y primavera, los que fueron trasladados al laboratorio y mantenidos a 22 °C. Durante este tiempo emergieron los parasitoides, los que fueron mantenidos bajo el mismo régimen térmico durante todo el período de desarrollo pupal. Los resultados muestran que existe un fuerte dimorfismo sexual, los parasitoides que emergen de hospederos capturados en primavera son más livianos que los que emergen en otoño. Además, los resultados muestran que tanto el largo de la pupa como la masa de la pupa son buenos predictores del tamaño adulto. El tiempo de pupa fue mayor en animales de primavera. Los resultados permiten proponer que el ciclo de vida de las pupas del parasitoide es significativamente afectado por la temperatura de permanencia al interior del hospedero durante la hibernación. Proyecto DID I 05/02-2.

PLASTICIDAD FENOTÍPICA DE *DAPHNIA AMBIGUA* EN RESPUESTA A KAIROMONAS DE UN DEPREDADOR INVERTEBRADO. (Phenotypic plasticity of *Daphnia ambigua* in response to kairomones released by an invertebrate predator).

Carter, M. J., Caren Vega, Rodrigo Medel & Rodrigo Ramos-Jiliberto
Departamento de Ciencias Ecológicas, Universidad de Chile, Chile

El fenotipo de un individuo es el resultado de su arquitectura genética y del ambiente donde este se desarrolla. La comunicación química entre individuos en cuerpos de agua dulce mediada por kairomonas, juega un importante rol modulador de respuesta frente a una variedad de interacciones ecológicas. En este contexto el objetivo de este estudio es examinar el efecto de las kairomonas de un depredador invertebrado (Hydracarina), sobre rasgos morfológicos y de historia de vida del crustáceo planctónico *Daphnia ambigua*. Nuestros resultados muestran que rasgos de historia de vida como fertilidad, edad de la primera reproducción e intervalos temporales entre camadas, así como el tamaño a la madurez y el tamaño luego de cada postura de huevos, se ven afectados en aquellos individuos sujetos a tratamientos con kairomonas. Las kairomonas como señales químicas entregan una potente herramienta antidepredatoria que no se limita a una simple señal de alarma sino que tiene consecuencias sobre los fenotipos de las presas teniendo importante consecuencias sobre las interacción con su depredador en términos ecológicos.

BIOQUÍMICA

CLONAMIENTO DEL TRANSPORTADOR GLUT6 HUMANO Y DE UNA ISOFORMA CORTA. (Cloning of human GLUT6 and of a short isoform).

Pérez A., Felipe Zúñiga[1], Valeska Ormazábal[1], Juan C. Vera[1] y Alejandro M. Reyes
Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile y [1]Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción.

La familia de transportadores facilitativos de hexosas denominados GLUT/SLC2A, (*glucose transport / solute carrier 2A familiy*) corresponden a proteínas integrales de membrana ampliamente distribuidas en células de mamíferos. Hasta la fecha se han descrito 14 isoformas, las cuales se han agrupado en tres clases (denominadas I, II y III) de acuerdo a sus características estructurales predichas a partir de su secuencia aminoacídica y a su grado de identidad. GLUT6 es uno de los miembros perteneciente a la clase III, cuyas características cinéticas y funcionales se desconocen en comparación a las otras clases. Desde células de carcinoma mamario, ZR-75, se clonó la secuencia completa del transportador GLUT6 humano (hGLUT6). Al amplificar la secuencia completa de GLUT6 nos encontramos con una segunda banda de tamaño menor, la cual, al ser clonada y secuenciada correspondió a una isoforma corta del transportador (shGLUT6), que no presenta el exón 8 (186 bases). shGLUT6 carece del lazo extracelular entre la hélices 9 y 10 la cual estaría involucrada en la glicosilación del transportador. Análisis por PCR en otras lineas celulares también indicó la presencia de ambas isoformas. La expresión en células en cultivo de ambas formas de GLUT6 es preponderantemente intracelular. hGLUT6 es un transportador de baja afinidad por D-glucosa que además es poco sensible a la inhibición por genisteína (Financiado por FONDECYT 1061098).

ANÁLISIS DE LAS SECUENCIAS DE DESTINO DE LAS PROTEÍNAS DE CLOROPLASTO DEL DINOFLAGELADO TÓXICO *ALEXANDRIUM CATENELLA*. Analysis of chloroplast proteins targeting sequences of the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella*.

Uribe, P., Fuentes, D., Valdés, J. y Valenzuela, P.D.T.
Fundación Ciencia para la Vida e Instituto MIFAB.

Los cloroplastos de los organismos fotosintéticos se han originado por sucesivos procesos de endosimbiosis, estos eventos han resultado en organismos con cloroplastos con dos, tres y cuatro membranas. Los genes que codifican las proteínas de los cloroplastos han migrado al núcleo en diferentes proporciones en estos organismos, y en consecuencia estos genes nucleares contienen las secuencias señales de destino a los cloroplastos. Estas señales varían su composición de aminoácidos de acuerdo al número de membranas de estos. Por ejemplo, en organismos derivados de endosimbiosis primaria como las plantas las proteínas de los cloroplastos contienen un péptido de tránsito en la región N-terminal. En organismos provenientes de endosimbiosis secundaria, el péptido de tránsito contiene además, un péptido señal. Algunos dinoflagelados que contienen tres membranas en sus cloroplastos presentan señales de destino a los cloroplastos diferentes. Estas secuencias se pueden clasificar en tres clases de acuerdo a criterios basados en su composición. En este trabajo se identificaron y analizaron las señales de destino de 36 proteínas de cloroplastos de una genoteca de cDNAs del dinoflagelado *Alexandrium catenella*. El análisis bioinformático de estas secuencias revela que la mayoría de estas secuencias cumple con los criterios de clasificación utilizados para dinoflagelados similares.

INTERACCIÓN DE PIP2 con EL CANAL TRPV1. ESTUDIO ESTRUCTURAL. (PIP2-TRPV1 channel interaction. Structural Study).

Mascayano, C., Gonzalez, W., Urbina, H. Gonzalez-Nilo, F., Brauchi, S., Orta G., Raddatz N., y Latorre, R.
Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, Universidad de Talca, Talca. Centro de Estudios Científicos, Valdivia.

Los canales de iones se pueden ser activados a través de diversos estímulos; tales como, cambios en el voltaje de transmembrana, unión de ligandos o variaciones de temperatura. De estos eventos, nuestro interés es explorar un mecanismo a través del cual PIP2 (fosfatidilinositol (4,5)-bifosfato) es capaz de interactuar directamente con el canal TRPV1. Actualmente no existe información cristalográfica para ningún canal del tipo TRP. Sin embargo, hay evidencias experimentales que sustentan la hipótesis de un putativo sitio de unión de PIP2 muy conservado en esta familia.
Como primera etapa de este estudio se generó un modelo molecular del canal TRPV1, que consta de una región transmembranal y de un segmento C-terminal ubicado en la región intracelular. El modelo inmerso en una capa lipídica de POPC fue relajado con dinámica molecular por 3 ns.
Para postular el sitio de unión de PIP2 en el canal TRPV1 utilizamos los métodos de simulación de acoplamiento proteína-ligando (docking) implementado en el programa ICM. Para una mejor evaluación de las interacciones electrostáticas, las cargas parciales de PIP2 fueron calculadas utilizando métodos de mecánica cuántica (HF/6-31G**).
Los resultados de las simulaciones de docking muestran que PIP2 se ubica preferentemente entre dos subunidades, la cola alifática de PIP2 se inserta en una cavidad entre los segmentos S4 y S5 y la cabeza trifosforilada de PIP2 forma fuertes interacciones tipo puentes salinos con 3 residuos de carga positiva de la región C-terminal, los cuales son clave y determinan la activacion PIP2-dependiente.
AGRADECIMIENTOS: FONDECYT #1040254 (FGN) y 1030830 (RL).

COLOCALIZACIÓN DE HEXOQUINSA TIPO I Y TRANSPORTADORES DE GLUCOSA, GLUTs. (Type I hexokinase and glucose transporters (GLUTs) colocalization).

Castro M., M. Cecilia Rauch e Ilona I. Concha
Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile.

El primer paso en el metabolismo de glucosa es su entrada mediada por los transportadores facilitativos de glucosa (GLUTs), para ser fosforilada inmediatamente por Hexoquinasa. Hexoquinasa tipo I (HKI) es una isoenzima que se caracteriza por ser ubicua, por unirse a la mitocondria y por cumplir una función catabólica principalmente asociada a la glicólisis. Bajo determinados estímulos, asociados a la activación metabólica celular, se ha observado que HKI es capaz de disociarse de la mitocondria, se induce la translocación de GLUT1 hacia la membrana plasmática y la expresión de GLUT3 en células que no lo expresan normalmente. En el presente trabajo hemos explorado una posible asociación entre HKI y los transportadores GLUT1 y GLUT3. Mediante análisis de inmunofluorescencia, Western blot y RT-PCR analizamos la expresión de HKI, GLUT1 y GLUT3 en espermátidas aisladas y en cultivos de neuronas de rata. Comprobamos la función de dichos transportadores mediante análisis funcionales utilizando ^{3}H-desoxiglucosa (^{3}H-DOG), un análogo de glucosa fosforilable por hexoquinasa y ^{3}H-o-metilglucosa (^{3}H-OMG), un análogo de glucosa no metabolizable. Observamos que tanto GLUT1 como GLUT3 coinmunoprecipitan con HKI en extractos de proteínas totales. Utilizando microscopía confocal, determinamos la colocalización de la enzima con ambas isoformas de los transportadores. Estos hallazgos apoyan fuertemente la idea de una posible asociación entre HKI y los transportadores de glucosa GLUT1 y GLUT3 que no sería exclusiva de un tipo celular.
(FONDECYT 1060135)

CLONAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN INICIAL DE XCAT-1 UN NUEVO CANAL TRP EN OOCITOS DE *XENOPUS LAEVIS*. (Cloning and initial characterization of XCAT-1 a new TRP Channel from *Xenopus laevis* oocytes).

Salazar, M.[1, 2]; Feinn, C.[1]; Orta, G.[1]; Morera, F.J.[1, 2]; Rosenmann, E.[1] y Latorre, R.[1]
[1]Centro de Estudios Científicos, Valdivia, Chile.; [2]Universidad Austral de Chile.

La superfamilia de canales TRP están involucrados en diversos procesos que van desde la actividad sensorial al transporte epitelial. Existen canales TRP en eucariontes, desde levaduras hasta mamíferos, pero las funciones fisiológicas de muchos de ellos permanecen aún desconocidas. Hemos clonado un nuevo canal TRP presente en oocitos de *Xenopus laevis* partir de la secuencia anotada en la base de datos GeneBank de un putativo transportador de calcio epitelial XCAT-1 *de Xenopus laevis* (N° de acceso AB085630). A partir de esta secuencia se generaron partidores y se amplificó por RT-PCR y clonó el cDNA de XCAT-1. La secuencia clonada predice una proteína de 6 segmentos transmembrana que posee en su carboxilo terminal la secuencia característica de la familia TRP, llamada caja TRP. XCAT-1 tiene una alta homología de secuencia con TRPV6 un canal selectivo para calcio en rata. La expresión heteróloga de XCAT-1, confirmada por electrofisiología, demostró que la proteína clonada es un canal de iones funcional.
Financiamiento: Proyecto Fondecyt # 1030830.

LA LIBERACIÓN DE CITOCROMO C A TRAVÉS DEL TIEMPO EN LAS LINEAS CELULARES NEOPLÁSICAS DE RATÓN TA3 Y TA3-MTX-R TRATADAS CON ÁCIDO NORDIHIDROGUAYARÉTICO Y SU ESTER TETRACETILADO, NDGATA. (Time-course of cytochrome c release in TA3 and TA3-MTX-R mouse tumor cell lines treated with nordihydroguaiaretic acid and its tetra-acetylated ester derivative).

Ferreira, J., Plaza, C., Pavani, M., *De Ioannes, A., Maya, J.D., Burgos, P., Toledo, H.
Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y *Departamento de Investigación y Desarrollo, Biosonda S.A.

El ácido nordihidroguayarético (NDGA), un inhibidor general de diferentes lipoxigenasas (LOX), es citotóxico sobre una amplia variedad de células tumorales, tanto *in vitro* como *in vivo*. Induce apoptosis independientemente de su actividad inhibitoria de las LOXs mediante un mecanismo que aún no está completamente entendido. Hemos establecido que NDGA y NDGATA bloquean principalmente el flujo de electrones a través del Complejo I de la cadena respiratoria; en consecuencia, se produce una caída del potencial de membrana, evento que usualmente precede a la liberación del citocromo c en la vía apoptótica iniciada por la vía mitocondrial.
En la mayoría de los estudios, la liberación de citocromo c se ha evaluado por métodos inmunoquímicos que son demorosos y no pueden ser considerados cuantitativos. Nosotros describimos un método espectrofotométrico rápido y simple para la determinación cuantitativa de la liberación de citocromo c desde mitocondrias aisladas y de células tumorales permeabilizadas inducidas por NDGA y NDGATA. Para ello utilizamos del espectro del citocromo c los picos a y g de Soret a 414 y 550 nm, respectivamente. Los resultados de la liberación de citocromo c por este método concuerdan perfectamente con la respiración dependiente de citocromo c en mitocondrias aisladas y en las células tumorales permeabilizadas.
Financiado por FONDECYT N° 10661086.

PURIFICACIÓN Y ANÁLISIS DE ESTRUCTURA-FUNCIÓN DE RIC-8 DE *XENOPUS LAEVIS*. (Purification and structure-function assay of ric-8 from *Xenopus laevis*).

Figueroa, M[(1, 2)]; Ramírez de Arellano, A[(1)]; Torrejón, M[(1)]; Martínez-Oyanedel, J[(2)]; Bunster, M[(2)]; Montecino, M[(1)]; Hinrichs M.V.[(1)]; Olate, J[(1)]
[(1)] Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. [(2)] Laboratorio de Biofísica Molecular, Facultad de Cs. Biológicas, Universidad de Concepción.

Niveles aumentados de cAMP mantienen al ovocito de *X. laevis* detenido en profase de la primera división meiótica. Algunos componentes de la maquinaria molecular, que mantienen esta condición, han sido identificados por nuestro grupo, que involucran las proteínas Gas, Gbg y adenilil ciclasa. Sin embargo, se desconoce aún cómo se mantiene activo este complejo de señalización de manera constitutiva, condición necesaria para mantener aumentados los niveles de cAMP dentro del ovocito. Al respecto, recientemente hemos clonado un gen desde ovocitos de *X. laevis* que codifica para la proteína Ric-8, la cual posee actividad GEF (Guanine Exchange Factor) para Gas. Esta proteína corresponde a una nueva familia de GEF de la cual solo se posee información a nivel de estructura primaria, la cual a su vez es distinta de cualquier otra familia de GEF. En este trabajo presentamos un enfoque experimental para la purificación de esta proteína para posteriores estudios estructurales, así como estudios preliminares de búsqueda de dominios funcionales que den cuenta de la actividad GEF, valiéndonos para ello de herramientas bioinformáticas de análisis de secuencia, y posterior subclonamiento, expresión y análisis *in vivo* de estos dominios.

BOTÁNICA

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL COLOR DEL FRUTO EN *FRAGARIA CHILOENSIS*. EXPRESIÓN DE GENES RELACIONADOS CON LA SÍNTESIS DE FLAVONOIDES.

Saud, G.*, Raúl Herrera*, Jorge Retamales†, Peter Caligari*
*IBVB, †Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca

La coloración del fruto tiene gran importancia en la ecología de las especies que los producen, sin embargo es también una característica importante cuando se trata de su utilización para consumo humano. En el género *Fragaria* el color del fruto está asociado a compuestos fenólicos con fuerte actividad antioxidante. La ingesta de estos compuestos está relacionada con la prevención de enfermedades degenerativas como el cáncer, desórdenes coronarios y envejecimiento prematuro.
Fragaria chiloensis es una especie nativa de Chile que se caracteriza por presentar frutos de color blanco, lo cual la convierte en un cultivo exótico y en un excelente modelo de estudio para investigar la genética molecular de la síntesis de pigmentos flavonoides. Con el objeto de caracterizar la determinación molecular de la coloración del fruto en esta especie, se analizó la expresión de genes relacionados con la vía de síntesis de flavonoides. Para ello se aislaron fragmentos de genes de la vía, con los cuales se analizó su expresión. Como resultado se observó que existen genes claves cuya transcripción se encuentra reprimida en un genotipo de fruto blanco de *Fragaria chiloensis*.
Los resultados comunicados en esta presentación serán de gran utilidad para desarrollar marcadores moleculares que puedan asistir la selección de genotipos mejorados del género Fragaria.
Agradecimientos: CIBS, FONDECYT (10509879), DPI-UTALCA

ESTUDIO MOLECULAR DE LA RESPUESTA GRAVITRÓPICA EN *PINUS RADIATA*. Molecular study of the gravitropic response in *Pinus Radiata*.

Moya, M.[1]; Leprovost, G[2].; Plomion, C[2]. y **Herrera, R**[1].
[1] Inst. Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, Chile & [2] INRA, Equipe de Génétique et Amélioration des Arbres Forestiers, Pierroton, France.

En el presente trabajo, se estudió la expresión diferencial de genes de xilema de plántulas expuestas a crecimiento con inclinación de 45°. El estudio de transcritos permite identificar los genes que están involucrados en la respuesta y establecer el posible mecanismo molecular inducido en la pérdida de verticalidad de fuste durante el crecimiento. Plántulas de pino radiata de un año (69 individuos) fueron sometidas a tratamiento, manteniendo 25 plantas como control y sometidas a crecimiento normal en invernadero. Se determinó, mediante curva de progreso, que la respuesta del ápice a la pérdida de verticalidad ocurrió a las 2 horas de tratamiento. Se colectaron muestras de tallo superior e inferior, transportándose en nitrógeno líquido y almacenándose a -80°C. Se extrajo RNA total de tallo aplicando la técnica SSH para generar bibliotecas de ESTs. Se caracterizaron los transcritos por clonamiento y secuenciación, identificando genes estructurales de pared celular, transporte y otros. Asimismo, se realizó una hibridación de RNA total en un filtro que contenía genes de una biblioteca de *Pinus pinaster* (Macroarreglo), observándose la expresión diferencial de algunos genes después de 2 horas de tratamiento. Se determinó la correlación entre la expresión diferencial de genes de estas dos especies de pino.
Financiado por: DPI Universidad de Talca (Proyecto enlace). Programa UE-Alfa de intercambio académico.

RELACIÓN ESTRUCTURA-FUNCIÓN ENTRE LA PROTEÍNA DE LA CUBIERTA DEL VIRUS TMV-CG Y LA RESPUESTA DE DEFENSA TIPO-HR. (*Structure-Function relationship between Tobamovirus coat protein CPCg and HR-like response*).

Ehrenfeld[1], N., González[2], A., **Cañón, P.**[1], Medina[1], C., Pérez-Acle[2], T., y Arce-Johnson,[1] P.
[1]Departamento de Genética Molecular y Microbiología, PUC. [2]Centro de Genómica y Bioinformática, PUC.

TMV-Cg y TMV-U1 son dos Tobamovirus que infectan plantas de tabaco. En plantas de tabaco sensibles (Xanthi nn), el virus TMV-Cg, induce la aparición de lesiones necróticas locales a los 4 días post-inoculación (dpi), muy similares a las lesiones inducidas durante la respuesta de hipersensibilidad (HR) que ocurre en plantas de tabaco resistentes (Xanthi NN). Sin embargo, no es suficiente para restringir el movimiento sistémico del virus, el que logra diseminarse por toda la planta. A los 11 dpi se observa la aparición de lesiones necróticas apicales seguido de un mosaico sistémico. Esta respuesta se denomina tipo-HR. Estudios anteriores utilizando virus híbridos entre el TMV-Cg y la cepa silvestre TMV-U_1, demostraron que el activador de la respuesta tipo-HR es la proteína de la cubierta del TMV-Cg (CPCg). Se modeló *in-sílico* la estructura tridimensional de la CPCg y se realizaron mutaciones puntuales en su secuencia de manera de alterar su estructura tridimensional. Al inocular en plantas de tabaco sensibles los virus que portan alguna mutación en la CP, se observaron alteraciones en la respuesta tipo-HR y en el ensamblaje de la partícula viral. Los resultados sugieren que las estructuras intermedias formadas durante el ensamblaje del virión, estarían involucradas en el reconocimiento de la CPCg como activador de la respuesta tipo-HR.
Proyecto, Fondecyt 1040789

DEFENSA ANTIOXIDANTE EN RESPUESTA A ESTRÉS POR COBRE, EN LA GRAMÍNEA TOLERANTE *Polypogon australis*. (Antioxidant defense in response to copper stress in the tolerant gramineae *Polypogon australis*).

Ortiz, C. y **Díaz, K.**
Departamento de Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Se estudió el nivel de lipoperoxidación y la oxidación de proteínas, además de las actividades de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD), ascorbato peroxidasa (APX), guaiacol peroxidasa (POX) y catalasa (CAT), en hojas de la gramínea tolerante a cobre *Polypogon australis*. Las plantas fueron tratadas con Cu, por sobre y por debajo del EC_{50} determinado para la planta (63 mM y 140 mM, respectivamente). Después de tres días de tratamiento, el nivel de lipoperóxidos y de proteínas oxidadas además de la actividad de CAT y APX aumentó, mientras que las actividades SOD y POX no presentaron variaciones en comparación con el control. Las actividades de SOD, AOX, POX y CAT fueron correlacionadas tanto con las concentraciones de Cu en el medio de crecimiento (0, 63 y 140 mM), como con la lipoperoxidación y oxidación de proteínas determinada en hojas. El efecto oxidativo de Cu en *P. australis* solo fue observado a una concentración de Cu sobre el EC_{50} en hojas, mientras que parte del sistema antioxidante enzimático evaluado se activó por sobre los niveles observados en el control. No se observaron síntomas visuales de fitotoxicidad como clorosis o necrosis en las hojas, aún a concentraciones de Cu que provocaron aumento en la actividad antioxidante. Sin embargo, el crecimiento de las plantas se redujo con el tratamiento de estrés.
Trabajo financiado por DICYT, Universidad de Santiago de Chile, Proyecto 020543OC.

DESHIDRATACIÓN PREMATURA EN BAYAS DE *VITIS VINIFERA CV. MERLOT* ASOCIADA A INFECCIONES VIRALES Y POR FITOPLASMAS. (Phytoplasma and virus infections associated to premature berry dehydration in *Vitis vinifera* cv. Merlot).

Matus J. T., Serrano C., Loyola R., Vega A., Medina C. y Arce-Johnson P.
Pontificia Universidad Católica de Chile.

En Chile es posible detectar el desorden fisiológico de deshidratación prematura de la baya (PBD) en el cultivar Merlot de *Vitis vinifera* cercano a la época de cosecha. Este desorden provoca reducciones del rendimiento que varían entre un 20% y 80%, generando pérdidas importantes en la calidad del vino producido como consecuencia de una maduración insuficiente del fruto. Las posibles causas para este fenómeno son diversas, relacionándose principalmente con el estatus hídrico del viñedo. Sin embargo, la tasa de deshidratación de PBD no está relacionada directamente con el déficit hídrico; este factor solo acelera los síntomas. La incidencia de patógenos en plantas con PBD aún no ha sido evaluada. Debido a la importancia de las infecciones virales y a la falta de estrategias de control de fitoplasmas en vides, el objetivo de nuestro trabajo fue evaluar viñedos comerciales de Merlot con PBD. Fue posible detectar, mediante ELISA, PCR-Multiplex y Microscopía, la presencia de fitoplasmas y virus del género Closterovirus y/o Nepovirus. Estos patógenos podrían interferir en el transporte de los fotoasimilados desde las hojas hacia el fruto. La deshidratación de las bayas se generaría como consecuencia del taponamiento precoz de los haces floemáticos, afectando el ingreso de agua posterior a la época de pinta e incrementando su pérdida por transpiración. Actualmente estamos estudiando la expresión de genes involucrados en maduración y transporte de agua y solutos en respuesta a estas infecciones. Consorcios Tecnológicos Innova Chile 05CTE01-03, Vinnova S.A.

PAPEL DE LAS GIBERELINAS EN LA MUERTE CELULAR PROGRAMADA DURANTE LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS EN CEREALES. (Gibberellin signaling in programmed cell death during germination of cereal seeds).

Casaretto, J. A.[1]; Zentella, R.[2]; Hong, C.-Y.[3] y Ho, T.-H.[3]
[1]Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, Chile; [2]Department of Biology, Washington University in St. Louis, USA; [3]Institute of Botany, Academia Sinica, Taiwán.

Las giberelinas (GA) son fitohormonas importantes en promover la germinación de semillas. Su papel en la estimulación de la ruptura de dormancia, producción de enzimas hidrolíticas y movilización de reservas está bien definido en cereales. La inducción de enzimas hidrolíticas ocurre especialmente en la capa de aleurona y durante las primeras horas de imbibición (o tratamiento con GA). Luego las células de la capa de aleurona entran en un proceso de muerte celular programada que está manifestado principalmente por la formación de una vacuola grande central que digiere todo el contenido celular. Se ha evaluado la función de algunos intermediarios de la ruta de transducción de señales de GA (GAMyb, SLN) sobre el proceso de vacuolación en células de aleurona en cebada mediante el control de la expresión transitoria de los genes que los codifican y se ha comprobado que este proceso es suprimido por ácido abscísico. Además, se demuestra que un gen que codifica a una nucleasa (*Ben*), es regulado por GA a nivel transcripcional y se sugiere que es necesario pero no suficiente para este evento de degeneración celular.

MAPEO E INTROGRESIÓN DE UNA REGIÓN GENÓMICA ASOCIADA A LA TOLERANCIA A ALUMINIO FITOTÓXICO EN CEBADA. (Mapping and introgression of genomic region associated with aluminum tolerance in barley).

Soto, B.[1], Salvo-G, H[1], Gallardo, M. y Peñaloza, E.
Unidad de Biotecnología, INIA-Carillanca. Temuco.

Cebada es el cereal más sensible a aluminio fitotóxico (Al^{3+}). Estrés presente en los suelos del centro-sur y sur de Chile, donde se concentra su cultivo. El uso de cultivares tolerantes y adecuadas prácticas de manejo representa una alternativa más sustentable que la aplicación de enmiendas calcáreas. Sin embargo, en Chile no existen cultivares de cebada tolerantes a este estrés. En este estudio se confirmó la tolerancia de la cebada "landrace" Dayton, por lo cual se desarrollaron poblaciones segregantes y recombinantes con una línea elite, para mapear e introgresar el locus de tolerancia *Alp*. El ANOVA para los marcadores Bmag310, HVM68 y Bmag353 mostró una alta asociación con la variación de la tolerancia ($P<0,0001$). Mediante BSA, el locus *Alp* se mapeó en el cromosoma 4HL a 1,3; 2,6 y 5 cM de estos marcadores, respectivamente, utilizándolos para asistir la introgresión. Se seleccionaron individuos BC_3F_1 homocigotos para el locus *Alp* con el menor segmento cromosómico introgresado en 4HL, y con un 98,7% de genoma elite en los 7 grupos de ligamiento. En estas líneas, los crecimientos radicales fueron similares a Dayton, superando más de 20 veces a la línea sensible, lo cual se está confirmando a nivel de exudados radicales. Estos resultados permitirán adaptar germoplasma de cebada elite a suelos con problemas de Al^{3+}.

TOLERANCIA A SALINIDAD INDUCIDA POR LA SOBREEXPRESIÓN DEL GEN *LcSAMDC* EN *Solanum esculentum*. (Tolerance to high salinity induced by over-expression of *LcSAMDC* gene in *Solanum esculentum*).

Ruiz-Lara, S.; Yáñez, M.; Verdugo, I.; Salazar, M.; Espinoza, A.; Poblete, F. y González, E.
Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.

Aproximadamente el 20 % de la superficie terrestre utilizada para el cultivo en el mundo, se encuentra afectado por niveles de salinidad que superan la tolerancia de las especies de cultivos tradicionales. Este estrés salino afecta directamente el rendimiento de los cultivos, inhibe su óptimo desarrollo y en algunos casos puede conducir a la muerte de la planta. Cloruro de sodio es una de las sales que causa mayor perjuicio debido tanto a su capacidad para generar estrés osmótico como al efecto tóxico del ión sodio. Con el propósito de incrementar la tolerancia de especies de cultivo a estrés salino generado por NaCl, hemos utilizado a *Solanum chilense*, planta nativa tolerante a alta salinidad, para identificar y aislar genes diferencialmente expresados bajo condiciones de estrés salino. Uno de los genes diferencialmente expresados en estas condiciones es ***LcSAMDC*** el cual codifica para *S*-adenosilmetionina descarboxilasa, enzima que participa en la vía de biosíntesis de las poliaminas espermidina y espermina

El cDNA de largo total de ***LcSAMDC*** fue aislado y fusionado al promotor constitutivo 35S del virus CMV, construcción genética que fue empleada para generar plantas transgénicas de *Solanum esculentum* var. Money maker. Los análisis realizados sobre diferentes líneas transgénicas obtenidas demuestran la sobreexpresión del gen ***LcSAMDC,*** la cual se correlaciona con un significativo aumento en la tolerancia a NaCl respecto de la exhibida por la planta no transformada. El rol de las poliaminas en la inducción de esta tolerancia a este tipo de estrés se encuentra en evaluación.

Financiado por: Fundación para la Innovación Agraria (FIA), Proyecto Biot-01-A-065.

Programa de Biotecnología Vegetal (DIAT-UTALCA)
Centro de Investigación en Biotecnología Silvoagricola (CIBS)

BIOLOGÍA CELULAR

REGULACIÓN DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN BMP POR FGF A TRAVÉS DE LA FOSFORILACIÓN DE LA REGIÓN CENTRAL DE SMAD1. (MAPK regulation of BMP signaling by phosphorylation of the linker region of SMAD1).

Alarcón, C., Sapkota, G. and Massagué, J.
Cancer Biology and Genetics Program, Howard Hughes Medical Institute, Memorial Sloan Kettering Cancer Center and Weill Medical College of Cornell University, New York.

Proteínas morfogenéticas de hueso (BMP) son reguladores claves de la formación del eje corporal, desarrollo neural, morfogénesis del esqueleto y homeostasis epitelial. Factor de crecimiento fibroblástico (FGF) y activadores de la vía Ras/MAPK proveen un balance crítico para estos procesos mediante la modulación de la vía de señalización BMP. Los receptores de BMP causan la fosforilación carboxilo-terminal del factor de transcripción SMAD1 que resulta en su translocación nuclear y activación, mientras que MAPKs fosforilan la región central de SMAD1. En este trabajo hemos elucidado como la fosforilación del linker controla la actividad de SMAD1. La fosforilación inducidad por MAPK induce el reconocimiento de SMAD1 por la ligasa de ubiquitina SMURF1. FGF necesita de SMURF1 para inhibir la vía BMP y controlar de esta manera la diferenciación celular de células progenitoras a la línea de osteoblastos. La unión de SMURF1 dependiente de MAPK puede, de esta forma, retener SMAD1 en el citoplasma o enviarlo a degradación a través del proteasoma. Este mecanismo de regulación puede mediar distintos procesos regulatorios en respuesta a diferentes señales incluyendo mitógenos, estrés celular y feedback de BMP.

HELICOBACTER PYLORI -INDUCED APOPTOSIS IN MKN45 GASTRIC CANCER CELLS IS BLOCKED BY ECTOPIC SURVIVIN EXPRESSION. (La expresión de survivina impide la apoptosis inducida por *Helicobacter pylori* en células MKN45 de cáncer gástrico).

Valenzuela M, Valdivia A, Leyton L*, Toledo H§, and Quest A. F. G.*
Laboratory of Cellular Communications, FONDAP, Center for Molecular Studies of the Cell* and Laboratory of Molecular Microbiology§, Faculty of Medicine, University of Chile, Santiago, Chile.

In Chile about 79% of the population harbour *Helicobacter pylori*, a Gram negative bacterium that infects the human stomach, and is the primary cause of chronic gastritis, peptic ulcers, gastric adenocarcinomas and mucosa associated lymphoid tissue lymphomas. Virtually all individuals who become infected with *H. pylori* develop acute superficial gastritis; a subset progress to chronic atrophic gastritis associated with loss of two of the three principal epithelial lineages in the stomach. These changes involve an increased rate of apoptosis that alters the equilibrium between proliferation and death of mucosal cells. Changes in this balance are associated with a variety of human pathologies, including autoimmune disorders, various infectious diseases and cancer. However, despite their relevance, the mechanisms by which *H. pylori* controls cell death and contributes to carcinogenesis are not understood. Survivin, a member of the inhibitor of apoptosis family of proteins, is expressed during development but is absent in most normal adult tissues. An exception is the gastric mucosa, where survivin is thought to play a role in the maintenance of gastric epithelial function. Here, the role of survivin in *H. pylori* induced apoptosis was investigated using the gastric cancer cell line MKN45 as a model. Survivin levels, assessed by Western blotting, decreased in response to *H. pylori* 26695 after 12 h of infection (MOI100), whereas other anti-apoptotic proteins, like Bcl-2 or Bcl-XL, were not affected. DNA fragmentation, typically associated with apoptosis, was also detectable 12 h post-infection. In contrast, DNA fragmentation was reduced in MKN45 cells transfected with survivin (pEGFP-survivin) and cells remained morphologically intact for longer periods of time after *H. pylori* infection. Taken together these results suggest that suppression of survivin expression by *H. pylori* infection may represent an important mechanism that contributes to gastric epithelial cell death.
Supported by FONDAP #15010006 (AFGQ), FONDECYT #1040390, MECESUP #115 PhD Student Fellowship (MV) and CONICYT PhD Student Fellowship (VA).

DIFERENCIACIÓN CONDROGÉNICA DE CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMÁTICAS PARA TERAPIA CELULAR. (Chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells for cell therapy).

[1]**Jaramillo P.**, [2]Montoya F., [1]García A., [1]Koch, X., [1]García M.A. y [1]Nualart, F.
[1] Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. [2] Departamento de Cirugía, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción, Concepción.

El cartílago articular presenta limitada autorregeneración frente a daño tisular, debido a su escasa vascularización e inervación. Existen técnicas quirúrgicas como la microfractura, que promueven la movilización de células condroprogenitoras hacia la lesión articular, sin embargo, estos procedimientos solo generan un restablecimiento parcial de la función articular.
De esta forma la terapia celular utilizando células troncales mesenquimáticas (CTM) diferenciadas a cartílago hialino *in vitro*, podría ser una alternativa a la microfractura.
En este trabajo se evaluó el tratamiento de lesiones osteocondrales mediante microfractura. Los resultados muestran que se forma fibrocartílago que expresa colágeno tipo I. Por otra parte, se establecieron cultivos de CTM de médula ósea y se analizó su potencial de diferenciación. Se observó que las CTM mantenidas *in vitro* expresan vimentina. Frente a un estímulo condrogénico, forman una matriz cartilaginosa hialina y expresan colágeno tipo II y proteoglicanos de cartílago.
Estos resultados confirman el potencial condrogénico de las CTM para ser utilizadas en terapias celulares del cartílago articular.
Financiamiento: Proyecto INNOVA BIO-BIO 05B1357

TERAPIA CELULAR PARA MEJORAR LA VASCULARIZACIÓN DE IMPLANTES DE REGENERACIÓN DÉRMICA. (Cellular therapy to improve vascularization of dermic regeneration implants).

Egaña JT[1, 2], Lavandero S[2], Butzal M[1], Fierro F[3], Bauer N[3], Krüger S[1], Condurache A[1], Machens HG[1].
[1]Universitätklinikum Schleswig Holstein, Lübeck, Alemania; [2]Centro FONDAP de Estudios Moleculares de la Célula, Universidad de Chile y [3]Technische Universität Dresden/ Max Planck Institute CBG, Dresden, Alemania.

Las biomatrices artificiales se utilizan para regenerar la piel dañada. Sin embargo dado que durante el proceso regenerativo hay un escaso desarrollo de la red vascular que suministra oxígeno y nutrientes, la inducción de procesos angiogénicos es uno de los desafíos actuales de la ingeniería de tejidos. En este trabajo, células troncales humanas derivadas de médula ósea movilizadas con el factor de crecimiento G-CSF se aislaron y caracterizaron desde muestras de aferesis de donantes. Los progenitores de células endoteliales (PCE) se aislaron mediante esferas magnéticas y por citometría de flujo se caracterizaron inmunofenotípicamente como $CD133^+$, $CD34^+$ y $CD144^-$. Luego estas células se cultivaron en una matriz de colágeno sintética (Integra matrix^{TM}), comúnmente usada para regenerar dermis en diversas condiciones patológicas. La viabilidad de estas células en la matriz se evaluó por ensayo MTT y su distribución por microscopía confocal. La interacción célula-matriz se estudió por microscopía electrónica de barrido. Los resultados *in vitro* mostraron la presencia de PCEs viables en la matriz de colágeno sintética. Adicionalmente las matrices con PCEs se implantaron en ratones desnudos atímicos para regenerar dermis. Los implantes se removieron después de 2 semanas y la vascularización se analizó en un sistema de transiluminación y segmentación digital de vasos sanguíneos. Los resultados mostraron que el uso de PCEs derivados de médula ósea aumentaron los niveles de vascularización de los implantes, lo cual se confirmó por inmunohistoquímica de PECAM-1.
Se concluye preliminarmente que las células $CD133^+$ pueden ser cultivadas en estructuras bioartificiales desarrolladas para regenerar dermis, favoreciendo la vascularizacion *in vivo* de estos implantes.

BLOQUEO DE PDGFR-BETA POR IMATINIB MESYLATE INHIBE EL CRECIMIENTO Y ALTERA EL POTENCIAL DE DIFERENCIACIÓN DE CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMÁTICAS (MSC) IN VITRO. (Inhibition of PDGFRβ by Imatinib Mesylate Suppresses Proliferation and Alters Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells In Vitro).

Fierro FA, Illmer T, Jing D, Ehninger G, Boxberger S, Bornhäuser M.
Medizinische Klinik und Poliklinik I, University Hospital Carl Gustav Carus, Dresden, Germany.

Trabajos recientes han demostrado que el inhibidor de tirosina-kinasa Imatinib mesylate (IM) también afecta células de origen hematopoyético normales, que no presentan la mutación Bcr-Abl. En el presente trabajo, estudiamos los posibles efectos in vitro de IM en células humanas no hematopoiéticas derivadas de la médula ósea, llamadas células troncales mesenquimáticas (MSC). Al analizar la actividad de 42 receptores tirosina-kinasa, encontramos una exclusiva inhibición del receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas, beta (PDGFRβ) y consecuentemente una inhibición de Akt y Erk1/2. Incubación por 18-20 horas con 5μM IM, induce la formación de cuerpos multiveciculares conteniendo PDGFRß en MSC. La proliferación celular y clonogenicidad (CFU-F) de MSC se ven inhibidas por IM. IM también inhibe significativamente el proceso de diferenciación osteogénica, mientras que la diferenciación adipogénica se ve fuertemente favorecida por IM. Finalmente, estos efectos conducen a una significativa reducción en la capacidad de soportar el crecimiento de células troncales hematopoiéticas (HSC). Este trabajo confirma el rol de PDGFR-beta en proliferación y diferenciación de MSC y genera una posible explicación para el alterado metabolismo óseo encontrado en pacientes tratados con IM.

CÉLULAS EPITELIALES OVIDUCTALES INDUCEN APOPTOSIS EN CÉLULAS ENDOMETRIALES. (Oviductal epithelial cells induce apoptosis in endometrial cells).

Reyes FE, Martínez JE, Valdés D, Maisey K, Imarai M.
Laboratorio de Inmunología, Facultad de Química y Biología, USACH. Proyecto MED 003-04, DYCIT-USACH.

La endometriosis es una patología que afecta al 10% de la población femenina en edad reproductiva; este proceso se desencadenaría por flujo menstrual retrógrado de tejido endometrial que contiene células viables que son transplantadas a sitios ectópicos a través de las Trompas de Falopio (TF).
Para evitar que la implantación endometrial ectópica ocurra debe existir un mecanismo que las elimine, por lo que planteamos que las células epiteliales oviductales son capaces de evitar la implantación al inducir apoptosis en las células endometriales.
Se aislaron células endometriales de mujeres sanas (CEMS) y células endometriales de mujeres con endometriosis (CEME) y fueron co-incubadas, en cultivos independientes, con células epiteliales de TF. Al analizar la inducción de apoptosis mediante TUNEL observamos que en CEMS se induce apoptosis mientras que en CEME son resistentes a la inducción de apoptosis. Estos datos se correlacionan además con la cuantificación de actividad de caspasa 3.
La mayor expresión de Fas en CEMS respecto a CEME, junto con la expresión de FasL en células oviductales, sugiere que la inducción de apoptosis podría estar mediada por la vía Fas/FasL.
Los resultados sugieren que las células oviductales tendrían un rol protector en la fisiología reproductiva al actuar como barrera durante la incursión ectópica endometrial.

SPRED2 INHIBE LA TRANSICIÓN EPITELIO-MESENQUIMÁTICA INDUCIDA POR TGF-β1 EN CELULAS TRANSFORMADAS DE RATÓN. (Spred2 inhibits the TGF-β1-induced epithelial-mesenchymal transition in mouse transformed cells).

Santibáñez. J.
Laboratorio de Biología Celular. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, INTA, Universidad de Chile.

El factor de Crecimiento Transformante beta-1 (TGF-β1) es un potente estimulador de la transición epitelio mesenquimática (TEM) en células transformadas de ratón PDV, fenómeno que en parte se ha relacionado con la activación de las vías de Ras. En este aspecto se ha descrito recientemente que Spred2, vía interacción con Ras, modula la activación de la vía de ERK1,2 MAP quinasas, aunque su papel en la tumorigénesis es poco conocido. En el presente trabajo estudiamos principalmente el papel de Spred2 en la TEM estimulada por TGF-β1, así como su efecto en la vías de señalización de este factor. En líneas celulares con distinto grado de malignidad, el análisis de expresión de Spred2 nos indicó la presencia de esta proteína solo en células no tumorogénicas. En células PDV transfectadas en forma estable con Spred2, se observó un bloqueo de la TEM inducida por TGF-β1, analizada por deslocalización de cadherina-E, expresión de vimentina y cambios en el citoesqueleto de actina, lo que se relacionó con una inhibición de la activación de la vía de ERK1,2 por el factor. A su vez, se observó un inhibición de la producción de uPA concomitante con una disminución de la migración celular bajo el estímulo de TGF-β1. Estos resultados nos sugieren a Spred2 como un modulador negativo de la TEM inducida por TGF-β1, así como de la malignidad celular de células transformadas.
Financiamiento: FONDECYT 1050476.

EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE LAS ISOFORMAS PANCREATICA Y HEPÁTICA DE GLUCOQUINASA EN LA GLIA HIPOTALÁMICA. (Differential expression of pancreatic and hepatic glucokinase isoforms in hypothalamic glial cells).

Millán C., Martínez F., Cortés C., Lizama I., Reinicke K., Nualart F., García MA.
Departamento de Biología Celular. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

La glucoquinasa (GK) es la enzima fundamental en el mecanismo sensor de glucosa periférico. Existen dos isoformas de glucoquinasa: pancreática (GKp) y hepática (GKh). La GKp se localiza en el citosol y junto con GLUT2, participan en la secreción de insulina. La GKh se localiza en el núcleo de los hepatocitos y transloca al citosol en concentraciones altas de glucosa. A nivel cerebral, se ha detectado la expresión de GK en el hipotálamo, el cual, regula la ingesta alimenticia. Sin embargo, no está definida la isoforma que es expresada y si su expresión es glial o neuronal. En este estudio, analizamos la distribución de las isoformas de GK y su colocalización con GLUT2 en el hipotálamo de ratas. Mediante RT-PCR demostramos que en el hipotálamo se expresan ambas isoformas de GK. Análisis inmunocitoquímicos demostraron que GK se encuentra en el núcleo de las células gliales del hipotálamo o tanicitos, mientras que GLUT2 está en la membrana apical y en los procesos. En los ependimocitos ciliados, GK está localizada en el citosol y GLUT2 en los cilios. Utilizando cultivos primarios de tanicitos, confirmamos mediante RT-PCR la expresión de la isoforma hepática. Estos resultados apoyarían la participación de los tanicitos, en el *sensing* de glucosa hipotálamico.
Proyecto CONICYT AT24050185, FONDECYT 1060962.

NEUROCIENCIA

ESTADOS DE VIGILANCIA EN RATAS DURANTE PRIVACIÓN DE SUEÑO. (Vigilance states in rats during sleep deprivation).

Cruz G., Bassi A. y Vivaldi E. A.
Universidad de Chile

El diagnóstico convencional de los estados de sueño analiza patrones de onda en el dominio del tiempo. Se presenta un análisis en el dominio de frecuencias basado en FFT que procesa épocas de 5 segundos obteniendo el logaritmo del espectro de potencia. Este se reduce posteriormente a dos variables sintéticas permitiendo representar cada época como un punto 2D. Al visualizar un conjunto de épocas, se observan cúmulos de alta densidad, que se correlacionan con los estados de vigilia, NREM y REM. El protocolo de experimentación utilizado corresponde a 24 horas basales, 10 de privación y 3 de recuperación. Durante el período de privación se observa una actividad intermedia que no coincide con los estados tradicionales presentes en la arquitectura normal del sueño. En ese período se presenta una actividad pendulante que varía en períodos de segundos entre los cúmulos que caracterizan la vigilia y el NREM sin llegar a caracterizar ninguno de estos estados como se observan durante la actividad basal y la recuperación. Este análisis permite así caracterizar la actividad cerebral durante la privación como una alternancia entre una vigilia convencional y un estado intermedio que no es propiamente vigilia ni tampoco sueño NREM, sino un estado intermedio hacia el cual continuamente se intenta una transición rápida que no logra consolidarse.
Proyecto Fondecyt 1060250

MALNUTRICIÓN PROTEICA PRENATAL: EFECTO EN LA DENSIDAD y EXPRESIÓN DE ADRENORECEPTORES β_2 Y EN LA POTENCIACIÓN DE LARGO PLAZO EN LA CORTEZA FRONTAL DE LA RATA. (Prenatal protein malnutrition: Effect on β_2 adrenoceptor density and expresión and on long-term potentiation in the rat frontal cortex).

Hernández, A.[1], Valladares, L.[2], Sierralta, W.[2], Mondaca, M.[2], Serrano, N.[2], Pérez, H.[2], Soto-Moyano, R.[2]
[1]Fac. Quim. Biol., USACH; [2]INTA, Universidad de Chile.

Noradrenalina central puede influenciar críticamente la memoria y el aprendizaje, así como la potenciación de largo plazo cortical (PLP). Junto a esto, existen evidencias que la malnutrición proteica prenatal resulta en liberación incrementada de noradrenalina cortical durante la vida postnatal temprana, seguida de una reducción anormal de dicha actividad durante la vida adulta. Se investigó en la corteza frontal de ratas de 8 y 60 días de edad: (i) la densidad de adrenorreceptores β mediante técnicas de radioligando (^{3}H-dihidroalprenolol); (ii) la expresión de adrenorreceptores β_2 mediante técnicas de inmunohistoquímica (anticuerpo H73, específico); y (iii) el efecto del agonista específico β_2 clenbuterol en la PLP cortical obtenida en ratas anestesiadas de 60 días de edad. Los resultados mostraron que la malnutrición proteica prenatal indujo una disminución significativa tanto en la densidad como en la expresión de adrenorreceptores β_2 en la corteza frontal. La administración i.p. del agonista β_2 restauró en los animales malnutridos la capacidad de las neuronas corticales para generar y mantener PLP. Se sugiere que la disminución de la expresión de los adrenorreceptores corticales β_2, consecutiva a malnutrición proteica prenatal, puede afectar los mecanismos neuroplásticos que sustentan la PLP neocortical.
Fondecyt 1030729

BETA-AMILOIDE 1-42 REDUCE LA DESTINACIÓN DENDRÍTICA DEL TRANSCRITO IV DE BDNF. (Beta-Amyloid reduces dendritic targeting of exon-IV BDNF transcript).

Aliaga, E.[1] and Tapia-Arancibia, L.[2]
[1]Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. [2]Laboratoire de Mécanismes Moléculaires dans les Démences Neurodégénératives (U710 INSERM), Université de Montpellier2.

La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por una pérdida progresiva de capacidades cognitivas y el depósito de péptido Beta-Amiloide en placas seniles. Se piensa que el péptido Beta-Amiloide puede interferir con la plasticidad sináptica aun antes de producir efectos neurotóxicos.
La destinación dendrítica de ARNms y un sistema de síntesis local inducido por actividad sináptica, es un mecanismo necesario para la fase tardía de la potenciación a largo plazo (LTP). Un ARNm dendrítico es aquel de la neurotrofina 2 (BDNF) cuyo gen origina varios transcritos diferenciados en sus regiones 5´ no traducidas, siendo el transcrito IV el más abundante en dendritas.
Utilizando *hibridación in situ* (HIS) para los exones III y IV, hemos estudiado el efecto de la despolarización y de la incubación con Beta-Amiloide a concentraciones subtóxicas, en la destinación dendrítica de ambos transcritos en cultivos primarios de neuronas corticales. La despolarización (10mM K^+, 3h) produjo un aumento en la destinación dendrítica de ambos. La incubación con el péptido 1-42 (5mM, 24 h) produjo una disminución de la destinación dendrítica del exón IV y bloqueó el efecto del K^+, no afectando al exón III.
Estos resultados abren una nueva vía de investigación para explicar el deterioro cognitivo temprano en la enfermedad.
(FONDECYT104030, ECOS-CONICYTC04B06)

MADURACIÓN DE LA TRANSMISIÓN SINÁPTICA EN EL HIPOCAMPO DE LA RATA MUTANTE *TAIEP*. (Maturation of synaptic transmission in the hippocampus of mutant taiep rat).

Bonansco C., Olivares V., Molina C., Aliaga E., Fuenzalida M. y Roncagliolo M.
Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Chile.

Taiep, un mutante neurológico que desarrolla desmielinización central y astrogliosis reactiva, presenta neuronas con respuestas postsinápticas asincrónicas, cuya población relativa aumenta concomitantemente con la aparición de las alteraciones gliales durante el desarrollo postnatal. Para evaluar la maduración sináptica (entre P6 y P30) y su relación con el fenotipo asincrónico, registramos extracelularmente la descarga presináptica (vPRE) y potencial de campo (fP) evocados por la estimulación de las sinapsis entre CA3-CA1 en rebanadas de hipocampo. Paralelamente, mediante registros intracelulares se analizó la actividad sináptica espontánea. Tanto el grupo control como *taiep*, mostraron un incremento de amplitud del fP en función de la edad. La relación de amplitud fP/vPRE incrementó significativamente con la edad, presentando valores similares en ambos grupos. La actividad espontánea mostró un incremento de amplitud y frecuencia en función de la edad, y solo a partir de P21 la frecuencia de los EPSC espontáneos registrados en *taiep* fue mayor que en ratas controles. Los cambios de amplitud y frecuencia de los EPSC insensibles a TTX (EPSC miniatura) fueron indistinguibles entre grupos. Estudios histológicos no mostraron diferencias en la densidad neuronal entre grupos, mientras que *taiep* mayores de P21 mostraron mayor inmunorreactividad para GFAP. Estos resultados sugieren que en *taiep*, la conectividad sináptica incrementa con la edad de manera similar a lo observado en ratas normales; la mayor frecuencia de la actividad espontánea detectada en las ratas *taiep* de mayor edad probablemente es debida a la contribución de transmisión sináptica asincrónica.
FONDECYT 106107, 1040306; DIPUV 28/2002.

THE VOMERONASAL SYSTEM OF THE MADAGASCAN TENREC *ECHINOPS TELFAIRI* (AFROTHERIA: AFROSORICIDA), A NEUROANATOMIC STUDY. (El Sistema Vomeronasal del tenrec malgache *Echinops telfairi* (Afrotheria: Afrosoricida), un estudio neuroanatómico).

[1]**Suárez, R.**, [2]Künzle, H., [1]Mpodozis, J.
[1]Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. [2]Institute of Anatomy, Ludwig-Maximilians Univerisity, Munich.

The Vomeronasal System (VNS) of mammals is a senso-effector network that participates both in the perception of pheromones and in the generation of bodily responses implicated in socio-sexual interactions.
The vomeronasal organ is composed by two populations of sensory neurons. Each neuron express one of two pheromone-receptor proteins (V1R or V2R) associated either to Gαi2 or to Gαo, and project independently to the rostral and caudal glomeruli of the Accessory Olfactory Bulb (rAOB, cAOB), respectively.
Although rodents and the marsupial opossum have a VNS of segregated nature, species from dissimilar mammalian taxa lack the V2/Go afferences to the cAOB, while others have not retained a VNS at all.
We studied the AOB of the Madagascan tenrec *Echinops telfairi*, a small member of the superordinal clade Afrotheria (elephants, manatees and aardvarks) that is thought to have branched early from the rest of Eutheria.
We performed Nissl staining and immunolabelling against G_i2 and G_o to study its cytoarchitecture and unreveal a possible segregation.
We found segregated expression of both markers, at the rAOB and cAOB.
We also found that the cellular lamination that is evident at the main olfactory bulb is collapsed at the AOB, lacking a defined layer of mitral neurons.
Fondecyt 1030522-1061108, Mecesup UCH0306 to R.S.

UMBRALES DE RESPUESTAS VOCALES Y AUDITIVAS EN *PLEURODEMA THAUL*. (Thresholds of vocal and auditory responses in *Pleurodema thaul*).

Velásquez, N.[1], Solís, R.[2] & Penna, M.[1]
[1]Programa de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. [2]Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias.

La intensidad de los cantos de vecinos tiene un rol fundamental en el espaciamiento de los machos en las agregaciones corales de anuros. Sin embargo, la relación entre los umbrales de respuestas vocales y la sensibilidad auditiva permanece escasamente explorada. En terreno se expuso a 9 machos de *P. thaul*, un anuro de Chile central, a cantos de advertencia sintéticos presentados a intensidades crecientes. Los individuos respondieron con cantos de advertencia a estímulos con niveles de sonido en promedio de 45 dB RMS SPL, medidos en la posición del individuo. En el laboratorio se realizaron registros de respuestas multiunitarias de neuronas auditivas en el *Torus Semicircularis* de 7 machos a tonos entre 100 y 5.000 Hz y a cantos de advertencia sintéticos. Los registros mostraron dos regiones de mayor sensibilidad, centradas alrededor de 300 y 2.000 Hz. El mejor umbral promedio en la región de frecuencias altas fue 46 dB RMS SPL y la frecuencia central fue de 1996 Hz. El umbral al canto sintético fue de 42 dB RMS SPL. La gran correspondencia entre los umbrales de respuestas vocales y auditivas indican que los machos de *P. thaul* utilizan al máximo su capacidad sensorial durante las interacciones sociales.
Agradecimientos: Proyecto FONDECYT 1040830 y Beca de Postgrado CONICYT.

ORGANIZACIÓN DE LAS PROYECCIONES CENTRALES HACIA EL NÚCLEO CAUDAL TRIGEMINAL: ESTUDIOS ANATÓMICOS EN LA RATA. (Organization of central projections towards the trigeminal caudal nucleus: anatomical studies in the rat).

Constandil, L.[*], Noseda, R.[#], Monconduit, L.[#], Chales, M.[#] y Villanueva, L.[#]
[*]Laboratorio de Neurobiología, Universidad de Santiago de Chile. [#]INSERM E-216, Clermont-Ferrand, Francia.

La migraña puede ser evocada por la activación de nociceptores meníngeos perivasculares, activando neuronas de segundo orden localizadas en la zona ventrolateral del núcleo caudal trigeminal (NCT). Se investigó la distribución y organización de las proyecciones del sistema nervioso central (SNC) hacia el NCT utilizando trazadores retrógrados. Después de siete días, los animales fueron reanestesiados y perfundidos. Los cerebros y tallo cerebral fueron removidos y cortados en secciones seriadas, identificándose mediante inmunofluorescencia el trazador inyectado y el receptor $5HT_{1B}$. Las aferentes del tallo cerebral hacia el NCT se originaron principalmente en el NCT contralateral, el núcleo del tracto solitario, *raphe magnus* y *locus coeruleus*. Las aferentes del cerebro anterior hacia el NCT se originaron principalmente del núcleo hipotalámico paraventricular, S1 y las cortezas insulares. Neuronas con doble marca inmunorreactivas al receptor $5HT_{1B}$ fueron encontradas en el *raphe magnus, locus coeruleus,* hipotálamo y corteza. La existencia de proyecciones aferentes densas al NCT de áreas restringidas del SNC apoyan la existencia de influencias endógenas sobre las neuronas del NCT. Tales estructuras podrían modular la información nociceptiva y además ser blanco de fármacos antimigrañosos como los triptanes.
Fondecyt 1050099; INSERM, Programa Alban.

BIOQUÍMICA III

PROPIEDADES DE LA POLIMERIZACION IN VITRO DE LA TUBULINA BACTERIANA BtubA/B. (Properties of in vitro polimerization of bacterial tubulin BtubA/B).

Díaz C., Undurraga C., Pouchucq L., Sepúlveda, L. Lagos R., Monasterio O.
Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Departamento de Biología, Universidad de Chile.

BtubA/B es un homólogo bacteriano de la tubulina presente en *Prosthecobacter dejongeii*. Al igual que tubulina y su homólogo lejano FtsZ, BtubA/B polimeriza en presencia de GTP y forma estructuras filamentosas. Sin embargo, a diferencia de tubulina, no necesita de chaperonas para su plegamiento. En este trabajo se estudiaron las propiedades bioquímicas de BtubA/B. Se sobreexpresó BtubA/B en *Escherichia coli* y purificó por cromatografía de intercambio iónico y exclusión molecular. Ensayos de precipitación de los polímeros de esta proteína purificada mostraron que se alcanza un máximo a concentraciones equimolares de BtubA y BtubB y que la polimerización es dependiente de GTP y KCl. La cinética de polimerización, seguida por turbidez a 350 nm, mostró una fase rápida seguida por una lenta despolimerización. Este proceso se repitió después de la despolimerización al agregar GTP. La adición de taxol no mostró efectos sobre la polimerización de BtubA/B, a diferencia de colchicina, que la inhibió.
(FONDECYT N° 1050677)

CARACTERIZACIÓN DE LA AUTOFOSFORILACIÓN DE VARIANTES DE PROCESAMIENTO DE CK1α. (caracterization of autophosphorylation of CK1α'variants).

Budini, M., Jacob G., Whitesel, M., Allende, C. C., Allende, J. E.
ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.
Patrocinado por: Proyectos Fondecyt N° 1030462 y 1060107.

CK1 conforma una subfamilia de serina/treonina quinasas constituida por isoformas (CK1; CK1 1, γ2, γ3; CK1δ; CK1ε) y variantes de procesamiento alternativo de algunas de estas isoformas. CK1α genera cuatro variantes (CK1, CK1 L, CK1 S y CK1 LS), dependiendo de la incorporación de los insertos L y S. Algunos trabajos han reportado que el carboxi terminal de las isoformas CK1 y CK1 sufre autofosforilación lo cual causa inhibición de la actividad de estas quinasas. Sin embargo, hasta el momento no se han realizado trabajos centrados en rol de la autofosforilación sobre CK1a y sus variantes de procesamiento. Utilizando proteínas recombinantes observamos la autofosforilación de las variantes CK1α y CK1aS. Esta autofosforilación fue evidenciada por autorradiografía y por retardo en la migración de estas proteínas en SDS-PAGE, características que luego fueron eliminadas con fosfatasas. Utilizando espectometría de masa pudieron determinarse los sitios de autofosforilación de CK1α, CK1αL y CK1αS, demostrando que esta última variante incorpora dos sitios de autofosforilación adiconales en el inserto S. Por transfección de células HEK-293-T pudo observarse la autofosforilación "in vivo" de CK1α y CK1αL pero no de mutantes de CK1α para los sitios de autofosfosforilación. Estos resultados son la base para el estudio del efecto que esta autofosforilación pueda tener sobre las propiedades de estas variantes.

CONSECUENCIAS ESTRUCTURALES Y FUNCIONALES DE LA MUTACIÓN E256Q EN LA ARGINASA HUMANA TIPO I. (Structural and functional consequences of the E256Q mutation in human arginase I).

Uribe, E., Martínez, F., Enríquez, S., Orellana, M, Gutiérrez, A., R., Alarcón, R. y Carvajal, N.

La arginasa (L-arginina aminohidrolasa EC3.5.3.1) cataliza la hidrólisis de L-arginina en L-ornitina y urea. La estructura cristalográfica de la enzima tipo I de rata sugiere una participación importante del residuo E256 en la estabilización de la estructura cuaternaria de la enzima. Para evaluar este rol, mediante mutagénesis sitio-dirigida hemos reemplazado el glutamato 256 por glutamina en la arginasa humana tipo I y hemos analizado las consecuencias estructurales y funcionales de dicho reemplazo. La mutante E256Q se comportó como una especie monomérica (34 kDa) y mostró un aumento significativo (7-8 veces) en la K_m para la arginina. Al igual que la enzima silvestre, la mutante fue activa aún en ausencia de Mn^{2+} agregado y su actividad prácticamente su duplicó en presencia del metal. La especie mutante fue totalmente inactivada por diálisis en ausencia de un agente quelante, aunque recuperó su actividad en presencia de Mn^{2+}. Bajo las mismas condiciones de diálisis, la enzima silvestre fue activa aun en ausencia del ion metálico. Los resultados obtenidos apoyan la participación del glutamato-256 en la mantención de la estructura cuaternaria de la arginasa humana y muestran que su reemplazo por glutamina altera la interacción de la enzima con su sustrato y el cofactor metálico.
DIUC 205.037.003-1.0

EVIDENCIA FUNCIONAL Y ESTRUCTURAL DE LA PRESENCIA DE SITIOS REGULATORIOS EXOFACIALES EN EL TRANSPORTADOR DE ÁCIDO ASCÓRBICO SVCT2. (Functional and estructural evidence of exofacial regulatory sites in the ascorbic acid transporter SVCT2).

Ormazábal, V., Zúñiga, F.A., Salas, A, Aylwin, C., Haensgen, H., Coralia I. Rivas, Vera, J.C.
Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Chile.

El ácido ascórbico es transportado por los transportadores de sodio ascorbato, SVCT1 y SVCT2. Ambos transportadores se diferencian por sus propiedades cinéticas y estructurales. SVCT2 es un transportador de alta afinidad con una Km de 20μM para el transporte de ácido ascórbico y es activado por sodio. Estudios de los perfiles de hidrofobicidad han propuesto un modelo de estructura secundaria para esta proteína de 12 hélices de transmembrana, con sus extremos amino y carboxilo terminal orientados hacia el citoplasma. Sin embargo, no existe evidencia experimental que permitan validar este modelo. Realizando ensayos de transporte de ácido ascórbico, estudios de inhibición con inhibidores de tirosina quinasa (flavonoides) y de fosfodiesterasa (metilxantinas), modificación química con dietilpirocarbonato y mutagénesis sitio dirigida, hemos llevado a cabo un análisis funcional y estructural de SVCT2 utilizando la quimera SVCT2-GFP expresada en células HEK-293. Los resultados obtenidos en estos estudios permitieron demostrar la existencia en la cara exofacial de SVCT2 de dominios estructurales y funcionales regulatorios, con características de sitios de unión de nucleótidos, que serían determinantes fundamentales en la mantención de la capacidad de SVCT2 de transportar sus sustratos.
Proyecto Anillo de Ciencia y Tecnología ACT-28

MÁXIMA UTILIZACIÓN DE LA INFORMACION EXPERIMENTAL PARA MEJORAR LA PREDICCION COMPUTACIONAL DE LA ESTRUCTURA TRIDIMENSIONAL DE PROTEINAS. (Maximum usage of experimental information to improve computer-based protein structure prediction).

Panjkovich, A.[1], Sali, A.[2], Marti-Renom, M.[2], Ferrada, E.[1] y **Melo, F.**[1]
[1]Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Ciencias Biológicas, Depto. Genética Molecular y Microbiología, Laboratorio de Bioinformática Molecular, Alameda 340, Santiago, Chile. [2]Departments of Biopharmaceutical Sciences and Pharmaceutical Chemistry, and California Institute for Quantitative Biomedical Research, Mission Bay Genentech Hall 600 16th Street, Suite N474F University of California, San Francisco, CA 94143-2240, USA.

Un elemento esencial en la predicción computacional de la estructura tridimensional de proteínas consiste en la evaluación de la calidad de los modelos generados. El proceso de evaluación se lleva a cabo mediante la utilización de funciones que describen la energía de interacción existente entre los átomos, basados en el principio de que las estructuras nativas corresponden al mínimo de energía libre accesible al sistema. Tradicionalmente en la etapa de evaluación se utilizan potenciales estadísticos, los cuales se derivan a partir de un gran conjunto de estructuras nativas no redundantes, que representan de manera homogénea toda la variedad del espacio estructural conocido.
En este trabajo se presenta y valida un nuevo método para la derivación de potenciales estadísticos, los cuales son específicos para cada espacio estructural, mediante la utilización de una estructura representativa y la explotación de toda la información de secuencias homólogas que se encuentra disponible en las bases de datos. Estos potenciales no solo capturan los componentes termodinámicos del plegamiento de proteínas, sino que también son capaces de extraer residuos claves que para la cinética del plegamiento.

DISOCIACIÓN DE LA FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *E. COLI* INDUCIDA POR MUTAGÉNESIS GENERA UN MONÓMERO PARCIALMENTE DESPLEGADO. (Dissociation of phosphofructokinase-2 from *E. coli* induced by mutagenesis produces a partially unfolded monomer).

Baez, M., Cabrera, R. y Babul, J.
Laboratorio Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Las subunidades del dímero de la Pfk-2 poseen un dominio menor, requerido para la formación de la interfaz y un dominio mayor, común en los miembros de la superfamilia de la riboquinasa. Estudios de desplegamiento y disociación del homodímero, inducidos por agentes desnaturantes, indican que los monómeros disociados presentan un bajo contenido de estructura secundaria y una gran expansión de su volumen hidrodinámico, lo que sugiere que este proceso es altamente cooperativo entre la formación de la mayoría de los contactos intramoleculares y los contactos entre los monómeros. En este trabajo se pone a prueba esta hipótesis mediante la caracterización de las mutantes L93A y V95A, diseñadas para perturbar la interfaz del dímero. Experimentos de exclusión molecular, dicroísmo circular y de fluorescencia indican que ambas mutantes son monoméricas, se asocian al aumentar la concentración de ligandos y la concentración de proteína, presentan un bajo contenido de estructura secundaria, un volumen hidrodinámico expandido y una mayor exposición de zonas hidrofóbicas al solvente que el dímero silvestre. Estos resultados indican que la disociación de la Pfk-2, en ausencia de agentes desnaturantes, produce un monómero que comparte algunas características con el intermediario monomérico encontrado en la vía de plegamiento de la proteína.
Proyecto Fondecyt 1050818.

(Z)-3-FLUOROFOSFOENOLPIRUVATO COMO SUSTRATO DE CARBOXIQUINASAS FOSFOENOLPIRÚVICAS DEPENDIENTES DE ATP. ((Z)-3-fluorophosphoenolpyruvate like substrate of ATP-dependent phosphoenolpyruvic carboxykinases).

Pérez, E., y Cardemil, E.
Departamento de Ciencias Químicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Las carboxiquinasas fosfoenolpirúvicas (PEPCKs) catalizan la reacción de descarboxilación y fosforilación de oxaloacetato en presencia de un nucleósido trifosforilado para dar como productos fosfoenolpiruvato (PEP), CO_2 y el correspondiente nucleósido difosforilado.
La utilización de análogos de sustrato fluorados ha sido motivo de estudio en PEPCKs dependientes de GTP por varios autores. En este trabajo se muestran los resultados de estudios cinéticos y estereoquímicos de la especificidad de las enzimas de *Saccharomyces cerevisiae* y *Anaerobiospirillum succiniproducens* por un análogo fluorado del PEP.
Se determinaron los parámetros cinéticos para la reacción con (Z)-3-flúor fosfoenolpiruvato ((Z)-FPEP) como sustrato. Se encontró que la eficiencia catalítica disminuyó muy poco (20%) en ambos casos. Estos resultados muestran que (Z)-FPEP es un buen pseudosustrato para la reacción, y que la sustitución de uno de los hidrógenos de PEP por flúor no afecta mayormente a la catálisis.
Se determinó la estereoquímica de la reacción de carboxilación utilizando (Z)-FPEP como sustrato. Los resultados mostraron que la estereoquímica de la reacción de carboxilación toma lugar por la cara *si* del doble enlace del PEP.
Financiado por FONDECYT 1030760

DIFERENCIAS EN LA ESPECIFICIDAD DE SUSTRATO DE TRES ISOENZIMAS DE ARABINOFURANOSIDASA DEL HONGO *Penicillium purpurogenum*. (Differences in substrate specificity of three arabinofuranosidase isoenzymes produced by the fungus *Penicillium purpurogenum*).

Ravanal, M.C., Macarena Fritz y Jaime Eyzaguirre
Laboratorio de Bioquímica, Departamento Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago.

El hongo *Penicillium purpurogenum* crecido en diversas fuentes de carbono (xilano de avena, coseta de remolacha y coronta de maíz) secreta al medio de cultivo tres arbinofuranosidasas (ABF 1, 2 y 3), que presentan actividad frente al sustrato artificial p-nitrofenil α-L arabinofuranósido (pNPAra). Las tres isoenzimas han sido purificadas a homogeneidad y caracterizadas.
Las tres ABFs utilizan arabinoxilano de trigo liberando arabinosa que se cuantifica por un método enzimático. Cuando se incuba este sustrato con endoxilanasa A del mismo hongo y las ABFs, se aprecia un efecto sinérgico entre la ABF1 y Endoxilanasa A; en cambio para la ABF2 y 3 solo se ve un efecto aditivo.
La ABF3 además de actuar sobre pNPAra (Km: 0,65±0,075 mM), y a diferencia de las otras ABFs, hidroliza p-nitrofenil β-D xilopiranósido con una Km de 12,032 ±2,68 mM. Esta bifuncionalidad de la ABF3 le permite actuar sobre xilooligosacáridos como xilotetraosa (X4) produciendo xilobiosa (X2) y xilopentaosa (X5) generando xilobiosa (X2) y xilotriosa (X3), lo que se aprecia por cromatografía en capa fina (TLC).
También se evaluó la acción de las tres ABFs sobre los sustratos naturales como arabinano y arabinano desramificado de remolacha, observándose que su acción es principalmente desramificante.
Las 3 enzimas no muestran reacción cruzada con anticuerpos, sugiriendo que se trata de productos génicos distintos. Datos de secuencia aminoacídica indican que ABF 1 pertenece a la familia 54 de las glicosil hidrolasas y ABF 2 a la familia 51.
Fuentes de financiamiento: FONDECYT (1040201) y Universidad Andrés Bello.

BOTÁNICA

EFECTO DE LA SEQUÍA SOBRE LOS CARBOHIDRATOS NO ESTRUCTURALES DE DOS *NOTHOFAGUS* DE TOLERANCIAS HÍDRICAS CONTRASTANTES. (Effect of drought on non structural carbohydrates of two *Nothofagus* of contrasting drought tolerance).

Piper, F., Corcuera LJ., Reyes-Díaz, M., Lusk, C.
Departamento de Botánica, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

Se estudió el efecto de sequía sobre la fotosíntesis y partición de carbohidratos no estructurales (NSC) en plántulas de dos *Nothofagus* de tolerancia a la sequía contrastante. La sequía redujo la fotosíntesis de la relativamente intolerante *N. nitida* en 80% pero la de la más tolerante, *N. dombeyi*, solamente 38%. Los controles tuvieron concentraciones similares de NSC. La sequía produjo poco efecto en los NSC de *N. dombeyi*. En *N. nitida* la concentración de almidón radicular disminuyó 43%. La partición de NSC entre órganos no varió ya que aumentos en la proporción de biomasa radicular fueron compensados por concentraciones decrecientes de NSC en la raíz de *N. nitida* y crecientes en la biomasa aérea de *N. dombeyi*. Así, diferencias en el tamaño y partición de NSC, no explicarían las diferencias en tolerancia a la sequía entre estas especies. Las concentraciones de sacarosa, glucosa y fructosa, contrario a lo esperado por su rol como osmolitos, en ningún caso aumentaron pero sí disminuyeron en respuesta a la sequía, mientras que los azúcares solubles totales (TSS) no variaron. Lo anterior sugiere el incremento de otros azúcares y disminuye la importancia de sacarosa, glucosa y fructosa como osmolitos en estas especies.
Fondecyt (1030663),1040913); Beca Conicyt (FP).

FLUJOS DE NUTRIENTES EN BOSQUES PRÍSTINOS Y SECUNDARIOS EN LA CORDILLERA DE LOS ANDES, SUR DE CHILE. (Nutrient fluxes in pristine and secondary forests at the Cordillera de los Andes, Southern Chile).

Godoy, R., Oyarzún, C., Barrientos, M. & Silva, D.
Instituto de Botánica, Universidad Austral de Chile.

En bosques lluviosos siempreverdes prístinos y caduciofolios secundario, ubicados en la Cordillera de los Andes en el Sur de Chile (39°40'S) se realizó el presente estudio en microcuencas experimentales instrumentalizadas con registro continuo, durante el período Abril 2003-Marzo 2005.
Se determinaron las concentraciones y flujos de nutrientes en el agua de los diferentes compartimentos del ecosistema: precipitación, precipitación directa, agua fustal, infiltración suelo, percolación y escorrentía.
Se registró un promedio anual de precipitación con 4.232 mm, donde la intercepción del dosel corresponde a 20.5 y 20,7 % para el bosque siempreverde y caducifolio, respectivamente. El agua de precipitación aporta 3.1 kg ha^{-1} $año^{-1}$ de nitrógeno inorgánico (NH4-N =1.8,NO3-N = 1,3 kg ha^{-1} $año^{-1}$).
Se observa, que una fracción importante del nitrógeno depositado vía atmosférica es retenido en la cubierta vegetacional. La exportación de amonio y nitrato vía agua de escorrentía, refleja mecanismos de retención de 0,52 y 0,44%, para el bosque siempreverde y caducifolio, respectivamente.
Los resultados son discutidos de acuerdo a la estructura y composición de la vegetación y mecanismos de ciclaje interno de los bosques, bajo condiciones limitadas de nutrientes.
Fondecyt 1950513.

PATRONES DE DEFORESTACIÓN EN EL CENTRO-SUR DE CHILE USANDO IMÁGENES SATELITALES. (Patterns of deforestation in central-south of Chile by using satellite imagery).

Altamirano, A.[1]; Aplin P.[2]; Field, R.[2] y Lara, A.[1]
[1]Instituto de Silvicultura, Universidad Austral de Chile; [2]School of Geography, University of Nottingham, UK.

La destrucción de los bosques es un tema de importancia mundial debido a su implicancia sobre la captura de carbono, ciclos hidrológicos, biodiversidad y el potencial efecto sobre el cambio climático. Por ello resulta relevante la detección y monitoreo de los cambios de la vegetación en el tiempo. Para conocer la distribución actual y el cambio de la cobertura del suelo fueron utilizadas imágenes satelitales Aster del año 2003 y Landsat del año 1989. En ambas imágenes se aplicaron métodos de clasificación supervisada mediante un algoritmo de máxima verosimilitud, usando bandas espectrales, análisis de textura e índices de vegetación. La clasificación final de ambas imágenes satelitales tuvo una exactitud global superior a 90%. Se presentan cambios importantes en la disminución de cobertura de la vegetación nativa y aumento de plantaciones de especies exóticas. Estos cambios ocurren con diferente intensidad dependiendo de las zonas de estudio. Los resultados sugieren que la deforestación del área ha sido provocada por diversos factores, destacando entre ellos la habilitación de terrenos para la agricultura, establecimiento de plantaciones forestales de especies exóticas y ejecución de proyectos hidroeléctricos.
Proyecto MECESUP AUS 0103.

¿INTERRUMPE LOS SERVICIOS DE POLINIZACIÓN Y PRODUCCIÓN DE SEMILLAS DE ESPECIES NATIVAS LA PRESENCIA DE UNA ESPECIE INTRODUCIDA CON FLORES LLAMATIVAS? (Does the presence of a showy invasive plant disrupt pollinator service and reproductive output in native species?).

Muñoz, A.A. y **Cavieres, L.**
ECOBIOSIS, Departamento de Botánica, Universidad de Concepción e Instituto de Ecología y Biodiversidad (IEB).

Las plantas invasoras son a menudo fuertes competidores con las especies nativas. Sin embargo, muy pocas investigaciones han evaluado los efectos de especies invasoras que posean flores atractivas en las interacciones entre plantas nativas y sus polinizadores. En este estudio evaluamos el impacto de la presencia de la especie introducida *Taraxacum officinale* (Asteraceae) sobre la polinización y éxito reproductivo de dos especies nativas (*Hypochaeris thrincioides* y *Perezia carthamoides*) en un sitio ubicado a 2.800 m de altitud en los Andes de Chile central. La especie introducida posee florales llamativas y comparte muchos polinizadores (>90%) con las dos especies nativas. Las tasas de visitas de polinizadores y la duración de las visitas fueron similares entre *T. officinale* y *H. thrincioides*, pero diferentes de *P. carthamoides*. Polinización manual con y sin presencia de *T. officinale* mostró que la producción de semillas en *H. thrincioides* y *P. carthamoides* es polen-limitada y que no es afectada por la presencia de la especie introducida. La adición de plantas de *T. officinale* alrededor de individuos nativos no alteró el servicio de polinización ni la producción de semilla en las dos especies nativas. Por lo tanto, a pesar de ser polen-limitada, la producción de semilla en las dos especies nativas es robusta a la presencia de *T. officinale* sugiriendo que en los Andes de Chile central la presencia de una especie introducida atractiva no implica necesariamente cambios en el servicio de polinización y producción de semilla en especies nativas. Esto demuestra la necesidad de probar experimental los impactos potenciales de especies introducidas antes de concluir con respecto a sus efectos negativos asumidos en ecosistemas nativos. FONDECYT 3050054.

INDUCCIÓN DE TREPADO POR DAÑO FOLIAR EN TRES ESPECIES DE *IPOMOEA* (CONVOLVULACEAE). (Induced twining by leaf damage in three Ipomoea(CONVOLVULACEAE) species).

Atala, C. & Gianoli, E.
Depto. de botánica, UDEC.

Las plantas pueden tolerar el daño por medio de cambios lentos (semanas) en patrones de crecimiento y distribución de biomasa. Respuestas rápidas (48 hrs.) a la herviboría en los patrones de crecimiento se han documentado en la planta trepadora *Convolvulus arvensis* (Convolvulaceae). En esta planta, el daño foliar induce el enredo y datos de terreno indican un efecto de este en el escape de herbívoros. Evaluamos la presencia de este fenómeno de inducción de trepado por daño en tres especies trepadoras del género *Ipomoea* (Convolvulaceae). Para buscar consecuencias del daño se evalúa la tasa de crecimiento y el ángulo de ascenso. El ángulo de ascenso se ha observado que varía con diferentes estímulos mecánicos. Dos de las tres especies mostraron inducción de trepado luego de aplicación de daño foliar aunque la cinética de enredo varió entre especies. La tasa de crecimiento no fue diferente entre tratamientos, sin embargo, el ángulo de acenso se vio significativamente afectado por el daño foliar. La inducción de trepado parece ser un fenómeno más común en las Convolvulaceae que podría tener consecuencias ecológicas en términos de escape de herbívoros terrestres. El cambio en el ángulo de ascenso tiene consecuencias en la biomecánica del trepado. El escape de herbívoros podría ser otro factor involucrado en la evolución del hábito trepador.
Agradecimientos: CONICYT, MECESUP UCO-0214.

VARIACIÓN ONTOGENÉTICA DE LA RESISTENCIA AL CONGELAMIENTO EN ESPECIES DE ALTA MONTAÑA: LOS ALPES AUSTRÍACOS COMO CASO DE ESTUDIO. (Ontogenetic variation of freezing resistance in high-elevation species: Austrian Alps as a study case).

Sierra-Almeida, A.[1, 2]; Jacker J.[3]; Di Piazza, L.[3]; Neuner, G.[3] & L.A. Cavieres[1, 2]
ECOBIOSIS, Universidad de Concepción, Chile[1]; Instituto Milenio de Ecología y Biodiversidad, Santiago, Chile[2]; Institute of Botany, University of Innsbruck, Innsbruck, Austria[3]

En ambientes de alta montaña, la ocurrencia de temperaturas bajo cero durante el período de crecimiento es considerado la mayor causa de mortalidad de plántulas. Por ello, las plántulas que allí habitan deben ser capaces de resistir temperaturas congelantes. No obstante, resistir temperaturas bajo cero depende de la cantidad de agua que posea un tejido como de su actividad metabólica. Por lo tanto, la resistencia al congelamiento de una plántula podría cambiar de acuerdo al estado de desarrollo en el que se encuentre. En este trabajo evaluamos la resistencia al congelamiento en 5 estados ontogenéticos, desde semilla hasta la aparición de las primeras hojas (G_0-G_4), en 10 especies nativas de los Alpes austríacos. Determinamos la temperatura a la cual se produce el 50% de daño (TL_{50}) utilizando 8 tratamientos, desde -1,5°C a -22°C, con una exposición de 6 h y tasa de enfriamiento de 2°C/h. Las semillas imbibidas (G_1) son el estado ontogenético más resistente al congelamiento, con TL_{50} inferiores a -20°C. Además, la exposición a -22°C estimula la protrusión de la radícula en este estado, especialmente en especies que poseen semillas con testa dura. El estado más sensible a la formación de hielo es durante la emergencia de la radícula (G_2), con TL_{50} entre -2 y -5°C en la mayoría de las especies. En algunas especies, plántulas con cotiledones (G_3) y hojas verdaderas (G_4) son más resistentes al congelamiento que G_2, sugiriendo algún grado de tolerancia a temperaturas congelantes a este estado de desarrollo. Mecesup UCO-0214.

PROCESOS CLAVES EN EL ESTABLECIMIENTO DE LA ESPECIE INVASORA *TARAXACUM OFFICINALE* EN UN AMBIENTE DE ALTA-MONTAÑA. (Key processes in the establishment of the invasive species *Taraxacum officinale* in an alpine habitat).

Quiroz, C.L.[*,1,2], Cavieres, L.A.[1,2]
[1]Universidad de Concepción, Concepción, Chile. [2]Instituto de Ecología y Biodiversidad (IEB), Santiago, Chile.

Poco se sabe sobre invasiones biológicas en zonas de alta montaña. Debido a que estos hábitats son muy estresantes, son adecuados para evaluar la importancia relativa de distintos factores en la colonización de una especie exótica. *Taraxacum officinale* (diente de león) es una especie invasora en los Andes de Chile central, cuya abundancia varía entre comunidades. Por ejemplo, *T. officinale* está ausente en comunidades con perturbación natural, abundante en comunidades dominadas por plantas en cojín y muy abundante en comunidades con perturbación antrópica. Evaluamos la presión de propágulos, germinación y supervivencia de plántulas de *T. officinale* en estas tres comunidades. Se encontraron propágulos en todas las comunidades, aunque en distintas cantidades. Se registró una baja supervivencia en suelo desnudo de comunidades con perturbación natural y dominadas por cojines. Sin embargo, hubo una alta supervivencia al interior de cojines y en comunidades con perturbación antrópica. El establecimiento de *T. officinale* está restringido por los tres estados del ciclo de vida evaluados, aunque la supervivencia de plántulas perece ser un mayor filtro para su establecimiento. El establecimiento estaría relacionado con la disponibilidad de recursos.
BECA AT-20450159, FONDECYT1030821, P02-051-F ICM (IEB).

¿FAVORECE EL FUEGO LA EMERGENCIA DE ESPECIES ALÓCTONAS EN EL MATORRAL DE CHILE CENTRAL? (Does fire increase the emergence of alien plants in the Chilean matorral?).

Gómez-González, S.[1,2], Valencia, G.A.[1,2] & Cavieres, L.A.[1,2]
[1] Departamento de Botánica, Universidad de Concepción. [2] Instituto de Ecología y Biodiversidad (IEB). E-mail: *sgomez@udec.cl*

En Chile central los fuegos no son de origen natural. El matorral está invadido por especies de otros ecosistemas mediterráneos, donde sí existen fuegos naturales recurrentes. Esto indica que el fuego podría suponer una ventaja para el reclutamiento de especies alóctonas en el matorral.
Se evaluó el efecto del fuego sobre el banco de semillas en el matorral de San Carlos de Apoquindo, Santiago. Se colectaron 20 muestras de suelo en: a) Matorral cerrado b) Matorral abierto bajo dosel c) Matorral abierto fuera de dosel. Cada muestra se separó en dos submuestras; una control y otra fue expuesta a fuego, quemando la hojarasca del sitio de estudio. El fuego incrementó el porcentaje de especies alóctonas que emergieron del banco de semillas. El fuego bajo el dosel es de alta intensidad y el banco de semillas nativo es destruido, quedando solo un remanente de semillas alóctonas. Fuera del dosel, el fuego es de baja intensidad y estimula la emergencia de algunas especies alóctonas. Esta es la primera aproximación experimental que indica que el fuego tener efectos más nocivos sobre las semillas nativas, y que podría ser un factor clave en la invasión del matorral chileno. Financiado por MECESUP UCO 0214 y P02-051-F ICM.

BIOLOGÍA CELULAR - BIOINFORMÁTICA

EXPRESIÓN DE LOS RNAS QUIMÉRICOS MITOCONDRIALES EN CÉLULAS TRANSFORMADAS CON HPV, EN CULTIVOS ORGANOTÍPICOS Y EXTENDIDOS DE PAP.

Villota, C.[1], Burzio, V.[1,2], Villegas, J.[1,2], Boccardo, E.[3], Villa, L[3] y Burzio, L.O.[1,2]
[1]BiosChile I.G.S.A., Millenium Institute of Fundamental and Applied Biology y Fundación Ciencia para la Vida; [2]Universidad Nacional Andrés Bello, Chile; [3]Ludwig Insitute for Cancer Research, Brazil)

Las células proliferantes normales expresan un transcrito mitocondrial llamado RNA quimérico sentido tipo 1 (chRNA-1), que contiene una repetición invertida de 815 nts unida al extremo 5' del mtRNA 16S. Estas células también expresan transcritos complementarios, consistentes de repeticiones invertidas de diferente longitud unidos al extremo 5' del mtRNA 16S antisentido (cRNA antisentidos). En contraste, las células tumorales expresan el chRNA sentido, pero reprimen los chRNAs antisentido. Los queratinocitos humanos normales (HFK) expresan los cRNAs sentido y antisentido. Luego de la transformación de estas células con virus papiloma humano (HPV) 16 o 18, la expresión de los chRNAs antisentido disminuye drásticamente. Más interesantemente, estas células expresan un nuevo transcrito, el chRNA sentido tipo 2. El objetivo de este trabajo es determinar la expresión de estos transcritos en células inmortalizadas con HPV 16 o 18 en cultivos organotípicos (rafts) y en extendidos de Papanicolau (PAP) de pacientes con diferentes citologías. Estas determinaciones fueron realizadas mediante ensayos de hibridación *in situ* y RT-PCR, utilizando sondas y partidores específicos. Se determinó que el chRNA sentido tipo 1 se expresa en diferentes estadios de la transformación inducida por HPV en cultivos organotípicos, mientras que el chRNA-2 sentido se encuentra expresado en etapas tempranas de la transformación. Los chRNAs antisentido se expresan solamente en HFK normales. Las células epiteliales presentes en extendidos de PAP de pacientes con citología anormal (CIN I-III) expresan el chRNA-1 sentido pero no los chRNAs antisentido. El chRNA-2 sentido se expresa en extendidos de estadios CIN I-II pero no de CIN III. En una cohorte de 49 pacientes con pruebas PAP negativas, 8 muestras resultaron positivas para el chRNA-2 sentido. Seis a nueve meses después de la toma de muestra, cuatro de estas pacientes mostraron anormalidades citológicas como ASCUS y CIN I. Estos resultados preliminares de pacientes con ensayos de PAP negativas pero positivas para el chRNA-2 sentido por hibridación *in situ* sugieren una herramienta de diagnóstico temprano de transformación celular inducida por HPV. Sin embargo, se necesitará realizar estos ensayos sobre cohortes más grandes y tipificación de HPV.

DELECIONES Y AMPLIFICACIONES GÉNICAS EN CÁNCER DE MAMA HEREDITARIO: ANÁLISIS POR ARRAY CGH. (Genomic deletions and amplifications in hereditary breast cancer: a cgh array analysis).

Alvarez, C.[1], Rozenblum, E. [2], Solis L.[3], Corvalan A.[3], Munroe, D.[2], Carvallo, P.[1]
[1]Laboratorio de Genética Molecular Humana, Departamento de Biología Celular y Molecular, Pontificia Universidad Católica de Chile. [2]Laboratory of Molecular Technology, SAIC-Frederick Inc., NCI, National Institutes of Health, Frederick,MD, USA, [3]Departamento de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El cáncer de mama es el cáncer uno de los tres más frecuentes entre las mujeres a nivel mundial. Hasta el momento solo dos genes de susceptibilidad al cáncer de mama, BRCA1 y BRCA2, han sido descritos, sin embargo, el porcentaje de familias que presentan mutaciones en estos genes varía según la población. Por ejemplo, nuestro laboratorio determinó que en Chile el 20% de las familias chilenas con cáncer de mama y/u ovario presentan mutaciones en estos genes. Con el fin de identificar genes supresores de tumor y proto-oncogenes involucrados en el desarrollo y progreso del cáncer de mama hereditario, hemos analizado por Array CGH 10 tumores de mama provenientes de mujeres que no presentan mutaciones en los genes BRCA1 o BRCA2. Entre las regiones cromosómicas selecionadas en más del 50 % de las biopsias se encuentran: 1p12-p13, 1p31-p32, 3q28, 6p12, 10q21.3, 13q33.1. Entre las regiones amplificadas en más del 37% de las biopsias podemos mencionar: 2p23, 3p21, 4p16, 5q31.2, 10p12, 12q14. Entre los genes comprendidos en las regiones delecionadas se encuentran: BAG2 (Bcl2 Associated Athanogen 2), RB, ITM2B (Integral Membrane Protein 2B) and TUSC3 (Tumor Supressor Candidate 3) y en las regiones amplificadas: JunB, ALK (Anaplastia Lymphoma Kinase), HMGA2 (High Mobility Group AT-Hook 2) and MAP3K3 (Mitogen Activated Kinase Kinase Kinase 3). Fondecyt 1040779

ANÁLISIS DE DIHIDROXICHALCONAS, UN ANÁLOGO DE CHALCONA, COMO UN POTENTE INDUCTOR DE APOPTOSIS EN CÉLULAS DE HEPATOMA HUMANO HEPG2. (Analyses of dihy droxychalcone, a chalcone analog as a powerful induces of apoptosis in human hepatoma HepG2 cells).

Echeverría C[1,2]., Donoso O[3]., Escobar C[3]., Ramírez R[3]., Santibáñez Juan F.[2]
(1) Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. (2) Laboratorio de Biología Celular, INTA, Universidad de Chile. (3) Departamento de Química, Universidad Andrés Bello.

Una serie de análogos de dihidroxichalconas (ADDC), precursoras de flavonoides en plantas, fueron sintetizados y evaluados en su actividad citotóxica e inducción de apoptosis en la línea celular de hepatoma humano HepG2. Los ADDC redujeron la sobrevida de las HepG2 en forma dosis dependiente, analizada por exclusión de azul de tripan y ensayo de MTT. El tratamiento con dihidroxichalconas produjo apoptosis de las células de hepatoma, observada por el ensayo de fragmentación de DNA. El análisis de citometría de flujo indicó una alteración en la mitosis de las células HepG2. A su vez se observó un aumento significativo en la activación de caspasa 9 para todos los análogos de dihidroxichalconas analizados. Estos resultados indican que, los ADDC inducen la apoptosis por activación de la vía intrínsica mediada por caspasa 9 en células HepG2, y sugieren que las dihidroxichalconas podrían ser una alternativa en el futuro para el tratamiento de cáncer hepático.
Financiamiento: FONDECYT 1050476 (JFS)

ROL DE PEX19P EN LA DESTINACIÓN DE PROTEÍNAS DE MEMBRANA PEROXISOMAL (PMPS) EN MUTANTES DE LA BIOGÉNEIS PEROXISOMAL (Role of pex19p in targeting of PMPs in peroxisomal biogenesis mutants).

Toro A., Koenig C. y **Santos MJ.**
Pontifica Universidad Católica de Chile. Financiamiento: FONDECYT-1040792

Los peroxisomas son organelos esenciales, que poseen una membrana rodeando una matriz. Sus proteínas son sintetizadas en el citoplasma, y post-traduccionalmente incorporadas al organelo. Estas proteínas poseen receptores citosólicos que las conducen al peroxisoma. Para las PMPs, el receptor descrito es pex19p, que posee una localización citosólica/peroxisomal. Las proteínas involucradas en la biogénesis peroxisomal, son llamadas "peroxinas" y "PEX" sus genes. En humanos, mutaciones en estos genes producen enfermedades letales, denominadas Afecciones de la Biogénesis-Peroxisomal (ABP). En ellas, los peroxisomas son reemplazados por fantasmas peroxisomales, que carecen de un contenido de matriz. Recientemente, se ha descrito la ausencia total de peroxisomas en algunas ABP.
Caracterizamos dos líneas celulares humanas con ABP (MR y GM6231), que carecen de peroxisomas y de fantasmas, y que tienen mutados los genes PEX3 y PEX16, respectivamente. Sus PMPs están localizadas en las mitocondrias. A fin de establecer si Pex19p se destina a las mitocondrias en estas células mutantes, produciendo así la localización errada de sus PMPs, fusionamos PEX19 a la GFP. PEX19-GFP fue encontrada solo en el citosol en los mutantes, y también en los peroxisomas en fibroblastos controles o con fantasmas peroxisomales. Ello descartaría que Pex19p lleve PMPs a las mitocondrias, en fibroblastos mutantes en PEX3 o PEX16.

ANÁLISIS PRELIMINAR DE DATOS DE CRISTALOGRAFÍA DE RAYOS X DEL DOMINIO DE TRANSACTIVACIÓN 209-361 DEL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN RUNX2. (Preliminary X-ray analysis of the transactivation domain 209-361 of the transcription factor Runx2).

[1,2]**Bruna, C**, [2]Martínez-Oyanedel, J., [2]Bunster, M., [1,2]Montecino, M.
[1]Anillo de Investigación de Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica, [2]Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

El factor de transcripción Runx2 es un transactivador esencial en el proceso de diferenciación osteoblástica, cumpliendo las funciones de estimular la transcripción de genes tejido óseo-específicos a nivel pre y postnatal.
Para ello, Runx2 presenta dominios encargados de reconocer secuencias específicas en sus genes blanco (runt), de transactivar estos genes (T1T2 y 209-361) y de localizar esta proteína en regiones subnucleares (NMTS).
En este trabajo estudiamos el dominio de transactivación 209-361, con el cual Runx2 interacciona con el receptor de vitamina D_3 dentro del contexto de promotores de genes blanco, produciendo una expresión aumentada en respuesta a vitamina D_3.
Para obtener información estructural, la proteína de fusión GST-Runx2(209-361) se cristalizó por difusión de vapor, gota colgante en Tris-HCl pH8.5, 30%p/v PEG4000, 0.2M $MgCl_2 \cdot 2H_2O$. Se recolectaron datos de difracción de rayos-X en Laboratorio Nacional de Luz Sincrotrón (Brasil). Los datos fueron indexados y escalados con MOSFLM y SCALA de CCP4. Con ello se obtuvo el grupo espacial, la estadística y un primer modelo, que ayudará a comprender las bases moleculares de la estimulación transcripcional dependiente de vitamina D.

ALBUMINOPROTEÍNAS COMO VEHÍCULOS DE TRANSPORTE PARA SENSIBILIZADORES EN LA TERAPIA FOTODINÁMICA. LA LUMINISCENCIA COMO UNA NUEVA HERRAMIENTA PARA SU CARACTERIZACIÓN. (Albumin proteins as vehicles to sensibilizators for the photodynamic therapy. The luminescence as a new tool for its characterization).

[1]**Alarcón. E**, [1]Edwards. A. M, [1]Fajardo. M, [1] Muñoz. M, [1]García. A, [2]Aspée. A, y [2]Lissi. E.
[1]P. Universidad Católica de Chile, Facultad de Química, Departamento de Química Biológica, [2]Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología, Departamento de Ciencias del Ambiente.

La terapia fotodinámica (PDT) se basa en el empleo de sensibilizadores (SENS), generadores de especies activas de oxígeno (EROS), por medio de la irradiación con luz de la región del rojo (550-800 nm). Estudios recientes muestran una relación entre concentración de SENS en sitios hidrofóbicos y la generación de oxígeno molecular singulete, con la inducción de apoptosis en células tumorales. Habitualmente se emplean liposomas, micelas poliméricas y albumino proteínas como vehículos de transporte de los SENS; dada la naturaleza altamente hidrofóbica de estos últimos. Dentro de los SENS empleados comúnmente, se encuentra la ftalocianina de Zinc (ZnPc). En este trabajo presentamos un estudio que relaciona la muerte de células tumorales de la línea HL-60 con la acción del conjugado ZnPc-BSA y/o ZnPc-HSA. Para ello, se evaluaron los peróxidos y la luminiscencia post fotólisis, y se correlacionaron con la inducción de la muerte celular. Así también se discute el empleo de la emisión de luz, como una herramienta que permita confirmar la conjugación del sensibilizador con la proteína, esto último se vería manifestado en la generación de oxígeno singulete en el conjugado.
Agradecimientos: Los autores agradecen el apoyo financiero de **FONDECYT** (1040667, 1030033 y 1050137). E. A agradece una Beca Doctoral **CONICYT** y A. G una Beca **Dipuc** para Doctorado.

ORIGEN DE COMPUESTOS DISRUPTORES ENDOCRINOS: UN RIESGO EMERGENTE MEDIOAMBIENTAL. (Origin of endocrine disruptive compounds: an environmental emergent risk).

Chamorro, S., Vidal, G.
Laboratorio de Biotecnología Ambiental, Centro de Ciencias Ambientales EULA-Chile, Universidad de Concepción. Patrocinio: Dr. Oscar Parra

La presencia de sustancias en el ambiente que tienen el potencial para interrumpir la función normal de los sistemas endocrinos sobre la biota y seres humanos, ha causado una creciente preocupación a nivel mundial. Según literatura existen variados compuestos naturales y antropogénicos capaces de actuar sobre los receptores de estrógeno y andrógenos como agonista o antagonistas de hormonas endógenas ejerciendo una acción mimetizadora en el organismo y que actúan a través de distintos mecanismos.
El objetivo del presente trabajo fue realizar una revisión bibliográfica sobre el origen de los compuestos disruptores endocrinos y su efecto sobre la biota. En la actualidad se conocen alrededor de 45 compuestos con propiedades disruptoras, y 600 considerados disruptores endocrinos potenciales. Estos compuestos se encuentran como constituyentes de efluentes y lodos de plantas de tratamiento municipales e industriales, debido a una eliminación incompleta durante los procesos primarios y secundarios. Entre estos compuestos se encuentran los fitoesteroles, derivados de la madera, que están presentes en efluentes de celulosa a una concentración promedio de 18 kg/d. Las alteraciones a nivel reproductivo de especies acuáticas expuestas a compuestos endocrinos, podrían explicar el aumento de riesgo de cáncer en seres humanos. Por lo cual es de gran importancia dilucidar los diferentes mecanismos de acción de estos disruptores endocrinos.
Proyecto Fondecyt 1040987

GENERACIÓN *IN VITRO* DE ISOFORMAS DE PROLACTINA DE SALMÓN POR CALICREÍNA GLANDULAR. (*In vitro* generation of Salmon Prolactin Isoforms by Glandular Kallikrein).

Haussmann, D., Slebe, F., Kausel, G., Figueroa, J.
Laboratorio de Biología Molecular de Peces, Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile - Novartis S. A. Puerto Varas.

Calicreína glandular es una serina proteasa, con actividad de tipo tripsina. En peces se encuentra ampliamente distribuida en diversos órganos, siendo muy abundante en tejido muscular. En hipófisis de mamíferos es co-sintetizada en células lactotropas de la *rostral pars distalis*, conjuntamente con prolactina. Nuestros estudios previos han mostrado que la cantidad de calicreina glandular detectable en pituitaria, fluctúa al igual que prolactina dependiendo del estadio Fisiológico-funcional del pez. En la literatura se ha descrito que prolactina, se secreta como pre-hormona, siendo necesaria su proteolisis para obtener tanto la hormona madura, como las diversas formas de menor tamaño, cuyas funciones aún no son claramente demostradas. Hasta el momento no se ha esclarecido cómo se genera la proteolisis, ni qué enzima estaría participando en este proceso en mamíferos y menos aun en peces.
Se estandarizó las condiciones óptimas del ensayo proteolítico de prolactina de 25 kDa mediante digestiones *in vitro* a 14°C con calicreína glandular de músculo, ambas purificadas de *Salmo salar*, se pudo visualizar las formas menores de la hormona de 22 kDa y 16 kDa por ensayos de Western-blot. También detectamos la co-localización de prolactina con calicreína glandular en cortes de hipófisis de salmón por microscopia confocal.
Financiamiento Fondecyt 1040073

FISIOLOGÍA -BIOMEDICINA-GENÉTICA

ETHANOL AFFECTS Ca^{2+} CURRENTS AND INTRACELLULAR Ca^{2+} OF BRAIN CAPILLARY ENDOTHELIAL CELLS IN A DIFFERENT WAY.

[1]Barrios, Y., [1]Alvarez, R., [2]Altura, B. and [3, 4]**Delpiano, M.A.**
[1]Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaiso, Valparaíso, Chile. [2]University of New York, Brooklyn, New York, USA. [3]Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaiso, Chile. [4]Max-Planck-Institute for Molecular Physiology, Dortmund, Germany.

A link exists between chronic alcohol intake and predisposition to stroke. This is due to the vasospasm and ischemia that alcohol provokes on the cerebral blood flow. To better understand how alcohol could act on blood flow, we investigated the ethanol (EtOH) effect on voltage-activated Ca^{2+} currents and intracellular Ca^{2+} in brain endothelial cells with the patch-clamp and Fluo-3 fluorescence technique. EtOH (10 to 100 mM) depressed Ca^{2+} currents. Although the inhibition was reversible at all concentrations, over the 40 mM concentration the patch recording becomes leakage. This inhibition was modulated by external Mg^{2+} ions. Low Mg^{2+} (0.3 mM) enhanced the EtOH inhibition. EtOH increased intracellular Ca^{2+} in dependence of the extracellular Ca^{2+} concentration (10 mM). Because chronic alcohol provokes vasospasm and ischemia in brain blood vessels, we hypothesize that EtOH exerts a complex action on brain endothelial cells that involves the regulation of the intracellular Ca^{2+} by inhibiting voltage-activated Ca^{2+} channels and at concentrations higher than 40 mM affecting directly the structure of the cell membrane in their partition coefficient. The effect of low Mg^{2+} is related to a negative membrane screening altering the Ca^{2+} channel kinetics and making them more sensitive to EtOH.

LA HIPOXIA CRÓNICA INTERMITENTE INDUCE CAMBIOS DEL BALANCE AUTONOMICO CARDÍACO Y DE LA SENSIBILIDAD DEL BARORREFLEJO. (Chronic intermittent hypoxia induces changes of cardiac autonomic balance and baroreflex sensitivity).

Rey, S., **Iturriaga, R.**
Laboratorio Neurobiología, Facultad Ciencias Biológicas. P. Universidad Católica de Chile.

La hipoxia crónica intermitente (HCI), caracterizada por numerosos episodios hipóxicos cortos seguidos por normoxia como ocurre en el síndrome de la apnea obstructiva del sueño, aumentaría la reactividad simpática y cardiovascular en respuesta a la hipoxia aguda, contribuyendo al desarrollo de hipertensión y riesgo cardiovascular. En un modelo de gatos sometidos a HCI por cuatro días (J Physiol 560: 583-592, 2004) pusimos a prueba esta hipótesis. En los animales anestesiados con pentobarbitona sódica estudiamos las respuestas cardiovasculares a la hipoxia aguda, la variabilidad de la frecuencia cardíaca (HRV), presión arterial (BPV) y la sensibilidad del barorreflejo mediante un análisis espectral con modelos autorregresivos. La hipoxia produjo taquicardias mayores en animales expuestos a HCI, sin afectar las respuestas presoras. Además, la HCI aumentó la razón entre los componentes de baja (LF) y de alta (HF) frecuencia de la HRV. Interesantemente, encontramos que la HCI redujo la sensibilidad del barorreflejo. Los resultados muestran que la HCI produce cambios tempranos del balance autonómico cardíaco, con predominio del tono simpático. Los gatos expuestos a la HCI se comportan de forma similar a los pacientes con apnea obstructiva, que presentan un aumento de la razón LF/HF y cambios similares en la distribución de los componentes espectrales de la HRV.
Financiamiento: FONDECYT 1030330.

11-β HIDROXIESTEROIDE DESHIDROGENASA 2 AUMENTA EN EL CORAZÓN DE RATAS DOCA-SAL: PAPEL DE VASOPRESINA (11b-hydroxysteroid deshydrogenase 2 increases in heart of DOCA-Sal rat: role of vasopressin).

Carrasco L., Michea, L.
Laboratorio de Fisiología Integrativa y Molecular, Universidad de los Andes, Santiago, Chile.

La combinación de sal con altos niveles de mineralocorticoides (aldosterona, deoxicorticosterona) lo que se acompaña de aumentos en los niveles de vasopresina. Sin embargo, el mecanismo molecular que explica el papel de alta sal en el desarrolo de daño es desconocido. El tejido cardíaco expresa el receptor de mineralocorticoide (MR) y la enzima 11β-hidroxiesteroide-deshidrogenasa 2 (11β-HSD2), que confiere especificidad a la acción de aldosterona. Estudiamos si vasopresina regula la expresión cardíaca de 11b-HSD2 en ratas uninefrectomizadas Deoxicorticosterona-sal (DOCA 20 mg/Kg, NaCl 1% en el agua de beber por 8 días). Cuantificamos la abundancia de mRNA de GR, MR, SGK-1, ANP y 11β-HSD2 por RT-PCR en tiempo real. El tratamiento DOCA-sal produjo un aumento en 3,4 veces de la abundancia del mRNA de 11β-HSD2 y ANP. No se observaron cambios en la abundancia del mRNA de MR, SGK-1. En cambio el tratamiento DOCA-Sal disminuyó la abundancia del transcrito GR. Cultivos primarios de cardiomiocitos fueron estimulados con concentraciones crecientes de vasopresina, lo que produjo aumentos en la abundancia del mRNA de 11β-HSD2 y MR, además de una disminución de la abundancia del mRNA del GR. Nuestros resultados sugieren que la expresión de 11β-HSD2 y GR en tejido cardíaco es modulada por vasopresina. FONDECYT 1050690, 3060026.

GABA PRODUCE EXCITACION QUIMIOSENSORIAL CAROTIDEA Y DESPOLARIZACION DE NEURONAS DEL GANGLIO PETROSO DE CONEJO (Gaba induces carotid chemoexcitation and depolarization of petrosal ganglion neurons).

Alcayaga, J., Vargas, R.V., Arroyo, J., Gonzalez, F.G.
Lab. Fisiología Celular, Fac. Ciencias, Universidad de Chile.

Las células glómicas (CGs) del cuerpo carotídeo (CC) liberan transmisores que, actuando en terminales de neuronas del ganglio petroso (GP) que las inervan, generan la actividad quimiosensorial. GABA inhibe la actividad de CGs de rata, pero desconocemos su acción sobre la actividad quimiosensorial. Por esto estudiamos los efectos de GABA sobre la actividad quimiosensorial y el GP de conejo.
GPs y CCs obtenidos de conejos anestesiados se superfundieron con soluciones equilibradas con aire y O_2, respectivamente, registrándose la frecuencia de descarga del nervio carotídeo (f_{NC}). Se realizaron registros intracelulares convencionales del GP y de fijación de voltaje en cultivos primarios de neuronas del GP. GABA y sus agonistas se aplicaron sobre los órganos o células, y los antagonistas al medio de superfusión.
GABA, aplicado al CC o al GP, aumentó f_{NC} en forma dosis-dependiente, efecto no remedado por baclofén (agonista $GABA_B$) pero bloqueado por picrotoxina 100 μM (antagonista $GABA_A$). GABA despolarizó y redujo la resistencia de entrada en registros intracelulares e indujo corrientes de entrada en neuronas en cultivo, efectos que fueron concentración-dependiente.
Nuestros resultados muestran que GABA, actuando sobre receptores ionotrópicos, aumenta la actividad quimiosensorial y despolariza a las neuronas del GP de conejo, sugiriendo la participación de GABA en la generación de la actividad quimiosensorial.
Financiamiento: FONDECYT 1040638.

EFECTO DE LA ADMINISTRACION DE *Leptocarpha rivularis* EN RATAS CON NEFROPATIA DIABETICA. (Effect of *Leptocarpha rivularis* administration in diabetic nephropathy rats).

Álvarez, C.[1] Martínez, R[1]. Rodríguez S[3]. Cubillos, V[4]. López, I[4]. León, G[2].
[1]Instituto Química. [2]Instituto Bioquímica. Facultad de Ciencias. [3]Instituto Histología y Patología. Facultad de Medicina. [4]Instituto de Patología Animal. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Austral de Chile.
Patrocinio: Dra. Gloria León R.

Los mecanismos patogénicos que conllevan al desarrollo de la nefropatía diabética son la glicosilación no enzimática de proteínas, acumulación de sorbitol y proteoglicanos (material PAS positivo), hipertensión glomerular, entre otros.
En el presente estudio se presentan los efectos de 10 semanas de tratamiento con la infusión hipoglicemiante de *Leptocarpha rivularis* en ratas macho adultas Sprague-Dawley diabéticas por inducción con Aloxano.
El análisis morfológico se realizó en cortes de riñón sometidos a tinción con ácido peryódico de Shiff (PAS). Los hallazgos patológicos muestran un aumento del espesor de la membrana basal glomerular y de pared capilar, de la matriz mesangial y del material PAS positivo, en ratas diabéticas no sometidas a tratamiento, contrastándose con ratas diabéticas tratadas y ratas control sanas de la misma edad. Todos estos hallazgos fueron corroborados con los signos clínicos de aumento de la filtración glomerular, sin evidencias de proteinuria y valores de parámetros clínicos (proteínas totales, albúmina, creatinina y urea séricas).
Estos resultados demuestran que el efecto hipoglicemiante de la infusión de esta especie arbustiva, contribuiría al control del estado diabético, minimizando la evolución de patologías segundarias asociadas.
Agradecimientos: Proyecto DID-UACH S200522.

LAS LIPOPROTEÍNAS OXIDADAS DE BAJA DENSIDAD Y LAS ALTAS CONCENTRACIONES DE GLUCOSA INDUCEN LA LIBERACIÓN DE CITOQUINAS INFLAMATORIAS DESDE CÉLULAS MONONOCLEARES DE PACIENTES DIABÉTICOS TIPO II. (Oxidized low density lipoproteins and high glucose concentrations induce release of inflammatory citokines from mononuclear cells of type II diabetic patients).

[1] **Bustamante, M.** [1]Mirna Muñoz, [1]Fredy Díaz, [1]Javier Grandón, [1]Juan Manuel Venegas, [1]Laura Campos, [1]Lilian Kirsten, [2]Valeria Barra, [2]Coralia Rivas y [2]Juan Carlos Vera.
[1]Laboratorio de Diagnóstico Molecular, Facultad de Medicina, Universidad Católica de la Santísima Concepción, Concepción, [2]Dpto. Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción.

La diabetes mellitus tipo 2 es un factor de riesgo independiente en el desarrollo de la aterosclerosis, cuyas manifestaciones clínicas (cardiopatía coronaria, accidente vascular cerebral y enfermedad oclusiva arterial periférica) constituyen la primera causa de morbilidad y mortalidad en el mundo occidental. El proceso fisiopatológico de la asociación de diabetes con aterosclerosis aún no se conoce del todo, pero se considera que en la génesis del proceso ateromatoso del paciente diabético estarían involucrados múltiples factores, entre los cuales podrían estar la modificación oxidativa de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y las altas concentraciones de glucosa circulante que se encuentran en la sangre de estos pacientes.
Utilizando citometría de flujo, sistema Bioplex de Biorad y ELISA hemos investigado la liberación de citoquinas como respuesta al efecto de varias concentraciones de glucosa sobre células mononucleares de sujetos normales y de pacientes diabéticos sometidas a estrés oxidativo representado por lipoproteínas oxidadas.
Nuestros resultados indican que las lipoproteínas oxidadas inducen la liberación de citoquinas inflamatorias en linfocitos y en monocitos, tanto de sujetos controles como de pacientes diabéticos, este efecto se ve aumentado significativamente cuando las células se cultivan en presencia de altas concentraciones de glucosa. La liberación de citoquinas inflamatorias por parte de las células de pacientes diabéticos es significativamente mayor que desde las células obtenidas de sujetos controles.
Estos resultados indican que la condición diabética favorece el estado inflamatorio crónico desencadenado por las lipoproteínas oxidadas estableciéndose de esta forma, un efecto sinérgico que podría ser él responsable de los daños endoteliales y las complicaciones ateroscleróticas tempranas observadas en los pacientes diabéticos
Financiado por Proyecto FONDECYT 1040977

EFECTO DE PRODUCTOS DE GLICACIÓN AVANZADA DERIVADOS DE GLUCOSA EN CÉLULAS EPITELIALES DE LENTE. (Effect of advanced glycation end-products derived from glucose on lens epithelial cells).

Fuentealba, D. Vargas , F. Silva, E.
Facultad de Química, Pontificia Universidad Católica de Chile, Laboratorio de Química Biológica.

La formación de productos de glicación avanzada (AGEs) por medio de la reacción de Maillard, es uno de los principales mecanismos involucrados en la cataratogénesis. El lente ocular está permanentemente expuesto a la luz, y la presencia de sensibilizadores endógenos como los AGEs permite que ocurran fenómenos fotoquímicos que generan estrés oxidativo.
Estudios de nuestro grupo han mostrado la potencial actividad fotosensibilizante de AGEs derivados de glucosa, utilizando como modelos la fotodescomposición del aminoácido triptófano y la inactivación de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. En el presente trabajo se estudió el efecto de los productos de glicación, generados *in vitro* mediante la reacción de lisina con glucosa, sobre células epiteliales de lente HLE-B3. Además se estudió la influencia de los productos de glicación preincubados y formados *in situ* al ser irradiados con luz UVA.
AGRADECIMIENTOS. Los autores agradecen el financiamiento otorgado por el proyecto FONDECYT 1050965.

MODO DE DIFUSIÓN Y CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS SALIVALES EN PACIENTES CON XEROSTOMÍA DE DISTINTO ORIGEN. (Mode of diffusion and salivary protein concentration in patients with xerostomia of different origins).

Morales, I.[1], Urzúa B.[1], Retamales P.[1], Aguilera S.[2], García G.[1], Landaeta M.[3], López RO.[4]
[1]Facultad de Odontología, U. de Chile. [2]Universidad Andrés Bello. [3]Servicio Maxilofacial Infantil, Hospital San Juan de Dios. [4]Facultad de Medicina, U. de Chile.

Las glándulas salivales pueden ser afectadas por una serie de patologías. La falta de valores salivales referenciales dificulta el uso de la sialometría y la sialoquímica como herramienta diagnóstica. En este estudio se realizó un análisis comparativo de algunos parámetros salivales en pacientes con diferentes patologías de las glándulas salivales.
Se incluyeron 76 pacientes con Síndrome de Sjögren, 22 pacientes sometidos a irradiación terapéutica, 33 pacientes con Parotiditis Crónica Recurrente Infantil (PCRI), y 85 voluntarios sanos pareados por género y edad. Se recolectó saliva parotídea y se determinó: el flujo salival, la concentración de proteínas y el modo de difusión de proteínas sobre celulosa. En relación a los controles, todos los pacientes presentaron una disminución significativa del flujo salival; en los pacientes irradiados y con Síndrome de Sjögren la concentración de proteínas se observó significativamente disminuida y aumentada en los pacientes PCRI. El modo de difusión de proteínas se observó alterado en los pacientes con PCRI. En las otras patologías, solo algunos pacientes mostraron alteración del modo de difusión que se correlaciona con la concentración de proteínas salivales.
Proyecto DI MULT-04/28-2.

FILOGEOGRAFÍA COMPARADA DE TRES ESPECIES CODISTRIBUIDAS DE *LIOLAEMUS* (LIOLAEMIDAE) DEL CENTRO-SUR DE CHILE. (Comparative phylogeography of three co-distributed species of *Liolaemus* (Liolaemidae) from Central-South Chile).

Victoriano, P.[1,2]; J. W. Sites[3], B. Adams[3], E. Benavides[3] &, J. C. Ortiz[1,2].
[1]Depto. Zoología. Facultad de Cs. Nats. y Oceanográficas. Casilla 160C. Concepción. Chile. [2]Centro de Investigación en Ecosistemas Patagónicos, CIEP. Universidad de Concepción. [3]Dept. Integrative Biology. Brigham Young University. Provo. 84602 UT. USA.

Liolaemus Wiegmann, 1834, es el género de lagartijas de mayor riqueza especifica en Chile, el cual se caracteriza además por un alto endemismo. El alto número de especies y su alta variación intraespecifica sugiere a este género como evolutivamente muy dinámico. Sin embargo, su historia microevolutiva es pobremente. Nosotros seleccionamos tres especies codistribuidas en el centro-sur de Chile (*L. tenuis, L. lemniscatus* y *L. pictus*), para un análisis de filogeografía comparada, con el fin de poner a prueba la hipótesis de ocurrencia de procesos evolutivos congruentes entre estas especies. Por medio de secuencias de ADN mitocondrial (Cyt-b y 12S), nosotros recuperamos hipótesis de relaciones evolutivas de poblaciones de estos taxa. Las secuencias se usaron en un análisis cladístico anidado (NCA). Se estimó la asociación entre distancias entre clados y el arreglo geográfico de los haplotipos, y luego se usó una clave para inferir posibles procesos demográficos que dan cuenta de dichos patrones (expansión distribucional, fragmentación o reducción del flujo génico). Además se realizó un análisis filogenético tradicional (ML y bayesiano) usando dos grupos externos (*L. chilensis* y *L. monticola*). A partir de esto se obtuvo un árbol por especie, un superárbol (MRP), y dentro de este último se determinaron subárboles de máxima concordancia (MAST). Los resultados son discutidos respecto a la información paleoclimática y geomorfológica del centro-sur de Chile.
Financiado por DIUC 205.113.067-1sp. Kennedy Center, BYU. PIRE-NSF Speciation in Patagonia.
Palabras clave: Filogeografía comparada, *Liolaemus*, Chile.

PANELES I

BIOQUÍMICA

1. SITIOS ALOSTÉRICOS EN EL TRANSPORTADOR FACILITATIVO GLUT1. (Allosteric sites on the facilitative hexose transporter GLUT1).

Vargas, M.[1], Ximena Valenzuela[1,2], Alejandro Albornoz[1], Pablo Bulnes[1] y Alejandro M. Reyes[1]
[1]Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia y [2]Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago (areyes@uach.cl).

GLUT1 es la principal proteína envuelta en el transporte facilitativo de glucosa a través de la membrana plasmática, el cual puede ser inhibido por un variado número de moléculas. Estudios cinéticos de transporte con diversos inhibidores de la actividad funcional de GLUT1, han mostrado que existen sitios accesibles por la cara externa (exofacial) e interna (endofacial) del transportador que participan en la unión de estos ligandos. En este trabajo nosotros mutamos diversos residuos en tres segmentos del transportador que muestran homología con sitios de unión de nucleótidos en otras proteínas; uno de orientación exofacial (residuos 111-118) y los otros endofaciales (residuos 225-229 y 332-338) y las analizamos funcionalmente en ensayos trans-cero de entrada en ovocitos de *Xenopus*. Las mutantes K117R, K117Q, K229Q y T335L mostraron niveles de expresión y constantes cinéticas semejantes a la de la proteína silvestre expresada en el mismo sistema. Sin embargo, K117Q y K117R perdieron su capacidad de ser inhibidas por la flavona quercetina, una flavona que se liga a un sitio accesible por la cara exofacial. Por otra parte, T335L fue insensible frente a citocalasina B, un clásico inhibidor de GLUT1 que se une por la cara endofacial de la proteína. Estos antecedentes nos permiten sugerir que el dominio I participa en la unión de flavonas, mientras el dominio III formaría parte del sitio alostérico de unión de citocalasina B en GLUT1 (Financiado por proyectos FONDECYT 1020908 y 1060198).

2. INTERACCIÓN DE RESVERATROL CON EL TRANSPORTADOR GLUT1. (Resveratrol interaction with GLUT1 transporter).

Obando, P. y Alejandro M. Reyes.
Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia (areyes@uach.cl)

Se ha descrito que resveratrol, un hidroxiestilbeno presente en uvas y vino tinto, es un potente inhibidor de la actividad del transportador facilitativo de hexosas GLUT1 (Park, JB *J. Nat. Prod. 64*, 381, 2001). Con el propósito de caracterizar el tipo de interacción de resveratrol con Glut1 se llevaron a cabo ensayos de inhibición del eflujo de D-Glucosa en eritrocitos humanos en condiciones trans-zero. En estas condiciones resveratrol mostró un IC_{50} de 18 μM. Ensayos de doble inhibición en presencia de citocalasina B y de floretina, muestran que el efecto de resveratrol fue competido por citocalasina B pero no por floretina. Por otra parte, estudiamos el efecto de resveratrol sobre el transporte de desoxiglucosa en células linfoides humanas U937; en ensayos trans-cero de entrada el IC_{50} fue de 40 μM. Estas células expresan los transportadores GLUT1 y GLUT3. Ensayos *in vivo* con las células en cultivo muestran que resveratrol inhibe la proliferación celular de manera dependiente del tiempo y de la dosis. Los resultados son acordes con la noción que resveratrol se une a GLUT1 por su cara endofacial y sugieren que resveratrol parece inhibir la proliferación celular a traves del bloqueo del transporte de glucosa (Financiado por FONDECYT 1020908 y 1060198).

3. GLUT1 PRESENTA DIFERENTES SITIOS EXOFACIALES DE UNIÓN PARA INHIBIDORES (Glut1 presents different inhibitor exofacial binding sites).

Ojeda, P.[1], Mauricio Vargas[1], Alejandro Albornoz[1], Pablo Bulnes[1], Ximena Valenzuela[1,2] y Alejandro M. Reyes[1]
[1]Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia y [2]Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile (areyes@uach.cl)

La principal fuente de energía para las células animales, las hexosas, es transportada de forma facilitativa por una familia de 14 transportadores de membrana conocidos como GLUTs; el más estudiado es GLUT1 por su abundancia en distintos tipos celulares. Actualmente sabemos que GLUT1 está constituida por doce dominios transmembrana y que existen diferentes dominios involucrados tanto en la unión de ligandos reguladores como en el transporte de sustratos a través de un canal acuoso. Entre ellos existen tres regiones con homología de secuencia con sitios de unión a nucleótidos en otras proteínas, los cuales hemos modificado por mutagénesis sitio dirigida para probar su importancia funcional. Las mutantes se expresan como proteínas funcionales en ovocitos de *Xenopus laevis*. Sus propiedades cinéticas y de regulación muestran que sitios de orientación exofacial son importantes para la sensibilidad de GLUT1 a inhibidores pertenecientes a la familia de flavonas y tirfostinas. En contraste, la sensibilidad frente a metilxantinas, que también inhiben por unión a un sitio exofacial, es similar a la del transportador silvestre. Sugerimos entonces que existen al menos dos dominios exofaciales de unión para ligandos reguladores de la actividad de GLUT1 (Financiado por FONDECYT 1020908 y 1060198).

4. MODIFICACIÓN DE MOLÉCULAS DE HORMONAS VEGETALES MEDIANTE BIOTRANSFORMACIÓN CON HONGO. (Modification of vegetal hormone molecules by biotransformation with fungus).

[1,2]**Carvajal, M.**, [1]Garbarino J., [2]Peña-Cortés H., [3]Espinoza L.
[1]Laboratorio de Química de Productos Naturales. UTFSM. [2]Centro de Biotecnología. UTFSM. [3]Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear, Depto. de Química. UTFSM, Valparaíso, Chile.

La biotransformación de 2 hormonas vegetales, relacionadas con mecanismos de desarrollo y defensa contra patógenos, utilizando el sistema enzimático de un hongo "*in vivo*", generó 6 nuevas estructuras químicas con actividad biológica, no reportadas anteriormente. Entre los compuestos producidos se encuentran derivados de hidroxilación, reducción, epimerización de uno de los centros quirales de la molécula original y compuestos generados por la introducción de cadenas alifáticas laterales. Síntesis química y análisis estructural por Resonancia Magnética Nuclear (400MHz) revelan y corroboran la estereoquímica de cada derivado. Ensayos de actividad revelan que cuatro de los compuestos poseen una alta capacidad de inhibición del crecimiento de un hongo fitopatógeno a más bajas concentraciones que las observadas con la molécula original y con el control positivo de inhibición (Amfotericina). El compuesto isomerizado mostró efecto antifúngico a similares concentraciones que las utilizadas con la hormona. Este trabajo permitió establecer un método eficaz de biotransformación para la producción de nuevas moléculas con un incremento en sus propiedades bioactivas, dirigido principalmente a su aplicación en agroindustria.
Agradecimientos: Proyecto MECESUP Doctorado en Biotecnología UTFSM-PUCV *MeceUCV0206 y* Proyecto Becas Postgrado Santander Universia, Banco Santander Santiago.

5. "TÉCNICAS DE AISLAMIENTO DE ADN A PARTIR DE CABELLOS, EVALUACIÓN DE SU APLICACIÓN EN IDENTIFICACIÓN HUMANA EN CASOS FORENSES". (Different DNA isolation technics from human hair, evaluation for human identification in forensic casework).

Santander, P. y **Urrutia, O.**
Laboratorio de Criminalística Central, Policía de Investigaciones de Chile.

La determinación de perfiles genéticos mediante PCR para identificación humana, a partir de diferentes indicios y escasa cantidad de los mismos ha permitido a la criminalística el desarrollo de nuevas estrategias de investigación. En la actualidad somos capaces de genotipificar exitosamente a partir de diversas matrices biológicas. Sin embargo, la genotipificación de cabellos, dado que constituyen muestra única, presenta dificultades y limitaciones que se traducen en un rendimiento menor al 10%. En este trabajo hemos desarrollado y comparado técnicas de extracción de ADN desde cabellos, se determinó la cantidad de ADN mediante DOT-Blot con la sonda D17Z11 (específica para ADN humano, PCR en tiempo real (Quantifiler) y su posterior genotipificación por medio de la amplificación simultánea de 9 *loci* STR ("short terminal repeat") junto al marcador de sexo (D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D3S317, D7S820 y Amelogenina). Los resultados indican que la aplicación de lisis en presencia de proteinasa k y detergente aumenta el rendimiento hasta en un 50%. Los perfiles genéticos obtenidos incluyen la amplificación de al menos cinco de los nueve marcadores genéticos analizados. Además, se evaluó la integridad y constitución de la vaina (raíz), características que se relacionan directamente con el número de marcadores genéticos amplificados.

6. AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DEL RECEPTOR TIPO INSULINA I EN EL LENGUADO CHILENO *Paralichthys adspersus*. (Isolation and characterization of Insulin-like receptor I from the Chilean flounder *Paralichthys adspersus*).

Escobar, S., Álvarez M., Vera M.I. y Molina A.
Laboratorio de Biotecnología Molecular, Dpto. Cs. Biol. Universidad Andrés Bello; MIFAB.

La actividad biológica del factor de crecimiento tipo insulina I (IGF-I) es mediada a través de su receptor IGF-IR. Este receptor tiene una estructura heterotetramérica con dos subunidades α y dos β y pertenece a la familia de receptores tipo tirosina quinasa. La estructura y la función de IGF-IR son altamente conservadas en vertebrados inferiores como los peces. Su ligando induce la autofosforilación del receptor activándose y gatillando múltiples cascadas de transducción de señal, incluyendo la vía de las MAP quinasas y la vía de las IP3 quinasas. Dependiendo del contexto celular la señalización inducida por IGF-I puede llevar a la proliferación celular, la sobrevivencia, la migración y/o la diferenciación celular.
Debido a su importancia fisiológica en el desarrollo muscular, nos hemos propuesto estudiar el potencial de este gen como posible marcador molecular para el mejoramiento genético de peces de interés comercial. En este contexto aislamos el cDNA de IGF-IR del lenguado chileno, el cual codifica para una proteína de 1400 aminoácidos. Adicionalmente caracterizamos la expresión de su transcrito por RT-PCR en distintos tejidos de peces adultos y en distintas etapas de desarrollo.
UNAB DID15-03, DID23-05/R y DID04-02.

7. CARACTERIZACIÓN DEL GEN QUE CODIFICA PARA EL RECEPTOR DE LA HORMONA DE CRECIMIENTO (GH-R) EN EL LENGUADO CHILENO *Paralichthys adspersus*. (Characterization of the growth hormone receptor (GH-R) from the Chilean flounder *Paralichthys adspersus*).

Fuentes, E., Álvarez M., Vera M.I. y Molina A.
Laboratorio de Biotecnología Molecular, Dpto. Cs. Biol. Universidad Andrés Bello; MIFAB.

La hormona de crecimiento juega un rol central como regulador endocrino pluripotente de las funciones fisiológicas en vertebrados superiores. Junto con otras hormonas y factores de crecimiento regula indirectamente el crecimiento muscular. Los efectos de la GH se manifiestan a través de la activación de receptores de membrana específicos (GH-R), que desencadenan una cascada de señalización que influenciará directamente la expresión génica en las células blanco. El receptor de la hormona de crecimiento, perteneciente a la superfamilia de receptores tipo citoquina, transduce las acciones metabólicas normales y somatogénicas de la GH.
En nuestro laboratorio nos interesa estudiar la influencia de distintos genes involucrados en el desarrollo y crecimiento muscular del lenguado chileno, especie nativa con un claro potencial para diversificación de la acuicultura en Chile. Sobre esta base se aislaron tres transcritos que contienen la totalidad de la región codificante del GH-R, los cuales se diferencian en sus extremos 3' y 5' UTR. La secuencia del GH-R de lenguado codifica para una proteína de 642 aminoácidos que presenta un porcentaje de identidad de 95% comparada con el receptor en otros peces planos. Asimismo, se estudió su expresión por RT-PCR en distintos tejidos.
UNAB DID15-03, DID23-05/R y DID04-02.

8. PURIFICACIÓN Y EXPRESIÓN DIFERENCIAL DEL COPEPTIN ASOCIADO A ISOTOCINA EN HIPÓFISIS DE S. salar DESAFIADOS CON PATÓGENOS BACTERIANOS. (Purification and differential expression of Isotocin Copeptin in Salmo salar hypophysis, challenged with bacterial pathogens).

Ojeda M. y Figueroa J.
Laboratorio de Biología Molecular de Peces, Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Diversos estudios han mostrado que prolactina juega un papel fundamental en la fisiología de los peces y en procesos relacionados con la osmorregulación, principalmente durante la adaptación a agua dulce. Por otro lado, Prolactina, al igual que otras hormonas peptídicas, regula algunas funciones del sistema inmune, tanto en mamíferos como en peces.
Experimentos *in vitro* en nuestro laboratorio han demostrado que el motivo C-terminal (Copeptin) del precursor de Isotocina estimula la secreción de prolactina en carpa. Recientemente, este precursor fue también clonado y secuenciado en salmón del Atlántico. Dados estos antecedentes, desarrollamos un protocolo de purificación de copeptin a partir de pituitarias de *S. salar*. mediante el uso de extracciones con acetona ácida y cromatografías de filtración molecular e intercambio aniónico. Análisis de SDS-PAGE y Western-blot nos permiten establecer un buen grado de pureza de este polipéptido.
Adicionalmente, se cuantificó por inmunohistoquímica cromogénica la presencia del Copeptin en la región de la *rostral pars distalis* (RPD) de pituitarias, lugar donde ocurre la síntesis de prolactina. Esta evaluación se efectuó en peces sanos (alevines) y desafiados con patógenos bacterianos.
Salmón del Atlántico es una especie de gran valor comercial para nuestro país, resultando fundamental conocer la regulación de la inmunidad innata del salmón del Atlántico.
Proyecto Fondecyt 1040073

9. ESTUDIO DE LA ACTIVACION Y APOPTOSIS DE NEUTROFILOS MEDIADA POR PATÓGENOS PERIODONTALES. (Study of neutrophil activation and apoptosis by periodontal pathogens).

Puente, J.[1], Chandía, S.[1], Restaino, C.G.[1], Chaparro, A.[2], León, R.[2], Valenzuela, M.A.[1] ,Gamonal, J.[2]
[1]Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. [2]Departamento de Odontología Conservadora Facultad de Odontología. Universidad de Chile.

Se estudió la activación y apoptosis de neutrófilos normales y de enfermedad periodontal, por acción de patógenos periodontales: activación por marcadores fenotípicos, secreción de metaloproteinasas de matriz extracelular (MMPs) por zimografía y apoptosis por incorporación de ioduro de propidio (PI).
Los neutrófilos se purificaron desde sangre periférica de pacientes con periodontitis crónica sin tratamiento y de controles sanos. Se incuban 10^6 cel/ml con extractos de *Actinobacillus actinomycetemcomitans (Aa)*, *Porphyromonas gingivalis (Pg);* LPS *E.coli* por periodos de 1, 4 y 8 h. La apoptosis (PI) y marcadores fenotípicos, CD62L y CD11b, se determinaron por citometría de flujo. En sobrenadantes de la incubación se determinaron proMMP-9 y proMMP-2, por zimografía en geles de poliacrilamida-SDS.
Los neutrófilos patológicos presentaron valores menores que los controles de CD62L y apoptosis. El efecto de Pg, Aa y LPS mostró una disminución de la expresión de CD62L en neutrófilos de pacientes y controles, en relación a los valores basales. Pg y LPS estimularon la secreción de proMMP-9 en las muestras de los pacientes, en relación a los controles. En conjunto estos resultados sugieren que los neutrófilos patológicos presentan activación y una menor apoptosis.
Proyecto CSIC-U.Chile

10. "POTENCIAL ANTINEOPLÁSICO DE 4,4-DIMETIL-5-8-DIHIDROXINAFTALENO- 1- ONA (DHN) Y 9,10-DIHIDROXI-4,4-DIMETIL-5,8-DIHIDRO-L(4H)-ANTRACENO(DHA)". (Antineoplasic potential of 4,4-Dimethyl-5-8-dihidroxinaftaleno- 1- one (DHN) y 9,10-dihydroxy-4,4-dimethyl-5,8-dihydro-l(4H)-antracene(DHA)

Simon, J.[1]; Montoya M.[1]; Puente J.[1]; Araya R.[2] y Miranda D.[1]
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular[1]; Departamento de Química Orgánica y Fisicoquímica[2]. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

Dada la importancia de desarrollar nuevos y mejores agentes quimioterapéuticos se investigó el potencial antineoplásico de DHN y DHA. Para ello se llevaron a cabo los siguientes estudios: evaluación del efecto sobre la viabilidad celular de células normales y tumorales mediante el método de exclusión de azul de tripan; efecto sobre señales proinflamatorias cuantificando la expresión de COX-2 mediante inmunowesterblot; efecto sobre la inmunidad innata midiendo la actividad citotóxica NK y la generación de ROS y cambios en el potencial de membrana mitocondrial mediante citometría de flujo. Nuestros resultados muestran que ambos compuestos inhiben de forma selectiva la proliferación de células tumorales. Además, DHA inhibe la expresión de COX-2 y exhibe un mayor efecto sobre la despolarización de membrana mitocondrial. No se observó generación de ROS ni tampoco hubo efecto sobre la actividad citotóxica de células NK.
Podemos concluir que DHA ejerce una importante acción antitumoral probablemente por una acción a nivel de la despolarización de membrana mitocondrial.
Financiamiento: Concurso Memorias 2005 Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Proyecto Fondecyt 1030916 (R.A.)

11. ANOTACION AUTOMATIZADA DE GENOMAS PROCARIONTES USANDO "SEAGA": SISTEMA EXPERTO PARA LA ANOTACION AUTOMATIZADA DE GENOMAS. (Automated annotation of prokaryotes genomes using "SEAGA": Expert System for Automated Genome Annotation).

Domínguez C.; Huaiquimilla H.; Bravo A., Jaña N. & Pérez-Acle, T.Centro de Genómica y Bioinformática (CGB), Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile

La generación de datos biológicos ha experimentado un crecimiento exponencial durante la era genómica. Este hecho ha forzado el desarrollo de herramientas y métodos eficientes para el manejo y ponderación de la información, desde donde resulten perceptibles los patrones comunes discriminando el sesgo entrópico de los mismos. En este contexto nuestro laboratorio ha desarrollado un sistema experto, denominado SEAGA, cuyo propósito inicial fue la anotación y reconstrucción metabólica automatizada del genoma del patógeno de salmónidos *Piscirickettsia salmonis*. SEAGA utiliza una base de datos propia (LifeBase) que integra y relaciona los datos provenientes de KEGG, INTERPRO y COG. En LifeBase, cada secuencia se ha explorado para definir la familia, dominios y sitios funcionales asignables a partir de los patrones INTERPRO. Cada secuencia presente en esta base de datos ha sido agrupada según su número EC y su intersección con COG. A partir de esta intersección, las secuencias fueron agrupadas de acuerdo a su relación KO (KEGG-COG), construyéndose modelos de Markov a partir de alineamientos múltiples, los cuales extienden y redefinen la representación de secuencias funcional y evolutivamente relacionadas. Se presenta el resultado de la anotación y reconstrucción metabólica de *P. salmonis* así como el funcionamiento de SEAGA.

12. EVALUACIÓN DE MODELOS COMPARATIVOS USANDO SIMULACIONES DE DINÁMICA MOLECULAR. (Assesment of comparative models using molecular dynamics simulations).

Gárate, J. A. & Perez-Acle T.
Centro de Genómica y Bioinformática (CGB), Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

El modelamiento molecular de proteínas por métodos comparativos requiere de la existencia de herramientas evaluadoras de la calidad de los modelos generados. Múltiples herramientas actualmente disponibles permiten la evaluación de estos modelos, donde la certeza de la evaluación depende directamente de la identidad de secuencia. Datos provenientes de nuestro laboratorio demuestran que modelos generados con baja identidad de secuencia, son estables bajo protocolos de dinámica molecular, a menos que se produzcan errores durante el alineamiento múltiple. Con el objetivo de generar una metodología dinámica de evaluación de modelos comparativos se generó una base de datos (BD) de estructuras cristalográficas provenientes de PDB. Para toda la BD se realizaron búsquedas de patrones usando BLAST-P, siendo seleccionados aquellos cuya identidad de secuencia se ubicase entre 30% y 50%. Usando estos patrones, se generaron una serie de modelos comparativos correctos e incorrectos. Estos últimos fueron producidos generando aperturas aleatorias en los alineamientos. Los modelos resultantes fueron evaluados por diversas herramientas, siendo sometidos a un protocolo de Dinámica Molecular en solvente explícito y condiciones esféricas de borde. Los modelos generados en forma errónea presentaron altos RMSD (> 3Å) en relación al los cristales de referencia, y sus evaluaciones decayeron significativamente respecto de las iniciales, demostrando el poder de la evaluación dinámica.

13. ANÁLISIS DEL PERFIL DE ENERGÍA LIBRE DE UNIÓN DEL K^+ Y DE LA CONCENTRACIÓN LOCAL DE IONES EN LA REGIÓN EXTRACELULAR DEL CANAL H*SLO*. (Extracellular h*Slo* channels vestibule: Analysis of the binding free energy profile of the K^+ and of the local ion concentration).

Saavedra. G.*§, Vidal M.A.*§, Urbina H.*, González W.*, González-Nilo F.*, Carvacho I.&§ y Latorre R.&
*Centro de Bioinformática, Universidad de Talca, 2 Norte 685, Talca, &Centro de Estudios Científicos, Av. Arturo 514, Valdivia y §Universidad Austral de Chile, Valdivia.

El canal de potasio humano h*Slo* estructuralmente es un tetrámero. Este canal posee una alta conductancia de iones K^+ (250 pS) y es selectivo a este ión a través de un motivo estructural (TVGYGD) que discrimina K^+ por sobre otros cationes monovalentes. Esta secuencia está conservada en todos los canales de K^+ y se conoce como filtro de selectividad. Mutaciones en residuos cargados de la región intracelular y del filtro del canal afectan la conductancia y la concentración local de K^+ (Brelidze y col., 2003 y Haug y col., 2004). Se postula que la región extracelular de h*Slo* modula la concentración local de iones K^+. En este sentido se analizaron las mutaciones D326N, E329Q y D326NE329Q de la región extracelular del canal h*Slo* a través del cálculo de perfil de energía libre de unión (PMF) y de la densidad local de iones K^+. Los resultados del cálculo de PMF y de mediciones electrofisiológicas de conductancia muestran que la mayor contribución electrostática está dada por el residuo D326, mientras que el residuo E329 no tiene ningún efecto en la conductancia ni en las propiedades estructurales y energéticas del canal. De los resultados de la dinámica molecular se puede concluir que el residuo D326 modula la concentración local de iones K^+ en la región extracelular del canal.
Agradecimientos: González-Nilo F. Fondecyt # 1040254, Latorre R. Fondecyt # 1030830.

14. CAVIDAD INTRACELULAR DEL CANAL H*SLO*: ANÁLISIS DEL PERFIL DE ENERGÍA LIBRE DE UNIÓN DEL K^+ MEDIANTE SMD. (Intracellular h*Slo* channels vestibule: Analysis of the binding free energy profile of the potassium ion with SMD).

Vidal, M. A.*§, Saavedra G.*§, Urbina H.*, González W.*, González-Nilo F.*, Carvacho I.&§ y Latorre R.&
*Centro de Bioinformática, Universidad de Talca, 2 Norte 685, Talca, &Centro de Estudios Científicos, Av. Arturo 514, Valdivia y §Universidad Austral de Chile, Valdivia.

La metodología de Dinámica Molecular Dirigida (Steered Molecular Dynamics, SMD) aplica vectores de fuerzas externas dependientes del tiempo a uno o más átomos en un sistema molecular. Simulaciones con SMD permiten obtener el perfil de energía libre de un ión a lo largo de una coordenada de reacción. El canal de potasio humano dependiente de voltaje y de Ca^{++} intracelular (h*Slo* o BK_{Ca}) presenta una alta conductancia de K^+ (250 pS) y posee un motivo estructural (TVGYGD) que selecciona K^+ por sobre otros cationes monovalentes. En la región intracelular del canal se ha observado que mutaciones de residuos cargados disminuye la conductancia a potenciales positivos (Brelidze y col., 2003). En este trabajo se calcula la concentración local iónica y se determina la energía libre de unión del K^+ a través de una coordenada de reacción que va desde un sitio en la cavidad del canal h*Slo* hasta el medio intracelular. Estos cálculos fueron realizados para wild type y las mutantes E386NE389N y E386KE389K. Los resultados de dinámica molecular muestran una menor estabilidad del K^+ en la cavidad y una disminución de la densidad iónica para los canales mutados; además se observaron pequeñas diferencias de energía libre entre las dos mutantes. El rol de los aminoácidos E386 y E389 es esencial en la estabilización y en la concentración local de iones potasio en la cavidad del canal h*Slo*.
Agradecimientos: González-Nilo F. Fondecyt # 1040254, Latorre R. Fondecyt # 1030830.

15. ASPECTOS MOLECULARES DE LA INTERACCIÓN NUCLEÓTIDO-CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRÚVICA. (Molecular aspects of nucleotide-phosphoenolpyruvate carboxykinase interaction).

Vergara, A., Arenas, M., González-Nilo, F. y Cardemil, E.
Centro de Bioinformática y Simulación Molecular, Universidad de Talca, Talca, y Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago.

Los recientes datos cristalográficos de la carboxiquinasa fosfoenolpirúvica (PEPCK) dependiente de ATP (*E. coli*, *T. brucei*, otras.) y de la PEPCK dependiente de GTP de hígado humano, constituyen un excelente punto de partida para analizar los fundamentos estructurales que gobiernan la especificidad de sustrato de estas proteínas. Si bien ambos tipos de PEPCKs (dependientes de ATP y de GTP) poseen un sitio catalítico casi idéntico, ambas proteínas poseen diferencias significativas en su estructura terciaria y en el bolsillo que reconoce la base nitrogenada (Ade o Gua).
Este estudio se focaliza en entender el mecanismo por el cual diferentes interacciones específicas del sitio activo permiten discriminar entre una base y otra. Para realizar este estudio se utilizaron técnicas de simulación de acoplamiento proteína-ligando (Docking), considerando el sitio activo flexible (ICM) durante la búsqueda conformacional. Esta estrategia de cálculo se utilizó para el análisis de las interacciones NTP-PEPCK y NDP-PEPCK, tanto para la PEPCK en estado conformacional abierto como en el cerrado. Los resultados muestran una afinidad energética en acuerdo con resultados experimentales (ATP > GTP) en la PEPCK de levadura. Además, se observa que la interacción electrostática de los fosfatos apantalla fuertemente las interacciones específicas de las bases, lo que proporciona una mayor afinidad para los nucleótidos difosforilados que los trifosforilados (ΔNDP > ΔNTP). De esta forma, estos cálculos permiten tener una visión atómica coherente entre lo esperado y lo observado en relación a la afinidad de la PEPCK por diferentes nucleótidos. AGRADECIMIENTOS: FONDECYT 1030760

16. ESTUDIO *IN SILICO* DEL MECANISMO DE ACTIVACIÓN EN LOS RECEPTORES CANNABINOIDES (CB_1). (*in silico* study of activation mechanism in cannabinoid receptors (cb_1)).

González, A., Sepúlveda L., Lagos C., Garate J.A., Araya R. y Pérez-Acle, T.
Centro de Genómica y Bioinformática (CGB), Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile

Los receptores de cannabinoides tipo 1 (CB_1) son proteínas de membrana pertenecientes a la familia de receptores acoplados a proteínas G (GPCRs) caracterizados por la presencia de siete hélices de transmembrana (TM 1 a 7). Numerosos estudios han concluido que en general los GPCRs existen en dos conformaciones en equilibrio; inactiva (**R**) y activa (**R***). El objetivo de nuestro trabajo es entender a nivel estructural los mecanismos que gobiernan la transición entre ambos estados para CB_1. Para ello se desarrolló modelo molecular del receptor sobre el cual se condujeron diversos protocolos de Simulación Molecular *ad hoc*. Como resultado se proponen dos estructuras correspondientes a los estados **R** y **R***. Se discuten además los cambios producidos durante la transición **R → R*** dominados por la rotación de las hélices TM3 y TM6 inducida por variaciones en el estado rotamérico de residuos aromáticos F3.36 y W6.48 y ruptura del enlace iónico (R3.50/D6.30) en los extremos citoplasmáticos de ambas hélices. Los resultados en su conjunto aportan al entendimiento a nivel estructural del proceso de activación del receptor CB_1.

17. CLASIFICACIÓN ENZIMATICA NO SUPERVISADA USANDO PATRONES INTERPRO. (Enzymatic unsupervised classification using InterPro patterns).

[1]**Huaiquimilla, H.**, [1]Domínguez C., [2]Rueda L. & [1]Perez-Acle T.
[1]Centro de Genómica y Bioinformática, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica.
[2]Departamento de Ingeniería Informática y Ciencias de la Computación, Universidad de Concepción.

La relación entre la estructura y la secuencia de una proteína es un hecho bien establecido desde los clásicos trabajos de Chothia y Lesk (1986). Sin embargo esta relación no ha podido ser extendida de igual forma entre la secuencia y la función proteica. Tomando en cuenta estos antecedentes el objetivo del presente proyecto se constituye en la predicción de la función de secuencias proteicas, definida por la participación de la proteína en una ruta metabólica, a partir de la presencia en su secuencia de patrones (IPR) provenientes de la base de datos InterPro. Para estos fines se generó una base de datos propia que contiene todos los posibles patrones IPR presentes en secuencias que pertenecen a diversas rutas metabólicas bajo un número EC, y que se encuentran catalogados en la base de datos KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*). Mediante el desarrollo de un clasificador de aprendizaje no supervisado se procedió a realizar la reconstrucción metabólica de la bacteria *E. coli* y la planta *A. thaliana* a partir de las secuencias proteicas de estos organismos.

18. ESTUDIOS DE ACOPLAMIENTO MOLECULAR DE LIGANDOS DEL RECEPTOR CANABINOIDE CB1. (Molecular docking studies on the cannabinoid receptor CB1).

Araya, R. Carlos Lagos, Angel Gonzalez & Tomás Pérez-Acle
Centro de Genómica y Bioinformática (CGB), Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile

Existen dos isoformas de receptores de cannabinoides endógenos CB1 y CB2, cuya distribución varía en dependencia del tipo celular y el tejido en que se expresan. CB1 es ubicuo en sistema nervioso central y músculo esquelético. Este representa un blanco terapéutico de importancia en la industria farmacéutica por sus implicancias en la sensación del dolor y control del apetito. Con el fin de explorar los cambios producidos en el sitio de unión de ligandos de CB1 entre las conformaciones activa (*R**) e inactiva (*R*) y sus implicancias en la selectividad de ligandos, se realizaron una serie de análisis para caracterizar el sitio de unión en ambos estados, así como simulaciones de acoplamiento molecular automatizado. Para los ensayos de acoplamiento molecular se utilizaron una serie de compuestos canabimiméticos del tipo canabinoides, aminoalquilindoles y diarilpirazoles cuya actividad ha sido previamente reportada. Nuestros resultados muestran cambios significativos en la distribución del espacio disponible para la unión de ligandos dentro del receptor entre ambos estados. El estado *R* presenta un bolsillo compuesto de tres cavidades disponibles para ser ocupadas por ligandos. El estado *R** presenta a su vez un bolsillo con solo dos cavidades. Se presentan modelos farmacofóricos para los modos de unión de los ligandos a los estados *R* y *R**.

19. DETECCION DE LA INTERACCIÓN ENTRE FBPASA HEPÁTICA Y ALDOLASA B MEDIANTE FRET Y SU REGULACIÓN POR EL ESTADO METABÓLICO DE LA CÉLULA. (FBPase and aldolase B interaction determined by FRET and the influence of the cell metabolic conditions).

Droppelmann, C.A.*†, Yañez, A.J.*, Grez, M.#, Guinovart, J.J.‡ and Slebe, J.C.*
*Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile, Valdivia; #Georg-Speyer Haus, Frankfurt, Alemania e ‡Instituto de Investigaciones en Biomedicina-Universidad de Barcelona, España. †Dirección actual: Pontificia Universidad Católica de Chile.

Hemos analizado nuevos mecanismos reguladores de la enzima gluconeogénica fructosa-1,6-bisfosfatasa (FBPasa), demostrando que la zonación y compartimentación son importantes en su regulación. En este trabajo se estudió la localización e interacción entre las isoenzimas hepáticas de FBPasa y aldolasa (aldolasa B), utilizando diversas estrategias experimentales. Demostramos que la localización celular y la interacción de estas enzimas *in vitro* fue modulada por diferentes condiciones metabólicas, y por efectores de FBPasa (F-6-P, F-2,6-P_2, AMP, F-1,6-P_2, DHAP, K^+), respectivamente. Adicionalmente, se pudo observar por primera vez la interacción entre FBPasa y aldolasa B *in vivo* a través de experimentos de transferencia de energía de resonancia de fluorescencia (FRET). No se detectó interacción entre FBPasa hepática y aldolasa A (isoforma muscular). Esta es la primera vez que se correlaciona la co-localización *in vivo* de FBPasa hepática y aldolasa B, con una interacción directa y específica entre estas isoenzimas. Estos antecedentes contribuyen a comprender la regulación de la formación de complejos proteicos específicos, claves en la canalización de sustratos en un contexto celular. (FONDECYT 1051122; Conicyt AT/403167; MECESUP AUS 0006).

20. REGULACIÓN DEL FLUJO POR LA VIA DE SÍNTESIS DE GLICÓGENO EN OOCITOS DE ANFIBIO. (Flux regulation through the glycogen synthesis pathway in frog oocytes).

Preller, A., **Quiroga, D.**, Wilson, C.A.M. & Ureta, T.
Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Los oocitos de rana metabolizan la glucosa preferentemente hacia la síntesis de glicógeno (95%). La síntesis del polisacárido ocurre tanto por la vía directa como por la indirecta. La operación preferencial de una u otra vía depende de la concentración de glucosa administrada a las células. En este trabajo hemos aplicado los postulados del análisis del control metabólico (MCA) para estudiar *in vivo* la regulación del flujo por la vía directa. La cuantificación de la influencia de cada enzima en la vía se expresa en términos de su coeficiente de control. Ello implica variar el contenido intracelular de cada enzima participante en la vía y medir los flujos correspondientes (glucosa radiactiva incorporada en glicógeno por unidad de tiempo). Los coeficientes de control obtenidos para las enzimas que se indican fueron los siguientes: 0,5 para hexoquinasa, 0,19 para la fosfoglucomutasa y 0,12 para la UDP-glucosa pirofosforilasa. Aunque los estudios para la glicógeno sintasa están en proceso, dado que la suma de los coeficientes de control para las enzimas participantes en una vía es igual a 1, los resultados obtenidos sugieren que la hexoquinasa es la enzima que mayoritariamente controla el flujo por la vía directa. Hemos encontrado además que esta enzima no afecta el flujo por la vía indirecta. FONDECYT 1040886.

21. MECANISMO DE LA 20-OXIDASA DE GIBERELINAS EN EL HONGO *FUSARIUM FUJIKUROI*. (Mechanism of gibberellin 20-oxidase in *Fusarium fujikuroi*).

Troncoso, C., Cárcamo, J., Rojas, M.C.
Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Las giberelinas (GAs) son una familia de diterpenos tetracíclicos (C20) sintetizados como metabolitos secundarios por el hongo *F. fujikuroi*, que presentan actividad estimuladora del crecimiento y desarrollo de las plantas. La actividad biológica depende de la función 19,10γ-lactona que se genera por oxidación del metilo 20 hasta CO_2. En el hongo esta reacción es catalizada por una monooxigenasa P450 (P450-2) a diferencia de los sistemas vegetales en que participan dioxigenasas dependientes de 2-oxoglutarato. P450-2 forma dos productos, la γ-lactona (C19), derivado de la oxidación hasta CO_2 y el ácido tricarboxílico. Los electrones que requiere la reacción son aportados por la citocromo P450 reductasa (CPR). No se acumulan productos de oxidación intermedios ni se han descrito intermediarios para esta reacción. Utilizando una mutante de *F. fujikuroi* que carece de CPR, en la que la monooxigenasa P450-2 presenta una eficiencia catalítica reducida en un orden de magnitud, se investigó el metabolismo de los sustratos ^{14}C-GA_{14}, ^{14}C-GA_{12} (C20 metilo) y de las GAs C20 alcohol y C20 aldehído, tanto hidroxilados (^{2}H-GA_{37}, ^{2}H-GA_{36}) como no hidroxilados (^{14}C-GA_{15}, ^{14}C-GA_{24}). Los precursores fueron metabolizados hasta el producto tricarboxilato. Las GAs C20 alcohol formaron además productos C20 aldehído, como se espera para intermediarios de la secuencia de oxidación. Ninguno de los precursores fue metabolizado hasta el producto lactónico. La posible participación de intermediarios unidos covalentemente a la enzima se investigó mediante incubaciones del precursor GA_{12} en $H_2{}^{18}O$ o alternativamente en una atmosfera de $^{18}O_2$:N_2 y análisis del contenido de ^{18}O en los productos mediante espectrometría de masa.
Financiado por FONDECYT 1020140

22. LOCALIZACIÓN SUBCELULAR DE UNA NUEVA VARIANTE DE EMPALME DE LA ISOFORMA HEPÁTICA DE FBPASA EN PANCREAS DE RATA. (Subcellular localization of a new FBPase splicing variant in rat pancreas).

Montero, F., Bertinat, R., Velazques, Z., Quezada, C., Cárcamo, J.G., Concha, I.I,, Yáñez, A.J. y Slebe, J.C.
Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile.

Se ha propuesto la ausencia de enzimas gluconeogénicas en páncreas. Sin embargo, nosotros demostramos que la isoforma hepática de fructosa-1,6-bisfosfatasa (FBPasa) se expresa en páncreas de rata. Mediante análisis de inmunohistoquímica determinamos que la enzima se presenta principalmente en el páncreas endocrino desde el primer día de vida. Estos resultados fueron confirmados en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina, pues mostraron una reducción coordinada en el número de células que coexpresan FBPasa e insulina. Notablemente, el clonamiento de FBPasa de páncreas reveló la deleción de un péptido comprendido entre los residuos 108-114. Análisis computacional de este péptido mostró que corresponde a una secuencia de localización nuclear de FBPasa hepática. Estos datos sugieren que páncreas expresa principalmente una variante de empalme de la isoforma hepática de FBPasa. Al determinar la distribución subcelular de esta enzima encontramos que se localiza en el citoplasma de la célula β, independientemente del estado metabólico del animal. FBPasa mostró un patrón puntiforme y un moderado grado de co-localización con insulina. Esta distribución subcelular sugiere que FBPasa estaría asociada a una población específica de vesículas con insulina, indicando que ella podría jugar un papel importante en el desarrollo y función de las células productoras de insulina. (FONDECYT 1051074; 1051122, DID-UACh).

23. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE HONGOS COMESTIBLES Y SAPROFITOS CHILENOS. Antimicrobial activities of Chilean edible mushrooms and saprophytic

Carrasco, C., Bittner, M., Aqueveque, P., Becerra, J. y M. Silva
Laboratorio de Química de Productos Naturales. Departamento de Botánica, Universidad de Concepción.

Los basidiomicetes presentan una alta capacidad de producción de metabolitos biológicamente activos provenientes de sus rutas biosintéticas básicas y la combinación de estas, donde se encuentran compuestos antibacterianos, antifúngicos, antivirales, citotóxicos, antitumorales, reguladores de crecimiento entre otros.
Se evaluó la actividad antimicrobiana de los extractos obtenidos a partir de cuerpos fructíferos de 7 hongos comestibles y extractos de cultivo micelial líquido de 10 hongos saprófitos no comestibles mediante un antibiograma con 6 cepas bacterianas de importancia clínica y 5 cepas de hongos patógenos. El 70% de los hongos saprófitos no comestibles presentó actividad antifúngica y un 30% antibacteriana. En cuanto a los hongos comestibles estos presentaron actividad antifúngica y antibacteriana débil en ambos casos. Según los resultados obtenidos los hongos saprófitos presentan mayor actividad biológica que los comestibles. Se espera aislar e identificar los compuestos biológicamente activos mediante técnicas cromatográficas y espectroscópicas.
Agradecimientos: A la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas y al Proyecto FONDECYT N° 1040445.

24. EXPANDIENDO LAS ESTRATEGIAS EN LOS ESTUDIOS DE PRODUCTOS NATURALES: UNA INVESTIGACIÓN QUÍMICA DE HONGOS AISLADOS DESDE SEDIMENTO DE BAHÍA CONCEPCIÓN Y EXTERIOR, CHILE. (Expanding the strategies in natural products studies: a chemical investigation of fungi isolated from marine sediment of Bahía Concepción and exterior, Chile).

Gallardo, C.[a], Becerra, J.[a], Franco,C.[b], San Martín, A.[c], Aqueveque,P.[a] y Reinoso, R.[a]
[a]Laboratorio de Química de Productos Naturales, Universidad de Concepción. [b]Departamento de Ciencias Ambientales, Universidad Católica de la Santísima Concepción. [c]Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Como parte de la obtención de nuevas moléculas bioactivas a partir de microorganismos, se realizó un screening con hongos filamentosos aislados desde sedimentos de Bahía Concepción y de una zona externa a esta.
Se aislaron 64 cultivos miceliales puros, de los cuales 18 fueron cultivados en medios líquidos y sólidos. Al término de los cultivos estos fueron extraídos con solventes orgánicos a los cuales se les evaluó su actividad antibacteriana, antifúngica y antioxidante.
El 77% de las cepas cultivadas poseen alguna actividad. 39% son antibacterianos, 72% antifúngicos y 77% antioxidantes. De este grupo, la cepa 2S28 determinada como *Aspergillus sp.* mostró una potente actividad antibacteriana, por lo cual se cultivó a mayor escala para aislar la(s) molécula(s) bioactiva(s).
A través de técnicas cromatográficas se aisló y purificó un compuesto activo contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Botritis cinerea* y *Phragmidium violaceum*.
La elucidación estructural mediante espectroscopia y concentración mínima inhibitoria se encuentran en estudio.
Agradecimientos: Proyectos Fondecyt N° 1040895 y N° 1040445

25. MODELO DE DIABETES EN RATAS INDUCIDA CON ESTREPTOZOTOCINA Y SU CORRELACIÓN CON DAÑO RENAL. (STZ-diabetic rat model correlates with kidney damage).

Westermeier, F., Gatica, R., Salas M., Morales, D., Pérez, M., Vivar, J., Carpio, D., Slebe, J.C. y Yáñez, A.J.
Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile.

La diabetes mellitus es un desorden metabólico caracterizado por una hiperglicemia crónica derivada de alteraciones en el metabolismo de carbohidratos. Se ha utilizado estreptozotocina (STZ) en ratas y ratones para generar modelos de animales diabéticos. En nuestro laboratorio establecimos un modelo de ratas Sprague Dawley mediante la administración endovenosa de 55 mg/Kg de STZ. Se obtuvo un 90% de individuos diabéticos a partir de la primera semana postadministración y con una tasa de mortalidad de un 40%. Para establecer el efecto diabetogénico se midió la proteinuria, glucosuria y glicemia. Este último parámetro fue utilizado para distribuir los individuos en grupos homogéneos de acuerdo a su glicemia (moderada 200-300 mg/dl; severa 300-400; aguda 400-500 mg/dl) durante 2, 4, 6 y 8 meses de diabetes. Análisis mediante microscopía electrónica mostró la presencia de glicógeno en riñones de ratas diabéticas de 6 y 8 meses. Los resultados mostraron diferencias individuales en la inducción de síntesis de glicógeno inducida por diabetes a largo plazo. Cabe destacar que estos cambios en el metabolismo glucídico se correlacionan con la aparición de cambios morfológicos característicos de nefropatía diabética como es esclerosis glomerular, expansión mesangial y dilatación tubular, entre otros. Estos antecedentes sugieren que existe una estrecha relación entre el daño renal y alteraciones en el metabolismo glico y gluconeogénico. (FONDECYT 1051074, DID-UACh).

26. SÍNTESIS DE GLICÓGENO POR LA VÍA INDIRECTA EN OOCITOS DE RANA (*Caudiverbera caudiverbera*): LOCALIZACION SUBCELULAR Y CARACTERIZACION PARCIAL DE LACTATO DESHIDROGENASA. (The indirect pathway of glycogen synthesis in frog oocytes (*Caudiverbera caudiverbera*): Sub-cellular location and partial characterization of lactate dehydrogenase).

Guerrero, R; Preller. A y Kessi, E.
Departamento de Ciencias Biológicas Animales. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias; Departamento de Biología Facultad de Ciencias. Universidad de Chile.

En oocitos de rana la síntesis de glicógeno procede a través de la vía indirecta, con aparición de lactato como intermediario, cuando la concentración de glucosa es baja. No obstante, la microinyección de lactato radiactivo no resulta en su incorporación al glicógeno. Estas observaciones, junto con evidencia que sugiere que lactato deshidrogenasa (LDH) se localizaría en las mitocondrias, hacen interesante investigar la localización de la enzima en oocitos de rana y caracterizar parcialmente su actividad.
Mediante fraccionamiento subcelular por centrifugación diferencial se determinó que LDH está presente en la fracción citoplasmática y ausente en la fracción mitocondrial en oocitos de rana. La caracterización parcial de la enzima muestra que existen dos fracciones (separables mediante cromatografía de intercambio iónico) notablemente similares en sus valores de K_m para los sustratos y pH óptimo. Los resultados permiten concluir que la localización de LDH en el citoplasma no explica la nula incorporación de lactato en glicógeno. Una explicación alternativa puede ser la existencia de un complejo en el cual los intermediarios están canalizados y que por tanto no permite la incorpración de lactato en glicógeno. (Proyecto Fondecyt 1040886)

27. ETAPAS OXIDATIVAS EN LA PRODUCCIÓN DE FITOHORMONAS DITERPÉNICAS POR HONGOS DEL GÉNERO *SPHACELOMA*. (Oxidative steps in diterpene phytohormone production by fungal *Sphaceloma* species).

Castillo, A., Fuentes, P., Ponce, I., Troncoso, C. y Rojas, M.C.
Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Las giberelinas son fitohormonas diterpénicas producidas como metabolitos secundarios por tres géneros de hongos. Su biosíntesis ha sido caracterizada en detalle por nuestro grupo en el hongo *Fusarium fujikuroi*, en el que participa la *ent*-kaureno sintetasa soluble y cuatro monooxigenasas P450 unidas a membranas. Investigamos la estructuración molecular de este proceso en dos hongos del género Sphaceloma, *Sphaceloma manihoticola* y *Sphaceloma rhois*. Mediante la administración de precursores marcados con ^{14}C a cultivos e identificación de los productos del metabolismo, se pudo establecer la secuencia de reacciones biosintéticas a partir del ácido *ent*-kaurenoico. Los productos finales de la vía son la giberelina lactónica 3β-hidroxilada GA_4 (producto principal) y la lactona no hidroxilada GA_9 (producto minoritario). Las reacciones de 13-hidroxilación y de desaturación 1,2 están ausentes en estos microorganismos. La hidroxilación en 3β ocurre principalmente a nivel del GA_{12} aldehido aunque parece también ocurrir en etapas posteriores de la secuencia biosintética. La velocidad de utilización de los precursores ácido 7β-hidroxi[^{14}C]kaurenoico y [^{14}C]GA_{12} aldehído en medios de cultivo con distinto contenido de compuestos nitrogenados indica que la biosíntesis de GAs está regulada por nitrógeno. La utilización de los precursores ocurre a una velocidad 10-20 veces mayor en los medios que no contienen nitrógeno con respecto a medios que contienen NH_4NO_3 u otros compuestos nitrogenados, similar a los descritos para *F. fujikuroi*. Las actividades de *ent*-kaureno sintetasa y de las oxidasas de giberelinas *ent*-kaureno oxidasa, *ent*-kaurenoico oxidasa y 20-oxidasa fueron estudiadas en fracciones microsomales y solubles obtenidas desde el micelio.
Trabajo financiado por FONDECYT 1061127.

28. CARACTERIZACIÓN DE OXIDASAS DE GIBERELINAS EN EL HONGO FILAMENTOSO *FUSARIUM KONZUM*. (Characterization of gibberellin oxidases from *Fusarium konzum*).

Ponce, I., Troncoso, C., Fuentes, P., Castillo, A., y Rojas, M.C.
Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

El complejo taxonómico *Gibberella fujikuroi* perteneciente al género *Fusarium* está compuesto por nueve especies fúngicas que son patógenos de distintas plantas. *Fusarium fujikuroi*, es un eficiente productor de giberelinas (GAs) cuya biosíntesis se ha caracterizado en detalle a nivel de los genes, enzimas y reacciones químicas. *Fusarium konzum*, recientemente aislado desde pastos de praderas de Kansas, es la única otra especie del complejo que sintetiza GAs. Investigamos la estructuración molecular de la biosíntesis de GAs en distintas cepas de *F. konzum*, mediante el análisis por GC-MS de las giberelinas presentes en los cultivos así como a través de la metabolización de precursores marcados con ^{14}C o ^{2}H. Los productos finales de la secuencia son las GAs hidroxiladas GA_3 y GA_1, aisladas desde el filtrado del cultivo. Los precursores fueron transformados en los productos 3β-hidroxilados [^{14}C]GA_{14} y [^{14}C]GA_4 que se generan en etapas anteriores, lo que indica que las etapas finales, de desaturación y 13-hidroxilación, presentan una baja actividad. La transformación parcial del precursor [^{14}C]GA_{12} (C20 metilo) en [^{14}C]GA_9 (C19 lactona) y [^{14}C]GA_{25} (C20 carboxilato) indica que la 20-oxidasa también tiene una baja actividad. Se detectó la GA GA20 (lactónica 13-hidroxilada) en el medio de cultivo, la que no es sintetizada por *F. fujikuroi*, cuyo origen se investigó mediante la administración de los precursores no hidroxilados [^{14}C]GA_{12} y [^{14}C]GA_9. Las propiedades catalíticas de las oxidasas de GAs de *F. konzum* se compararon con las de otras especies del complejo *G. fujikuroi*.
Trabajo financiado por FONDECYT 1061127

29. HYPERLIPIDEMIC MICE PRESENT ENHANCED OXIDATIVE METABOLISM DUE TO HIGHER MITOCHONDRIAL ATP-SENSITIVE K^+ CHANNEL ACTIVITY

Oliveira, HCF[1]; Alberici, LC[2]; Mantello, CC[2]; Patricio, PR[1]; Kowaltowski, AJ[3] ; Vercesi, AE[2].
[1]Departamento de Fisiología e Biofísica, [2]Departamento de Patología Clínica, Universidade Estadual de Campinas; [3]Departamento de Bioquímica, Universidade de São Paulo, SP, Brazil

Changes in mitochondrial energy metabolism promoted by uncoupling proteins (UCPs) are often found in metabolic disorders. We have recently shown that hypertriglyceridemic (HTG) mice present higher mitochondrial resting respiration unrelated to UCPs. Here, we disclose the underlying mechanism and consequences, in tissue and whole body metabolism, of this mitochondrial response to hyperlipidemia. Mitochondria isolated from the livers of HTG mice presented enhanced respiratory rates compared to those from wild-type mice. Changes in oxygen consumption and swelling were sensitive to ATP, diazoxide and 5-hydroxydecanoate, and lack of K^+ ions, indicating they are attributable to mitochondrial ATP-sensitive K^+ channel (mitoK_{ATP}) activity. Furthermore, mitochondrial binding to fluorescent glibenclamide indicates that HTG mice expressed higher quantities of mitoK_{ATP}. The higher content and activity of liver mitoK_{ATP} resulted in a faster metabolic state, as evidenced by increased liver oxygen consumption, higher body CO_2 release and temperature in these mice. In agreement with higher metabolic rates, food ingestion was significantly larger in HTG mice, without enhanced weight gain. These results demonstrate that primary hyperlipidemia leads to an elevation in liver mitoK_{ATP} activity, which may represent a regulated adaptation to oxidize excess fatty acids in HTG mice. Furthermore, our data indicate that mitoK_{ATP}, in addition to UCPs, may be involved in the control of energy metabolism and body weight.
Financial support: Fapesp, CNPq.

30. EFECTO DE CITRATO SOBRE LA ACTIVIDAD DE DISTINTAS ISOFORMAS DE FBPASA. (Citrate effects on FBPase isoenzymes activities).

Maureira, M., Bertinat, R., Spichiger C., Ludwig, H., Asenjo, J., Yáñez, A.J y Slebe, J.C.
Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

La fructosa-1,6-bisfosfatasa (FBPasa) es una enzima clave de la vía gluconeogénica. Cataliza la hidrólisis de fructosa-1,6-bisfosfato (Fru-1,6-P2) a fructosa-6-fosfato, requiriendo como cofactor Mg^{2+} o Mn^{2+}. Clásicamente se ha descrito que en condiciones fisiológicas FBPasa está regulada positivamente por citrato. Esta activación, aceptada para la isoforma muscular de FBPasa, fue ampliada a las otras isoformas, sin que existan datos que apoyen esta información. Por ello, estudiamos el efecto de citrato sobre la actividad de las isoformas hepáticas de FBPasa, purificadas de distintas fuentes (cerdo y rata), usando como control la FBPasa de músculo de rata. Contrario a lo esperado, los resultados demostraron que citrato inhibe la actividad de todas las isoenzimas. Se encontraron valores de Ki similares (3.0 mM aprox.) para las tres isoenzimas estudiadas. Esta inhibición mostró ser dependiente de las concentraciones de Mg^{2+}, sugiriendo que citrato podría secuestrar el cofactor (Ki 2.4mM y 7.4mM a 2mM y 5mM Mg^{2+}, respectivamente), en forma similar a lo observado con EDTA (Ki 1.4mM a 0.1mM EDTA y 2mM Mg^{2+}). Además, observamos que la concentración del sustrato, fructosa-1,6-bisfosfato, no afectó esta inhibición por citrato, indicando que no existe una pérdida de inhibición por exceso de sustrato. Finalmente, podemos concluir que nuestros datos demuestran un efecto de citrato opuesto a lo descrito en la literatura. (FONDECYT1051122; DID UACh S-200574).

FARMACOLOGÍA

31. "EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE LOS COMPUESTOS DE LA FAMILIA 2-(Oxo)AzoAlquilpiperazinilbenzo[β]tiofeno como LIGANDOS DEL RECEPTOR 5-HT_{1A}". (Biological evaluation of the compounds of the family 2-(Oxo)Azoalkylpiperazinylbenzo[β]thiophene as ligannds of the 5-HT_{1A}).

[1]Pessoa-Mahana*, H., [1]Recabarren-Gajardo, G., [1]**Toledo-Hernández, J.** [2]Fiedler-Temer, J.
[1]Departamento Química Orgánica y Fisicoquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. [2]Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

La depresión es una de las enfermedades siquiátricas más comunes, afectando a un tercio de la población mundial de distintos segmentos etarios. En Europa representa la segunda enfermedad siquiátrica de más alto impacto, lo que se traduce en elevados costos sociales y económicos. Entre las causas de la depresión se cuentan una multiplicidad de factores, entre los que se incluyen los de origen hereditario, medioambientales y/o eventos traumáticos, los cuales predisponen o gatillan episodios depresivos, aunque se acepta que la aparición de los síntomas es causado fundamentalmente por desórdenes neuroquímicos.
La investigación por más de 40 años sobre los mecanismos involucrados en el síndrome depresivo ha llevado a un gran acopio de evidencias que sostienen la idea de un importante rol de las monoaminas en la depresión. La teoría monoaminérgica modificada de la depresión sugiere que un agudo incremento en los niveles de las monoaminas en la sinapsis puede ser solo una etapa temprana en una cascada potencialmente compleja de eventos que finalmente resultan en la actividad antidepresiva. Se asume que el principal neurotranmisor implicado en esta patología es la serotonina (5-Hidroxitriptamina). La serotonina está involucrada en diversos procesos fisiológicos y patológicos, mediando su función a través de la interacción con siete clases distintas de receptores, los cuales a su vez están subdivididos en catorce subtipos diversos clasificados sobre la base de clonamiento molecular, propiedades farmacológicas, acoplamiento a segundos mensajeros y secuencia aminoacídica.
El subtipo 5-HT_{1A} es uno de los mejor estudiados siendo sus agonistas y agonistas parciales efectivos en el tratamiento de ansiedad y depresión. El receptor 5-HT_{1A} pertenece a la superfamilia de receptores acoplados a Proteína G (GPCR), los cuales contienen motivos altamente conservados en la región transmembranal. En particular los residuos los residuos Asp 3.32, Ser 5.42, Thr 5.43, Trp 6.48, Phe 6.51 se revelan importantes para la unión de los diversos ligandos al receptor. En este sentido se ha determinado como fundamental la interacción entre un nitrógeno básico, presente en el ligando, y el Asp 3.32 a través de una interacción tipo puente de hidrógeno.
Con estos antecedentes nuestro Laboratorio ha enfocado la búsqueda de nuevos ligandos para el receptor 5-HT_{1A} en la obtención de nuevos derivados de arilpiperazinas acoplados a núcleos de Benzo[*b*]tiofenos que presenten una afinidad elevada por el receptor 5-HT_{1A}, los cuales puedan ser potencialmente útiles en el desarrollo de nuevos agentes antidepresivos.
Específicamente en el presente trabajo se presenta la evaluación biológica de dos series de compuestos sintetizados en nuestro laboratorio en cuanto a su capacidad de unión al receptor 5-HT_{1A}, capacidad la que fue determinada a través de estudios de competencia de los ligandos sintetizados frente al compuesto ^{3}H-8-OH-DPAT en corteza cerebral de rata.
Agradecimientos: PROYECTO FONDECYT 1050289

32. EFECTO DE LEPTOCARPINA SOBRE EL CONTENIDO INTRACELULAR DE GLUTATION Y SOBRE LAS PROTEÍNAS DE RESISTENCIA MÚLTIPLE A DROGAS EN DISTINTOS MODELOS CELULARES. (Effect of Leptocarpin on the intracellular glutathione concentration and the multidrug resistance proteins in various cellular models).

González, M. Quezada, C. Avendaño, M. Mena, C. Yáñez, A. Slebe, J.C. Martínez, R. & Cárcamo J.G.
Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

Leptocarpina, una lactona sesquiterpénica aislada de la planta *Leptocarpha rivularis*, ha mostrado tener efecto citotóxico sobre diversas líneas tumorales humanas. El mecanismo general propuesto para estas especies químicas es por medio de la conjugación a moléculas que tiene grupos sulfhidrilos accesibles, siendo el factor de transcripción NF-*K*B el blanco celular más descrito. En ese contexto, y utilizando varios modelos celulares, estudiamos el efecto de esta lactona sobre el contenido intracelular del antioxidante glutatión, y también, el efecto de estas variaciones sobre la expresión y actividad de proteínas de resistencia múltiple a drogas (MDR) presentes en nuestros modelos celulares. Leptocarpina, de manera dosis dependiente, disminuyó el contenido intracelular de glutatión, y también la actividad funcional de al menos dos de estos transportadores (Pgp y MRP1). Estos resultados apoyan fuertemente la relación sugerida entre el estatus intracelular de glutatión y la funcionalidad de las proteínas MDR. La expresión de estas proteínas fue afectada de manera fluctuante por leptocarpina, evidenciando modulación positiva a bajas concentraciones, y lo contrario a altas concentraciones de la droga.
Financiado por PBCT-N° 5, DID-UACH SB200503 y S200529.

33. *TRYPANOSOMA CRUZI*: PCR-REAL TIME COMO HERRAMIENTA PARA MEDIR INFECCIÓN Y EFECTO TRIPANOCIDA DE DROGAS EN CULTIVOS INFECTADOS. (*Trypanosoma cruzi*: PCR-real time as a tool for infection detection and drug effects evaluation in infected cultures).

López, R., Sepúlveda, A., Faúndez, M., Torres, G., Kemmerling U., Morello A. y Maya JD.
Laboratorio de bioquímica, metabolismo y resistencia a fármacos, Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

El *Trypanosoma cruzi*, causante de la enfermedad de Chagas, es un parásito flagelado que afecta células nucleadas de mamíferos.
Tradicionalmente se cuantifica la infección a través del índice endocítico (cantidad de parásitos intracelulares por cada 100 células), este parámetro es utilizado además para medir el efecto de drogas en cultivos infectados. Este valor se calcula por visualización directa del cultivo. Sin embargo, es un método subjetivo y sujeto a sesgo por el observador.
El PCR cuantitativo ha mostrado ser eficiente en cuantificar *T. cruzi* en tejidos de ratones infectados, con una alta sensibilidad, por tanto puede ser útil para determinar exactamente la relación entre células de mamífero y parásitos presentes en un cultivo infectado, además de constituir un excelente método diagnóstico y seguimiento terapéutico.
Con este objeto se infectaron células murinas RAW 264.7 (macrófagos) con *T. cruzi* y sometidas a tratamiento con nifurtimox para determinar el efecto farmacológico de la droga respecto de la variación del índice endocítico.
Se detectó un equivalente de 0,2 copias de DNA minicírculos de *T. cruzi*. Esta sensibilidad fue confirmada al encontrar 0,74 copias del DNA minicírculos por cada 100 células en cultivo para una concentración de Nifurtimox 2,5 μM.
El IC_{50} encontrado para nifurtimox fue de 0,174±0,053 μM, cercano al valor previamente reportado para células VERO infectadas con *T. cruzi* (0,228±0,0118 μM). Esta cercanía confirma los resultados obtenidos anteriormente por microfotografía y valida la técnica de PCR en tiempo real para la obtención del índice endocítico.
Financiado por: FONDECYT 1061072 y Proyecto Anillo ACT 29

34. DERIVADOS DE ANFETAMINA Y MONOAMINO OXIDASAS: EVALUACIÓN BIOLÓGICA Y SIMULACIÓN MOLECULAR. (Amphetamine derivatives and monoamine oxidases: biological evaluation and molecular simulation).

Fierro, A.[1], Osorio-Olivares, M.[1], Edmondson, D.E.[2], Sepúlveda-Boza, S.[3], Cassels, B.K.[4], Reyes-Parada, M.[3]
[1]Facultad de Química y Biología, USACH. [2]Department of Biochemistry, Emory University, Atlanta, USA. [3]Facultad de Ciencias Médicas, USACH. [4]Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Patrocinio: Isabel Llona

La monoamino oxidasa (MAO E.C. 1.4.3.4) es la principal enzima catabólica de neurotransmisores monoaminérgicos y en mamíferos existen dos isoformas (MAO-A y MAO-B). Inhibidores selectivos de ambas MAO poseen utilidad terapéutica en desórdenes afectivos y enfermedades neurodegenerativas. Aun cuando MAO-A de rata y de humano exhiben más de 90% de homología en su secuencia, datos cristalográficos indican diferencias importantes en su estructura cuaternaria. Así, la MAO-A humana cristaliza y se comporta en ensayos funcionales como un monómero, mientras que diversos resultados sugieren que la MAO-A de rata posee una estructura dimérica *in vivo*.
En este trabajo una serie de derivados de anfetamina fueron evaluados en su actividad inhibitoria frente a MAO-A de rata y humano.
Todos los compuestos resultaron ser potentes inhibidores, pero se encontraron claras diferencias de potencia frente a las enzimas de las dos especies. Resultados de simulación molecular sugieren que las diferentes potencias inhibitorias frente a MAO-A de rata y humano se deben a que las drogas presentan modos de unión diferentes en el sitio activo de la enzima de ambas especies.
Se agradece a M. Aldeco, C. Mascayano, G. Zapata-Torres, M. Caroli-Rezende, F. González-Nilo. DICYT 020591RP, FONDECYT 1060199, CONICYT, MECESUP.

35. CITOTOXICIDAD EN *HAPLOPAPPUS SPP.* (Cytotoxicity of *Haplopappus spp*).

Caviedes P.[a], Caviedes R.[a], Opazo P.[a], Faini F[b], **Jaña F[b]**, Labbé C[b] y Torres R[c].
[a]ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Independencia 1027, Santiago, Chile. [b]Depto de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Las Palmeras 3425, Santiago, Chile. [c]Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, B.O'Higgins 3363, Santiago, Chile.

"Bailahuén" es el nombre común de al menos 9 especies de *Haplopappus* (Asterácea) de uso medicinal en Chile. Todas ellas son utilizadas desde tiempos ancestrales como hepatoprotectoras[1] sin que se tenga antecedentes concretos de toxicidad. Para validar científicamente el uso terapéutico de *Haplopappus multifolius* (HAM) y *H.taeda* (HAT), se determinó la toxicidad oral aguda en ratones de los extractos etanólicos secos, obteniéndose valores de DL_{50} superiores a 3,0 g/Kg de peso. Sin embargo, los análisis de citotoxicidad en la línea celular UCHT1[2], mostraron que a 48 hrs. de aplicados los extractos, HAM-6EF, rica en flavonoides, exhibe un aumento en la citotoxicidad de 22, 3 y 2 veces a 1, 0,6 y 0,3 mg/mL respectivamente, comparada con cultivos controles; mientras que en HAT-6ET, los responsables serían los terpenos, mostrando un aumento de 11, 3 y 1 veces a 1, 0,6 y 0,3 mg/mL respectivamente, en iguales condiciones.

Referencias

1 Montes M.,Wilkomirsky T.(1985) Medicina Tradicional Chilena, Ed. Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
2 Caviedes, P., Olivares, E., Caviedes, R., Jaimovich, E., (1993). J. Molec. Cell Cardiol. 25, 829-845.

Agradecimientos: FIA (ES-C-2005-1-A-007), FONDECYT (P1030813-2006).

BIOTECNOLOGÍA

36. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE PROTEÍNAS DE LUMINISCENCIA DEL DINOFLAGELADO TÓXICO *ALEXANDRIUM CATENELLA*. Expression and characterization of the luminescence proteins of the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella*.

Zúñiga, A., Uribe, P., y Valenzuela, P.D.T.
Fundación Ciencia para la Vida e Instituto MIFAB.

La luminiscencia es una propiedad de algunos dinoflagelados que refleja su estado fisiológico y su actividad metabólica. La luminiscencia es la emisión de de luz azul-verdosa en respuesta al estímulo mecánico generado por la agitación o movimiento del agua. Esto ocurre en pequeñas vesículas intracelulares llamadas cintillones por oxidación del pigmento luciferina por la enzima luciferasa (LCF) al ser liberado de su proteína de unión a luciferina (LBP). La luminiscencia en los dinoflagelados es regulada por el reloj circadiano endógeno y su regulación ocurre a nivel post-transcripcional. En una genoteca de cDNA (11.000 ESTs), elaborada a partir de ARN mensajero de *A. catenella*, se encontró una alta representación de secuencias de proteína de unión a luciferina (10,1%) y de la luciferasa (0.8%). A partir del aislamiento de sus genes se obtuvieron las secuencias de ambas proteínas (668 y 1.237 aminoácidos respectivamente). Estos genes no poseen intrones. La mayor identidad obtenida para la LBP fue con la de *Gonyaulax polyedra* (67%) y para la LCF fue con la de *Alexandrium tamarense* (94%). La LBP fue expresada en *E. coli*, obteniéndose un producto purificado de 80 KDa, correspondiente a la proteína completa. Además se expresó y purificó el primero de los tres dominios funcionalmente activos de la LCF.

37. CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y TOXICOLÓGICA DE UN EFLUENTE INDUSTRIAL DE CELULOSA KRAFT (Kraft mill effluent (E1) chemical and toxicological characterization).

Reyes[1], F., Chamorro[1], S., Decap[1], J., Yeber[2], M.C. y Vidal[1], G.
[1]Centro de Ciencias Ambientales EULA-Chile. Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción. [2]Facultad de Ciencias, Universidad Católica de la Santísima Concepción. Patrocinio: Dr. O. Parra.

Para identificar compuestos que causan toxicidad aguda en muestras complejas, la USEPA desarrolló la técnica de Identificación y Evaluación de la Toxicidad (TIE). El objetivo de este trabajo es identificar compuestos específicos que causan toxicidad aguda en un efluente de celulosa kraft (E1). El efluente se caracterizó físico-química y toxicológicamente al inicio y al final de cada tratamiento aplicado. Bioensayos con *Daphnia magna* muestran que el efluente es altamente tóxico (27,56%). Además, presenta una alta carga orgánica (DQO = 1348,8 mg/l; DBO_5 = 397,5 mg/l), pH (10,53), compuestos fenólicos totales (853,7 mg/l) y color (0,204 1x1 cm). Contrariamente, compuestos como fosfatos, cloratos y sulfatos presentaron bajas concentraciones (<0,16-24 mg/l). Tratamientos al efluente con carbón activado, intercambio iónico y EDTA lograron reducir la toxicidad (>45%) indicando que la toxicidad se debe a compuestos catiónicos inorgánicos. Análisis de CG-MS indican que los compuestos orgánicos no son causantes de la toxicidad determinada. La concentración de Cobre en el efluente no tratado es de 0,5 mg/l. El tratamiento con EDTA logró reducir esta concentración (96% eliminación) y la toxicidad (>75%) indicando que este compuesto contribuye fuertemente a la toxicidad aguda del efluente.
Financiamiento: Fondecyt 1040987.

38. SISTEMAS DE BIOPELÍCULA PARA EL TRATAMIENTO DE EFLUENTES DE LA INDUSTRIA DE CELULOSA KRAFT (Kraft pulp mill effluent treatment by Movil Bed Bioreactor)

Villamar, A., Parra, C., Parra, O y Vidal, G.
Laboratorio de Biotecnología Ambiental, Centro de Ciencias Ambientales EULA-Chile, Universidad de Concepción. Casilla 160-C, Concepción, Chile.

La elaboración de celulosa es una importante actividad industrial que consume gran cantidad de agua, de la cual solo el 10% queda en el proceso o se evapora, el resto se transforma en residuos líquidos, caracterizados por un alto contenido en sólidos suspendidos, carga orgánica, color y toxicidad. Por otro lado, el uso de sistemas de tratamiento biológicos aeróbicos (secundarios) de biomasa libre han sido instalados y operados exitosamente para eliminar o degradar este tipo de efluentes. Actualmente, existe una variante a esta tecnología que considera biomasa adherida a soportes (sistemas MBBR, Movil Bed Biorreactor) que está siendo instalada en plantas del sur de Chile. El objetivo de este trabajo es realizar una evaluación preliminar de la operación y eficiencia de operación de un sistema MBBR a escala laboratorio. Los primeros resultados indican que la eliminación de carga orgánica (medida como DBO_5) es superior al 90%, mientras que la eliminación de compuestos fenólicos totales está en torno al 15%. La toxicidad aguda medida a través de daphnideos fue totalmente eliminada por el tratamiento.
Financiamiento: Proyecto Fondecyt 1040987.

39. CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA E INMUNOQUIMICA DE LA HEMOCIANINA DE TRES ESPECIES DE LAPAS CHILENAS DE LA FAMILIA *FISSURELLIDAE*. (Biochemical and immunochemical characterization of hemocyanin from three species of Chilean keyhole limpet from *Fissurellidae* family).

Espinoza, C., De Ioannes, A.E. y Becker, M.I. (Patrocinante).
Departamento de Investigación y Desarrollo, BIOSONDA S.A.

Las hemocianinas son glicoproteínas colosales presentes en algunos moluscos y artrópodos, cuyo rol es el transporte de oxígeno, el cual se une a átomos de cobre presentes en su estructura. Las hemocianinas de moluscos son oligómeros con forma de cilindro hueco, constituidas por 10 subunidades (decámero). En gastrópodos, los decámeros se asocian de a pares (didecámeros). *Megathura crenulata*, es un ejemplar de la familia *Fissurellidae*, cuya hemocianina, KLH, es la más usada en biotecnología como proteína transportadora para desarrollar anticuerpos contra haptenos y en clínica, como inmunoestimulante no específico en la inmunoterapia del carcinoma superficial de vejiga. Propiedades semejantes a KLH, las hemos encontrado en la hemocianina de *Concholepas concholepas*, CCH.
En este trabajo se presenta una caracterización bioquímica e inmunoquímica de hemocianinas extraídas desde tres especies de lapas chilenas: *Fissurella latimarginata*, *Fissurella cumingi*, y *Fissurella maxima*. Los resultados de su purificación muestran la obtención de proteínas de alta pureza. Mediante análisis por tinción negativa al microscopio electrónico se encontró que corresponden a didecámeros con tamaños de: 360Å x 362Å, 380Å x 350Å y 389Å x 381Å, respectivamente. Métodos electroforéticos muestran que estarían constituidas por un solo tipo de subunidad. La inmunización de diferentes cepas de ratón mostró que ellas poseen una notable inmunogenicidad.
FONDECYT 105-0150-Fundación COPEC-PUC SC0014.

ECOLOGÍA

40. LA ABUNDANCIA DE ALIMENTO REGULA LA FRECUENCIA Y LA PROFUNDIDAD DE LOS ESTADOS DE SOPOR EN EL MARSUPIAL *Thylamys elegans* (Food abundance regulates torpor depth and frequency in the marsupial *Thylamys elegans*).

Bozinovic, F.[1], Muñoz J.L.P.[1], Naya D.E.[1] y Cruz-Neto A.P[2].
[1]Centro de Estudios Avanzados en Ecología & Biodiversidad, Universidad Católica de Chile, Chile; y [2]Departamento de Zoología, UNESP, Brasil.

La flexibilidad en la intensidad del sopor facultativo y la magnitud de los descriptores del sopor (profundidad, frecuencia y duración) se esperan que varíen en función de la disponibilidad y abundancia de alimento en el ambiente. Utilizando métodos no invasivos (data-loggers de temperatura, iButtons®), estudiamos –en tiempo continuo– y en el marsupial *Thylamys elegans* (Didelphidae,) la relación entre tres niveles de abundancia de alimento (70, 100 y 130% de los requerimientos energéticos diarios) y la temperatura corporal (profundidad) así como la frecuencia y duración de los estados de sopor. Encontramos: 1.- una relación negativa y significativa entre la ingesta de energía diaria y la frecuencia de sopor diaria, y 2.- una relación positiva y significativa entre la ingesta de energía diaria y la temperatura corporal mínima diaria (profundidad) durante los eventos de sopor, y 3.- una relación negativa y significativa entre la ingesta de energía diaria y el largo de los estados de sopor diarios. Se discuten los procesos por los cuales estos animales regulan su presupuesto de energía a la luz de cambios espaciales y temporales en las condiciones ambientales.
FONDAP 1501-0001 (Programa 1)

41. DESEMBOCADURA DEL RÍO LOA: UN RELICTO PLEISTOCENICO DE MICROMAMÍFEROS. Mouth of Rio Loa River: a Pleistocenic relict of small mammals.

Boric-Bargetto, D.[1,2], Rodríguez-Serrano, E.[1,2], Gayó, E[1,2]., Domingo, R[2] & Palma R.E.[1,2]
[1]Centro de Estudios Avanzados en Ecología y Biodiversidad y Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago. E-mail: dboric@bio.puc.cl

Los efectos de las glaciaciones pleistocénicas en la biota del Sur de Sudamérica son bien conocidos. En el Desierto de Atacama, diversos procesos geológicos y de paleodistribución de algunas especies han sido registrados como consecuencia de estos fenómenos. El Río Loa se ha postulado como corredor de fauna desde las tierras altas, además de ser el único curso de agua continua que atraviesa el Desierto. Estas características permiten sustentar una gran diversidad de especies asociadas. En una reciente expedición científica, se registraron capturas de *Thylamys* y sigmodontinos reconocidos como especies de amplia distribución en Chile. Se determinó la identidad específica de los ejemplares del Río Loa a través de marcadores de DNA mitocondrial, así como la época del evento cladogenético que los originó. Las dos especies de sigmodontinos corresponden a *Abrothrix olivaceus tarapacensis* y *Phyllotis magister*, además del marsupial *Thylamys elegans*. El reloj molecular establece la aparición de estas poblaciones en períodos glaciales pleistocénicos de diversa data, atribuible a múltiples eventos de cambios distribucionales en las especies estudiadas. Se encontró especies en simpatría, con una distribución actual disyunta y totalmente aisladas de sus posibles fuentes de origen.
Financiamiento: Ministerio de Bienes Nacionales: FONDECYT-FONDAP-CASEB 1501-0001.

42. RELACIONES FILOGENÉTICAS DE UN NUEVO REGISTRO DE *Abrothrix olivaceus markhami* (Rodentia: sigmodontinae). A New record and phylogenetic relationships of *Abrothrix olivaceus markhami* (rodentia: sigmodontinae)).

Rodríguez-Serrano, E.[a] Cristián E. Hernández[a, b], and R. Eduardo Palma[a]
[a]Laboratorio de Biología Evolutiva, Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, and Center for Advanced Studies in Ecology & Biodiversity, Pontificia Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago 6513677, Chile. [b]Laboratorio de Diversidad Molecular y Filoinformática, Departamento de Zoología, Universidad de Concepción, Casilla 160-C Concepción, Chile.

Recientes estudios filogenéticos de la subfamilia de roedores cricétidos Sigmodontinae, han validado la propuesta a nivel taxonómico tribal del "Andean Clade", aunque aún no existe una descripción formal. Es posible que algunas especies endémicas del extremo austral de Sudamérica sean parte de esta nueva tribu, las que aún no han sido evaluadas debido, probablemente, a la complejidad en la obtención de ejemplares. En este estudio evaluamos las relaciones filogenéticas de *Akodon markhami* (Pine, 1973), especie endémica de la Patagonia de Chile, capturadas recientemente en la localidad tipo de este taxón. Nuestros resultados demuestran que esta forma de *Akodon*, corresponde a una subespecie de *Abrothrix olivaceus*, incorporándose así al "Andean Clade" como una raza geográfica de una especie de amplia distribución en el continente Sudamericano, cuyo origen se dató molecularmente en los últimos ciclos glaciales del Cuaternario a través de un proceso de vicarianza.
Keywords: *Akodon markhami; Abrothrix olivaceus;* Andean Clade; Biogeography; Chile; Sigmodontinae.
Financiamiento: **Proyecto DIUC-Patagonia: 205.113.0651sp**; NIH Chilean Hantavirus Grant; FONDECYT-CASEB 1501-0001

43. PALEOCLIMA DE LA FORMACIÓN NAVIDAD, LOCALIDAD DE MATANZAS, CHILE (~33°57'30"S, 71°52'15"W; Mioceno). (Paleoclimate of Navidad Formation, Matanza locality, Chile (~33°57'30"S, 71°52'15"W; Miocene).

Montenegro, P. Hidalgo, P. & Hinojosa L.F.
Lab. Paleoecología. Fac. Ciencias, Universidad de Chile.

La relación morfología-clima ha sido utilizada con éxito para la inferencia e interpretación del clima a edades tan antiguas como el Terciario (65-1.5 Ma) siendo una herramienta muy útil para los estudios paleoecológicos a diferentes escalas temporales. Tales interpretaciones han llevado a concluir sucesiones florales a través del Cenozoico en el sur de Sudamérica, las cuales se relacionan fisonómicamente al clima Cenozoico.

La Formación Navidad (~34° S) comprende una secuencia estratigráfica de edades que van desde el Mioceno a Plioceno temprano. La flora fósil de la localidad de Matanzas es el afloramiento más antiguo en la secuencia. Para este afloramiento se ha descrito una asociación de Mixta, que se habría desarrollado bajo un ambiente relativamente fresco y húmedo.
Las estimaciones paleoclimáticas se obtienen a partir de modelos univariados y multivariados de la relación fisionomía foliar y clima actual, utilizando para ello una base de datos global enriquecida con localidades actuales chilenas.
El objetivo de este trabajo es reconstruir las condiciones paleoclimáticas en la localidad de Matanzas, a través de un estudio fisionómico foliar. Los resultados serán comparados con las reconstrucciones paleoclimáticas para el período Terciario propuestas por Hinojosa para el sur de Sudamérica.
Agradecimientos: DI I 05/01-2, U. Chile; FONDECYT 1060041; Premio BBVA; IMEB P05-002

44. TAMAÑO DE LA SEMILLA V/S SOBREVIVENCIA EN EL BOSQUE TEMPLADO LLUVIOSO DE SUR DE CHILE. (Seed size v/s germinant survival in a temperate rainforest).

Jara, C. K.[1], Parada, T.[1], & Lusk, C.H.[2]
[1]Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. carolinajara@uach.cl. [2]Dept. Biological Sciences, Macquarie University, NSW 2109, Australia.

Recientemente se ha indicado que las variaciones interespecíficas en la sobrevivencia de juveniles, particularmente en situaciones de sombra, juega una rol fundamental en determinar la dinámica comunitaria del bosque. La germinación y sobrevivencia dependerá del sector donde estas semillas lleguen y de las perturbaciones a las que se enfrenten. En este estudio se estableció el rol de la hojarasca en la germinación de semillas. El estudio se realizó en el Parque Nacional Puyehue (X Región). Allí se dispusieron cinco parcelas con hojarasca y cinco sin ella. En cada parcela se establecieron semillas (que ya presentaban indicio de cotiledón) de ocho especies arbóreas de distintos tamaños de semilla. En cuanto a los requerimientos lumínicos, se mostró que las especies tolerantes tendrán índices bajos (< 1.5 %), y las especies intolerantes tendrán índices altos (> 3 %). Se estableció una fuerte relación respecto de la sobrevivencia versus el tamaño de la semilla. Es decir, especies con semillas grandes tendrán mayor sobrevivencia que las de menor tamaño en presencia de hojarasca, la hojarasca por tanto, actúa como modelador de la dinámica espacial de establecimiento de las especies del bosque templado.
Agradecimientos: Proyecto FONDECYT 1030811
Patrocinante: Doctor Antonio Lara, Universidad Austral de Chile.

45. EVALUANDO LA IMPORTANCIA DE LAS INTERACCIONES POSITIVAS BAJO UN ESCENARIO DE CALENTAMIENTO GLOBAL EN LA ALTA-MONTAÑA. (Assessing the importance of positive Interactions under global warming scenario in the high-andean).

Molina-Montenegro, M.A. & Cavieres, L.A.
[1]ECOBIOSIS, Departamento de Botánica, Universidad de Concepción, Concepción, Chile. [2]Instituto de Ecología y Biodiversidad, Santiago, Chile.

En el último siglo se han observado cambios en las condiciones generales del planeta, fenómeno conocido como "cambio climático global". Uno de los cambios climáticos más estudiados y documentados es el calentamiento global. Los ambientes de alta-montaña son uno de los hábitat más sensibles a los efectos del calentamiento global. En estos ambientes, las interacciones positivas son esperadas a ser la interacción interespecífica más importante (e.g., efecto nodriza). Hipotetizamos que bajo un escenario de calentamiento global, la facilitación debería disminuir en importancia. Durante dos estaciones de crecimiento evaluamos la importancia de una planta nodriza sobre el desempeño fotosintético, supervivencia y biomasa final de dos especies beneficiarias a 3600 m en los Andes de Chile central. Cinco individuos de cada especie beneficiaria fueron expuestas a cuatro tratamientos: **(1)** remoción de la nodriza, **(2)** remoción de la nodriza + calentamiento global simulado, **(3)** presencia de la nodriza + calentamiento global simulado, y **(4)** control solo con la presencia de la nodriza. Calentamiento global fue simulado con cámaras de calentamiento pasivo "OTC". La remoción de la nodriza disminuyó el desempeño en comparación al control, indicando la importancia de la nodriza. Sin embargo, el desempeño de los individuos donde la nodriza fue removida con "OTC" no difirió del control. Nuestros resultados sugieren que las interacciones positivas no disminuirían en importancia bajo un escenario de calentamiento global.
FONDECYT 1060710 and P02-051-F ICM.

46. RESTAURACIÓN DE MATORRALES ABANDONADOS CON LA CONÍFERA ENDÉMICA *PILGERODENDRON UVIFERUM* (CUPRESSACEAE) EN EL NORTE DE LA ISLA GRANDE DE CHILOÉ. (Shrub-lands restoration of northern Chiloé Island with the endemic conifer *Pilgerodendron uviferum* (Cupressaceae).

Núñez, M.[1, 2], Carmona, M.[1], Smith-Ramírez, C[1]. & J. Armesto[1, 3]
[1]CASEB, Pontificia Universidad Católica de Chile, [2]FORECOS, Instituto de Silvicultura, Universidad Austral de Chile, [3]IEB, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Pilgerodendron uviferum (Cupressaceae), especie monotípica y endémica de los bosques templados de Chile y Argentina, es la conífera más austral del mundo (40-55° S). En el norte de su distribución geográfica las poblaciones han sido reducidas como consecuencia de la extracción de madera, quema y cambio en el uso del suelo. En el paisaje rural del norte de la Isla Chiloé (42° S), las poblaciones de *Pilgerodendron* presentan una baja diversidad genética y están restringidas a sitios con mal drenaje. También existen matorrales abandonados con un alto nivel de anegamiento del suelo y presencia de diferentes densidades de musgos del género *Sphagnum*. En este estudio cuantificamos el crecimiento y la sobrevivencia de individuos de *Pilgerodendron* plantados en matorrales abandonados con diferentes coberturas de sustrato *Sphagnum*, con el fin de evaluar el potencial de estos sitios para la restauración de la conífera. Las plántulas fueron propagadas a partir de estacas procedentes de dos poblaciones remanentes del norte de la Isla Chiloé. El ensayo se realizó en dos áreas de matorral secundario, uno con alta cobertura (>60%) de *Sphagnum* y otro sin *Sphagnum* (<10% cobertura). Las plantas fueron distribuidas cada 4m en cuatro parcelas de 28x28 m por sitio (n_0 = 49 plantas/parcela). En base a cuatro años de datos, el Análisis de Varianza con medidas repetidas mostró diferencias estadísticamente significativas en el crecimiento de *Pilgerodendron* con respecto a la presencia del musgo del género *Sphagnum* ($p<0.0001$). Concluimos que la cobertura de *Sphagnum* retarda el crecimiento de la conífera endémica *Pilgerodendron uviferum*.
Agradecimientos: Beca doctorado CONICYT; Fundación Senda Darwin; DID Universidad Austral; CASEB, Pontificia Universidad Católica.

47. REEVALUACIÓN SISTEMÁTICA DE LAS ESPECIES DE CARACOLES DE AGUA DULCE ASIGNADAS AL GÉNERO *BIOMPHALARIA* PRESTON, 1910 *(Gastropoda: Planorbidae)* EN EL ALTIPLANO SUR. (Systematic reevaluation of the fresh water snail species assigned to the genus *Bromphalaria* Preston, 1910 *(Gastropoda: Planorbidae)* in the southern altiplano).

Collado,[1, 2] **G.A**, Patricia Iturra[3], Irma Vila[4] & Marco A. Méndez[1]
[1]Laboratorio de Genómica Evolutiva, INTA, Universidad de Chile. [2]Laboratorio de Invertebrados Acuáticos, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. [3]Programa de Genética Humana, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. [4]Laboratorio de Limnología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

El género *Biomphalaria* Preston, 1910 ha sido estudiado desde el punto de vista taxonómico utilizando el concepto tipológico de especie, basado en caracteres morfológicos del sistema reproductivo y de la morfología externa de la concha. En Chile, para este grupo se han propuesto alrededor de 10 especies nominales. En el Altiplano Sur (I y II Región), el número de especies válidas es incierto debido a que diferentes especies han sido reconocidas y clasificadas por distintos autores. En este estudio se examinan las relaciones filogenéticas de las poblaciones del Altiplano Sur asignadas al género *Biomphalaria* usando secuencias de DNA mitocondrial COI (682 sitios nucleotídicos). Para el análisis filogenético molecular se utilizaron los métodos de máxima parsimonia, máxima verosimilitud e inferencia bayesiana. En el Altiplano Sur la divergencia filogenética entre clados y subclados indica la posible ocurrencia de varias especies. Específicamente, las poblaciones del Salar de Ascotan y Salar de Carcote constituyen unidades evolutivas independientes entre sí. Por otra parte, los ejemplares provenientes de Parinacota, Chusviri, Piacota, Huasco y Lauca forman parte de un solo linaje.
Financiamiento Proyecto Multidisciplinario MULT 05/04-2. DI Universidad de Chile.

48. CONSERVACIÓN Y MANEJO DE ÁREAS NATURALES RELEVANTES AL DESARROLLO DE LA PATAGONIA CHILENA: UNA CONTRIBUCIÓN DESDE LA VALORACIÓN ECONÓMICA DE LA PESCA DEPORTIVA.(Conservation and management of relevant natural areas for developing Chilean Patagonia: a contribution from economic valuation of sport fishing)

Núñez, D.[1,3] y Niklitschek,M.[2,3]
[1]Instituto Silvicultura, Núcleo Científico Milenio FORECOS. [2]Instituto Manejo Forestal. [3]Facultad Ciencias Forestales, Universidad Austral de Chile.

La Región de Aisén posee extraordinarios recursos naturales aptos para generar actividades productivas relevantes al desarrollo de la Patagonia, como la salmonicultura, la generación de hidroelectricidad o el turismo, especialmente en lo referente a actividades de pesca deportiva. De hecho, la región atrae a más de 5.000 pescadores al año, generando ingresos anuales por más US$ 10 millones. El objetivo principal de este trabajo fue determinar el valor económico de la pesca deportiva en su contribución al turismo de Aisén, para generar información que permita orientar la toma de decisiones sobre el manejo de ríos o lagos de interés para el desarrollo simultáneo (o excluyente) de actividades económicas. Se utilizó un método de valoración económica desde la aproximación de Preferencias Reveladas, con datos provenientes de encuestas tomadas a pescadores que realizaron pesca deportiva en Aisén, entre las temporadas 2001-2003. Los resultados sugieren que la pesca deportiva es una actividad económica relevante, y por tanto, se debiera priorizar el uso de algunos ríos o lagos solo a esta actividad que promueve el desarrollo económico de Aisén sin deteriorar la calidad de sus atributos naturales.

49. VARIACIÓN MOLECULAR DE *BOTHROPS ASPER* (SERPENTES, VIPERIDAE) DE COLOMBIA: PATRÓN FILOGEOGRÁFICO Y SU RELACIÓN CON EL GRUPO *ATROX*. (Molecular variation of *Bothrops asper* (Serpentes, Viperidae) from Colombia: phylogeographic pattern and its relationships with *atrox* group.

Saldarriaga, M., Méndez, M.
Laboratorio Genómica Evolutiva, U. de Chile

El género *Bothrops* está constituido por serpientes venenosas distribuidas en la región Neotropical. Estudios basados en secuencias mitocondriales han subdividido al género en los grupos: *alternatus, jararaca, jararacussu, microphtalmus, neuwiedi, taeniatus y atrox*. El grupo *atrox* incluye *B. asper* y *B. atrox*, las que se distribuyen en Colombia al occidente y oriente de los Andes, respectivamente. *B. asper* ha sido asignada al grupo *atrox* mediante caracteres morfológicos. Actualmente, no existen estudios filogenéticos que evalúen su pertenencia de *B. asper* al grupo *atrox*. En este estudio, se secuenció un fragmento del gen mitocondrial ND4 en *B. asper* y *B. atrox* de ocho regiones geográficas de Colombia. Se obtuvo secuencias de 651 pares de bases, las que fueron alineadas con secuencias de otras especies de *Bothrops* y *Agkistrodon piscivorous* (grupo externo). Los resultados mostraron que *B. asper* es un grupo monofilético, hermano de *atrox*. Se observó tres clados: un clado conformado por poblaciones localizadas al costado occidental de la Cordillera Oriental de los Andes, un segundo clado localizado al occidente de la Cordillera central y un tercer clado conformados por poblaciones localizadas al occidente de la Cordillera Occidental, respectivamente. Este patrón filogeográfico es congruente con la orogénesis asincrónica de la Cordillera de los Andes.
Becaria CONICYT, Beca AT- 24060101

50. PALEOCLIMA DE LA FORMACION NAVIDAD: TAFOFLORA DEL CERRO LOS POLOLOS, CHILE (33°55'S, NEOGENO). (Paleoclimate of Navidad Formation: Cerro los Pololos Taphoflora, Chile (33°55'S; Neogene).

Martínez, K., Pesce, O. & Hinojosa, L.F.
Lab. Paleoecología. Fac. Ciencias, Universidad de Chile.

Significativas variaciones climáticas han sido descritas para el sur de Sudamérica durante el Cenozoico. Destacando entre ellas los eventos de calentamiento del Paleoceno-Eoceno y Mioceno y de enfriamiento durante el Eoceno/Oligoceno y Mioceno-Plioceno.
En este contexto, la Formación de Navidad (~34° S), resulta clave para la comprensión de los cambios climáticos durante el Neógeno, dado que, temporalmente la Formación Navidad incluiría los principales eventos de calentamiento y enfriamiento del período; y que tendrían gran influencia en la evolución de la vegetación de Chile central, en términos de su modernización y diversidad vegetal.
En la Formación Navidad hemos reconocido una serie de afloramientos con fósiles vegetales sucedidos estratigráficamente y por ende temporalmente. El objetivo del trabajo es reconstruir las condiciones paleoclimáticas (en términos de temperatura y precipitaciones) de la tafoflora de Cerro Los Pololos, la cual se ubicaría en la fase de calentamiento climático descrito para el Mioceno. Así, nuestras postdicciones apuntan a encontrar valores de temperaturas y precipitaciones mayores que las descritas para el comienzo del período, siguiendo la tendencia de calentamiento.
La reconstrucción paleoclimática se efectuará mediante un análisis fisionómico foliar a través de modelos univariados y multivariados, utilizando la base de datos CLAMP, enriquecida con localidades chilenas actuales.
Agradecimientos: DI I 05/01-2, U. Chile; FONDECYT 1060041; Premio BBVA; IMEB P05-002.

51. PALEOCLIMA DE LA FORMACIÓN NAVIDAD: TAFOFLORA DE LA AGUADA, CHILE (~33°58'S; NEOGENO). (Paleoclimate of Navidad Formation: Taphoflora of La Aguada, Chile (~33°58'S Neogene).

Aguilera, M.; Carvacho, C. & Hinojosa, L.F.
Lab. Paleoecología. Fac. Ciencias, Universidad de Chile.

Los procesos de modernización de la flora en el sur de Sudamérica se correlacionarían principalmente con los eventos climáticos y tectónicos ocurridos principalmente durante el Neogeno. Climáticamente este período se caracterizar por un evento de calentamiento durante el Mioceno medio el cual es sucedido por un prolongado proceso de disminución en las temperaturas y caída en los montos anuales de precipitaciones, durante fines del Mioceno y todo el Plioceno. En este contexto, la Formación de Navidad (~34° S), resulta clave para la comprensión de los cambios climáticos durante el Neógeno, dado que temporalmente la Formación Navidad incluiría los principales eventos de calentamiento y enfriamiento del período.
En la Formación Navidad hemos reconocido una serie de afloramientos con fósiles vegetales sucedidos estratigráficamente y por ende temporalmente. El objetivo del trabajo es reconstruir las condiciones paleoclimáticas (en términos de temperatura y precipitaciones) de la tafoflora de La Aguada, la cual se ubicaría en la fase post calentamiento climático descrito para el Mioceno. Así, nuestras postdicciones apuntan a encontrar valores de temperaturas y precipitaciones menores que las descritas para el comienzo del período, siguiendo la tendencia de enfriamiento y desecación. Las estimaciones se realizarán a través de un análisis fisionómico-climático.
Agradecimientos: DI I 05/01-2, U. Chile; FONDECYT 1060041; Premio BBVA; IMEB P05-002

52. EFECTO DEL AMBIENTE TÉRMICO SOBRE LA ONTOGENIA DEL METABOLISMO DE TERMORREGULACIÓN EN *Phyllotis darwini*. (Temperature effects on the ontogenetic development of thermoregulatory metabolism of *Phyllotis darwini*).

Canals, M[1], Figueroa, D[1], Miranda, J[1], Sabat, C[1,2]
[1]Laboratorio de Ecofisiología Animal, Departamento de Ciencias Ecológicas Universidad de Chile. [2]Center for Advanced Studies in Ecology & Biodiversity, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El metabolismo aeróbico puede sufrir modificaciones complejas durante el desarrollo debido a demandas de materia y energía paralelas e incluso opuestas de diferentes órganos. Además puede presentar plasticidad frente a variaciones en la demanda energética impuesta por las características ambientales. En este trabajo se estudia el desarrollo postnatal del metabolismo de termorregulación en *Phyllotis darwini*, nacidos y criados en dos ambientes térmicos, uno de bajos requerimientos (30°C) y otro de altos requerimientos energéticos. Al nacimiento las crías presentaron una masa similar. Las crías aclimatadas a 30°C presentaron un metabolismo menor que los de 15°C. Posteriormente, a los 7, 14 y 21 días la masa de los animales aclimatados a 30°C fue menor que la masa de los aclimatdos a 15°C. El metabolismo basal fue menor a los 1, 14 y 21 días, en el grupo de 30°C, nivelándose a los 21 días. Un resultado similar se observó en el metabolismo máximo. Comparando el metabolismo basal con lo esperado para un adulto del mismo tamaño corporal, se observa que mientras el grupo de 15°C presenta valores bajo lo esperado solo al día de nacido, en el grupo de los 30°C este se encuentra bajo lo esperado aún a los 7 días. Los resultados muestran que los animales aclimatados a ambientes de alto requerimiento presentan metabolismos mayores y adelantan su madurez termorregulatoria lo que podría estar indicando una respuesta plástica de los determinantes morfométricos del consumo de oxígeno frente a las exigencias energéticas del medio.
PROYECTO FONDECYT 1040649

53. ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD CROMOSÓMICA Y LA DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA EN LAS RANAS DEL GÉNERO *ALSODES* (Leptodactylidae), EN EL CENTRO Y SUR DE CHILE. (Analysis of chromosomal variability and geographic distribution in the frogs of the genus *Alsodes* (Leptodactylidae) in central and southern Chile).

Cuevas Palma,C. C.
Estudiante Doctorado en Ciencias, Mn. Sistemática y Ecología, Instituto de Zoología, Casilla 567, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. E-mail: ccuevas@uach.cl

Las ranas endémicas del género *Alsodes* son típicas de ambientes de montaña, y se distribuyen a lo largo de la Cordillera de la Costa en Chile, y de los Andes en el centro y sur de Chile y Argentina. Con 15 especies formalmente descritas, actualmente es el taxón de anuros mas diverso presente en Chile. Las especies de este género se caracterizan por presentar un rango distribucional restringido a alturas entre 300 a 2.500 m, siendo excepciones a esta regla aquellas especies que se distribuyen al sur del paralelo 42° LS (*A. australis*, *A. kaweshkari*) y en la zona central de Chile entre los 32° y 36° LS (*A. nodosus*), las que se encuentran tanto en altura como a nivel del mar. Sucesivos relevamientos y caracterización cromosómica y morfológica de estos animales en los últimos años, han permitido establecer a la Cordillera de la Costa como un importante centro de diversificación cromosómica. Esto es corroborado por la presencia de cuatro números diploides distintos en *Alsodes*, todos ellos descritos en especies distribuidas a lo largo de esta estructura geomorfológica (*Alsodes vanzolinii* 2n = 26, NF = 50; *A. barrioi* 2n = 34, NF = 52, *A. nodosus* 2n = 22, NF = 44, y recientemente *A.* aff. *valdiviensis* 2n = 30, NF = 52). Esto contrasta claramente con lo observado en las especies distribuidas a lo largo de la Cordillera de los Andes, ya que la mayoría presenta 2n = 26, NF = 52 y presentan solo variaciones mínimas en la morfología cromosómica. En este contexto, aquí se discuten posibles procesos y mecanismos que originaron estos cambios, además su trascendencia, junto a la información geográfica en el reconocimiento de nuevos taxa dentro de este género de anuros.
Beca CONICYT 2004-2008

54. SISTEMÁTICA Y FILOGENIA DE LAS ESPECIES DE *ORESTIAS* DEL COMPLEJO *agassii* (Teleostei: Cyprinodontidae) DEL ALTIPLANO SUR. (Systematics and phylogeny of the species of Orestias of the *agassii* (Teleostei: Cyprinodontidae) complex from the southhern altiplano).

Scott, S.[2], Méndez[1], M. A., Iturra[3], P., Irma Vila[2], P.
[1]Laboratorio de Genómica Evolutiva, INTA, Universidad de Chile. [2]Laboratorio de Limnología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. [3]Programa de Genética Humana, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Orestias es un género endémico de sistemas lacustres y lóticos que se distribuye en Perú, Bolivia y Chile (Altiplano Sur), desde el lago Lacsha, en Perú central, hasta el lago Ascotán, en el norte de Chile. Los estudios taxonómicos realizados en este grupo, basados principalmente en caracteres morfológicos, han establecido la existencia de seis especies para el Altiplano Sur. En este trabajo, con la finalidad de evaluar la validez de las especies descritas, se realizó un estudio de sistemática molecular utilizando el gen mitocondrial ND2 (1120 sitios nucleotídicos). Los resultados preliminares muestran que las poblaciones del Salar de Ascotan y del Salar de Carcote, ambas descritas como *O. ascotanensis*, corresponderían a dos unidades evolutivas distintas. Asimismo, para el caso de *O. agassii*, descrita para las localidades de Isluga y Huasco, se encontró que no corresponderían al mismo linaje. Finalmente, para las cuatro especies de *Orestias* descritas para el Parque Nacional Lauca (I Región), los resultados no mostraron resolución a nivel filogenético sugiriendo que pertenecen a un mismo linaje, cercano a *O. puni* presente en el Titicaca.
Financiado Proyecto Multidisciplinario MULT 05/04-2. DI Universidad de Chile
Sergio Scott es Becario MeceSup UCO-214

55. REVISITANDO LAS HIPÓTESIS DE LIMITACIÓN CENTRAL/PERIFÉRICA EN MAMÍFEROS: ¿SON LOS ROEDORES ATLETAS OLÍMPICOS O BOY SCOUTS? (Revisiting the central/ peripheral hypotheses in mammals: are rodents olympians or boy acouts?.

[1]**Nespolo. RF,** [2]Bacigalupe, LD, [3]Bustamante DM, [3]Bozinovic F.
[1]Universidad Austral de Chile. [2]University of Sheffield, UK. [3]CASEB-PUC

Como producto del seleccionismo a ultranza que dominó la fisiología comparada y ecológica en la década de los 70 y 80, el estudio del uso y asignación de la energía en los animales estuvo dominado por la idea del diseño óptimo. Esto inspiró el debate entre las hipótesis de sinmorfosis y las limitaciones centrales/periféricas. De acuerdo a esta discusión, el flujo de energía estaría limitado en los procesos de adquisición/absorción de nutrientes (limitación central), por la capacidad máxima de conversión de energía en trabajo biológico (limitación periférica) y/o existiría un acoplamiento entre los procesos sucesivos que van desde la adquisición de la energía hasta su transformación final en trabajo (sinmorfosis). Una línea disidente sostenía que los animales silvestres no están diseñados de manera óptima y que la selección natural habría beneficiado a los individuos con capacidades promedio o rutinarias, sin necesariamente existir una limitación en algún nivel en particular, y menos aún sinmorfosis. En este trabajo, pusimos a prueba estas hipótesis en el roedor múrido *Phyllotis darwini*, midiendo metabolismo aeróbico y tamaño de órganos metabólicamente activos. Mediante un análisis de correlación canónica pudimos contrastar las hipótesis biológicas con predicciones estadísticas concretas. Los resultados sugieren que la selección promueve los fenotipos rutinarios, apoyando la hipótesis "disidente".
Agradecimientos: FONDECYT, FONDAP

56. EFECTO DE UNA PERTURBACIÓN ANTRÓPICA EN LAS PROPIEDADES DEL SUELO Y LLUVIA DE SEMILLAS EN LOS ANDES DE CHILE CENTRAL. (Effect of an anthropogenic disturbance on soil properties and seed rain in the Andes of Central Chile).

Chacón, P. & Cavieres, L.A.
Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción e Instituto de Ecología y Biodiversidad, Universidad de Chile.

Las características físicas y químicas del suelo pueden verse afectadas con las perturbaciones. La temperatura del suelo y la disponibilidad de nutrientes son dos de los factores más importantes para la germinación y sobrevivencia de plántulas alpinas. Por otra parte, en estos ambientes ventosos, la superficie del suelo y los componentes estructurales pueden afectar la distribución de semillas dispersadas. En este trabajo, se examinaron los efectos de una perturbación severa en las características del suelo y en la lluvia de semillas. Para ello, se estudiaron dos laderas, cada una de las cuales tenía un área muy perturbada (con suelo y vegetación removidos) y un área no perturbada en los Andes de Chile central. Los resultados muestran que a lo largo de toda la estación de crecimiento, la temperatura del suelo bajo la vegetación fue 1.5 veces inferior a la del suelo desnudo (11.24 *vs.* 17.68 °C en promedio). La disponibilidad de NO_3 fue mayor y la de PO_3 y K disponible menor en las áreas perturbadas de ambas laderas. Finalmente, la lluvia de semillas también fue significativamente menor en dichas áreas.
Agradecimientos: Fondecyt 3060022 & ICM P05-002.

57. ACTIVIDAD NITRIFICANTE DE SEDIMENTOS MARINOS ENRIQUECIDOS MEDIANTE SISTEMA BATCH. (Nitrifying activity of marine sediments enriched by means of batch systems).

Jarpa, M., Aguilar, A., Decap, J., Abarzúa, M., Parra, O. y Vidal, G.
Centro de Ciencias ambientales Eula-Chile. Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción. Casilla 160-C, Concepción, Chile. E-mail: mayjarpa@udec.cl.

El desarrollo de la salmonicultura ha influido directamente en el medio ambiente donde se desarrolla. Estos están aportando una serie de fuentes contaminantes como antibióticos, residuos de alimentación y desechos orgánicos cuyo efecto principal es la eutroficación de los ecosistemas. Por cada tonelada de salmón producido se generan aproximadamente 2,5 toneladas de residuos solo por alimento, desperdiciándose aproximadamente 9,8 kg de fósforo y 78 kg de nitrógeno. El objetivo de este trabajo es evaluar la actividad nitrificante de sedimentos extraídos bajo balsas jaulas y el aumento de la biomasa. Los cultivos se desarrollaron en sistemas batch, a los cuales se les suministró sustrato que contenían como elementos principales (NH4)2SO4 para el caso de bacterias amonio oxidante y NaNO2 para las bacterias nitrito oxidante. Los parámetros de control fueron temperatura (25-35°C), pH (7,2-7,5) y ausencia de luz. La cinética de eliminación de amonio y nitrito se determinó por producción de nitritos y nitratos, obteniéndose valores máximos de 273 mg $N\text{-}NO_2^-/L$ y 587 mg $N\text{-}NO_3^-/L$, respectivamente. El aumento de la biomasa se determinó por recuentos viables en placas, identificándose bajas cantidades de colonias, lo que corroboraría la baja tasa de crecimiento de este tipo de bacterias.
Proyecto Fondecyt 1040987.

58. APORTE DE HOJARASCA Y MINERALIZACION DE NITROGENO EN BOSQUES DE *NOTHOFAGUS* CON MANEJO SILVICOLA. (Litter imput and nitrogen mineralization in *Nothofagus* forests with silvicultural management).

Padilla, E., Almonacid, L y Godoy, R.
Instituto de Botánica, Universidad Austral de Chile.

En los bosques templados del sur de Chile, que presentan un bajo aporte de nitrógeno atmosférico, el ciclaje interno vía mineralización de la materia orgánica, es la principal fuente de nutrientes en el ecosistema.
Para evaluar la potencial disponibilidad de nitrógeno en el suelo, se realizó un monitoreo continuo (Agosto 2005-Junio 2006), de los aportes atmosféricos, hojarasca y tasas de N-min *in situ*, en bosques de la Cordillera de los Andes, centro sur de Chile.
La depositación de nitrógeno atmosférico en el agua de precipitación es de 3,1 kg ha^{-1} $año^{-1}$.
Los montos de hojarasca fueron de 4.408 y 4.520 kg ha^{-1} $año^{-1}$ para el bosque de *Nothofagus* con y sin manejo silvícola, respectivamente.
Las tasas de N-min muestran un comportamiento estacional con los máximos valores en primavera. El bosque con manejo silvícola muestra los mayores valores $N\text{-}NO_3$, mientras que el bosque sin manejo presenta los máximos de $N\text{-}NH_4$.
Los resultados son discutidos en relación a la influencia del manejo silvícola y las variables microclimáticas.
Fondecyt: 1050313

59. COMPARACIÓN DEL ÍNDICE DE ESTRÉS ENTRE PALOMAS DE VIDA LIBRE DE LOCALIDADES URBANAS Y RURALES (Comparison of stress index between free-living pigeons from urban and rural environments).

Aguilar, M.[1] & Ruiz, G[2].
[1]Departamento de Fisiología y Biofísica, Universidad de Chile. [2]Departamento de Biología, Universidad Metropolitana de Ciencia de la Educación.

En aves expuestas a agentes estresantes ocurren una serie de cambios fisiológicos que dependen principalmente de la intensidad y recurrencia del estímulo. La respuesta secundaria al estrés tarda horas en hacerse evidente y se caracteriza por un aumento de heterófilos (heterofilía) y una disminución de linfocitos (linfocitopenia). A partir del fenómeno de heterofilia y linfocitopenia se ha descrito un indicador cuantitativo de estrés, que es calculado a partir de las proporciones de heterófilos/linfocitos (H/L) circulantes. Otra respuesta fisiológica observada en respuesta al estrés es un cambio importante del peso corporal.
El objetivo de este trabajo fue cuantificar el cuadro leucocitario en ejemplares de *Columba livia* de vida libre de distinta localidad frente a algunas situaciones de estrés. Al analizar el cuadro leucocitario observamos que existe una diferencia significativa ($P < 0.05$) en el número de heterófilos y linfocitos entre ejemplares de localidad urbana y rural. El índice de H/L es significativamente mayor ($P < 0.05$) en ejemplares de localidad urbana y es un 56% menor en ejemplares de localidad rural. No se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) en el número de eosinófilos, basófilos y monocitos, al igual que en el peso corporal entre ejemplares de distinta localidad.

60. PALEORNITOLOGÍA DE LA FORMACIÓN BAHÍA INGLESA, MIOCENO TARDÍO, DESIERTO DE ATACAMA. (Paleornithology from the Bahía Inglesa Formation, Late Miocene, Atacama Desert).

Sallaberry, M.[1], Rubilar-Rogers, D., Suárez, M.
[1]Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. [2]Sección Paleontología, Museo Nacional de Historia Natural. [3]Museo Paleontológico de Caldera. Patrocinante: Mauricio Canals L.

Nuevos restos de aves fósiles del Mioceno Tardío de la Formación Bahía Inglesa, ubicada en la localidad homónima de la Región de Atacama (III Región), permiten elaborar un completo panorama de la paleornitología de esta parte de Chile. Restos provenientes de los sitios de "Mina Fosforita", "El Morro" y "Las Arenas", permiten establecer que la mayor parte de la avifauna estaba compuesta por pingüinos, principalmente correspondientes al género Spheniscus, además de otras aves voladoras Diomedeidea, Pelagornithidae y Procellariidae. La presencia de Spheniscus contrasta con los datos paleoclimáticos de la región, basados en estudios de formas sinextrales y dextrales de foraminíferos que indican temperaturas más cálidas hasta por lo menos el comienzo del Mioceno Tardío. El potencial de este yacimiento permite prever que futuros hallazgos ofrecerán nuevos conocimientos en el estudio de la paleornitología de Chile.

61. EL CRÁNEO DE UN NUEVO PROCELÁRIDO (AVES: PROCELLARIIDAE) DEL NEÓGENO (MIOCENO TARDÍO) DEL DESIERTO DE ATACAMA. (The skull of a new Procelarid (Aves: Procellariidae) from the Neogene (Late Miocene) of Atacama Desert).

Sallaberry, M.[1], Rubilar-Rogers, D., **Suárez, M.**
[1]Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. [2]Sección Paleontología, Museo Nacional de Historia Natural. [3]Museo Paleontológico de Caldera. Patrocinante: Mauricio Canals L.

En América de Sur el registro fósil de aves Procellariiformes es muy escaso, restringiéndose solamente a los depósitos marinos neógenos en Perú Central, Sur de Argentina y Norte de Chile. A la fecha en Chile restos craneales aislados asignados a la familia Diomedeidae y al género *Pachyptila*, provenientes de la Formación Bahía Inglesa, son los únicos registros conocidos del grupo. En este trabajo reportamos un nuevo cráneo de Procellaridae fósil proveniente de secuencias de edad Mioceno Superior (Tortoniano), de la unidad 2 (bone bed member) de la Formación Bahía Inglesa. Las características morfológicas del ejemplar permiten distinguirlo claramente del género *Pachyptila*, previamente registrado en el área y permiten designarlo como cf. *Puffinus*. Este hallazgo representa el primer cráneo fósil de este género en Chile.
En el presente estudio el fosil es comparado con cráneos actuales del género Puffinus conservados en diversos museos y centros de investigación.

62. PATRONES DE MODULACIÓN DE FRECUENCIA DEL CANTO DE *EUPSOPHUS CALCARATUS* (AMPHIBIA, ANURA). Frequency modulation patterns in the call of *Eupsophus calcaratus* (Amphibia, Anura).

Quispe, M. & Penna, M.
Programa de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La mayoría de los anuros se comunican emitiendo vocalizaciones con componentes temporales y/o espectrales estereotipados. Una proporción reducida de especies producen cantos con frecuencia modulada (FM), característica típica de los cantos de aves. *Eupsophus calcaratus*, un anuro del sur de Chile, posee un canto con diversos patrones de FM cuyo significado adaptativo se desconoce.
Los cantos producidos por 7 machos de *E. calcaratus* en respuesta a estímulos sintéticos presentados durante 35 minutos fueron clasificados, según su patrón de FM, en: ascendente (A), descendente (D), constante (C), ascendente-descendente (AD) y descendente-ascendente (DA). El patrón predominante (> 50% de los cantos) fue A y AD en cuatro y tres individuos, respectivamente. En tres individuos las proporciones de los distintos tipos de cantos se mantuvieron constantes, en tanto que cuatro individuos presentaron cambios significativos (Chi Cuadrado > 25, $P < 0.05$). Estas variaciones no dependieron de la presencia o ausencia o calidad de los estímulos, sino que ocurrieron entre intervalos distantes durante el prolongado tiempo de estimulación.
La variación del patrón FM del canto de *E. calcaratus* no constituye una respuesta rápida a la competencia vocal simulada por la estimulación, sino que obedece a cambios de curso temporal lento que se dan durante interacciones acústicas en las agregaciones reproductivas.
Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1040830

63. ¿CUÁN POSITIVOS SON LOS EFECTOS POSITIVOS DE LAS PLANTAS EN COJÍN SOBRE PLANTAS ALTO ANDINAS? UN META-ANALISIS. (How positive are the positive effects of cushion plants in alpine ecosystems? A meta-analysis).

Arredondo, A. Bustamante, R.
Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Instituto de Ecología y Biodiversidad.

Las especies en cojín facilitarían el establecimiento de especies vegetales andinas, proveyendo un microhábitat favorable: se esperaría que las plantas crezcan más frecuentemente sobre los cojines que fuera de ellos. Esta proposición emerge de numerosas investigaciones realizadas en ecosistemas de alta montaña, en Chile Central y Sur.
Se realizó un meta-análisis para poner a prueba esta generalización empírica, utilizando la frecuencia de ocurrencia de cada especie dentro y fuera de los cojines; la magnitud del efecto se midió mediante el estadígrafo "odds ratio". Se evaluaron los efectos globales, y además los efectos del año de la investigación, altitud, latitud, especie de planta en cojín y formas de vida.
Los resultados indican que los efectos de las plantas en cojín sobre la flora alto-andina son complejos: se detectan efectos globales positivos y significativos, sin embargo las plantas perennes se ven más favorecidas que las anuales; solo *Laretia acaulis* no ejerce un efecto facilitador. También hay variación altitudinal, inter-anual y latitudinal significativas. Así, generalizaciones del rol de las plantas en cojín deben tomarse con cautela y se necesitan estudios más especie-específicos.
Financiado por Proyecto ICM - P05-002 (IEB).

64. DECISIÓN DE OVIPOSICIÓN Y DESEMPEÑO DE LA DESCENDENCIA EN *MEGACERUS EULOPHUS* (COLEOPTERA: BRUCHIDAE): EFECTOS DE LA CALIDAD DEL HOSPEDERO Y DIETA MATERNAL. (Oviposition decisions and offspring performance in *Megacerus eulophus* (Coleoptera: Bruchidae): effects of host quality and maternal diet).

González-Teuber, M., **Segovia, R.A.** & Gianoli, E.
Departamento de Botánica, Universidad de Concepción.

En insectos el patrón de oviposición maternal puede responder a variaciones en la calidad del sitio de oviposición y/o a la cantidad de recursos disponibles. Las hembras ajustan sus rasgos reproductivos de acuerdo a las condiciones ambientales, por esto sus patrones de oviposición pueden influir en la adecuación biológica de la descendencia. Evaluamos los efectos de la calidad del hospedero sobre los patrones de oviposición y desempeño de la descendencia en *Megacerus eulophus* (Coleoptera: Bruchidae). Además, estudiamos cómo la dieta maternal (basada en carbohidratos [C] o proteínas [P]) influye en los patrones de oviposición. La fecundidad se incrementó en respuesta a semillas grandes y a una dieta [C]. Una alta disponibilidad de carbohidratos también influenció positivamente la longevidad. El tamaño de los huevos es afectado de manera distinta por la calidad de la semilla dependiendo de la dieta maternal. Frente a una pobre calidad del hospedero, hembras con dieta [C] incrementan el tamaño de los huevos, mientras que hembras con dieta [P] lo disminuyen. Los resultados indican que el tamaño de la semilla sería un indicador de la calidad del hospedero, siendo importante en la decisión de oviposición y desempeño de la descendencia de *M. eulophus*.

65. EVIDENCIA DE CONTORNO EN DELFÍN FÓSIL DEL MIOCENO DE LA FORMACIÓN PISCO, PERÚ. (Contour evidence of fossil dolphin from Miocene of Pisco Formation, Peru).

Canals, M.[1], Gutstein, C. S.[1], Cozzuol, M.[2]
[1]Museo Paleontológico Caldera, Facultad Ciencias, Universidad Chile, [2]Universidade Federal Minas Gerais, Brasil.

The echolocation evolution has been interpreted throughout soft tissue impression in cranial bony fossils of primitive odontocetes. This ability, fundamental in land-water transition, is thought to be present since Eocene in Archaeoceti. Nevertheless, direct evidences as the presence and shape of the melon are scarce or even absent. We report here the first evidence of contour in a *Brachydelphis mazeasi* (Platanistoidea?) specimen from Middle-Miocene beds of Pisco Formation. The specimen, MUSM 887, from the museum of the Universidad Mayor San Marcos (Peru), was recovered from Corre Viento locality (Middle Miocene). It comprises: skull with mandibles, axial skeleton and scapular girdle conserved in anatomic position. Taphonomic features, such as, articulated skeleton, fine sediments and presence of a contour, suggests a rapid post-mortem burial. The contour could be attributed to a single decomposition capsule but this group of odontocetes should have a thin fat tissue layer, which has allowed the maintaining of its original shape. The melon shape is similar to that of Pontoporiidae and Iniidae, present neck depression as in *Inia*, also confirmed by cervical vertebras shape. The presence of melon contour represents evidence of echolocation on primitive dolphins. To compare the cranial structures, cranial and melon acoustic biomechanics should be performed to elucidate ancient echolocation capability and evolution.

66.ESTRUCTURA GENÉTICA EN LOS DELFINES NARIZ DE BOTELLA (*Tursiops truncatus*) DE LA RESERVA NACIONAL PINGÜINO DE HUMBOLDT. (Genetic structure in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from "Pingüino de Humboldt" National Reserve).

Sabaj, V.[1], **Molina, C.**[2], Vilina, Y.A.[2, 6], Capella, J.[3, 6], Pérez, M.J.[4]., Moraga, R.[4]. y Gibbons, J.[5, 6]
[1]ICBM, Fac.Med., U. Chile. [2]Fac.Medicina Veterinaria, U. Santo Tomás. [3]Fundación Yubarta, Colombia. [4]Eutropia, Centro de Investigación. [5]Instituto de la Patagonia, UMAG, Punta Arenas. [6]Whale Sound, Chile.

En este trabajo examinamos la estructura genética de una población de delfín nariz de botella (*Tursiops truncatus*) de las aguas adyacentes a la Reserva Nacional Pingüino de Humboldt, Chile, utilizando la secuencia nucleotídica de un segmento de la región hipervariable del DNA mitocondrial (mtDNA) de 17 individuos de la población, identificados mediante fotografías de la aleta dorsal, algunos de los individuos muestreados tienen 10 años o más de residencia en el área. Describimos la presencia de 5 haplotipos, con una diversidad génica de 0,116 ± 0,07 y nucleotídica de 0,009±0,005, que se encuentra dentro de los rangos descritos para otras poblaciones de esta especie. El análisis filogenético de los 5 haplotipos en conjunto con otros 48 descritos en literatura, revela una fuerte estructuración geográfica, agrupando a esta población en un solo clado. El análisis de varianza molecular (AMOVA) indica que esta población de delfines se diferencia fuertemente de otras descritas (Golfo de México, Mediterráneo, Sudáfrica, China y Brasil). Finalmente, no encontramos evidencia de un efecto "cuello de botella" reciente.
Financiamiento: Parcialmente Facultad de Medicina Veterinaria y Proyecto INV-1-04-09 UST.

67. DIVERSIDAD DE POLINIZADORES EN ESPECIES ANUALES Y PERENNES DE *CHAETANTHERA* (ASTERACEAE) (Diversity of pollinators in annual and perennial species of *Chaetanthera*).

Muñoz, M.S., Arroyo M.T.K. Bustamante R.
Instituto de Ecología y Biodiversidad, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

El género *Chaetanthera* es endémico de Latinoamérica. Solo en Chile existen especies que conforman un clado filogenético, formado por especies anuales y perennes autoincompatibles. En ellas se estudió la diversidad de polinizadores esperando que fuera mayor en especies anuales que en perennes, de acuerdo a la predicciones hechas por Waser *et al.* (1996). Se utilizaron distintos estimadores de diversidad, evaluándose la riqueza de especies de polinizadores con estandarización del esfuerzo de muestreo (curvas de rarefacción) y sin estandarización. También se analizó la diversidad basándose en la estructura comunitaria de especies dominantes de polinizadores (N_2 de serie de Hill).
Considerando la riqueza de especies sin estandarizar el esfuerzo de muestreo, las especies perennes tienden a una mayor riqueza de polinizadores. Al estandarizar el esfuerzo mediante rarefacción, la riqueza de especies tendió igualmente a ser mayor en especies perennes. Sin embargo, analizando la estructura comunitaria de los polinizadores, las especies anuales de *Chaetanthera* tienden a una mayor diversidad de los polinizadores más dominantes.
No se encontró diferencias entre los análisis con y sin estandarización del esfuerzo de muestreo.
Los resultados fueron concluyentes para confirmar mayor diversidad de polinizadores en especies anuales de *Chaetanthera* considerando la estructura comunitaria de los polinizadores.
ICM-PO5-002.

68. ANÁLISIS FILOGENÉTICO E IMPLICACIONES BIOGEOGRÁFICAS DE LOS TITANOSAURIDOS INCORPORANDO NUEVA INFORMACIÓN DEL CRETÁCICO DE CHILE. Phylogenetic analysis of the titanosaurids incorporating new information from the Cretaceous of Chile.

Rubilar-Rogers, D.
Laboratorio de Zoología de Vertebrados, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Sección Paleontología, Museo Nacional de Historia Natural.
Patrocinante: Mauricio Canals.

Una nueva propuesta de las relaciones filogenéticas de los titanosaurios, incluyendo nueva evidencia proveniente del Cretácico Superior del norte de Chile, es presentada. En este nuevo análisis se discute la consistencia del nodo que define a la familia Saltasauridae y se discute la monofilia de las subfamilias Opisthocoelicaudinae (Laurasia) y Saltasaurinae (Gondwana). Las réplicas de bootstrap permiten reconocer una politomía en Saltasauridae que incluye además a *Titanosaurus colberti* y SNGM-1 de Chile. *Opisthocoelicaudia*, de Asia central, está ubicado junto a titanosaurinae indet., de Brasil. En este análisis *Rapetosaurus* y *Nemegtosaurus* se ubican como grupo hermano de Saltasauridae. Basado en las distribuciones geográficas disjuntas de los taxa que conforman a la familia Saltasauridae, permiten concluir que las formas septentrionales son el resultado de una dispersión desde Gondwana. Este dato filogenético es consistente con los modelos de levantamiento de un corredor centroamericano propuesto para el Cretácico Tardío lo que permitiría una conexión terrestres entre norte América-Asia y América del Sur.
Esta investigación fue financiada por CONICYT.

69. TRANSGRESIONES HOLOCÉNICAS EN LA CIUDAD DE VALDIVIA: REGISTRO SEDIMENTOLÓGICO Y MICROFAUNÍSTICO. (Holocenic transgressions in the city of Valdivia: sedimentological and microfaunistic record).

Cartagena, M. y Mario Pino.
Instituto de Geociencias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile. FORECOS.

La transgresión del Holoceno medio está registrada a nivel mundial. Reconstrucciones paleoambientales de esta transgresión han utilizado diferentes proxies, entre ellos los foraminíferos. Para este estudio se analizó una muestra de sedimento que contiene foraminíferos del Campus Teja de la Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile (39° 48' S, 73° 15' W) a un profundidad de 5 metros, con la que se espera determinar si la sedimentología y el registro fósil están relacionados con la transgresión máxima del holoceno medio. Resultados preliminares indican la presencia de *Quinqueloculina* spp, *Elphidium* spp. y *Ammonia* spp. los cuales son géneros característicos de ambientes marinos.
Agradecimientos: Instituto de Geociencias, FORECOS, Doctora Gladíz Ruiz D.

70. COLONIZACIÓN DE LA HEMIEPÍFITA *PSEUDOPANAX LAETEVIRENS* SOBRE *EUCRYPHIA CORDIFOLIA* EN UN BOSQUE VALDIVIANO COSTERO EN LA ISLA DE CHILOÉ. (Colonization of the hemiepiphyte *Pseudopanax laetevirens* on *Eucryphia cordifolia* in a Valdivian coastal forest of Chiloé Island).

Peña, M. P.[1, 2], Carrasco, N. V.[1, 2], Díaz, I. A.[1,3], Peña-Foxon, M. E.[1], Tejo, C.[1, 3]
[1]Senda Darwin. [2]Lab. Dendrocronología, UACh, [3]CASEB.
mppena@gmail.com

Los bosques templados del sur de Chile poseen una gran riqueza de plantas epífitas, destacándose *Pseudopanax laetevirens* (Sauco del Diablo), hemiepífita leñosa común, escasamente estudiada. Se observa una estrecha relación con la emergente *Eucryphia cordifolia* (Ulmo), no existiendo estudios sobre su colonización por Sauco y los efectos en su crecimiento. En este trabajo analizamos la dinámica poblacional de *P. laetevirens* postulando que su establecimiento depende tanto del tamaño de *E.cordifolia* como de la disponibilidad de suelo epífito y que no hay efecto de Sauco sobre el crecimiento de Ulmos emergentes. Mediante técnicas de escalada realizamos muestreos de *P.laetevirens*. Colectamos tarugos de incremento para determinar edades de ambas especies, analizar las tasas de crecimiento de *E.cordifolia* con y sin *P.laetevirens* y fechar el establecimiento de la hemiepífita, según técnicas dendrocronológicas. Nuestros resultados indican una relación positiva entre el área basal de ambas especies, y en base a las edades determinadas, la estrecha relación entre ambas especies se extendería al menos por 56 años. *P.laetevirens* cumpliría un rol clave en los bosques templado-costeros, contribuyendo a una mayor heterogeneidad vertical del dosel y disponibilidad de microhábitats para otras especies de epífitas.
Financiamiento:
Fondecyt1050225-FondapFondecyt15010001-Canon National Parks Science Scholars Program.

71. CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE LA POBLACIÓN DE BALLENAS JOROBADAS (*Megaptera novaeangliae*) DEL ESTRECHO DE MAGALLANES. (Genetic characterization of a Humpback Whale population (*Megaptera novaeangliae*) in the Strait of Magellan)

Sabaj, V.[1], Lería, M.J.[1], **Vilina, Y.A.**[2, 5], Gibbons, J.[3, 5], Capella, J[4, 5]
[1]ICBM, Fac. Medicina, U. Chile. [2]Fac. Medicina Veterinaria, U.Santo Tomás. [3]Instituto de la Patagonia, UMAG. [4]Fundación Yubarta,Colombia. [5]Whale_Sound, Chile.

Entre 2002-2005 colectamos biopsias de 43 individuos distintos de ballenas jorobadas de un nuevo sitio de alimentación descubierto en el Estrecho de Magallanes (EM). En ellas analizamos un segmento de DNA de la región mitocondrial hipervariable y cinco microsatélites.
El mtDNA en EM presenta menor diversidad que en las áreas donde las ballenas jorobadas se reproducen en el Pacífico Sur. En EM encontramos tres haplotipos solo presentes en Colombia (reproducción) y Península Antártica (PA - alimentación). Uno de ellos, el más frecuente en EM, lo es también en Colombia y PA. Encontramos un cuarto haplotipo, no descrito anteriormente. Nuestros resultados indican una relación genética más cercana con Colombia y PA que con otras poblaciones del Pacífico Sur. Asimismo destacamos que se observa una relación filogenética de estos haplotipos con los del Pacífico Norte.
La proporción machos: hembras determinada por PCR-RFLP fue 1:1, contrario a lo observado en áreas de reproducción donde se registra mayor proporción de machos. Los microsatélites muestran una diversidad similar a otras poblaciones. Los alelos de las hembras coinciden en un 50% con los de cada cría acompañante (n=4), confirmando la migración de estas con sus madres a alimentarse.
Financiamiento: Proyecto INV-5-03-01 UST
Proyecto 021500-UMAG

72. ANÁLISIS DE RESTOS ÓSEOS DE MASTODONTE DEL ÁREA COMPRENDIDA ENTRE LOS 39° 51' Y 42° 28' S, X REGIÓN DE LOS LAGOS. (Osseous remains analysis of mastodon of the area included between the 39 ° 51' and 42 ° 28'S, X region of Los Lagos).

Recabarren, O., Montero I. y Pino M., Instituto de Geociencias, UACh, Valdivia.

Los mastodontes sudamericanos provienen del norte del continente americano. Una sola familia se reconoce en Sudamérica. La familia Gomphotheriidae, esta incluye a los proboscídeos bunodontos, trilofodontos, dibelodontos y brevirostros. Esta familia está representada en el registro fósil por tres especies: *Stegomastodon waringi*, *Stegomastodon platensis*, y *Cuvieronius hyodon*. En este trabajo se dan a conocer los estudios y análisis que se hicieron a las colecciones de Monte Verde, Osorno (sitios Mulpulmo, Huilma, Pilauco y Nochaco), y a piezas procedentes de Los Lagos, Paillaco y Castro que se encuentran en el Instituto de Geociencias de la UACh. Hasta la fecha la mayor parte de los restos de mastodonte encontrados en el sur de Chile han sido descritos como *Cuvieronius*. El análisis de los trozos de defensas, indica que estas serían congruentes con el género *Stegomastodon*. En este animal las defensas son rectas con una pequeña curvatura hacia arriba en la zona del ápice y sin esmalte dental. Es posible que estos mastodontes de los cuales existen registros en Argentina, hayan podido cruzar los Andes por algún corredor Andino en dirección al occidente.
Agradecimientos: Instituto de geociencias, Doctora Gladiz Ruiz D.

73. LOS PONTOPÓRIDOS (CETACEA, ODONTOCETI) DE LA FORMACIÓN BAHÍA INGLESA (MIOCENO MÉDIO-PLIOCENO). (The Pontoporiids (Cetacea, Odontoceti) from Bahía Inglesa Formation (Middle Miocene-Pliocene)).

Gutstein, C. S.[1], Cozzuol, M.[2]
[1]Museo Paleontológico Caldera; [2]Universidade Federal Minas Gerais.
Patrocinio: Mauricio Canals.

The only living Pontoporiidae is *Pontoporia blainvillei* restricted to South Atlantic. However, the fossil record is extended back to Neogene, mostly from South America, with some specimens referred to North Hemisphere. In South America the fossils are extended from the Pacific (Peru and Chile) to South Atlantic coast (Argentina and South Brazil). *Pliopontos littoralis* was described to Pliocene of Pisco Formation (Peru) and *Pontistes rectifrons* are only present in Late Miocene of Parana F. The specimens here dscribed are housed in the Museo Paleontológico de Caldera. MPC3 y 3034 are regarded to *Pliopontos sp.* since present low vertex rectangular and symmetric nasals with comma-like frontals on vertex, difffering from *P. littoralis* by presenting premaxilla-nasal contact. MPC3052 assigned to *Pontistes* by the larger size, plan rostrum and rectangular nasals with median prominence and postlateral and postmedial process premaxilla present. MPC3037 aff. *Pontoporia* by the combination of low vertex and rounded postlateral premaxilla process, with prominent premaxilla plate for vestibular sacs and slender zygomatic process of squamosal. Therefore, we present here all neogene Pontoporiidae taxa to Late Miocene beds of Bahía Inglesa Formation (Atacama Region), giving a wider geographic distribution and age range to these ones. Additionally, we record a new form, similar to *P. blainvillei* (Pleistocene to recent), from Late Miocene outcrops ("Morro" locality).

74. TAFOCENOSIS DE TEJIDOS BLANDOS DEL PLEISTOCENO SUPERIOR, SITIO PILAUCO, OSORNO, CHILE. (Taphocoenosis in soft tissue from upper pleistocene, Pilauco site, Osorno, Chile).

Montero, I. Recabarren, O Pino, M.
Instituto de Geociencias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile.

La megafauna que vivió en América del Sur en el Pleistoceno es considerada descendientes de los mamíferos de América del Norte, que pasaron vía Panamá a América del Sur, formando parte del Gran Intercambio Biótico Americano. En Chile se han encontrado restos de megafauna en cerca de 80 localidades. En 1986 una excavación realizada por la empresa Fourcade en Osorno, dio con los restos parcialmente fosilizados de un mastodonte y con otros no identificados. En una primera revisión macroscópica de los restos, se pudo observar que algunas piezas de la colección no correspondían a lo descrito en los informes previos. En el presente trabajo se estudia un fragmento de aspecto externo distinto a hueso por medio de observaciones microscópicas y M.E.B, asociadas un fechado radiocarbónico de 12.540 años A.P. Las estructuras observadas han sido vasos sanguíneos y fibras del tipo de colágeno. La tafonomía del lugar, es un ambiente anóxico, provocado por la presencia de turba de un pantano de la época. Aún no se han podido realizar comparaciones con otros tejidos, como los de Monte Verde o de gomphotheridos actuales, sin embargo, a partir de los elementos analizados se puede suponer que el material previamente considerado como resto vegetal, corresponde a tejido de origen animal (piel).
Palabras clave: Pleistoceno, Mastodonte, Megafauna.

75. EFECTO DE ARBOLES NATIVOS SOBRE EL RECLUTAMIENTO DE LAS ESPECIES EXÓTICAS *PINUS RADIATA* Y *EUCALYPTUS GLOBULUS* EN DIFERENTES CONDICIONES DE HABITAT. (Effect of native trees on the recruitment of the exotic species *Pinus radiata* and *Eucalyptus globulus* under two habitat conditions).

Becerra, P. I. & Bustamante, R. O.
Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La vegetación nativa ha sido documentada afectando tanto negativa como positivamente la invasión de plantas exóticas. Sin embargo, no es claro bajo qué condiciones cada tendencia puede ser generada. La teoría de interacciones planta-planta propone que las interacciones variarían desde negativas a positivas a medida que se incrementa el estrés abiótico, por ejemplo por medio del efecto generado por el dosel vegetal bajo diferentes condiciones de humedad. Así, en hábitats mésicos el efecto de plantas nativas sobre exóticas debiera ser negativo, mientras que en hábitats xéricos positivo. En este trabajo se evaluó experimentalmente el efecto neto y parcial del dosel del árbol nativo *Lithrea caustica* sobre diferentes etapas del reclutamiento de las ampliamente reconocidas como especies exóticas invasivas, *Pinus radiata* y *Eucalyptus globulus*, en un hábitat xérico y uno mésico de Chile central. Encontramos que *Lithrea* tiene efectos positivos y negativos sobre *Pinus* y principalmente positivos sobre *Eucalyptus*, pero estos dependen del hábitat y fase del reclutamiento. Estos efectos difirieron entre ambas especies exóticas, a pesar de ser consideradas ecológicamente similares. Los resultados sugieren que *Lithrea* no impediría la invasión de ambas especies exóticas en Chile central.
Agradecimientos: Beca de doctorado y apoyo de tesis de CONICYT.

MICROBIOLOGÍA-VIROLOGÍA

76. SECRECIÓN DE ENZIMAS HIDROLÍTICAS Y PATRONES ISOENZIMÁTICOS DE NUEVAS CEPAS DE *TRICHODERMA* OBTENIDAS POR FUSIÓN DE PROTOPLASTOS. (Hydrolytic enzyme secretion and isoenzymic patterns of new strains of *Trichoderma* obtained through protoplast fusion).

[1]**Jofré, M.**, [1]Barros, M., [1]Ríos, E., [1]Polanco, R., [2]Besoaín, X., [1]Pérez, L.M.
[1]Lab. Bioquímica, Depto. Cs. Biológicas, Fac. Cs. de la Salud, U. Andrés Bello; [2]Fac. Agronomía. P. U. Católica de Valparaíso. lperez@unab.cl

Los hongos del género *Trichoderma* utilizan mecanismos de control biológico, entre los que destacan la secreción de hidrolasas como β-1,3-endoglucanasas, β-1,4-endoquitinasas y endoproteasas. Estas son capaces de degradar componentes de la pared celular de diversos fitopatógenos, tales como los que afectan el sistema radical del tomate. Para mejorar la capacidad biocontroladora de cepas silvestres de *Trichoderma harzianum*, se generaron y fusionaron protoplastos. Se analizaron ocho productos de la fusión, y se seleccionaron cuatro (F_{2-7}, F_{3-9}, F_{5-7} y F_{5-8}), en función del incremento de las β-1,3-endoglucanasas y β-1,4-endoquitinasas. Las actividades se compararon con las de sus cepas parentales, analizando adicionalmente, la influencia de la fuente de carbono sobre la secreción de estas enzimas en cultivos líquidos. Las cepas seleccionadas mostraron mayor actividad endoproteasa y β-1,4-endoquitinasa y patrones isoenzimáticos diferentes al de sus respectivos parentales, en las distintas condiciones de cultivo estudiadas. Este trabajo permitió evaluar algunos de los mecanismos que participan en el biocontrol de *Trichoderma* sobre fitopatógenos de tomate, y obtener y seleccionar nuevas cepas que pueden constituirse en una potencial alternativa al uso del fumigante bromuro de metilo.
Financiamiento: Proyecto Fondecyt 1040531-04

77. ANALISIS MOLECULAR DE LA DISTRIBUCION DE LA COMUNIDAD BACTERIANA ASOCIADA A SEDIMENTOS DE LA LAGUNA BURGOS, XI REGION, CHILE. (Molecular *analisys* of bacterial community distribution from Laguna Burgos sediments, Region XI, Chile).

[1]**Campos, V.**, [2]Chamorro, S., [1]Mondaca, M.A., [2]Urrutia, R.
[1]Departamento de Microbiología, [2]Centro EULA-CHILE.
Patrocinio: Oscar Parra

La disposición espacial de una comunidad bacteriana, depende de muchos factores, como la disposición de oxígeno y la composición físico-química del sedimento. La aplicación de técnicas moleculares, basado en la amplificación de genes ADNr 16s, permite detectar la composición bacteriana presente en muestras ambientales. El objetivo del trabajo fue comparar la diversidad bacteriana de sedimentos de la laguna Burgos (XI Región), a diferentes estratos. El núcleo del sedimento fue obtenido de la laguna Burgos (45° 42' 35,1'' S/72° 12' 53.4'' W), mediante core, tomado desde la parte central, de mayor profundidad (30 m). Las muestras de sedimentos fueron segmentadas cada dos centímetros, a lo largo del core. El recuento viable y total fue realizado en agar R_2A y DAPI, respectivamente. La estructura y diversidad bacteriana fue estudiada mediante la amplificación por PCR del ARNr 16s. Los productos de PCR fueron analizados por electroforesis en gel de gradiente denaturante (DGGE). Los recuentos bacterianos mostraron que los estratos inferiores presentaron un menor recuento bacteriano. Los análisis de DGGE mostraron diferencias entre los estratos medio-superior y los estratos inferiores, observando diferencia entre las especies dominantes a diferentes niveles de profundidad. Los análisis de similitud mostraron que los estratos medios presentaron mayor porcentaje de similitud.

78. ANÁLISIS DEL DOMINIO ABC DEL TRANSPORTADOR DE HEMOLISINA MEDIANTE DINÁMICA MOLECULAR. (Molecular dynamics analysis of the hemolysin transporter ABC domain).

Tello, M., Sepúlveda, L., Arbildua, J.J., Monasterio O. y Lagos, R.
Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. (mcg_tello@yahoo.com)

Los transportadores ABC secretan una amplia variedad de productos, como toxinas y bacteriocinas, entre los que se cuenta la hemolisina y la microcina E492. La secreción requiere de la hidrólisis de ATP, que es realizada por el dominio ABC presente en el transportador de estas proteínas. Mutaciones en los residuos catalíticos del dominio ABC impiden la secreción, sin embargo, mutaciones en sitios no catalíticos del dominio ABC también inhiben la exportación. Por ejemplo, la deleción de los últimos cuatro aminoácidos del dominio ABC del transportador de microcina E492 impide la exportación de la bacteriocina. El efecto de estas mutaciones sobre el dominio ABC se analizó mediante experimentos de dinámica molecular de la estructura cristalográfica del dominio ABC del transportador de hemolisina (50 % idéntico al dominio ABC del transportador de la microcina E492). La extensiva dinámica molecular (5 ns) mostró que las regiones correspondiente al Walker A/B. y motivo LSSGQ son más flexibles que otras regiones presentes en el dominio ABC, y que la deleción de los últimos cuatro aminoácidos del transportador de microcina aumenta la flexibilidad del motivo Walker A que está encargado de unir al ATP. Este incremento explicaría el fenotipo no productor de microcina E492, y permite establecer que la región conformada por estos cuatro aminoácidos es encargada de estabilizar el motivo Walker A.
Financiado por proyecto Fondecyt 1061128.

79. EL ESTRÉS OXIDATIVO MEDIADO POR TELURITO DE POTASIO EN *E. COLI* INCLUYE LA GÉNESIS DE ANIÓN SUPERÓXIDO. (The oxidative stress mediated by potassium tellurite in *E. coli* involves superoxide generation).

Pérez, J.M.[1], Calderón I.L.[1], Arenas F.A.[1], Fuentes D.E.[1], Pradenas G.A.[1], Fuentes E.L,[1] Sandoval J.M.[1], Castro M.E.[1], Elías A.O.[1] and Vásquez C.C.[1]
Laboratorio de Microbiología Molecular[1], Universidad de Santiago de Chile.

Tellurium oxyanions like tellurite (TeO3-2) are highly toxic for Gram negative and Gram positive bacteria. Resistant bacteria are able to reduce tellurite to its elemental and less toxic form, elemental tellurium (Te°), which is accumulated as black deposits inside the cell. In this work we show that part of the oxidative effect produced by potassium tellurite inside the cell is due to Reactive Oxygen Species (ROS) generation, specifically superoxide radical. Analyzing the effect of tellurite over the induction of some E. coli stress response promoters, we found that K2TeO3 triggers the ibpA gene transcription. This gene codes for a small chaperone protein involved in heat shock response directly related with O2- resistance. Using the sensitive probe H2DCFDA we demonstrated that tellurite generates intracellular ROS. Using another ROS indicator inside the cell, we demonstrated that K2TeO3 increase the oxidized protein carbonyl content and TBARS concentration. We also detected a decrease in ROS sensitive enzymatic activities, as aconitase 4[Fe-4S] enzyme. No effect was seen in the ROS- resistant enzymatic activity malate dehydrogenase. ROS response mechanisms in tellurite treated cells were evaluated; no induction in catalase activity was observed but superoxide dismutase activity showed an important increase, suggesting the generation of superoxide radical inside the cell. RT-PCR experiments demonstrated that cells treated with tellurite induced transcription of sodA and sodB mRNAs and also an important expression induction of the superoxide stress response gene soxS. Finally, we demonstrated that in vitro tellurite reduction generates superoxide radical, situation that could explain the generation of ROS in cells treated with the toxic.
FINANCIADO POR FONDECYT 1060022 y DICYT USACH.

80. EFECTO DE LA PROTEÍNA YJGB EN LA RESISTENCIA DE *E. Coli* a K_2TeO_3. (Effect of the YJGB protein of *E. Coli* on defense against K_2TeO_3).

Castro, M., Molina R., Elías A. y Vásquez C.
Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Química y Biología, USACH. Financiamiento: Fondecyt 1060022 y Dicyt-USACH

Experimentos realizados en nuestro laboratorio, permitieron relacionar la sobreexpresión del gen *yjgB* de *E. coli* con un aumento importante en la tolerancia a telurito de potasio en esta bacteria. La proteína YjgB de acuerdo con la información disponible en las bases de datos, correspondería a una alcohol deshidrogenasa.
Aunque los mecanismos moleculares que desencadenan la toxicidad del telurito de potasio no están del todo claros, otros experimentos nos permitieron vincular la presencia de esta sal con el aumento de ROS intracelulares. Las células expuestas al tóxico presentaron, una disminución en las actividades de las enzimas catalasa y fumarasa.
La cepas de *E. coli* que sobreexpresan *yjgB*, expuestas al tóxico, presentan menor disminución en las actividades señaladas anteriormente. Al mismo tiempo, muestran un aumento de alrededor de 6 veces el MIC respecto a la cepa parental. Finalmente se determinó el contenido de grupos carbonilos generados por oxidación de proteínas. Los resultados mostraron que en la cepa silvestre expuesta al tóxico existe un incremento de más del 50% respecto a cepa que sobreexpresa YjgB o al control no expuesto. Estas evidencias permiten sugerir que el producto del gen *yjgB* está involucrado en la tolerancia de *E coli* a telurito de potasio.

81. ESTUDIOS DE UNIÓN DNA-PROTEÍNA EN PROMOTORES DE GENES DE *Geobacillus stearothermophilus* V RELACIONADOS CON LA TOLERANCIA A K_2TeO_3. "DNA-protein binding studies of *Geobacillus stearothermophilus* V genes involved in K_2TeO_3 resistance".

Fuentes, D., Sandoval, M., Pérez, J.M., Calderón, I. y Vásquez, C.
(Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile)

Se identificó tres genes (*cysK*, *iscS*, y *cobA*), relacionados metabólicamente con la síntesis y degradación de cisteína, que otorgan aumento en la tolerancia a telurito en *E. coli*. Un análisis de RT-PCR y RT-PCR en tiempo real mostró que estos tres genes se expresan mayormente en *E. coli* y *G. stearothermophilus* V en condiciones de estrés por telurito comparado a la condición control. De esta manera se analizaron los promotores de los genes *cobA*, *cysK* e *iscS* utilizando programas bioinformáticos y se ensayó la capacidad de unir proteínas de extractos proteicos obtenidos de células tratadas y sin tratar con telurito de potasio. Los resultados obtenidos muestran la presencia de una banda (en geles de SDS-PAGE) correspondiente a los promotores de *cysK* e *iscS* proveniente de extractos proteicos en la condición tóxica, no observándose en los controles. La secuenciación de esta banda mediante Espectroscopía de Masa por Atrapamiento de Iones mostró similitud con proteínas involucradas en regulación transcripcional y con proteínas que responden a estrés oxidativo.
Financiado por FONDECYT 1060022 y DICYT-USACH

82. EFECTO DEL TELURITO DE POTASIO SOBRE LAS ACTIVIDADES ACONITASA EN *ESCHERICHIA COLI*. (Effect of potassium tellurite on the aconitase enzymatic activities in *Escherichia coli*).

Fuentes, E., Calderón I. y Vásquez C.
Laboratorio de Microbiología Molecular, Departamento de Biología, USACH, Santiago, Chile. Financiado: FONDECYT1060022-DICYT-USACH.

Se ha sugerido que la reducción de telurito a estados de oxidación menores induce la formación de O_2^-, generando un estado de estrés oxidativo.
El O_2^- tiene la particularidad de inactivar enzimas que poseen centros [Fe-S], los que actúan como sitios catalíticos en las aconitasas.
La aconitasa cataliza la interconversión de citrato e isocitrato en el ciclo de Krebs. En *E. coli* existen dos aconitasas distintas, AcnA y AcnB. Ambas contienen centros [Fe-S]. Se ha demostrado que AcnB posee una mayor actividad catalítica en extractos crudos y es sensible a estrés oxidativo. En cambio, AcnA es inducida por SoxRS como respuesta a este estrés y es resistente a la inactivación oxidativa. Así, durante el estrés oxidativo, AcnB es reemplazada por AcnA evitando el bloqueo del ciclo.
Usando distintos mutantes *acn-* se midió la actividad aconitasa en presencia de telurito, observándose efectos similares a los descritos para elicitores de estrés oxidativo, es decir, inactivación de AcnB e inducción de la actividad de AcnA. Apoyando estos resultados, se determinó la liberación de iones Fe^{2+} al tratar extractos crudos con telurito, así como también se reactivó AcnB mediante incubación en condiciones anaeróbicas y adición de Fe^{2+}. Finalmente se verificó la inducción de la expresión de *acnA* mediante PCR en tiempo real.

83. EL GEN *CADA* DE *GEOBACILLUS STEAROTHERMOPHILUS* LV MEDIA LA RESISTENCIA A CADMIO, PLOMO Y ZINC EN MUTANTES *ZNTA* DE *SALMONELLA ENTERICA* SEROVAR *TYPHIMURIUM*. (Geobacillus stearothermophilus LV cadA gene mediates resistance to cadmium, lead and zinc in zntA mutants of Salmonella enterica serovar Typhimurium)

Pradenas, G.[1], Pérez J.[1], Navarro C.[1], Henríquez D.[1], Pichuantes S.[2] y Vásquez C.[1]
[1]Laboratorio de Microbiología Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile. [2]Blood Testing Division, Chiron Corporation, Emeryville, CA, USA.
Financiado por FONDECYT 1060022 y DICYT USACH

La búsqueda de determinantes de resistencia a metales tóxicos nos llevó a encontrar el gen *cadA* de *Geobacillus stearothermophilus* LV, el que presenta similitud de secuencia con bombas ATPasas involucradas en la resistencia a Cd y Zn, y cuya expresión en *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* resultó en una hipersensibilidad a dichos metales.
Asimismo se encontró que el ORF STM3576 de *S. enterica* serovar *Typhimurium* presenta una similitud de secuencia con el gen zntA de E. coli, el confiere resistencia a varios metales. La deleción de este ORF del genoma de S. enterica resultó en un aumento en la sensibilidad a Cadmio, Plomo y Zinc, lo cual confirmo de que este se trata de un homologo del gen *zntA*. La posterior complementación de este mutante con el gen cadA de revirtió el fenotipo de sensibilidad observado, indicando que el producto de este gen estaría involucrado en la resistencia a Cd, Pb y Zn, posiblemente como una bomba ATPasa de tipo-P.

84. STRESS OXIDATIVO Y LIPOPEROXIDACIÓN BACTERIANA: ESTUDIO DEL K_2TeO_3 COMO GENERADOR DE STRESS. (Oxidative stress and lipid-peroxidation in bacteria: study of K_2TeO_3 as a stress generator).

Sandoval, JM, Pérez JM, Arenas FA, Pradenas GA, Vásquez CC
Laboratorio de Microbiología Molecular, Facultad de Química y Biología, USACH.
Financiamiento FONDECYT 1060022 y DICYT-USACH.

Nuestro laboratorio recientemente ha demostrado que una de las vías de toxicidad del K_2TeO_3 es la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS). ROS producen importantes daños en diversas biomoléculas celulares, como la peroxidación de lípidos de membranas. La lipoperoxidación de membranas es un proceso bastante conocido en células eucariontes, al contrario de lo observado en procariontes. Con el objeto de demostrar que el K_2TeO_3 puede generar lipoperoxidación de membrana asociada a stress oxidativo en bacterias, se determinó la generación de TBARS, como indicador de daño.
Los resultados muestran que tratamientos con K_2TeO_3 en *E.coli* BW25113, produjeron un aumento relativo en los niveles de TBARS >5 veces comparados al control, indicando que K_2TeO_3 es capaz de inducir lipoperoxidación. En ausencia de stress, cepas mutantes en genes involucrados en la resistencia a K_2TeO_3 muestran niveles de TBARS >8 veces a la cepa silvestre; en presencia de elicitores de stress, existió una respuesta diferencial en los niveles de TBARS en las cepas analizadas. Otras condiciones de crecimiento celular como frío y anaerobiosis fueron evaluadas con el fin de asociar efectivamente el aumento en TBARS con lipoperoxidación de membranas. Los resultados sugieren que el stress oxidativo generado por K_2TeO_3, induce daño en las membranas bacterianas a través de su peroxidación.

85. BÚSQUEDA Y CARACTERIZACIÓN DEL GEN DE LA GLUTATIÓN PEROXIDASA EN BACTERIAS Y DETERMINACIÓN DE SU ROL EN LA DEFENSA CONTRA ESTRÉS OXIDATIVO Y TELURITO DE POTASIO (Search and characterization of the glutathion peroxidase gene in bacteria and determination of its role in defense against oxidative stress and potassium tellurite).

Arenas, F.[1], Pérez JM.[1], Aguayo D.[2], Castro M.[1], Pradenas G.[1], Sandoval JM.[1], Molina R.[1], Saavedra C.[2], Vásquez C.[1]
[1]Laboratorio Microbiología Molecular, USACH; [2]Laboratorio Microbiología Molecular, UNAB.
Financiamiento FONDECYT 1060022 - DICYT USACH.

Mediante análisis bioinformáticos se identificó posibles ORFs en el genoma de *E.coli* y *Salmonella* Typhimurium LT2 con características similares a la enzima glutatión peroxidasa (*gpx*). El gen *btuE* posee una alta homología con *gpx* (41%) presente en eucariontes, se encuentra dentro del operón de transporte de vitamina B_{12} BtuCED, sin embargo, no posee relación funcional con el transporte de vitamina B_{12}. La mutante Δ*btue*, mostró mayor sensibilidad que la cepa parental frente agentes generadores de estrés oxidativo, como K_2TeO_3, K_2CrO_6, H_2O_2 y paraquat. La sobreexpresión en la cepa mutante y parental, restauran y generan un aumento la resistencia de esta a K_2TeO_3 y a agentes generadores de ROS, respectivamente. Por otra parte, la sobreexpresión de *btuE* genera una disminución en la activación del sistema enzimático de respuesta a ROS (catalasa, SOD) y de otros indicadores de estrés oxidativo (TBARS-DNPH). La proteína BtuE purificada presenta actividad glutatión peroxidasa. Estos resultados confirman que el gen *btuE* de *E.coli* y *S.*Typhimurium codifica para una glutatión peroxidasa bacteriana involucrada en la respuesta frente a estrés oxidativo de estas bacterias.

86. LA AGREGACIÓN DE LA MICROCINA E492 ESTÁ RELACIONADA CON UNA MENOR EXPRESIÓN DE LOS GENES DE MADURACIÓN *mceIJ* (Microcin E492 aggregation is related to a lower expression of maturation genes *mceIJ*)

Marín M.[1], **Leiva M.[1]**, Flores J.[1], Vera J.[2], Vergara C.[2], Monasterio O.[1], Lagos R.[1]
[1]Laboratorio de Biología Estructural y Molecular y [2]Laboratorio de Fisiología Celular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
Financiamiento: FONDECYT 1061128

La microcina E492 es una bacteriocina formadora de poros que se encuentra modificada postraduccionalmente por los productos de los genes *mceCIJ*. La microcina disminuye su actividad bactericida en fase estacionaria, situación correlacionada con una disminución en la trascripción de *mceIJ* y con la formación de agregados amiloides. El aumento de la dosis génica de *mceIJ* incrementa la actividad específica de la microcina y retrasa la pérdida de actividad en fase estacionaria. Para establecer si la formación de agregados se relaciona con la producción de microcina inactiva, se purificó microcina a partir de cepas que: producen microcina silvestre; producen microcina inactiva por mutacion en *mceC*; sobreexpresan los genes *mceIJ*; sobreexpresan los genes *mceAB* (estructural y de inmunidad respectivamente). Los agregados formados se analizaron bioquímica, electrofisiológica y microscópicamente. La microcina agregada forma filamentos tipo amiloide, no tiene acción bactericida sobre esferoplastos y no forma canales iónicos en bicapas lipídicas. Se concluyó que la microcina inactiva se produce por un desbalance entre la forma activa madura y la forma inactiva no modificada.

87. RESISTENCIA A CLARITROMICINA Y TETRACICLINA EN AISLAMIENTOS DE *H.pylori* DE LA REGIÓN METROPOLITANA. (Clarithromycin and Tetracycline resistance in *H. pylori* from Region Metropolitana isolates).

Garrido, L, Vallejos C, Defilippi CC, Madrid A M, Defilippi C, Toledo H.
Prog. Biología Celular y Molecular, ICBM. Fac. de Medicina. Univ de Chile; Unidad de Gastroenterología, Hospital Clínico Univ. de Chile.

Helicobacter pylori es una bacteria patógena que infecta el 79% de la población en Chile. La colonización del estómago por *H. pylori* se asocia a un mayor riesgo de desarrollar úlcera péptica y adenocarcinoma. Las terapias antibióticas frecuentemente erradican la bacteria. Los esquemas terapéuticos más usados contemplan el uso de un inhibidor de la bomba de protones y de dos antibióticos, entre los cuales están metronidazol (Mtz), claritromicina (Cla), amoxicilina (Amx), tetraciclina (Tet). Un problema emergente es la resistencia desarrollada por *H. pylori*. En este estudio analizamos la resistencia a Cla y Tet , y las mutaciones en los genes de los rRNAs 23S y 16S, en 50 aislamientos de pacientes de la Región Metropolitana. La resistencia primaria a Cla y Tet se observó en 10/50 (20%) y 11/41 (26,8%), respectivamente y, la multirresistencia desarrollada para ambos antibióticos alcanzó 2/41 (4,9%). Mediante análisis de PCR-RFLP y secuenciación del gen rRNA 23S se observaron nuevas mutaciones (las sustituciones G1939A; T1942C; A2142G y la transversión C2147G). Este estudio muestra (a) una alta prevalencia de la resistencia a Cla y Tet en los aislados estudiados; (b) una nueva variante en el gen del rRNA 23S de *H. Pylori*.

88. LA COMPOSICIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO AFECTA LA PROPORCIÓN DE CAROTENOIDES PRODUCIDOS POR *Xanthophyllomyces dendrorhous*. (The composition of culture medium influences the percentage of carotenoids produced in *X. dendrorhous*.)

Wozniak, A.; Lozano, C.; Alcaíno, J.; Carmona, M.; Marcoleta, A.; Lodato, P.; Baeza, M. y Cifuentes, V.
Departamento Cs. Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

En *X. dendrorhous* la producción de carotenoides en medio completo (YM) y medio mínimo (MM) con succinato es el doble con repecto a la de YM glucosa, aunque en YM succinato disminuye la proporción de astaxantina entre los carotenoides producidos. La identificación y cuantificación por HPLC de los carotenoides producidos en fermentaciones en YM y MM con succinato, revelaron que la proporción de astaxantina en la fase tardía del cultivo disminuye en medio YM (28%) mientras que aumenta en MM (87%). Esto podría deberse a una baja actividad de la astaxantina sintasa en YM, ya que el gen de dicha enzima se expresa de forma similar en ambos medios. En YM succinato hay acumulación de fitoeno, lo cual podría deberse a una limitación en la actividad de la fitoeno desaturasa (*crtI*). La diferencia mas notoria en cuanto a la expresión de los genes de carotenogénesis es en el mensajero alternativo de crtI (amRNA crtI), la cual es menor en YM que en MM, sugiriendo que el amRNA crtI podría tener un rol regulatorio en la biosíntesis de los carotenoides. Por lo tanto, modificando la composición del medio de cultivo, no solo es posible aumentar la producción de carotenoides, sino además, la proporción de astaxantina entre los carotenoides sintetizados.
Agradecimientos: Fondecyt N°1040450.

89. TELURITO DE POTASIO (K_2TeO_3) CAUSA LA INACTIVACIÓN DE FUMARASAS CON CENTROS [FE-S] A TRAVÉS DEL ESTABLECIMIENTO DE UN ESTRÉS DE TIPO OXIDATIVO EN *ESCHERICHIA COLI*. (*K_2TeO_3 causes the inactivation of fumarases that contains [Fe-S] clusters through the establishment of an oxidative stress in Escherichia coli).*

Elías A., Calderón I. y Vásquez, C.
Laboratorio de Microbiología Molecular, USACH.
Financiamiento: Fondecyt 1060022 Dicyt-USACH.

Escherichia coli contiene tres fumarasas, FumA, FumB y FumC, que catalizan la interconversión de L- malato y fumarato. En condiciones aeróbicas FumA es más activa, mientras que en ausencia de oxígeno predomina FumB. FumC es inducida principalmente frente a estrés. A diferencia de FumC, FumA y FumB contienen centros [Fe-S] esenciales para su función. Se ha demostrado que los centros [Fe-S] de estas enzimas son susceptibles al ataque por superóxido (O_2^-) conviertiendo su forma estable $[4Fe\text{-}4S]^{+2}$ en una forma inactiva, $[3Fe\text{-}4S]^{+1}$.
La hipótesis de trabajo propone que la reducción *in vivo* de telurito en *E. coli* lleva asociada la producción de O_2^-, el cual genera estrés de tipo oxidativo que incluye como blancos los mencionados centros [Fe-S] de las fumarasas A y B.
Ensayos enzimáticos con extractos crudos de una cepa de *E. coli* deficiente en FumC tratadas con TeO_3^{2-} muestran una disminución de las actividades fumarasa con centros [Fe-S]. Ensayos *in vitro* con fracciones purificadas de FumA confirman la sensibilidad de esta enzima a O_2^-.
Los resultados sugieren que la toxicidad del K_2TeO_3 está directamente relacionada con la génesis de un estado de estrés oxidativo en *E. coli*.

90. EXPRESIÓN DEL GEN DE LA RdRp DEL MICOVIRUS *Bc*V1 QUE INFECTA A *Botrytis cinerea* CCg378 (Expression of the RdRp gene from *Bc*V1 mycovirus that infects *Botrytis cinerea* CCg378).

Bustamante, P., Cottet, L. y Castillo, A.
Laboratorio de Virología de Hongos, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. (E-mail: acastill@lauca.usach.cl).
Financiado por DICYT-USACH.

Los micovirus corresponden a elementos intracelulares caracterizados en hongos, que poseen dsRNA como genoma, encontrándose segmentado en aquellos virus pertenecientes a la familia *Partitiviridae*.
Botrytis cinerea CCg378 se encuentra infectada por un micovirus (*Bc*V1) que se clasificaría dentro de la familia *Partitiviridae*. El genoma de *Bc*V1 corresponde a dos segmentos de dsRNA, codificando el dsRNA-1 (2196 pb) para la RdRp y el dsRNA-2 (2219 pb) para el polipéptido de la cápside.
Utilizando el cDNA-1, generado a partir del dsRNA-1 del micovirus, se amplificó por PCR el ORF que codifica para la polimerasa y el producto de amplificación se clonó en vectores de expresión. Se utilizó el plásmido pET-21d(+) para generar el vector recombinante con el cual se transformó bacterias JM109(DE3), en las cuales se indujo la generación de una proteína unida a un tag-6xHis en el C-terminal. En *S. cerevisiae* se utilizó un vector generado por recombinación homóloga *in vivo* entre el plásmido pGREG586 linealizado y el producto de amplificación. La proteína producida en este sistema posee un tag-6xHis en el N-terminal.
El producto de expresión en ambos sistemas se purificó por columnas de Ni-NTA y se analizó por SDS-PAGE.

91. CARACTERIZACIÓN DE UNA CEPA DE *BOTRYTIS CINEREA* TRANSFECTADA CON UN RNA HIPOVIRAL HETERÓLOGO. (Characterization of a *Botrytis cinerea* strain transfected with a heterologous hypoviral RNA).

Jeldres, O., Cottet, L. y Castillo, A.
Laboratorio de Virología de Hongos, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. (E-mail: acastill@lauca.usach.cl).
Financiado por DICYT-USACH.

Los virus fúngicos del género *hipovirus* están asociados a la atenuación del grado de virulencia del hospedador, proporcionando las bases moleculares para el control biológico de enfermedades fúngicas mediadas por virus. Evidencias experimentales revelaron que es posible transfectar y transformar hongos con hipovirus heterólogos aislados de cepas filogenéticamente distantes, causando un severo cambio en el fenotipo del hongo infectado. Estos resultados demuestran que es posible ampliar el rango de hospederos para los *hipovirus*, disminuyendo la virulencia del hongo infectado.
Botrytis cinerea es un hongo fitopatógeno que infecta un amplio rango de hospedadores vegetales provocando la enfermedad conocida como pudrición gris. Usando transcritos sintéticos heterólogos obtenidos a partir del cDNA del hipovirus CHV1-EP713, se transfectaron esferoplastos de *B. cinerea* 149, logrando una infección estable y permanente. La presencia del micovirus se determinó purificando el dsRNA, correspondiente a su genoma, por cromatografía en celulosa-CF11. El grado de virulencia de la cepa transfectada se determinó midiendo la actividad de la enzima lacasa, mediante la oxidación de 2,6-dimetoxifenol y ácido gálico. Estos resultados revelaron que la presencia del hipovirus provoca una disminución en la actividad de la enzima. Se midió la tasa de esporulación y se realizaron bioensayos de virulencia en hojas de plantas de poroto, ambos ensayos revelaron que no existirían diferencias significativas en la tasa de esporulación y el daño producido sobre el tejido vegetal.

92. TRANSFORMACIÓN DE *Botrytis cinerea* MEDIADA POR *Agrobacterium* CON EL HIPOVIRUS HETERÓLOGO CHV1-EP713. (*Agrobacterium*-mediated transformation of *Botrytis cinerea* with the heterologous hypovirus CHV1-EP713).

Armijo, G., Cottet, L. y Castillo, A. Laboratorio de Virología de Hongos, Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. (E-mail: acastill@lauca.usach.cl). Financiado por DICYT-USACH.

Una cepa silvestre virulenta del hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea* fue transformada con el cDNA correspondiente al genoma completo del hipovirus CHV1-EP713, que infecta naturalmente a *Cryphonectria parasitica*. Para esto se utilizó el sistema de transferencia e integración mediado por *Agrobacterium tumefaciens*.
La obtención de clones recombinantes de *A. tumefaciens* conteniendo el genoma hipoviral y los genes que median la transferencia e integración de este al genoma fúngico, permitió la transformación de la cepa 55L de *B. cinerea*. Los ácidos nucleicos de los hongos transformantes se analizaron por cromatografía en celulosa CF11 para verificar la presencia de dsRNAs, obteniéndose una banda de alrededor de 13 kilopares de bases (kpb) en un gel de agarosa que corresponde al tamaño molecular del genoma del micovirus CHV1-EP713. Esto confirmó la expresión, replicación y mantención estable del dsRNA hipoviral en el hongo. Los transformantes obtenidos presentaron menor grado de invasividad sobre hojas de vegetales en comparación con la cepa silvestre, lo que sugiere que algunos productos de expresión del genoma viral heterólogo desencadenan mecanismos que confieren rasgos de hipovirulencia a *B. cinerea* 55L.

93. TRADUCCIÓN IN VITRO MEDIADA POR ELEMENTOS IRES DEL VIRUS DE LA NECROSIS PANCREÁTICA INFECCIOSA. (In vitro translation by IRES of the infectiuos pancreatic necrosis virus).

Jorquera, P; Muñoz, P; Cartagena, J; Sandino, AM.
Laboratorio de Virología, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

El virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) posee un genoma de dsRNA bisegmentado, que codifica para cinco proteínas que componen al virión. El mecanismo de traducción de dichas proteínas, se desconoce. Sin embargo, se ha descrito que los transcritos virales carecen de estructura 5'CAP. Análisis bioinformáticos del extremo 5'UTR del segmento A viral, muestran estructuras secundarias altamente estables semejantes a elementos IRES. Para estudiar la funcionalidad de estas estructuras se generó un templado de DNA con la secuencia 5'UTR junto al gen de la proteína VP2, denominada 5'UTR-VP2, el que se utilizó para sintetizar mRNAs con y sin estructura 5'CAP, los que a su vez fueron traducidos in vitro en un sistema de lisado reticulocitos de conejo. Los resultados obtenidos demostraron que el mRNA obtenido de 5'UTR-VP2, es capaz de conducir la traducción de VP2, independiente de una estructura 5'CAP. El ensayo de traducción in vitro fue más eficiente a 25°C y 75mM KCl, y no fue inhibido por análogos de CAP, lo que apoya la funcionalidad del IRES. Finalmente, la traducción no se favoreció en presencia de factores proteicos derivados de células CHSE-214, sugiriendo que el IRES encontrado podría ser clasificado como un IRES tipo II.
Financiado por FONDECYT 1040282

94. ENSAYO MULTIGÉNICO DE PCR-RFLP PARA GENOTIPIFICACIÓN DE *Trypanosoma cruzi*. (Multigenic PCR-RFLP assay for *Trypanosoma cruzi* genotyping).

Rozas, M.[a], De Doncker, S.[b], Adaui, V.[b], Coronado, X.[a], Barnabé, C.[C], Tibayrenc, M.[C], Solari, A.[a], Dujardin, J.C.[b]
[a] Programa de Biología Celular y Molecular. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. [b] Institute of Tropical Medicine. Amberes. Bélgica. [c] IRD, Montpellier, Francia.

El agente de la enfermedad de Chagas *T. cruzi* sigue siendo de gran importancia médica. Diversos métodos han sido utilizados para clasificar las diferentes cepas de este parásito siendo recientemente aceptada la realizada por RAPDS y MLEE que indican la presencia de 6 subgrupos. Veinte clones de *T. cruzi* pertenecientes a diferentes linajes fueron analizadas usando PCR-RFLP en 12 genes codificantes de antígenos como marcadores moleculares. Se examinaron genes con alto y bajo número de copias, así como el uso de diversas endonucleasas de restricción. Usando análisis fenético basado en 1034 caracteres los linajes TcIIa/IIc cayeron en la misma rama guardando relación con su origen ecológico y geográfico. Los grupos híbridos TcIId/IIe se mostraron más cercanos al linaje TcIIb, lo cual concuerda con el origen físico de este grupo. Adicionalmente se encontraron marcadores específicos para discriminar entre los diferentes linajes (por ejemplo gp72 diferencia entre los híbridos más recientes TcIId/IIe) sin necesidad de cultivo. Este método directo permite detectar la verdadera composición de linajes presentes en las muestras de pacientes, reservorios y vectores, cuya identificación es relevante para estudios clínicos y epidemiológicos.
Financiado por Cooperación C y T Chile-Flandes.

95. CAMBIOS EN LA DINÁMICA DEL CITOESQUELETO NEURONAL DURANTE LA INFECCION AGUDA Y LATENTE CON VIRUS HERPES SIMPLEX TIPO-1. (Dynamic changes of neuronal cytoskeleton during acute and latent infection by herpes simplex virus type-1).

Salvadores, N[1,2], Cortes, M[1,2], Solis, L[1,2], Méndez, C[1,2], Concha, I[3], Zambrano, A[1] y Otth, C[2].
[1]Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, [2]Instituto de Microbiología e [3]Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. cotth@uach.cl
Patrocinante: Dra. Ilona Concha

El virus herpes simplex tipo-1 (HSV-1) es altamente ubicuo, neurotrópico y el causante más común de encefalitis en humanos. La encefalitis herpética presenta una elevada mortalidad y significativas secuelas neurológicas. Recientes estudios sustentan la hipótesis que HSV-1 podría ser un factor de riesgo de padecer enfermedad de Alzheimer, sin embargo, no existe evidencia si HSV-1 induce algún proceso neurodegenerativo. En modelos celulares diferentes al neuronal se ha demostrado que HSV-1 induce alteraciones del citoesqueleto. En este trabajo, se analizó alteraciones en la dinámica microtubular y filamentos de actina, en cultivos neuronales, durante infección aguda y latente por HSV-1. Nuestros resultados muestran una clara muerte neuronal acompañada de alteraciones de los procesos neuríticos durante infección aguda con HSV-1, a diferencia de lo observado durante la infección latente. Se determinó además que HSV-1 induce cambios significativos en la dinámica microtúbular durante la infección aguda, disminuyendo el dinamismo de estos, y afectando además los filamentos de actina. Estos resultados sugieren un rol modulador importante de HSV-1 en el citoesqueleto neuronal.
Agradecimiento: Fundación Andes C-14060/5, MECESUP AUS0107, y DID-UACH

96. SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA DEL HOSPEDERO Y GRAVEDAD DE LA INFECCIÓN POR EL VIRUS RESPIRATORIO SINCICIAL (VRS) EN LACTANTES. (Host genetic susceptibility and severity of respiratory syncytial virus infection on infants).

Ampuero, S[1]., Elgueta A[1]., Tapia L[1]., Luchsinger V[1]., Carrión F[2]., Larrañaga C[1].
[1]Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. [2]Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de los Andes.

El VRS es el principal agente etiológico de las infecciones respiratorias agudas (IRA) en lactantes en el mundo; 5% de los casos se hospitaliza y 1-2% fallece. La gravedad de la enfermedad no estaría asociada al grupo antigénico viral (A o B) sino a la susceptibilidad genética del hospedero.
Nuestro objetivo fue analizar los polimorfismos -589T/C y -1098T/G del gen de Interleuquina-4 (IL-4) y 19C/T, 50C/G, 62A/G, 133A/G, 219C/T del gen de la proteína del surfactante A1 (SP-A1) en lactantes, previamente sanos, hospitalizados por IRA por VRS, relacionándolos con la gravedad de la enfermedad.
Se obtuvo DNA genómico de lactantes con IRA grave (n=26) e IRA leve o moderada (n=27), y de donantes de sangre (población chilena, n=104). Los polimorfismos se analizaron mediante PCR y RFLP.
Las frecuencias de los polimorfismos de IL-4 fueron similares entre los grupos estudiados.
En SP-A1, las frecuencias de los alelos 19T, 50G, 62A y 133A fueron significativamente mayores en lactantes graves. El haplotipo homocigoto TGAAC fue el más frecuente en los tres grupos, pero significativamente mayor en lactantes graves (61,5%; p= 0.019). Sugerimos que determinados polimorfismos en el gen SP-A1 se asocian a enfermedad grave por VRS.
Fondecyt 1050513

PANELES II

BIOLOGÍA MOLECULAR

97. CARACTERIZACIÓN DE LA UNIÓN A DNA DEL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN ACE1 DE PHANEROCHAETE CHRYSOSPORIUM. (Characterization of the binding to DNA of transcription factor ACE1 from *Phanerochaete Chrysosporium*).

Álvarez, JM., Canessa, P., Bull, P. Salas, L. y Vicuña, R.
Depto. Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile e Instituto Milenio (MIFAB)

Utilizando la base de datos del genoma del hongo Phanerochaete chrysosporium, hemos logrado clonar el cDNA que codifica para el factor de transcripción Ace1 (Pc-Ace1). En levaduras, dicho factor reconoce la secuencia ACE descrita en el promotor del gen CUP1 (metalotioneína), activando su expresión en respuesta a cobre. De esta forma, el factor permite mantener la homeóstasis del metal. Con el fin de profundizar en la caracterización del factor Pc-Ace1, realizamos ensayos de unión proteína-DNA (EMSA) para lo cual sintetizamos dicho factor mediante transcripción-traducción in vitro. Al incubar una sonda DNA conteniendo el sitio ACE mencionado con el factor Pc-Ace1 sintetizado in vitro, observamos la formación de un complejo proteína-DNA, cuya interacción específica queda demostrada mediante ensayos de competencia. Dado que el genoma de P. *chrysosporium* no posee una secuencia tipo CUP1, utilizamos una estrategia in silico con el fin de determinar posibles genes blanco de Pc-Ace1. Uno de los genes identificados, denominado mco1 (oxidasa multicobre), posee tres secuencias tipo ACE en su promotor. Experimentos de RT-PCR revelan que los niveles de mRNA de dicho gen aumentan en cultivos suplementados con cobre y ensayos EMSA utilizando una sonda DNA que contiene uno de los sitios tipo ACE identificados, muestran la formación de un complejo proteína-DNA, cuya interacción es específica.

98. ALTA FRECUENCIA DE METILACIÓN DE LOS GENES P16^{INK4A} Y RAR-β EN CANCER ESCAMOSO DE PULMÓN EN CHILE. (High frequency of methylation of p16^{INK4a} and RAR-β genes in squamous cell lung carcinoma in Chile).

[1]Maturana, MJ., [2]Aguayo, F., [1]Cordero, E, [1]Rodríguez L, [1]Castillo, D & [3]**Guzmán, L.**
[1]Sección Inmunodiagnóstico, Instituto de Salud Pública de Chile; [2]Viral and Crhonic Diseases Laboratory, Kagoshima University, Japan. [3]Escuela de Tecnología Médica, Universidad Santo Tomás.

El silenciamiento génico por aberrante metilación, es un mecanismo común en cáncer y se ha descrito este tipo de inactivación en los genes *p16*^{INK4a} (*p16*) y RaR-β en varios tumores humanos, incluyendo cáncer pulmonar (CP). El propósito de este estudio fue determinar el estado de metilación de p16 y RaR-β en muestras de pacientes con cáncer escamoso de pulmón (CEP), tipo histológico frecuente en Chile y asociado a tabaquismo crónico. Utilizando un PCR-metilación sensible, se determinó que un 91.3% de los pacientes tenían el gen *p16* hipermetilado y un 82.4% hipermetilación del gen RAR-β. Además, se encontró una correlación significativa entre la hipermetilación de ambos genes y la presencia de CEP (p= 0.00005). Observamos que los individuos fumadores tienen 100 veces más riesgo de desarrollar CEP que los no fumadores (OR,107; 95% IC, 7.18-5593). Nuestros resultados sugieren que la detección de hipermetilación de *p16* y RaR-β podría ser utilizada como un marcador molecular precoz en individuos fumadores con riesgo a desarrollar CEP y en pacientes con sospecha clínica de CEP. **Agradecimientos**: financiado por Sociedad de Enfermedades Respiratorias.

99. CoREST REPRIME LA INDUCCIÓN TRANSCRIPCIONAL DE LA RESPUESTA HEAT SHOCK MEDIADA POR HSF1. (CoREST represses the transcriptional induction of Heat Shock Response mediated by HSF1).

Gómez, A.V. y Andrés, M.E.
Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Biología Celular y Molecular. Fondecyt #1030496.

Cuando las células son expuestas a distintos tipos de estrés ambiental (infecciones, hipoxia y exposición a altas temperaturas, entre otros), responden induciendo la expresión de un conjunto de proteínas altamente conservadas, denominadas proteínas Heat Shock **(Hsps).** Este fenómeno es conocido como Heat Shock Response **(HSR)** y la regulación a nivel transcripcional de esta respuesta está mediada principalmente por Heat Shock Factor 1 **(HSF1).** Entre los mecanismos que modulan la función de HSF1, se ha descrito que **Hsp70** es capaz de reprimir la activación de HSF1 y la expresión de los genes ***hsps***.
Previamente hemos demostrado la interacción entre **CoREST** y Hsp70. CoREST, un co-represor transcripcional, es componente de un complejo remodelador de cromatina que contiene actividad desacetilasa y demetilasa de histonas. Como Hsp70 no posee una actividad transcripcional intrínseca, nuestra hipótesis sugiere que CoREST podría actuar como co-represor de la actividad de HSF1 mediante la interacción con Hsp70. De acuerdo a esto, en células HEK293, analizamos el efecto de CoREST sobre la activación de un gen reportero regulable por HSF1, y observamos que CoREST reprime la activación del reportero inducida por estrés térmico e incluso por la sobreexpresión de HSF1. Estos resultados señalan a CoREST como un nuevo represor de la actividad transcripcional de HSF1, función que podría estar mediada por su interacción con Hsp70.

100. LA ACTIVIDAD TRANSCRIPCIONAL DE NURR-1 ES REGULADA POR SUMO-1. (Nurr1 transcriptional activity is regulated by SUMO-1).

Córdova, G., Vecchiola, A., Galleguillos, D., Gómez, A., Gysling, K. y Andrés, M.E.
Departamento de Biología Celular y Molecular, Pontificia Universidad Católica de Chile. Proyecto Fondecyt 1030496.

Nurr1 es un receptor nuclear, esencial en el desarrollo y mantención de las neuronas dopaminérgicas mesencefálicas. Aquí mostramos que la actividad transcripcional de Nurr1 es regulada por SUMO-1 (Small ubiquitin-related modifier-1). Nurr1 posee 2 motivos de sumoilación (ψKXE), uno en la función de activación (AF)1 y otro en el AF2. El motivo de sumoilación en el AF1 es parte de un dominio de control de sinergia (SC). La sustitución de la lisina 91 por arginina en el dominio SC de Nurr1, aumenta su actividad transcripcional en promotores con más de un elemento de respuesta NBRE, en cambio la actividad transcripcional de Nurr1(KΔ91R) es similar a Nurr1 nativa en promotores simples (un elemento NBRE). La sobre-expresión de SUMO-1 y de la proteasa específica de SUMO-1, SENP1, aumenta la actividad transcripcional de Nurr1 como también la de cada dominio AF. La mutación del motivo de sumoilación en el AF1 de Nurr1 inhibe el efecto potenciador inducido por SUMO-1 y SENP1, mientras que la mutación del motivo de sumoilación en el AF2 lo mantiene. El AF2 de Nurr1 requiere la lisina 577 para ser transcripcionalmente activo, sugiriendo que otra lisina en el AF2 es blanco de sumoilación. Estos resultados muestran que la actividad transcripcional de Nurr1 es regulada por SUMO-1.

101. PAPEL DE NURR1 EN EL CONTROL DEL CONTENIDO Y LIBERACIÓN DE DOPAMINA EN EL SISTEMA NIGRO-ESTRIATAL DE RATA ADULTA. (Rol of Nurr1 in the control of dopamine content and release in the nigro-striatal system of adult rat).

Gómez L., Galleguillos D., Fuentealba J.A., *Burger C., Gysling K y Andrés, M.E.
Departamento de Biología Celular y Molecular Pontificia Universidad Católica de Chile. *University of Florida, USA. FONDECYT: 1030496

La génesis y mantención de las neuronas dopaminérgicas nigro-estriatales es controlada por el factor de transcripción Nurr1. Experimentos en líneas celulares muestran que Nurr1 regula la expresión de tirosina hidroxilasa y del transportador de dopamina, sugiriendo que Nurr1 podría controlar los niveles de dopamina en el sistema dopaminérgico nigro-estriatal. También se ha observado que agonistas del receptor de dopamina tipo D2 estimulan la actividad transcripcional de Nurr1, indicando un "crosstalk" entre los niveles extracelulares de dopamina y la actividad de Nurr1. Para estudiar el papel jugado por Nurr1 en el control del contenido y liberación de dopamina en neuronas dopaminérgicas nigro-estriatales en el cerebro adulto, estamos realizando experimentos de pérdida y ganancia de función. Para ello hemos infectado directamente en la sustancia nigra de ratas adultas virus adeno-asociados-5 (AAV-5) codificando una ribozima contra Nurr1. Hemos observado que no hay diferencias significativas en el contenido de dopamina en el cuerpo estriado de ratas infectadas con AAV-5-ribozima. Sin embargo, utilizando la técnica de microdiálisis hemos observado niveles extracelulares de dopamina significativamente menores en ratas infectadas, sugiriendo que Nurr1 regula la liberación de dopamina.

102. UN SOLO MOTIVO LXXLL DE LA SUMO E3 LIGASA PIASγ ES NECESARIO PARA SU INTERACCIÓN CON NURR1. (A single LXXLL motif in the SUMO E3 ligase PIASγ is required to interact with Nurr1).

Orellana, M., Córdova G. y Andrés M.E.
Departamento de Biología Celular y Molecular. Pontificia Universidad Católica de Chile. FONDECYT 1030496.

Nurr1 es un receptor nuclear huérfano expresado en el sistema nervioso central y juega un papel crítico en el desarrollo de las neuronas dopaminérgicas mesencefálicas. Previamente hemos identificado a la SUMO-E3 ligasa PIASγ como un co-represor transcripcional de Nurr1. Para determinar los dominios de interacción entre PIASγ y Nurr1 hemos utilizado el ensayo *in vitro* de Glutatión-S-Transferasa "pull-down". Los resultados muestran que Nurr1 posee dos motivos de interacción con PIASγ. Uno en la región N-terminal entre los aminoácidos 1-262 y el otro en la región C-terminal entre los aminoácidos 363-488. El dominio de unión a ADN de Nurr1 no interactúa con PIASγ. Por otra parte, la región de PIASγ (aminoácidos 1-158) que interactúa con Nurr1 posee dos motivos LXXLL. El cambio de las leucinas por alaninas en el primer motivo LXXLL de PIASγ abolió su interacción con el dominio amino y con el dominio carboxilo de Nurr1. En cambio la misma mutación en el segundo motivo LXXLL de PIASγ no modificó la interacción entre ambas proteínas. Estos datos muestran que Nurr1 posee dos motivos de interacción independientes con PIASγ e indican que el primer motivo LXXLL de PIASγ es estrictamente necesario para la interacción entre ambas proteínas.

103. GENES QUE PARTICIPAN EN EL DESARROLLO DEL CÁNCER DE OVARIO CON MUTACION EN BRCA2: ANÁLIS POR ARRAY-CGH (Genes participating in the development of ovary cancer with a BRCA2 mutation: array-CGH analysis).

Vallejos M.[1], Álvarez C.[1], Solís L.[2], Corvalán A.[2], Munroe D[3]., Carvallo P.[1]
[1]Departamento Biología Celular y Molecular, Facultad Ciencias Biológicas, [2]Departamento de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, [3]Laboratory of Molecular Technology, SAIC-Frederick Inc., NCI, National Institutes of Health, MD, USA.

Mutaciones en el gen BRCA2 se han asociado principalmente a cáncer hereditario de mama y/u ovario. En nuestro laboratorio se detectó la mutación 6857_6858delAA asociada a una paciente que presentó cáncer de mama bilateral y posteriormente un cáncer de ovario tipo Mülleriano mixto. Este estudio tiene el objetivo de determinar genes supresores y protoncogenes involucrados en el desarrollo del cáncer de ovario gatillado por BRCA2 y comparar con el desarrollo del mismo tipo de tumor esporádico. Para esto, se utilizó la técnica de Hibridación Genómica Comparativa en microarreglos de DNA (array-CGH) en biopsias de ambos tipos de tumores. En base a nuestros resultados es importante destacar que tanto para el tumor con mutación en BRCA2 como para las dos biopsias de tumores esporádicos la región 5'del gen BRCA1 se encontró delecionada al igual que la región 3q22.25-22.1, de 70Kb, en donde se encuentra el promotor del gen MLH1. Estos genes se han previamente descrito involucrados en el cáncer de ovario. Algunas diferencias encontradas entre la muestra hereditaria y las muestras esporádicas fueron la amplificación de la región 14q32.2 (EVL, regulación de microtúbulos) y la deleción del gen RRM2B (replicación y reparación del DNA). **Fondecyt 1040779.**

104. INICIADOR DE *SCHIZOSACCHAROMYCES POMBE* ES NECESARIA PARA DIRIGIR LA TRANSCRIPCIÓN EN PROMOTORES SIN TATA, ES DEPENDIENTE DE MEDIADOR PERO INDEPENDIENTE DE TAFS. (Initiator from *Schizosaccharomyces pombe* is requiered to direct transcription in promoters lacking TTA is dependent on mediator but independent of TAFS)

Contreras-Levicoy, J. Fabiola Urbina y Edio Maldonado
Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La transcripción activada en eucariontes requiere RNA polimerasa II, seis factores generales de transcripción, y coactivadores, entre los cuales se encuentran el complejo TFIID (TBP y TAFs) y Mediador. Estos reconocen secuencias en el sitio del promotor y conforman el complejo de preiniciación.
Previamente reportamos que la transcripción activada en S. pombe puede ocurrir en el promotor de nmt1 con mutación en TATA, hecho que no había sido observado en *S. pombe*. Al comparar secuencias de promotores mutados en TATA de *S. pombe* con promotores que no contienen TATA en humanos (gen β-polimerasa) se encontró una secuencia altamente homologa a Iniciador (Inr) alrededor del sitio +1. Para determinar el rol de esta secuencia, que denominamos ntm1Inr, realizamos una serie de mutaciones alrededor de este sitio, y se probaron en ensayos de transcripción *in vitro* para cada promotor mutante en extractos de S. pombe y células HeLa. Se observó una gran disminución de la transcripción en los mutantes de los sitios +1 y +3. Sin embargo, mutaciones de -1, -2 y -3 no afectaron la transcripción tanto en extractos de *S. pombe* como HeLa. Se realizó la misma prueba en el promotor del gen gen β-polimerasa humano, y se observaron resultados similares al utilizar extractos de *S. pombe* y células HeLa. Para determinar el rol de los complejos TAFs y Mediador, estos fueron inmunodepletados del ensayo de transcripción utilizando anticuerpos α-TAF72 y α-Srb4 respectivamente. Tanto en el promotor mutado ntm1Inr como promotor mutado en Inr del gen de β-polimerasa se observó que es necesaria la presencia de Mediador pero no TAFs.
Estos resultados demuestran que Inr es suficiente e imprescindible para dirigir la transcripción en promotores sin TATA tanto en *S. pombe* como en mamíferos.

105. DETERMINACIÓN DE SEXO FETAL EN EL PRIMER TRIMESTRE DE EMBARAZO MEDIANTE DNA LIBRE FETAL. (Fetal sex determination in first trimester of pregnancy with cell-free fetal DNA).

Searovic P, **Trebilcock, J,** Figueroa H, Arraztoa JA, Illanes S.
Departamento de Ginecología, Obstetricia y Biología de la Reproducción, Universidad de los Andes.

La detección de DNA libre fetal (ffDNA) en plasma materno ha sido utilizada para el diagnóstico de sexo y grupo sanguíneo fetal, ayudando al manejo de patologías como la isoinmunización Rh y enfermedades ligadas al sexo. Este estudio tiene por objeto establecer la edad gestacional a la cual puede determinarse el sexo fetal mediante ffDNA en plasma materno.
Se extrajo 15 cc de sangre periférica a 14 pacientes entre las 7 y 35 semanas de gestación, se les separó el plasma mediante centrifugación y se les extrajo DNA genómico total (materno y fetal), para analizarlo por triplicado mediante PCR en tiempo real, con partidores específicos para una secuencia del cromosoma Y (DYS14), utilizando SYBR Green II. Para confirmar el sexo fetal a las pacientes se les realizó una ultrasonografía entre las 18 y 20 semanas gestacionales.
8 pacientes presentaron amplificación para DYS14, diagnosticándose feto de sexo masculino, siendo la menor edad gestacional de 6 + 4 semanas. El resto de las pacientes no generó señal, estableciéndose el sexo fetal como femenino, excepto una de ellas, en la cual el resultado fue indeterminado. El sexo fetal establecido por ecografía coincidió en todos los casos con el sexo diagnosticado mediante la técnica de biología molecular.
El diagnóstico de sexo fetal utilizando ffDNA en plasma materno puede aplicarse al menos desde las 7 semanas de gestación.

106. LOCALIZACION SUBCELULAR Y ACCIÓN NO-GENÓMICA DE LOS DOMINIOS N-TERMINAL Y DOMINIO DE UNIÓN A LIGANDO DEL RECEPTOR CLASICO DE PROGESTERONA (xPR) DE OVOCITOS DE *Xenopus laevis*. (Subcelular localization and nongenomic action of the N-terminal and ligand binding domain of the classic progesterone receptor of *Xenopus laevis* oocyte).

Lara, P., Suárez, K., Torrejón, M., Pasten, P., Montecino, M., Hinrichs, M.V. y Olate, J.
Anillo de Investigación en Estudios Avanzados en Señalización Celular y Regulación Génica. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Progesterona, mediante un mecanismo no genómico iniciado a nivel de la membrana plasmática, induce el proceso de maduración en los ovocitos de *Xenopus laevis*. Importantes evidencias indican que xPR estaría mediando este efecto. Sin embargo, es importante para apoyar esta hipótesis, demostrar la presencia de este receptor asociado a la membrana plasmática del ovocito. En nuestro laboratorio, hemos encontrado que este receptor se encuentra en fracciones de membranas de células cos-7 transfectadas con el cDNA que codifica para este receptor. El objetivo de este trabajo ha sido estudiar la localización del xPR en el ovocito de *Xenopus laevis* y evaluar el rol del dominio N-terminal (NTD) y del dominio de unión a ligando (LBD), tanto en su capacidad de asociarse a la membrana plasmática como en su capacidad de inducir maduración. Mediante microinyección en ovocitos de los respectivos mRNA, demostramos que ambos dominios se asocian a la membrana del ovocito, pero solo la sobreexpresión de NTD produjo una aceleración en la cinética de maduración inducida por progesterona.

107. AISLAMIENTO Y LOCALIZACIÓN CELULAR DE γ-TUBULINA EN EMBRIONES TEMPRANOS DEL PEZ CEBRA. (Isolation and cellular localization of γ-tubulin in the zebra fish early embryo).

Pouchucq, L., Fuentes*, R., Díaz, C., Lagos, R., Fernández*, J., Monasterio, O.
Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, *Laboratorio de Biología Celular del Desarrollo. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile.

γ-tubulina es la proteína de la familia de las tubulinas que posee la actividad de nuclear la polimerización de microtúbulos. En células animales, γ-tubulina forma parte del centrosoma, el cual actúa como centro organizador de microtúbulos y es un componente esencial en la organización celular. Nuestro propósito es evaluar embriones tempranos del pez cebra como modelo celular para el estudio de los mecanismos moleculares involucrados en nucleación de microtúbulos. Para esto, hemos obtenido γ-tubulina de extractos embrionarios en gradientes de sacarosa. Esta aparece formando un complejo de alta densidad, el cual es capaz de nuclear la polimerización de microtúbulos *in vitro*. Mediante inmunofluorescencia en embriones, utilizando anticuerpos anti α y anti γ-tubulina, hemos observado, que γ-tubulina está presente mayoritariamente en el centrosoma y en los polos del huso, mientras α-tubulina se distribuye en la astrosfera y el huso propiamente tal. Durante la corta interfase, γ-tubulina sufre un cambio drástico de distribución el cual se asocia a modificaciones en la morfología del centrosoma. Estos resultados indican que el embrión temprano del pez cebra es un buen modelo para el estudio de los mecanismos involucrados en la formación del citoesqueleto (Fondecyt # 1050677, #1030879).

108. CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DEL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN ACE1 DEL BASIDIOMYCETE *PHANEROCHAETE CHRYSOSPORIUM*

Rivas, A., Polanco R., Canessa P., Larrondo, LF. y Vicuña R.
Depto. Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile e Instituto Milenio (MIFAB)

Phanerochaete chrysosporium, así como otros hongos basidiomycetes, es capaz de degradar lignina, un biopolímero de la pared celular vegetal. Para llevar a cabo este proceso, estos hongos secretan al medio una serie de enzimas oxidativas que atacan al polímero en forma inespecífica. La presencia de elementos de respuesta a cobre en los promotores de algunos de los genes que codifican para estas enzimas ha dado pie para estudiar el rol que puede cumplir este metal en la regulación de la expresión génica. Aunque en ascomycetes se han descrito factores que responden a cobre tales como Ace1 y Mac1, no existe evidencia que estos se encuentren presentes en basidiomycetes. Utilizando la información de la base de datos del genoma de *P. chrysosporium*, identificamos un modelo génico tipo Ace1, el cual denominamos *Pc-ace1*. En este trabajo, confirmamos su identidad mediante clonamiento y secuenciación de su correspondiente cDNA. Una cepa de *S. cerevisiae* mutante para el factor ACE1 endógeno fue complementada mediante transformación con el cDNA de *Pc-ace1*. Mediante Northern Blot, determinamos que el cDNA de *Pc-ace1* restaura la inducibilidad frente a cobre de los genes blanco del factor ACE1 propio de levadura. Todos estos experimentos demuestran la funcionalidad del factor identificado, siendo el primer ACE1 descrito en basidiomycetes.

109. EXPRESIÓN DE ENZIMAS GLUCONEOGÉNICAS EN RIÑÓN DE RATAS NORMALES Y DIABÉTICAS. (Kidney expression of gluconeogenic enzymes in normal and diabetic rats).

Salas, M., Westermeier, F., Gatica, R., Spichiger, C., Rehren, G. Quezada, C., Rauch, C., Cárcamo, J.G, Claude, A., Carpio, D., Slebe, J.C., y Yáñez, A.J.
Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile.

La diabetes crónica produce daño renal, siendo la nefropatía diabética una de las complicaciones más devastadoras. Se ha determinado que en humanos diabéticos existe un 300% de aumento en la gluconeogénesis renal. Utilizando un modelo de ratas diabéticas inducida por estreptozotocina, estudiamos la expresión de enzimas gluconeogénicas (FBPasa, aldolasa B y PEPCK) en riñón de ratas normales y diabéticas por 2, 4 y 8 meses, mediante PCR cuantitativo. Como control determinamos la expresión de enzimas glicolíticas (Piruvato quinasa hepática, aldolasa A) y glicógeno sintasa muscular (GSm). Osteopontina, un indicador de daño renal, se sobre expresó a partir de los 2 meses de diabetes. Aldolasa B, FBPasa muscular y aldolasa A, aumentó su expresión a los 4 meses de diabetes en aproximadamente 3 veces sobre el normal. Por el contrario Piruvato quinasa hepática disminuyó en el mismo intervalo. Sorprendentemente, GSm aumentó su expresión a partir de los 4 meses de diabetes en 11 veces en relación al normal, comparable a lo observado con osteopontina. Estos resultados sugieren que el aumento de gluconeogénesis a nivel renal en conjunto con el aumento de GSm contribuiría a la acumulación de glicógeno observado en nefropatía diabética.(FONDECYT 1051057;PBCT5; DID UACH SB2005-2) Agradecimiento a Marco López por sugerencias y discusiones.

110. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y FENOTÍPICA DE MUTANTES INSERCIONALES DEL GEN *SDH2-3* DE *Arabidopsis thaliana*. (Molecular and phenotypical characterization of *SDH2-3* insertional mutants in *Arabidopsis thaliana*).

Fuentes, MI. y Jordana, X.
Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

En *Arabidopsis* tres genes nucleares codifican para la subunidad hierro-azufre (SDH2) del complejo II de la cadena respiratoria mitocondrial. Dos de ellos poseen un patrón de expresión similar, expresándose en todos los tejidos de la planta adulta. El tercero (*SDH2-3*) solo se expresa en el embrión, en el suspensor en etapas tempranas del desarrollo (morfogénesis) y luego a partir de la fase de maduración en todos los tejidos del embrión. En semillas secas los transcritos de SDH2-3 son más abundantes que los de SDH2-1 y SDH2-2 lo que sugiere un papel específico de SDH2-3 durante el desarrollo embrionario y/o en etapas tempranas de la germinación. Para caracterizar el papel de SDH2-3 se aislaron dos mutantes insercionales del gen, demostrándose que las inserciones no produjeron rearreglos en el genoma y que se trataba de mutantes nulas. Mediante histoquímica de actividad SDH, se observó en embriones de plantas homocigotas mutantes una caída drástica de la actividad respecto a embriones de plantas silvestres. Ello sugiere que SDH2-3 es la subunidad hierro-azufre preponderante en el complejo II durante el desarrollo embrionario. Sin embargo, no hemos observado diferencias fenotípicas entre plantas homocigotas mutantes y plantas silvestres, ni durante el desarrollo vegetativo, ni durante el desarrollo reproductivo.
FONDECYT 1060485

111. CONTROL TRANSCRIPCIONAL DEL RECEPTOR DE GDNF, C-RET, POR EL RECEPTOR NUCLEAR NURR1. (Transcriptional control of the GDNF receptor, c-Ret, by the nuclear receptor Nurr1).

Galleguillos, D. y Andrés, M.E.
Departamento de Biología Celular y Molecular, P. Universidad Católica de Chile.

Nurr1 es un receptor nuclear huérfano esencial para la maduración y diferenciación de las neuronas dopaminérgicas del mesencéfalo ventral. Su función transcripcional se ha asociado al control de genes relacionados con la generación y mantención del fenotipo neuroquímico de estas neuronas. GDNF (Glial Cell Derived Neurotrophic Factor) es un factor de crecimiento que promueve la sobrevida y diferenciación de neuronas dopaminérgicas tanto en cultivo como *in vivo*. En ratones deficientes en Nurr1 existe una disminución de la expresión de c-Ret, el receptor de GDNF, en Sustancia Nigra. Para evaluar el papel de Nurr1 en el control transcripcional de c-Ret se analizó la secuencia de los promotores de los genes de c-Ret de humano, rata y ratón en búsqueda de regiones homólogas que contuvieran elementos de respuesta a Nurr1 (NBRE). Se encontraron secuencias similares a la secuencia de consenso WAAAGGTCA. Mediante ensayos de transfección transitoria se evaluó la actividad de dos fragmentos del promotor de c-Ret en diversas líneas celulares. Ensayos de co-transfección del promotor humano de c-Ret con Nurr1 en la línea celular SHSY-5y muestran que Nurr1 es capaz de activar la expresión de c-Ret de manera dosis-dependiente. Ensayos de co-transfección del promotor de c-Ret con VP16-Nurr1 permitirán evaluar su activación de manera independiente de la presencia de co-activadores célula específicos.
Fondecyt 1030496.

112. DETERMINACIÓN DE LA INTERACCIÓN FTSA-FTSZ Y SU INFLUENCIA SOBRE LA ACTIVIDAD ATPÁSICA DE FTSA. (Determination of the FtsA-FtsZ interaction and its influence in the FtsA's ATPasic activity).

Weinstein, D., Gallardo, R., Lagos, R. y Monasterio, O.
Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

En la división celular de *Escherichia coli* se forma el anillo Z, compuesto de filamentos de FtsZ, homólogo procarionte de la tubulina, que polimeriza *in vivo* e *in vitro* en forma dependiente de la hidrólisis de GTP.
Las primeras proteínas en unirse al anillo Z son FtsA y ZipA, ambas necesarias para reclutar el resto de los componentes de la maquinaria de septación. Se ha postulado que su unión estabilizaría al anillo Z, fijándolo a la membrana, lo cual permitiría la unión del resto de los componentes.
FtsA es una proteína citoplasmática de 45 KDa, posee dos dominios, y un sitio de unión a ATP, la estructura tridimensional de FtsA de *Thermotoga maritima* ha sido resuelta por cristalografía de Rayos X. Estructuralmente pertenece a una familia de ATPasas que incluye a actina.
Se ha expresado y purificado, en forma recombinante, FtsZ silvestre y FtsA-His6. Se ha determinado que FtsA posee actividad ATPásica, y que esta disminuye en presencia de FtsZ. La unión de FtsA a FtsZ se determinó por Anisotropía de Fluorescencia intrínseca.
Usando la estructura de FtsA de *T. maritima* como templado, se ha obtenido la estructura de FtsA de E. coli por modelaje comparativo.
Proyecto FONDECYT 1050677.

113. CARACTERIZACIÓN *IN SITU*, *IN VITRO* E *IN SILICO* DE LA INTERACCIÓN DE ZipA CON EL POLIMERO DE FtsZ (*In situ, in vitro* and *in silico* characterization of interaction between ZipA and FtsZ polymers).

Garcés, A., Shin, J.Y., Arbildua, J., Lagos, R. y Monasterio, O.
Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias. Universidad de Chile.

FtsZ y ZipA son proteínas que forman parte del divisoma bacteriano, complejo protéico que se forma en el sitio de la división celular. Para su maduración requiere de la formación del anillo Z y el reclutamiento secuencial de al menos 12 proteínas donde ZipA y FtsA son las primeras. *In vitro*, FtsZ induce protofilamentos que se asocian por el lado amino terminal (NT) como doble filamentos y se postula que estos se asocian por el lado carboxilo terminal (CT) para formar láminas. *In situ*, inmunofluorescencia muestra que FtsZ y ZipA se localizan en el anillo Z. Las FtsZ mutantes E83Q y R85Q muestran el mismo comportamiento y ZipA no co-localiza. En todos los casos el largo de las células se mantiene. ZipA induce un aumento en la turbidez de los polímeros de FtsZ que es mayor para las mutantes. *In silico*, con el modelo 3D de la secuencia completa de EcFtsZ y la estructura 3D de la región CT de ZipA se caracterizó la interacción entre ZipA y EcFtsZ polimerizada. FONDECYT 1050677.

114. DESNATURACIÓN QUÍMICA DE LA MUTANTE PHE16TRP DE FRUCTOSA-1,6-BISFOSFATASA. (Chemical denaturation of Phe16Trp mutant of fructose-1,6-bisphosphatase).

Pardo, F. N., Maureira, M., Yañez, A., Slebe J. C., Ludwig, H. C.
Laboratorio de Enzimología Molecular, Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia , Chile.

La fructosa-1,6-bisfosfatasa (FBPasa) es una enzima homotetramérica que cataliza la hidrólisis de fructosa-1,6-bisfosfato a fructosa-6-fosfato más fosfato inorgánico, proceso esencial para la gluconeogénesis. En el tetrámero cada subunidad contacta a las vecinas a través de dos interfases diferentes, llamadas C1-C2 y C1-C4. Con el objetivo de caracterizar la vía de desplegamiento de FBPasa utilizamos la mutante de FBPasa Phe16Trp, provista de un residuo de triptófano contiguo a la interfase C1-C4.
Por un estudio del apagamiento por acrilamida de fluorescencia de la enzima mutante se determinó que el residuo Trp16 se encuentra poco expuesto. La desnaturación se estudió por determinaciones de actividad catalítica, emisión del residuo de triptófano y mediante entrecruzamiento de la proteína por glutaraldehido. El análisis del efecto de la desnaturación sobre la fluorescencia (intensidad, longitud de onda del máximo de emisión ponderado) se complementó mediante un diagrama de fases (gráfico de la intensidad de emisión a 320 nm versus intensidad de emisión a 360 nm). Estudios fluorimétricos similares se realizaron con las mutantes de FBPasa Phe89Trp y Phe232Trp.
Los resultados muestran la existencia de 5 intermediarios previos al desplegamiento total del monómero y sugieren que la interfase C1-C4 sería la primera en disociar.
(FONDECYT 1051122; DID-UACH S-200574)

115. MODELOS 3-D DE TRANSPORTADORES DE VITAMINA C: PREDICCIÓN DE RESIDUOS INVOLUCRADOS EN LA VÍA DE MIGRACIÓN DEL SUBSTRATO. (Vitamin C transporter 3-D models: Residues involved in the substrate migration pathway).

Salas, A. Valeska Ormazábal, Carlos Aylwin, Felipe Zúñiga, Coralia I. Rivas y Juan Carlos Vera
Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción-Chile.

Los transportadores de ácido ascórbico (SVCTs) son proteínas transmembrana miembros de la familia de facilitadores principales (MFS). Para esta familia se conocen las estructuras cristalográficas para los transportadores de lactosa (LacY, PDB:1PV6) y de glicerol-3-fosfato (GlpT, PDB:1PW4) a 3.5 Å y 3.3 Å de resolución, respectivamente. LacY y GlpT poseen una identidad de secuencia muy baja (11%), sin embargo su estructura tridimensional es altamente conservada con un RMSD de 3.6 Å, sugiriendo un plegamiento similar para miembros de esta familia.
En una búsqueda en Ensembl de proteínas ortólogas y parólogas para SVCTs, complementada con búsquedas de homólogos con pBlast contra anotaciones de proteínas en genomas se obtuvo un set de 182 secuencias de proteínas eucariontes. Este grupo de secuencias fue analizado filogenéticamente con PHYLLYP, usando máxima probabilidad. En forma paralela se probó 17 algoritmos diferentes para miembros similares a SVCTs de humanos y se obtuvo un consenso de segmentos transmembrana. Se construyó un alineamiento con las coordenadas de LacY y un modelo tridimensional con el programa Jackal. El modelo fue refinado con dinámica molecular en NAMD por 6ns en un sistema que incluye inserción en membrana, solvatación e iones.
Finalmente, se analizaron los modelos, se discriminó entre aquellos residuos de la proteína con importancia estructural-funcional y se postuló un posible mecanismo de traslocación de sustrato.
PROYECTO ANILLO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA ACT-28.

116. EFECTO DE LA INTERFASE DE INTERACCIÓN ENTRE LOS DOMINIOS AMINO Y CARBOXILO TERMINALES SOBRE EL PLEGAMIENTO DE FTSZ. (Effect of the interaction interface between amino and carboxy-terminal domains on FtsZ folding).

Sepúlveda, L.[1,2], Pérez-Acle T.[2], Monasterio O.[1]
[1]Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. [2]Centro de Genómica y Bioinformática (CGB), Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

FtsZ es una proteína bacteriana de dos dominios esencial en la división celular. El dominio N-terminal (NT) presenta un plegamiento tipo Rossmann, que se une por una interfase hidrofóbica (IH) al dominio C-terminal (CT), el cual posee un plegamiento tipo alfa/beta. Estudios estructurales han mostrado que esta proteína es capaz de plegarse espontáneamente y que es posible expresar sus dominios en forma independiente. Con el fin de estudiar el efecto de la IH en la vía de plegamiento de FtsZ, se realizaron simulaciones moleculares de solvente implícito a 300, 400 y 500°K, tanto para la proteína completa de *Methanococcus jannaschii* como para sus dominios aislados. Las simulaciones con la proteína completa en condiciones denaturantes mostraron que tanto las hélices externas del dominio CT como algunas del NT se despliegan, manteniéndose estable la IH entre ambos dominios. Las simulaciones con los dominios aislados mostraron una mayor estabilidad para el dominio NT respecto del CT, siendo este último el más flexible, en concordancia con los factores de temperatura cristalográficos reportados para FtsZ. Financiado por proyecto FONDECYT 1050677

117. EFECTOS CATALÍTICOS DE MUTACIONES E INSERCIONES EN EL SITIO ACTIVO DE LA AGMATINASA DE *E. COLI*. (Catalytic effects of mutations and insertions at the *E.coli* agmatinase active site).

Orellana, M. S., Alarcón, R., García, R., Uribe, E., Salas, M. y Carvajal, N.
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. FONDECYT 1030038 y Beca CONICYT AT-24050206

La arginasa (EC 3.5.3.1) y la agmatinasa (EC 3.5.3.11) son análogas en la estructura de sus sustratos, las reacciones hidrolíticas con producción de urea que catalizan, el requerimiento de Mn^{2+} y las funciones equivalentes de residuos específicos. Sin embargo, son altamente específicas para arginina o agmatina (arginina descarboxilada). Sus estructuras muestran diferencias muy significativas en la extensión de un lazo que contribuye a la formación de sus sitios activos y que, en la arginasa, contiene los ligandos para el carboxilo de la arginina. Previamente, generamos quimeras de arginasa que hidrolizan agmatina, aunque con una baja eficiencia. Ahora, realizamos cambios equivalentes en la agmatinasa de *E. coli*, generado una especie quimérica (mutaciones T154I / Y155N / A156T / N157P e inserción de los residuos L-T-T después de P132). Esta especie tiene mayor actividad catalítica que la arginasa y una Km de 12± 2 mM para agmatina (10 veces mayor el valor silvestre). Los cambios introducidos no alteraron la especificidad de la agmatinasa, que no utilizó arginina como sustrato. A pesar de las similitudes entre arginasa y agmatinasa, los resultados obtenidos muestran diferencias muy significativas en sus sitios activos.

118. FUNCIÓN DEL RESIDUO CONSERVADO N187 EN LA CATÁLISIS Y REGULACIÓN ALOSTÉRICA DE LA FOSFOFRUCTOQUINASA-2 DE *E. coli*. (On the function of the conserved N187 residue in catalysis and allosteric regulation of phosphofructokinase-2 from *E. coli*).

Caniuguir, A., Cabrera, R., y Guixé, V.
Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La fosfofructoquinasa-2 de *E. coli* pertenece a la superfamilia *riboquinasa* de quinasas de azúcares, en la que el motivo conservado NXXE ha sido asociado a la unión de Mg^{2+} y fosfato al sitio activo. La estructura tetramérica de la Pfk-2, cristalizada en presencia del inhibidor alostérico MgATP, muestra la presencia de dos moléculas de ATP y dos iones Mg^{2+} en el sitio activo. El residuo N187 del motivo NXXE participa en la red de interacciones que se establecen con estos ligandos, por lo que se estudió el efecto de su reemplazo por D y Q sobre las propiedades catalíticas y regulatorias de Pfk-2. Ambas mutantes muestran una leve disminución en k_{cat}, un incremento en la K_M para MgATP y la pérdida de la sensibilidad al efector alostérico MgATP, dado que no presentan inhibición ni cambios aparentes en el estado de agregación. Estos resultados sugieren que tanto la carga como el tamaño del residuo 187 son importantes para la unión del MgATP inhibidor, así como para la interacción con el sustrato MgATP. Se discute la implicancia de estas observaciones respecto de la función del motivo NXXE en otros miembros de la superfamilia. (Fondecyt 1040892).

119. ORIGEN EVOLUTIVO DE LA ENZIMA BIFUNCIONAL GLUCO-FOSFOFRUCTOQUINASA DEPENDIENTE DE ADP DE LA SUPERFAMILIA RIBOQUINASA DE QUINASAS DE AZÚCARES. (Evolutive origin of the bifunctional gluco-phosphofructokinase ADP dependent enzyme of the ribokinase superfamily of sugar kinases).

Merino, F., Cabrera, R. y Guixé, V.
Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

En arqueas, las actividades glucoquinasa y fosfofructoquinasa de la vía modificada de Embden-Meyerhof, son realizadas por enzimas homólogas dependientes de ADP. El plegamiento de estas enzimas permite clasificarlas dentro de la superfamilia riboquinasa de quinasas de azúcares, dependientes de ATP. El hallazgo de un homólogo que presenta ambas actividades, glucoquinasa y fosfofructoquinasa, en la arquea hipertermófila *Methanococcus janaschii*, ha llevado a proponer que esta enzima es una versión ancestral de los miembros de la familia que produjo las otras funciones como resultado de una duplicación génica. En este trabajo se realizó un estudio evolutivo a través del método bayesiano de inferencia filogenética con el fin de poner a prueba la hipótesis de la enzima bifuncional como ancestro de la familia. Los resultados sugieren que, por lo contrario, la actividad bifuncional se origina dentro del clado de las fosfofructoquinasas. Para obtener información acerca de los determinantes estructurales de la especificidad por el azúcar, se construyeron modelos estructurales de la enzima bifuncional a partir de la estructura resuelta de las enzimas homólogas. Adicionalmente, se definen los motivos de secuencia y estructura que caracterizan a estas enzimas en relación con el resto de los miembros de la superfamilia riboquinasa.
(Fondecyt 1040892).

120. EFECTOS CATALÍTICOS DE MUTACIONES EN EL SITIO ACTIVO DE LA ARGINASA HEPÁTICA HUMANA. (Catalytic effects of mutations at the active site of human liver arginase).

Cisternas, P.*, Ugarte, G.*, Orellana, M.S., Uribe, E y Carvajal, N.
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.
FONDECYT 1030038 y Beca CONICYT AT-24050206 * ambos autores contribuyeron igualmente a este trabajo

La arginasa y la agmatinasa catalizan reacciones de hidrólisis con producción de urea, son altamente específicas (para arginina o agmatina, respectivamente), requieren Mn^{2+} y conservan los residuos catalíticamente esenciales. Sus estructuras difieren particularmente en algunos *loops*. Previamente, demostramos que uno de estos, que presenta los ligandos para el carboxilo de la arginina, es determinante en la especificidad de la arginasa. Ahora analizamos la zona que contiene los ligandos para el grupo amino, reemplazando los residuos D181 por T y V182 por E (Mut1) y agregando, además una F entre los residuos 182 y 183 (Mut2). Mut1 conservó la actividad específica silvestre, aumentó 25 veces su K_m para arginina y fue inhibida competitivamente por ornitina e incompetitivamente por Gdn^+ (análogo de urea); sugerimos la salida secuencial ordenada de urea y ornitina. Mut2 presentó una menor actividad específica y una K_m 17 veces mayor que la enzima silvestre, siendo inhibida competitivamente por ornitina y guanidina; sugerimos una salida de productos al azar y en equilibrio rápido. A pesar de estos cambios, las mutantes no hidrolizaron agmatina. Concluimos que la zona analizada no contribuye a la discriminación entre arginina y agmatina.

121. CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL DE LA PROTEÍNA DE MEMBRANA ZIPA DE *ESCHERICHIA COLI*. (Structural and functional characterization of ZipA, an *Escherichia coli* membrane protein).

Órdenes A., Brunet J., Lagos R. y Monasterio O.
Departamento de Biología, Labotatorio de Biología Estructural y Molecular, Universidad de Chile.

Se ha postulado que ZipA y/o FtsA estabilizan la unión del anillo Z a la membrana plasmática de células de *E. Coli* en división. ZipA (36,4 kDa) se une a la membrana por una hélice hidrofóbica contigua a un tallo rico en prolinas y glutaminas, que une un extenso dominio carboxilo terminal responsable de la interacción con FtsZ. Esta interacción depende del correcto plegamiento de ambas proteínas. Se sabe que cuando se desnatura EcFtsZ en presencia de cloruro de guanidinio, esta se repliega espontánea y funcionalmente por dilución rápida. En este trabajo se purificó His_6-ZipA estabilizada en miscelas de detergente y se determinó por dicroísmo circular en presencia de concentraciones crecientes de cloruro de guanidinio su vía de desplegamiento, en tanto que la vía de replegamiento desde la condición denaturada se determinó por dilución rápida. Los resultados concuerdan con la evidencia que algunas proteínas de división (entre ellas EcFtsZ) se pliegan espontánea y funcionalmente sin la necesidad de proteínas chaperonas. Además, por experimentos de apagamiento colisional con acrilamida y el cálculo de la constante de Stern-Volmer para la sonda, se determinó el grado de exposición al solvente del residuo Trp26 de ZipA.
Proyecto FONDECYT 1050677.

122. RECONSTITUCIÓN *in vivo* DE LA FUNCIÓN DE FTSZ DE *E. coli* A PARTIR DE SUS DOMINIOS EXPRESADOS SEPARADAMENTE. (*In vivo* reconstitution of *E. coli* FtsZ function from its domains expressed separately).

Montecinos F. Garcés A. Arbildúa J.J. Lagos R. Monasterio O.
Laboratorio de Biología Estructural y Molecular (BEM), Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
Financiado por FONDECYT 1050677.

La proteína FtsZ es el componente principal del divisoma bacteriano, su polimerización origina el "anillo Z" durante la división celular en *E. coli* (EcFtsZ). EcFtsZ posee dos dominios, el dominio amino terminal que une el nucleótido GTP y el dominio carboxilo terminal que participa en la interacción de FtsZ con otras proteínas de la división celular. Estudios han demostrado que los dominios se pliegan independientemente y la presencia de ambos es esencial para la función de FtsZ, sin embargo, no se ha caracterizado su interacción. La caracterización *in silico* mostró que los dominios en la proteína nativa establecen una interacción de carácter permanente, en contraste a la interacción de la proteína en el protofilamento que es de carácter no obligada. La expresión aislada de ambos dominios en un mutante termosensible para la función de FtsZ (VIP2(DE3)) restauró la viabilidad celular, y la comparación de parámetros cinéticos de crecimiento celular apoya la hipótesis de reconstitución de la función. La expresión de cada dominio aislado produce un fenotipo dominante negativo que se correlaciona con un efecto inhibitorio en la funcionalidad de la FtsZ *in vitro*.

123. INHIBICIÓN DE LA ACUMULACIÓN DE VITAMINA C POR ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES (Inhibition of vitamin C accumulation by non-steroidal antiinflammatory drugs).

Henríquez, E., Escobar E., Vera J.C. y Rivas C.I.
Departamento de Fisiopatología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción.

El funcionamiento coordinado de los sistemas de transporte de vitamina C, además de varios sistemas enzimáticos encargados del reciclaje de DHA intracelular, algunos dependientes de glutatión y otros de NADPH, permite a las células y tejidos adquirir y mantener niveles característicos de vitamina C intracelular. La aspirina, un antiinflamatorio no esteroidal, modula la biodisponibilidad de vitamina C, alterando su absorción intestinal, su excreción y su captación por leucocitos.
Analizamos el efecto de antiinflamatorios no esteroidales (AINES) sobre el transporte y acumulación intracelular de vitamina C en modelos celulares de intestino (CaCo-2), riñón (MDCK) y células sanguíneas (HL-60). Estos estudios revelan que los AINES afectan la acumulación de vitamina C sin afectar el transporte; específicamente, afectan la velocidad máxima sin afectar la Km. Por otra parte, un estudio más detallado del reciclaje de vitamina C en células HL-60, reveló que la deprivación de glutatión causa variaciones en la expresión de reductasas de ácido deshidroascórbico, principalmente las dependientes de NADPH, y que ácido ascórbico puede prevenir el efecto de H_2O_2 sobre la viabilidad celular. Estamos evaluando el efecto de los AINES sobre el reciclaje de vitamina C, sobre la expresión de las reductasas de ácido deshidroascórbico, y su rol en la defensa contra estrés oxidativo.
Proyecto Anillo de Ciencia y Tecnologia ACT 28.

124. DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ALANTOÍNA EN BABA DE CARACOL *Helix aspersa Muller* MEDIANTE ELECTROFORESIS CAPILAR. (Allantoin determination and quantification in secretion from snails *Helix aspersa Muller* by capillary electrophoresis).

Ferrer[1], R., Valenzuela[2], MA.
[1]Fac Medicina Veterinaria, Universidad de Chile; [2]Depto Bioquímica y Biología Molecular, Fac Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

La alantoína es un producto derivado del metabolismo de las purinas, que se produce específicamente por la oxidación del ácido úrico. En el reino animal la alantoína es sintetizada por gastrópodos en cambio los seres humanos no la producen. Es utilizada hace décadas en productos cosmetológicos, dadas sus propiedades antioxidantes.
El objetivo de este trabajo fue determinar el contenido de alantoína en baba de caracol a través de la técnica de electroforesis capilar.
Se determinaron las condiciones que permitieran distinguir la alantoína de otros derivados nitrogenados como xantina, hipoxantina, urea y ácido alantoico, metabolitos nitrogenados presentes también en la baba de caracol. Las condiciones más adecuadas fueron capilar de 75 um y 60 cm de largo, a 30 °C y corriente de 20 KV. Se identificó la presencia de alantoína en muestras de baba de caracol, previamente concentradas utilizando alantoína como estándar interno.
Los resultados obtenidos nos han permitido montar una técnica rápida, de bajo costo y sensible para la determinación de este compuesto antioxidante, lo que permite a futuro iniciar una investigación para manipular la dieta y así lograr un aumento de la alantoína y mejorar así las propiedades propuestas de antioxidante de la baba de caracol.

125. RELEVANCIA DE UNA INTERACCION CATION-π PARA LA UNION DEL NUCLEÓTIDO EN LA CARBOXIQUINASA FOSFOENOLPIRUVICA DE *Saccharomyces cerevisiae*. (Relevance of a cation-π interaction for nucleotide binding in *Saccharomyces cerevisiae* phosphoenolpyruvate carboxykinase).

Tobar, I., Rivas-Pardo, A., Jabalquinto, A. M., Cardemil, E.
Departamento de Ciencias Químicas, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile.

La carboxiquinasa fosfoenolpirúvica (PEPCK) de *Saccharomyces cerevisiae* cataliza la descarboxilación del ácido oxaloacético (OAA) para dar fosfoenolpiruvato (PEP):

$$\text{OAA} + \text{ATP} \overset{Mn^{2+}}{\leftrightarrow} \text{PEP} + CO_2 + \text{ADP}$$

La enzima utiliza de preferencia ATP sobre otros nucleótidos. De acuerdo a modelos por homología de la enzima en complejo con ADP o GDP (Villarreal et al. (2006) *IJBCB 38*, 576) el grupo guanidinio de Arg457 participa en una interacción cation-π con la purina. Para evaluar la contribución de esta interacción a la unión del nucleótido, preparamos la enzima con la mutación Arg457Met. La PEPCK mutada mostró iguales características estructurales que la proteína salvaje, aunque presentó alteración en su afinidad cinética y termodinámica por el nucleótido. La mutación causó incrementos de 56 y 4 veces en K_M para ADPMn y GDPMn, respectivamente, con respecto a la enzima salvaje. Al evaluar la afinidad termodinámica de la enzima mutada por el complejo metal-nucleótido, se encontró una pérdida de 2,3 y 0,4 kcal mol^{-1} en la afinidad de la proteína por ADPMn y GDPMn, respectivamente, con respecto a la proteína salvaje. Concluimos que Arg457 tiene una importante función en la afinidad de la enzima por su sustrato, y su presencia explica en parte la mayor afinidad de la enzima por nucléotidos de adenina que por nucleótidos de guanina.
Financiado por FONDECYT 1030760 y DICYT-USACH 0441JL.

126. UNIÓN DE PIP_2 AL CARBOXILO TERMINAL DE LOS CANALES TERMOSENSIBLES TRPV1 Y TRPM8. (PIP_2 binding at carboxy terminal of the thermosensitive channels TRPV1 and TRPM8).

*#**Oyarzún, I.**, *Rosenmann, E., *Brauchi, S., *Orta, G., *Latorre, R.
*Centro de Estudios Científicos, #Universidad Austral de Chile, Valdivia.

En mamíferos, las bases moleculares de la percepción de temperatura se encuentran en canales de iones llamados receptores de potencial transitorio (TRP), presentes principalmente en neuronas sensoriales primarias o nociceptores.
Estudios previos sugieren que los dominios C-terminal de TRPV1 (receptor vanilloide de calor, con umbral a 43°C) y TRPM8 (receptor de mentol y frío con umbral a 15°C), son estructuras críticas para la función del canal, la cual estaría determinada por componentes intracelulares. Particularmente, el fosfatidilinositol bifosfato (PIP_2) es un importante modulador de los canales termo-TRP, activa a TRPM8 e inhibe a TRPV1. En el dominio C-terminal de ambos canales existe un sitio conservado de interacción para PIP_2. Sin embargo, aún queda por demostrar la unión directa de PIP_2 a los C-terminales de ambos canales.
En nuestro laboratorio generamos proteínas de fusión entre los C-terminales y MBP (Maltose binding protein), las purificamos por cromatografía de afinidad y finalmente, realizamos ensayos de unión a PIP_2 de acuerdo al protocolo de Simon Dowler. **Conclusión:** Tanto TRPM8 como TRPV1 unen a PIP_2 en su extremo carboxilo terminal.
Financiamiento CAEN-ISN, FONDECYT 103-0830

127. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LA LIPOPROTEÍNA DE ALTA DENSIDAD (HDL) DE *CYPRINUS CARPIO*. *(Antimicrobial activity of Cyprinus carpio HDL)*.

Álvarez, C., Plaza, J., Villanueva, J., Concha, M.I., Amthauer, R.
Laboratorio de Estructura y Función de Lipoproteínas. Instituto de Bioquímica. Facultad de Ciencias. Universidad Austral de Chile

Recientemente nuestro laboratorio ha demostrado que la HDL de *C. carpio* y *Oncorynchus mykiss* exhibe actividad antimicrobiana contra bacterias Gram negativas y positivas en un rango de concentraciones submicromolar a micromolar. Para dilucidar el posible mecanismo de acción antimicrobiano se realizaron ensayos de unión de HDL a distintas bacterias. Utilizando tanto inmunofluorescencia como HDL-RITC, se demostró que HDL se une en forma específica tanto a bacterias Gram negativas como positivas. Mediante cromatografía de filtración se detectó unión de HDL a LPS-FITC, lo que sugiere que al menos en bacterias Gram negativas el LPS sería un posible sitio de unión. El tratamiento de *E. coli* con HDL en presencia de un indicador de permeabilidad muestra un leve aumento en la fluorescencia, comparado con el efecto de melitina, utilizado como péptido control capaz de permeabilizar membranas bacterianas. Por otra parte, mediante microscopía de barrido no se observó alteraciones morfológicas drásticas en bacterias tratadas con HDL o apolipoproteína A-I, su principal proteína. En conjunto los resultados sugieren que el mecanismo de acción antimicrobiano de HDL y apoA-I es diferente a lo clásicamente descrito para péptidos y proteínas que presentan motivos estructurales α-helicoidales anfipáticos y catiónicos.
Financiamiento: Proyecto DID-UACh S-2005-30

BOTÁNICA

128. EXPRESIÓN DE GENES ASOCIADOS A SENESCENCIA DURANTE LA INFECCIÓN VIRAL EN VIDES. (Expression of senescence related genes during viral disease in grapevine).

Espinoza, C., Vega, A., Arce-Johnson, P.
Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile.

Numerosos virus generan infecciones sistémicas y crónicas en vides, sin resistencia de la planta. El virus GLRaV-3 afecta mundialmente los cultivos de vid, causando acumulación alterada de azúcares en hojas y frutos, probablemente debido a la localización del patógeno en el floema. Distintos azúcares pueden actuar como señal durante la senescencia de la hoja, un evento molecular complejo y relacionado a cambios en la expresión génica. Genes asociados a senescencia se expresan también en estrés biótico causado por infecciones bacterianas o fúngicas. Sin embargo, la relación entre infecciones virales sistémicas en plantas y senescencia no ha sido establecida aún. En este trabajo, se comparan los perfiles transcripcionales de vides sanas e infectadas con GLRaV-3, mediante micromatrices de cDNA de *Arabidopsis* y además, utilizando micromatrices de *Vitis* de Affymetrix. La respuesta a la infección viral involucra varias funciones biológicas, incluyendo traducción, destinación de proteínas, metabolismo, transporte y defensa. Un importante grupo de genes reprimidos se relacionan con el cloroplasto. Mediante RT-PCR semicuantitativo se ratificaron los datos de expresión obtenidos mediante micromatrices. Genes inducidos por virus también están asociados a senescencia. Por ello, se analizó la expresión de algunos de ellos en hojas de vides en distintos estados de senescencia natural. Los resultados obtenidos confirman que parte de la respuesta de la vid frente a infecciones virales involucra genes asociados específicamente a senescencia.
Agradecimientos: Proyectos FONDEF G02S2001 y CORFO 05CTE01-03.

129. TRANSFORMACIÓN DE *ARABIDOPSIS THALIANA* CON DIFERENTES VECTORES BINARIOS PARA EVALUAR LA EXPRESIÓN DE ALBÚMINA SFA8 DE GIRASOL. (Transformation of *Arabidopsis thaliana* with different binary vectors to measure the expression of sunflower SFA8 albumin).

O'Brien, J., Wilhelm, V., Rosemblatt, M y Valenzuela P.D.T.
Fundación Ciencia para la Vida e Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada.

Actualmente la gran demanda de harina de pescado y su alto precio ha llevado a la industria de salmónidos a considerar el reemplazo de esta por una fuente de proteínas de origen vegetal. Uno de los candidatos más atractivos es la semilla de lupino por su alto contenido proteico y fácil adaptación climática. Pero al igual que todas las legumbres, esta semilla posee un bajo contenido de metionina, aminoácido esencial para el desarrollo de salmones. Por esto, se propone aumentar el contenido de metionina de las semillas de lupino, introduciendo a esta mediante transformación, el gen de la albúmina de girasol (SFA8), rica en este aminoácido. Con el fin de maximizar la expresión de esta proteína se construyeron 6 vectores binarios de expresión mediante los cuales se evalúan dos promotores específicos de semilla de legumbre y tres secuencias 3'UTR. Incorporando la secuencia de destinación a retículo KDEL se analiza además, si cambiando el destino de esta proteína propia de vacuola al retículo afecta la acumulación de ella. Como una primera aproximación para comparar los niveles de expresión obtenidos con los diferentes vectores se transformó *Arabidopsis thaliana*, planta modelo cuyo corto ciclo permite la rápida obtención de semillas.

130. DETECCIÓN DE PATÓGENOS VIRALES EN VIDES MEDIANTE EL USO DE MICROARREGLOS. (Microarray-based detection of viral grapevine pathogens).

Escobar, P., Rojas, L.A., Engel, E., Arredondo, V. y Valenzuela, P.D.T.
Fundación Ciencia para la Vida, BiosChile IGSA e Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada.

La detección de patógenos virales es de gran importancia para las industrias frutícola y vitivinícola, ya que el alto grado de infecciones causadas por estos agentes disminuye la productividad y calidad del fruto. Actualmente, no se dispone de tratamientos simples y efectivos para erradicar los virus de vides ya infectadas, por lo que es necesario certificar el material "libre de virus" antes de su propagación.
En el presente trabajo, desarrollamos un ensayo prototipo, basado en un microarreglo de ADN, que está compuesto por oligonucleótidos de 70 bases diseñados en base a secuencias conservadas y específicas de cada virus. Esta técnica entrega una gran ventaja comparativa con respecto a los sistemas de detección tradicionales, ya que rastrea en forma simultánea la muestra vegetal en busca de múltiples patógenos virales, en lugar de realizar ensayos individuales e independientes para cada virus.
Este prototipo ha sido validado hibridando con genotecas virales y con ARN obtenido mediante transcripción *in vitro*. Al mismo tiempo, se han analizado muestras vegetales infectadas, comparando los resultados obtenidos con métodos convencionales de detección viral. Este método es versátil y aumenta considerablemente el espectro de virus detectables en un mismo ensayo, abriendo además la posibilidad de identificar virus hasta el momento desconocidos. Financiado parcialmente por proyecto FONTEC 204-4040.

131. EFICIENCIA DE INTERCEPCION DE LUZ EN PLANTÚLAS DE PODOCARPACEAS Y ANGIOSPERMAS ASOCIADAS DEL BOSQUE TEMPLADO LLUVIOSO. (Light interception efficiency in seedling podocarps and associated angiosperms in a Chilean temperate rainforest).

Pérez, M. Lusk, C.
Departamento de Botánica, ECOBIOSIS, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile. Department of Biological Sciences, Macquarie University, NSW 2109, Australia.

Evidencias sobre las menores tasas de crecimiento de coníferas frente las angiospermas han sido reportadas en muchos sitios. Bond (1989) sugirió que el lento crecimiento de las plántulas de coníferas podría estar relacionado con una lenta acumulación de superficie fotosintética, sin embargo hay estudios que ponen en duda esta teoría. Este trabajo propone que un mayor tamaño foliar y la carencia de pecíolos podrían ser relevantes en la intercepción de luz y interacción entre coníferas y angiospermas. Utilizamos un sistema de digitalización para construir modelos virtuales tridimensionales de la arquitectura de las coníferas *Podocarpus nubigena* y *Saxegothea conspicua* y las angiospermas *Nothofagus dombeyi, Amomyrtus luma, Laurelia philippiana* y modelamos su intercepción de luz en el sotobosque mediante el programa YPLANT. Hubo evidencia de una menor eficiencia de intercepción de luz y mayor autosombreamiento en las podocarpaceas. La variación en tamaño foliar explicaría en alguna medida esta diferencia. Por lo tanto la evidencia encontrada acá sugiere que la relación entre tamaño foliar e intercepción de luz ofrece una promisoria explanación de diferencias de desempeño entre las plántulas de coníferas y angiospermas.
Agradecemos al financiamiento entregado por el proyecto FONDECYT 1030811.

132. IDENTIFICACIÓN DE UN GEN QUE CODIFICA PARA UNA DEUBIQUITINASA TIPO OTUBAIN QUE SE EXPRESA DURANTE LA EMBRIOGÉNESIS TEMPRANA EN *PINUS RADIATA*. (Identification of Otubain-like deubiquitinase gene expressed during early embryogenesis in *Pinus radiata*).

Gutiérrez, F., Medina, C., Aquea, F., Arce-Johnson, P.
Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile.

La embriogénesis es una etapa clave en el ciclo de vida de las plantas. Aunque se conocen algunos mecanismos moleculares y fisiológicos que regulan la maduración del embrión, poco se conoce sobre las etapas tempranas de la embriogénesis. El uso de embriones somáticos ha permitido abordar el estudio de esta etapa. Mediante cDNA-AFLP hemos identificado Fragmentos Derivados de Transcritos (FDT) que se inducen durante los estados tempranos de la embriogénesis en *Pinus radiata*. Uno de estos FDT presenta homología a una proteasa de ubiquitina tipo OTUBAIN, una subclase de deubiquitinasa, las cuales en modelos animales, median la remoción y procesamiento de la ubiquitina formando parte del ciclo de ubiquitinización. Aunque se postula la existencia de esta clase de genes en plantas, no han sido evaluados aún. Mediante RT-PCR verificamos que el gen se expresa durante la embriogénesis temprana. A partir del FDT identificado se obtuvo la secuencia codificante completa del gen mediante TAIL-PCR para el extremo 5' y mediante RACE para el extremo 3'. Para ello se utilizaron partidores específicos y degenerados. Como resultado obtuvimos la secuencia codificante completa del gen, confirmando que se trata de una deubiquitinasa tipo OTUBAIN evaluada por primera vez en plantas.
Agradecimientos: Beca doctorado CONICYT a F. Aquea.

133. NUEVOS HALLAZGOS QUIMICOS Y BIOLOGICOS DE SESQUITERPENOLACTONAS OBTENIDAS DE *CORIARIA RUSCIFOLIA SUBSP. RUSCIFOLIA* (CORIARIACEAE). (New chemical and biological findings in sesquiterpe lactones from *Coriaria ruscifolia subsp. ruscifolia* (Coriariaceae))

Manríquez-Navarro,P.[1], Pérez Manríquez, C.[2], Fuentealba, J.[1], Meneses, S.[2], Becerra, J.[2], Aguayo, L. G.[1], Silva, M.[2]
[1]Laboratorio de Neurofisiología, Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Chile. [2]Laboratorio de Química de Productos Naturales, Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción. Chile

Coriaria ruscifolia subsp. ruscifolia es una planta nativa del sur de Chile de conocida toxicidad. Esta subespecie presenta sesquiterpenolactonas con un esqueleto similar a picrotoxina, donde se destacan tutina y coriamirtina, a las cuales se les atribuye los efectos tóxicos de la planta.
Se realizó un muestreo de las Provincias de Valdivia y Bío-Bío, donde se analizó el contenido de sesquiterpenolactonas.
Nuestros resultados analíticos mostraron una relación entre coriamirtina y tutina de 3:1 en Valdivia y 1:50 en Concepción. Además, hemos identificado una sesquiterpenolactona no reportada previamente en esta subespecie.
Se realizaron estudios "in vivo" sobre ratas utilizando tutina y coriamirtina a diferentes dosis (1-8 mg/kg). La administración por vía intraperitoneal (IP) permite evaluar 4 parámetros: inmovilidad, espasmos musculares, convulsiones generales, muerte (n=8).
Las diferencias encontradas en el contenido de sesquiterpenolactonas pueden atribuirse a diferencias ambientales o cambios genéticos.
Los resultados "*in vivo*" sugieren que tutina y coriamirtina inducen distintos grados de intoxicación caracterizados por sintomatología convulsiva o epileptogénica.
PBCT Nro.7.DIUC 205.033.099-ISP

134. ESTUDIOS PRELIMINARES EN ORQUÍDEAS DEL SUR DE CHILE. (Preliminary studies in orchids of the south of chile).

Durán[1], **C.**; Soto[1], S.; Rivero[2], M.; Alvarez[2], M. & C. Lehnebach[3].
[1]Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, [2]Instituto de Botánica. Universidad Austral de Chile. Chile. [3]Allan Wilson Centre, Massey University, NZ.

En Chile la familia Orchidaceae posee 7 géneros, constituidos en su mayoría por especies endémicas. *Chloraea virescens* y *Gavilea araucana* se encuentran entre ellas. Para realizar un aprovechamiento sustentable de estas especies y considerar su conservación, es imprescindible realizar estudios micorrízicos y cromosómicos que permitan implementar programas de mejoramiento genético, propagación y cultivo. Las semillas de orquídeas poseen escasa reserva nutritiva y dependen de un hongo para su germinación. Por otra parte, el nivel de ploidía de estas orquídeas es desconocido, información indispensable en programas de conservación, pues permite entender procesos de especiación y evolución que han experimentado las especies. Determinar la(s) especies que integran esta asociación micorrízica y establecer el nivel de ploidía de estas orquídeas, son nuestros objetivos. Para identificar endomicorrizas se utilizaron raíces maduras de *G. araucana*, en las cuales, a nivel cortical se observaron ovillos de hifas, siendo extraídos y sembrados en placas petri con medio FIM. El micelio se desarrolló en aproximadamente 7-8 días, siendo de color marrón oscuro, con presencia de hifas septadas. Se realizarán subcultivos, para su posterior identificación. Para los estudios cariológicos, se trataron ápices radicales de *C. virescens*, mediante técnica Grant, determinándose tamaño y número de cromosomas.
Proyecto DID S - 2005 - 35.

135. LAS INTERACCIONES POSITIVAS PROMUEVEN LAS INVASIONES BIOLÓGICAS EN LOS ALTOS-ANDES DE CHILE. (Positive interactions promote biological invasions in the high-Andes of Chile).

Villarroel, E.A.[1], Badano E.I.[2,3], Bustamante R.O.[1,3], Marquet, P.A.[2,3]
[1]Dpto. Cs. Ecológicas, Fac. Ciencias, U. Chile; [2]Dpto. Ecología, Fac. Cs. Biológicas, PUC; [3]Instituto. Ecología Biodiversidad (IEB), Fac. Cs. U. Chile.

Las interacciones entre especies son comúnmente invocadas para explicar el éxito de las especies invasoras en nuevos hábitat. Sin embargo, los efectos positivos que las especies nativas pueden tener sobre las invasoras han recibido poca atención. En este estudio se evaluaron los efectos de la planta nodriza *Azorella monantha* (Apiaceae) sobre el desempeño de las especies exóticas *Taraxacum officinale* (Asteraceae) *Cerastium arvense* (Caryophyllaceae) a dos elevaciones (3200 y 3600 m) en los Andes de Chile central. A cada altitud, se muestreó la ocurrencia, la abundancia y la biomasa aérea de ambas exóticas dentro y fuera de los parches de hábitat creados por *A. monantha* y cada variable fue comparada entre posiciones (dentro-fuera). A ambas altitudes, se observó que la ocurrencia, la abundancia y la biomasa de ambas exóticas eran mayores dentro que fuera de *A. monantha*, pero estas diferencias se incrementaba en el sitio de mayor altitud. Esto permite sugerir que existen interacciones positivas entre la especie nativa y las especies exóticas, donde las consecuencias de estas interacciones sobre las invasiones biológicas serían mayores hacia sitios más estresantes (mayores altitudes).
FONDECYT 3060095; FONDAP-FONDECYT 1501-0001, BBVA Foundation Prize in Conservation Biology Research 2004; FONDECYT 1040528; ICM P05-002

136. ANALISIS DE GONST3 Y 4, TRANSPORTADORES DE NUCLEÓTIDOS-AZÚCAR DEL APARATO DE GOLGI EN *Arabidopsis thaliana*. (Analysis of GONST3 and 4, Golgi-localised nucleotide-sugar transporters of *Arabidopsis thaliana*)

Huichalaf, M., Miranda, J.P. Arias, J., y Handford, M.
Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Patrocinio: Orellana, A.

Para la síntesis de glicanos en el lumen del aparato de Golgi, se requieren transportadores específicos para importar nucleótidos-azúcar sintetizados en el citosol. Hemos identificado GONST3 y 4, proteínas de *Arabidopsis*, las cuales poseen características moleculares de transportadores de nucleótidos-azúcar (TNAs) de otros organismos que transportan GDP-azúcares. Además se localizan en el aparato de Golgi y se expresan en muchos órganos de la planta. Nuestro trabajo está enfocado en la determinación de la especificidad de sustratos de estos TNAs y en el análisis de sus roles en planta. Para lograr el primer objetivo se hizo un constructo para expresar GONST3 y 4 en plantas. Después de transformar hojas de tabaco en forma transiente se determinó por RT-PCR que se sobre-expresan. Actualmente se están realizando experimentos de fraccionamiento subcelular para luego detectar la presencia de los TNAs y hacer ensayos de transporte con nucleótidos-azúcar marcados radioactivamente. Para cumplir el segundo objetivo, hemos transformado *Arabidopsis* en forma estable para sobre-expresar estos TNAs. Además hemos identificado unas mutantes insercionales en *GONST4* y mediante RNAi, se está intentado a reducir la expresión de *GONST3*. Se presentarán los resultados de los análisis de estas plantas.
Financiamiento: Proyecto Universidad de Chile DI I2 05/07-2.

137. EVALUACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE GENES CAROTENOGÉNICOS DURANTE EL DESARROLLO DE *Daucus carota L.* (ZANAHORIA). (Evaluation of carotenogenic genes expression during development of *Daucus carota L.* plants).

Pizzaro, L, Ramírez C, Gómez F, Arce-Johnson P y Stange C.
Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Los carotenoides son pigmentos lipídicos sintetizados en cromoplastos y cloroplastos de frutos, flores y órganos fotosintéticos. Los genes carotenogénicos en órganos verdes y durante la maduración de frutos, son inducidos preferentemente a nivel transcripcional en presencia de luz. Plantas de *Daucus carota L.* acumulan grandes cantidades del carotenoide β-caroteno en la raíz y bajo el control de la expresión de los genes: fitoeno sintasa, fitoeno desaturasa, z-caroteno desaturasa 1 y 2, y licopeno β-ciclasa (lycβ). A diferencia de otros modelos, la síntesis de β-caroteno en la raíz de zanahoria, ocurre en oscuridad.
Considerando estos antecedentes abordamos la evaluación de la función de la luz sobre la expresión de los genes carotenogénicos durante el desarrollo de *D. carota*.
Análisis de RTPCR, muestran mayor expresión de los genes vinculados directamente con la síntesis del β-caroteno, en la raíz de zanahoria respecto a hojas. Plantas etioladas presentan menor expresión de genes carotenogénicos que plantas crecidas bajo fotoperíodo. Estos resultados se correlacionan con la síntesis de carotenoides, evaluados mediante HPLC.
La función específica del gen lycβ será evaluada mediante PTGS. Se muestran los vectores construidos, establecimiento del sistema de embriogénesis somática y ensayos preliminares de transformación génica de *D. carota*.
Agradecimientos: Proyecto DI I2 05/06-2, Universidad de Chile.

138. GENETICA Y GENOMICA PARA ENTENDER EL PAPEL DE LAS CITOQUININAS EN LA RESPUESTA DE *ARABIDOPSIS THALIANA* A NITRATO. (Genetic and genomic approaches to understand the role of cytokinins in the nitrate response of *Arabidopsis thaliana*).

Naulin, P; Gutiérrez, R.A.
Departamento de Genética Molecular y Microbiología. P. Universidad Católica de Chile.
Patrocinio: Xavier Jordana

Nitrógeno es un macronutriente esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Nitrato, la principal fuente de nitrógeno disponible en el suelo, actúa como señal para modular la expresión génica a nivel global en *Arabidopsis thaliana. Sin embargo se desconocen los* mecanismos moleculares involucrados en la respuesta a nitrato. Nuestro trabajo y el de otros grupos sugieren que hormonas vegetales, y principalmente citoquininas, juegan un papel central en la respuesta a nitrato. Para evaluar la importancia de la vía de transducción de señales activada por citoquininas, utilizamos el mutante doble *ahk3-4* que presenta un fenotipo de hiposensibilidad a la hormona. Análisis fenotípico de esta línea mutante bajo diferentes condiciones nutricionales de carbono, nitrógeno y citoquininas, indican que las citoquininas son necesarias para la estimulación del crecimiento de las raíces por nitrato. Nuestros resultados indican que citoquininas actúan como señal río abajo de metabolitos de N. Estos estudios genéticos se complementarán con un enfoque genómico (microarrays) para evaluar el impacto global de esta vía de transducción de señales en la respuesta a nitrato e identificar las redes moleculares involucradas.
Agradecimientos: Fundación Andes C-14060/62 y Fondecyt 1060457

139. ANÁLISIS GLOBAL DEL TRANSCRIPTOMA DE *ARABIDOPSIS THALIANA*. (Global analysis of the *Arabidopsis* transcriptome).

Aceituno F.F. y Gutiérrez R.A.
Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. Patrocinio: Xavier Jordana

Las micromatrices de DNA se han convertido en la herramienta principal para medir cambios en la expresión génica a nivel global en organismos modelo. La gran cantidad de datos disponibles públicamente nos ofrece una oportunidad única de entender los principios generales que gobiernan la regulación de la expresión génica. Solo para la planta modelo *Arabidopsis thaliana*, existen >1800 hibridaciones de micromatrices de genoma completo (ATH1.121501, Affymetrix), las cuales corresponden a >470 condiciones experimentales distintas. En este estudio utilizamos variadas técnicas bioinformáticas para identificar patrones globales de expresión génica en respuesta a diversas variables experimentales. Previo al análisis, las hibridaciones fueron normalizadas utilizando RMA y filtradas para eliminar hibridaciones de baja calidad. Un análisis preliminar de la respuesta de genes individuales a los tratamientos indica que la mayoría de los genes responden a pocas variables, con un promedio de 2 variables que causan respuesta por gen. Las distintas variables representadas en nuestros datos mostraron diferencias en cuanto al tipo y cantidad de genes regulados, siendo el tipo de tejido y los nutrientes las variables que afectan la expresión del mayor número de genes. Análisis preliminar de los genes más y menos variables ("housekeeping" v/s "hipervariables") indica que los primeros están relacionados con funciones básicas del metabolismo celular y los segundos con transporte de lípidos. El siguiente paso en este estudio contempla definir módulos de co-expresión e investigar su coherencia funcional y filogenética.

140. RESPUESTA AL DÉFICIT HÍDRICO EN PROTEÁCEAS CON DIFERENTES REQUERIMIENTOS DE SOMBRA-TOLERANCIA. (Water stress response in *Proteaceae* with different shade-tolerance requirements).

Montenegro, R.[1]; Zúñiga-Feest, A.[2]; Alberdi, M.[1]
Instituto de Botánica[1], Instituto de Geociencias[2], Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Embothrium coccineum (Ec), Gevuina avellana (Ga) y Lomatia ferruginea (Lf) (*Proteaceae*) poseen diferentes requerimientos de hábitat. *Ec* es sombra-intolerante y demanda ambientes menos húmedos, *Lf* es sombra-tolerante y requiere mayor humedad. *Ga* ocupa un lugar intermedio. El déficit hídrico (DH) limita la eficiencia fotoquímica del PSII (EF) y otros procesos fisiológicos de las plantas. Se postula que por sus requerimientos ecológicos *Ec* debería responder mejor al desecamiento que *Ga* y *Lf*. Se evaluó EF máxima (Fv/Fm=fluorescencia variable/máxima y ϕPSII = EF efectiva, tasa de transpiración (T_r), contenido relativo de agua foliar (CRA_f), carbohidratos totales (CT) y la relación vástago/raíz (V/R), en plantas privadas de riego e irrigadas. Al final del experimento Fv/Fm no varió, ϕPSII disminuyó menos en *Ec* (40%), CRA_f y T_r disminuyeron menos en *Lf* (11 y 49 % respectivamente). *Ec* aumentó CT en mayor proporción (62%) y V/R aumentó solo en *Ec* y *Ga* (66 y 46%, respectivamente). Los resultados sugieren que las tres especies pueden resistir la sequía, utilizando distintas estrategias. *Ec* es más tolerante a la sequía disminuyendo menos ϕPSII y aumentando su V/R y CT a pesar de la disminución del CRA_f. En cambio, *Lf* evade la sequía manteniendo un CRA_f alto sin variar su V/R, posiblemente por un eficiente cierre estomático.
Proyecto FONDECYT 1050640

141. RENDIMIENTO FOTOQUÍMICO Y PIGMENTOS FOTOPROTECTORES EN PROTEÁCEAS. (Photochemical efficiency and photoprotective pigments in *Proteaceae*).

Zúñiga, R., Zúñiga-Feest, A., Bravo, L.A., Corcuera, L.J., Alberdi, M.
Instituto de Botánica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia; Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

En hojas de plántulas y adultos de Proteaceae, con diferentes requerimientos ecológicos (*Embothrium coccineum, Ec*, pionera y heliófita, *Gevuina avellana, Ga* esporádicamente pionera y *Lomatia ferruginea Lf*, no pionera, umbrófila-higrófila), creciendo en su microhábitat natural en "Pichiquillaipe", X Región/Chile, se estudiaron en invierno y verano, la eficiencia fotoquímica máxima (F_v/F_m), eficiencia fotoquímica efectiva (ΦPSII), apagamientos fotoquímico (qP) y no fotoquímico (NPQ) como indicadores de fotoinhibición y pigmentos xantófilas y clorofilas.
En invierno y al mediodía Fv/Fm, ΦPSII y qP de adultos y plántulas de *Ec* y *Ga* fueron menores que en verano; en *Lf* se mantuvieron constantes. NPQ fue mayor en plántulas de *Ec* en invierno al mediodía ($P \leq 0,05$), y en *Ga* en prealba en verano ($P \leq 0,05$), no asociándose con mayores contenidos en zeaxantina (Z). El valor más alto en Z lo presentaron en verano al mediodía plántulas y adultos de *Ga* ($P \leq 0,05$. *Lf* presentó los mayores contenidos en clorofilas especialmente en plántulas en invierno.
No hay signos evidentes de fotoinhibición del aparato fotoquímico, bajo las condiciones climáticas reinantes en el período investigado, aun cuando el invierno parece haber afectado más a las especies más expuestas (*Ec, Ga*) que a la menos expuesta (*Lf*).
FONDECYT 1050640; DID-UACH S2004-02

142. RESPUESTA FOTOSINTÉTICA DE TRES PROTEACEAS ACLIMATADAS A DOS TEMPERATURAS. (Photosynthetic response of three proteaceae at two temperatures).

[1]**Castro-Arévalo, M.** [1]Sanhueza, C. [1]Jara V., [2]Alberdi M., [1]Corcuera, L.J. y [1]Bravo, L.A.
[1]Departamento de Botánica, Universidad de Concepción e [2]Instituto de Botánica, Universidad Austral de Chile, Valdivia

Gevuina avellana, Embothrium coccineum y *Lomatia ferruginea* poseen hábitats contrastantes en temperatura e intensidad lumínica. Así, *E. coccineum* es una especie pionera, que se establece en lugares abiertos a pleno sol. *L. ferruginea* regenera bajo el dosel en sitios con baja oscilaciones térmicas. Para establecer una asociación del hábitat de estas especies con características funcionales de cada especie, se estudió sus respuestas fotosintéticas a la temperatura y la luz. La tasa de evolución de oxígeno de *L. ferruginea* presentó su óptimo a 25°C mientras que para *G. avellana* y *E. coccineum* fue entre 30 y 35°C. La asimilación de CO_2 fue similar en las plantas aclimatadas a 20 y 4°C con la excepción de *E. coccineum* aclimatado a 4°C que mostró mayores tasas de asimilación de CO_2 que a 20°C. Los máximos de temperatura para la incorporación de CO_2 estuvieron entre 20 y 30° C para las tres especies. *E. coccineum* presentó la Fn más elevada. La fluorescencia del PSII mostró que *E. coccineum* presenta un mayor rendimiento fotoquímico a ambas temperaturas de crecimiento. La mayor disipación térmica (NPQ) la presentó *L. ferruginea* a menores flujos fotónicos. El aparato fotosintético de cada especie presentó características consistentes con su hábitat.
Fondecyt -1050640

143. PLASTICIDAD FENOTÍPICA EN INDIVIDUOS DE *TARAXACUM OFFICINALE* (ASTERACEAE) PROVENIENTES DE TRES SITIOS CON REGÍMENES DE PRECIPITACIÓN CONTRASTANTES. (Phenotypic plasticity in *Taraxacum officinale* (Asteraceae) individuals from three sites with contrasting rainfall regimes).

Parra, C., Molina-Montenegro, M. & Gianoli, E.
Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción.

La plasticidad fenotípica es la variación en la expresión de un genotipo a lo largo de un gradiente ambiental, modificándose la fisiología, morfología, asignación de recursos y atributos de historia de vida. Utilizando individuos adultos de *Taraxacum officinale* provenientes de semillas colectadas en 3 sitios con diferentes regímenes de precipitación (La Serena, Valparaíso, Concepción), evaluamos si la plasticidad fenotípica difiere según el sitio de origen. Las plantas fueron sometidas a dos regímenes de riego (regular: cada 2 días; restringido: cada 5 días) durante tres meses. Medimos la eficiencia fotoquímica, biomasa total, asignación reproductiva, producción de flores, y la razón biomasa subterránea: aérea. Como resultado general, encontramos que los patrones de plasticidad fueron diferentes según el sitio de origen. Los individuos provenientes de Concepción y Valdivia presentaron un mejor desempeño que aquellos provenientes de La Serena en la condición de riego regular. No obstante, en la condición de riego restringido, los individuos de La Serena mostraron mayor eficiencia fotoquímica, mayor producción de flores y una mayor asignación de recursos a tejido subterráneo. La plasticidad mostrada por los individuos de *T. officinale* sugiere que cada individuo presenta un mejor desempeño donde las condiciones son más similares a las del sitio de origen.

144. EFECTO DEL ESTRÉS HÍDRICO EN *COLOBANTHUS QUITENSIS* CULTIVADO *IN VITRO* (Effect of water stress on *Q. quitensis* cultured *in vitro*).

Obrecht, O, Ortega M y Zúñiga, G.E.
Laboratorio de Fisiología y Biotecnología Vegetal, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile

Colobanthus quitensis es una de las dos plantas vasculares que habitan en el territorio antártico [1], hábitat en el que tolera distintas condiciones extremas, tales como radiación UV-B, bajas temperaturas y déficit hídrico entre otras, por lo que la caracterización de mecanismos involucrados en la tolerancia a estas condiciones representaría un aporte a la identificación de genes.
Se ha descrito que bajo condiciones de estrés, las plantas activan diversos mecanismos de tolerancia, entre los que destacan la acumulación de prolina, compuestos amonio cuaternario, azúcares y proteínas. En *C. quitensis* existen pocos estudios que identifiquen su nivel de tolerancia al déficit hídrico. La identificación de los mecanismos involucrados podría ayudar a mejorar la tolerancia de los cultivos frente a la sequía.[2]
En el laboratorio de Fisiología y Biotecnología Vegetal se ha desarrollado un sistema de cultivo *in vitro* que permite disponer de biomasa para realizar estudios de respuestas de plantas condiciones de estrés.
Plántulas de *C. quitensis* cultivadas *in vitro* fueron sometidas a déficit hídrico inducido por PEG6000 (7,5%) y NaCl (0-400 mM), durante 30 días. Se evaluó el contenido de MDA, la permeabilidad de membranas y contenido de peróxido de hidrógeno. Como respuesta al estrés de determinaron el contenido de compuestos de amonio cuaternario, prolina, azúcares solubles y proteínas.
Bajo condiciones de déficit hídrico las plantas solo acumularon MDA a las 24 horas, el resto del tratamiento no se produjeron diferencias significativas con el control. En estas condiciones las plántulas acumularon altos niveles de compuestos amonio cuaternario. Bajo condiciones de estrés salino, la permeabilidad de la membrana fue afectada de manera significativa. En estas condiciones se produjo un aumento significativo en los niveles de prolina.

Referencias

1. **Miren Alberdia, León A. Bravob, Ana Gutiérrez, Manuel Gidekele and Luis J, Corchera (2002)** Ecophysiology of Antarctic vascular plants. *Physiologia Plantarum 115: 479-486*
2. **Denis Rontein, Gilles Basset, and Andrew D. Hanson (2002)** Metabolic Engineering of Osmoprotectant Accumulation in Plants. *Metabolic Engineering 4, 49-56*

145. COMPARACIÓN DE LA RESPUESTA FOTOSINTÉTICA ALTITUDINAL EN *Phacelia secunda*, ESPECIE HERBÁCEA ALTO-ANDINA DE CHILE CENTRAL. (Altitudinal responses of photosynthesis in *P. secunda*, an Andean herb of Central Chile).

Garay D.[1]; Rioseco T.[1], Cabrera H.[1]; Molina M.[2]
[1]Instituto de Biología, Fac. Cs. Bás. y Mat., Pontificia Universidad Católica Valparaíso, Chile; [2]Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Chile;

Los ambientes de alta montaña –descritos como fríos, con alta radiación, baja presión parcial de CO_2– son estresantes y podrían afectar la fotosíntesis en las especies. Los factores abióticos mencionados varían altitudinalmente. La capacidad de adaptación al microambiente es fundamental para la supervivencia y reproducción de las plantas. Nuestro objetivo fue comparar la respuesta fotosintética en una herbácea con una amplia distribución altitudinal en los Andes de Chile Central. Para ello, se determinaron parámetros de Fluorescencia de Clorofila, Fotosíntesis máxima (A_{max}) y conductancia estomática (g_s) dos poblaciones de *Phacelia secunda* ubicadas a los 2.700 y 3.500 msnm. No hubo diferencias en eficiencia fotoquímica del fotosistema II (F_V/F_M y ETR) entre ambas altitudes. Sin embargo, las A_{max} a 2.700 m fueron mayores (14 µmol CO_2 /m^2s) que las a 3.500 m (9 µmol CO_2 /m^2s). Estas diferencias se encontraron –en parte– explicadas por una mayor g_s en las plantas a menor altitud (300 mmol H_2O / m^2s). *P. secunda* presentaría un eficiente sistema fotosintético que explicaría su crecimiento y desarrollo a lo largo del gradiente altitudinal.
Fondecyt 1060910; DI 122.790 (HM Cabrera); HMC); PUCV-UdeC (DI 122.104; & 205.111.042-1S)

146. DESCRIPCIÓN GEOMORFOLÓGICA DE LAS "LAGUNAS COLUN" RESERVA COSTERA VALDIVIANA, X REGION

Zapata [1], **F.**; Wendt [2], J; Mulsow [1], S & Pino[1], M.
[1]Instituto de Geociencias, Universidad Austral de Chile. [2]Centros de Estudios Científicos, Valdivia, Chile.

Se discuten las características geomorfológicas de dos sistemas lacustres litorales denominadas "Lagunas Colun" ubicadas al interior de la Reserva Costera Valdiviana en la Décima Región, y se propone una interpretación genéticas de ellas.
Estos lagos se caracterizan por ocupar la cabecera de dos pequeños valles orientados paralelos a la costa en el eje N-S. El lago oriental pertenece a la cuenca del Río Colun, en cambio, el lago occidental, no se encuentra dentro de esta cuenca ya que su efluente desemboca directamente al mar.
La presencia de dos cuerpos lacustres alineados al oeste con el valle inferior del río Colún, nos permite inferir que pertenecen a una secuencia hidrográfica que responde a los movimientos tectónicos propios de la costa local, identificándose una migración oeste-este del cauce fluvial.
Ambos lagos, el occidental y el oriental, presentan una criptodepresión de 11 y 3.6 m respectivamente. Esta característica geomorfológica permite inferir una posible conexión de este lago con el océano formando un estuario.
De acuerdo a lo anterior, se relaciona el origen de estos lagos con los solevantamientos neotectónicos de tipo co-sísmico en esta zona durante el Pleistoceno, y particularmente con la independencia estructural que está en relación a la cordillera de Nahuelbuta.

147. MECANISMOS DE RESISTENCIA AL CONGELAMIENTO EN TRES PROTEÁCEAS CHILENAS (Freezing resistance mechanisms in three Chilean Proteaceas).

Reyes-Díaz M[1], Corcuera LJ[1], Alberdi M[2], Bravo LA[1].
[1]Departamento de Botánica, Universidad de Concepción.
[2]Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

Embothrium coccinum (*Ec*), *Gevuina avellana* (*Ga*) y *Lomatia ferruginea* (*Lf*) son Proteáceas que difieren en su distribución y ocupación de biotopos. *Ec* y *Ga* pueden comportarse como pioneras en comunidades secundarias, mientras que *Lf* se encuentra restringida a condiciones climáticas con oscilaciones térmicas pequeñas. En este trabajo se pretende determinar el mecanismo de resistencia al congelamiento de las tres especies y la acumulación de azúcares. Se postula que la capacidad de aclimatación al frío sería mayor en *Ec* y *Ga*. Se determinaron estacionalmente las temperaturas letales del 50% del tejido foliar (TL_{50}), nucleación de hielo (TN), congelamiento (TC), la concentración de azúcares solubles totales (AST) y almidón en extractos de hojas. Los valores de TN y TC variaron dependiendo de la estación. TL_{50} fue menor en invierno para las tres especies, siendo más bajas en *Ec* y *Ga* (-9.9°C y -9.2°C, respectivamente). El mecanismo de resistencia al congelamiento fue de evasión, con la excepción del invierno, que fue de tolerancia. Los AST aumentaron en las tres especies en invierno concomitantemente con la disminución del almidón, alcanzando valores similares entre especies. AST disminuyeron hacia el verano. Dado que los contenidos de azúcares fueron similares en las tres especies, sus diferencias en resistencia al frío se deben a otras causas.
Agradecimientos: FONDECYT 1050640; Valeria Neira.

148. RESPUESTAS DE CRECIMIENTO DE *Phragmites australis* (CAV.) TRIN. EX STEUD, (CARRIZO) ANTE DIFERENTES RESIDUOS DE LA INDUSTRIA DE LA CELULOSA. (Growth Responses of *Phragmites australis* as affected by the Residues of the Cellulose Industry).

Jordan, M[(1)], Wilken, D[(2)], Gerth, A[(2)] and O. Muñoz[(3)].
[(1)]Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Alameda 340, Santiago, Chile. [(2)]BioPlanta GmbH, Deutscher Platz 5, D-04103 Leipzig, Germany. [(3)]Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Casilla 653, Santiago Chile. Email:

Respuestas de fitorremediación de diversos tipos de residuos sólidos y líquidos del proceso Kraft de producción de celulosa se estudiaron bajo condiciones *in vitro* y de invernadero. El crecimiento y la tolerancia de plantas se evaluó en cuatro residuos inorgánicos y un residuo orgánico; entre ellos, "cenizas, escorias, dregs, grits y rechazos de cocción" que se mezclaron con un suelo orgánico comercial en proporciones de 10%, 20%, 30%, y 40%, y de igual manera con un residuo líquido hasta 30% v/v, disuelto en medio nutritivo según Murashige & Skoog (1962) incluyéndose como única hormona de crecimiento 6-benzylaminopurine (BAP) en conc. de 5 mg l^{-1}. *In vitro*, las plántulas se desarrollaron hasta un nivel de un 10% tanto en presencia de residuos sólidos como líquidos. Experimentos paralelos con suplementos de sales a los medios de cultivo indicaron las tolerancias máximas posibles y captación/acumulación parcial de algunos finalizados 2-3 meses. En condiciones de invernadero, plántulas derivadas de *in vitro*, colocadas en potes en diversas proporciones de residuos sólidos, evidencian respuestas diversas según el tipo de substrato. En presencia de cenizas, tratamientos entre 20%-30% indujeron a una mayor altura y peso fresco de las plantas comparado con los controles (solo tierra orgánica comercial); cenizas nivel de 40%, mostraron valores solo algo menores que los controles. En presencia de otros residuos, aun en niveles de un 30% las plantas, si bien evidenciaron menor altura, no se hallaron daños por toxicidad ni deficiencia mineral. Niveles de 40% fueron más limitantes, especialmente grits and dregs, causando clorosis y/o necrosis. La gran mayoría de los residuos son además alcalinos, encontrándose en las mezclas pH 7 a 9. Dado que el 50% de la generación de residuos corresponde solo a cenizas, y que estas son las más toleradas por carrizo y por otras especies descritas anteriormente, y al hecho que desarrolla un extenso sistema radicular, se asume que *P. australis*, puede ser una de las especies a considerar en proyectos de fitorremediación y posible aprovechamiento de residuos del proceso de fabricación de celulosa Kraft (Proyecto financiado por DIPUC 2003/05 PF).

149. ANALISIS DEL GEN ASCORBATO PEROXIDASA Y RESPUESTA BIOQUIMICA EN *DESCHAMPSIA ANTARCTICA* BAJO ESTRÉS SALINO. (Analysis of ascorbate peroxidase gene and biochemical response in *Deschampsia antarctica* under saline stress).

Zamora, P.[1,3], Prieto, H.[2], Ortega, M.[1,3], Zúñiga, G.E.[1]
[1]Lab. de Fisiología y Biotecnología Vegetal, USACh. [2]Lab. de Biotecnología, INIA La Platina. [3]Estudiante del Programa de Doctorado en Biotecnología, USACh.

La eficiencia del sistema antioxidante permite mantener la estabilidad estructural y funcional de los sistemas vegetales frente a condiciones extremas. Uno de los componentes clave de esta maquinaria de detoxificación celular es la enzima Ascorbato Peroxidasa (APXs), la cual participa en la descomposición del peróxido de hidrógeno, una de las principales sustancias reactivas de oxígeno en plantas. *Deschampsia antarctica*, única Poaceae endémica del territorio antártico, ha desarrollado distintos mecanismos de defensa frente a condiciones ambientales desfavorables tales como las bajas temperaturas y la alta radiación UV-B, factores inductores de daño oxidativo.
Para conocer en detalle la participación de APX en la respuesta antioxidante de *D. antarctica*, se sometió plantas *in vitro* a concentraciones altas de NaCl durante 72 hrs., y se determinó las variaciones en el contenido de ascorbato y la actividad de APX, además de otros parámetros de daño fisiológico. Los resultados muestran una inducción de APX en las primeras horas posterior al tratamiento, siendo este comportamiento relacionado con los niveles de ascorbato, entre otros. Posteriormente, para contribuir a la caracterización de APX, hemos aislado y caracterizado parcialmente el gen desde *D. antarctica*. El segmento secuenciado corresponde a 1082 bp, el cual contiene 5 exones y 4 intrones, estos resultados son de gran interés ya que 2 de los intrones solo son compartidos por otro gen APX de una especie de la misma familia (*Triticum aestivum*) y los otros 2 intrones no están reportados en genes APX ni en genes relacionados. Esta información generada nos permitirá realizar análisis de caracterización de expresión génica y determinación de la organización genómica estructural, lo cual es una importante herramienta para el estudio de la respuesta molecular de esta especie.

150. LA FUNCIÓN DE LOS RNAs PEQUEÑOS EN LA RESPUESTA A NITRÓGENO EN *ARABIDOPSIS THALIANA*. (The function of small RNAs in the nitrogen response in *Arabidopsis thaliana*).

Vidal, E. y Gutiérrez, RA.
Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile.
Patrocinio: Xavier Jordana.

En los últimos años los RNA pequeños (sRNAs) han surgido como reguladores maestros de la expresión génica en plantas y otros organismos. En plantas, los RNA pequeños están involucrados principalmente en la represión post-transcripcional de genes que codifican factores de transcripción. Nitrato, la principal fuente de nitrógeno disponible en el suelo para los organismos vegetales, es capaz de actuar como una señal que modula la expresión génica global, pero los mecanismos moleculares involucrados en esta respuesta se desconocen. Resultados previos indican que blancos de sRNAs son regulados por tratamientos con nitrógeno y carbono. Esto sugiere que los sRNA participan en la respuesta a nitrógeno y/o carbono. Para investigar la posible participación de sRNA en la respuesta a nitrógeno en Arabidopsis, secuenciamos cDNAs provenientes de sRNAs aislados desde plantas control y tratadas con nitrógeno y carbono utilizando la tecnología 454. Las ~16,000 secuencias por muestra fueron procesadas en el laboratorio utilizando programas escritos en Perl. Comparando la frecuencia de cada secuencia en las dos muestras identificamos sRNAs regulados en respuesta a tratamientos con carbono y nitrógeno. Entre los genes regulados, encontramos miRNAs y ta-siRNAs. Estos resultados indican que sRNAs participan en la respuesta a cambios en la disponibilidad de nitrógeno en Arabidopsis.
Agradecimientos a FONDECYT (Proyecto 1060457) y a los colaboradores Pam Green y Blake Meyers (Delaware Biotechnology Institute. DE, USA).

151. *TM6*, GEN TIPO MADS-BOX CLASE B, NO SOLO SE EXPRESA EN INFLORESCENCIA, SI NO A TRAVÉS DEL DESARROLLO DE LA BAYA EN *Vitis vinifera*. (*TM6*, a b-class MADS-box gene, is not only expressed in inflorescences but also throughout berry development in *Vitis vinifera*).

Poupin, MJ., Federici, F., Medina, C., Matus JT, Arce-Johnson P.
Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Los peculiares procesos que ocurren durante la floración de Vides hacen a esta especie un atractivo modelo de estudio del desarrollo floral. Nosotros estamos interesados en estudiar genes de floración del tipo MADS-box *en Vitis vinifera* con el fin de conocer su participación en el desarrollo de la flor y el fruto. En esta investigación se identificó un gen homólogo a TM6 (*VvTM6*) a partir de DNA genómico y RNA de tejido floral, recientemente se ha descrito que TM6 estaría involucrado en el desarrollo de estambres. Análisis filogenéticos sitúan a *VvTM6* en el linaje génico TM6 y análisis de secuencia permiten encontrar los dominios y motivos típicos de un gen perteneciente a este grupo. Mediante qRT-PCR en tiempo real determinamos la expresión de este gen en distintos tejidos y estadios de desarrollo de *Vitis vinifera*. Nuestros resultados indican que no solo se expresaría en tejido floral, si no también e intensamente durante el desarrollo de la baya, siendo este el primer reporte de genes de clase B que se expresen en fruto, lo que permitiría especular una posible función de *VvTM6* durante este proceso.
Agradecimiento: Consorcios Tecnológicos Innova Chile 05CTE01-03, Vinnova

152. ANÁLISIS TRANSCRIPCIONAL Y BIOQUÍMICO DEL METABOLISMO DE POLIAMINAS EN BAYAS PARTENOCÁRPICAS DE *Vitis vinifera* cv. Carménère. (Trancriptional and biochemical analysis of polyamines metabolism in parthenocarpic grapes from *Vitis vinifera* cv. Carménère).

González, E.[1] ; Cabrera, N[1]; Alva, O.[1]; Poblete, F.[1]; Ruiz-Lara, S.[1] y Peña-Cortés, H.[2]
[1]Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca y [2] Centro de Biotecnología Daniel Alkalay, Universidad Federico Santa María.

Vitis vinifera cv. Carménère ha sido caracterizada como una variedad de vid con alta tendencia al desarrollo de frutos partenocárpicos, evento que se manifiesta en la producción de bayas semilladas y no semilladas en un mismo racimo. Por esta razón, esta variedad constituye un excelente modelo para estudiar los eventos genético-moleculares y sus efectos fisiológicos, bioquímicos y morfogénicos asociados al proceso de formación de la semilla en vides. En consideración de ello, se ha determinado los perfiles de expresión génica durante las fases iniciales del desarrollo frutal en bayas semilladas y no semilladas de *Vitis vinifera* cv Carménère. El análisis mediante hibridación de macroarreglos conteniendo 4803 ESTs de la colección DEGECHIVID, ha establecido que 479 genes (246 reprimidos y 233 inducidos) son diferencialmente expresados en bayas partenocárpicas respecto de bayas normales. Entre estos se incluye aquellos genes que codifican para enzimas asociadas al metabolismo de poliaminas. La actividad transcripcional de tales genes en bayas semilladas y no semilladas ha sido cuantificada y se ha correlacionado con el perfil de concentración de poliaminas libres y conjugadas en ambos tipos de frutos. Los resultados obtenidos indican que en bayas partenocárpicas la vía de síntesis de poliaminas se encuentra aumentada respecto de bayas normales, sugiriendo un rol de estos reguladores del crecimiento en la formación de la semilla.
Financiado por: Proyecto Genoma Chile G02P 1002 y Centro Cooperativo para el Desarrollo Vitivinícola

153. ROL DE ETILENO EN LA BIOSINTESIS DE AROMA DE PAPAYA CHILENA (Role of ethylene on aroma biosynthesis of the Chilean papaya fruit).

Moya-León,M.A., Balbontín, C. y Herrera, R.
Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca, Casilla 747, Talca, Chile.

El aroma es un importante atributo de calidad, determinado por compuestos volátiles capaces de ser percibidos por el epitelio olfatorio. El aroma de frutos es impartido principalmente por ésteres, sintetizados mediante reacciones de esterificación catalizadas por Alcohol-acil transferasas (AAT). La papaya que se cultiva en Chile (*Vasconcellea pubescens*) desarrolla durante su maduración un fuerte y agradable aroma. Los volátiles más abundantes, analizados mediante Cromatografía Gaseosa-Headspace-SPME, corresponden a acetato de etilo, butanoato de etilo, butanoato de metilo y acetato de butilo. El rol de etileno en la producción de volátiles se analizó mediante el tratamiento de frutos con 1-metilciclopropeno (1-MCP, 0,3 $\mu L.L^{-1}$) y Ethrel (2 $g.L^{-1}$). El tratamiento con 1-MCP inhibió la producción de etileno por parte de la fruta, lo que provocó una fuerte reducción en la producción de volátiles. Ethrel por su parte, provocó un adelantamiento del climaterio y un aumento en la producción de volátiles similar a frutos no tratados. Se aisló desde cDNA de frutos en maduración, una secuencia de 1.383 pb (VpAAT1) de alta homología con diferentes genes de AAT y que contiene motivos altamente conservados. La secuencia fue expresada en levaduras, obteniendo una cepa transformante capaz de catalizar la síntesis varios ésteres, demostrando la funcionalidad del gen aislado.
Financiamiento: IFS, Fundación Andes y Mecesup TAL105.

154. ENDURECIMIENTO A LA SEQUÍA EN VIVERO DE PLANTAS DE *Eucalyptus globulus* (Drought hardening of *Eucalyptus globulus* seedlings in nursery).

Coopman, R.[1], Villalobos, M.[1], Sáez, K.[3], Bravo, L.A.[2], Escobar, R.[1].
[1]Fac. Cs. Forestales, Universidad de Concepción. [2]Fac. Cs Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción. [3]Dpto. Estadística, Fac. Cs. Físicas y Matemáticas, Universidad de Concepción.

Se estudió el efecto del endurecimiento a la sequía y de la poda de tallo, sobre el crecimiento y tolerancia a la sequía de *E.globulus*. Plantas con y sin poda del ápice principal se sometieron a ciclos de estrés hídrico durante 90 días, hasta alcanzar un 90, 82 y 78% del peso a capacidad de campo y posterior riego (Control no estresado, estrés moderado y severo, respectivamente). Al final del endurecimiento se cuantificó altura, área foliar, superficie foliar específica, biomasa total y razón tallo/raíz. Las plantas fueron sometidas a una sequía final, donde se monitoreó diariamente la fotosíntesis neta (Pn), conductividad estomática (Gs), transpiración (Ev) y potencial del agua en el xilema (Ψ_{pd}) cuando Pn=0. Las plantas no podadas registraron valores mayores que las podadas en todas las variables morfológicas, excepto el diámetro de cuello. Las variables morfológicas no fueron afectadas por el endurecimiento. Las plantas con poda de tallo registraron valores positivos de Pn, Gs y Ev, durante 20 días más que las sin poda. Los tratamientos moderado y severo, aumentaron la tolerancia a la sequía moderada y severa, respectivamente, permitiendo que las plantas realicen fotosíntesis a menores Ψ_{pd}.

155. ACLIMATACIÓN AL FRÍO EN *Arabidopsis thaliana* Y RESPUESTAS A LA FOTOINHIBICIÓN INDUCIDA POR FRÍO. (Cold acclimation in *Arabidopsis thaliana* and responses to cold-induced photoinhibition).

Bascuñán, L, Saavedra F, Bravo LA y Corcuera LJ.
Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción.

Las respuestas a la aclimatación al frío (AF) y a la alta intensidad lumínica a nivel del aparato fotosintético tienen similitudes, puesto que ambos factores afectan el balance energético. Entre estas respuestas destacan la disminución de la eficiencia de la captación de luz, por el complejo antena (CA) y una mayor disipación de ella como calor (DE). En este trabajo se postula que a mayor resistencia al frío hay una mayor resistencia a la fotoinhibición inducida por frío (RFIF). Esto se estudió en *Arabidopsis thaliana*-Columbia y *esk-1*, una mutante resistente al congelamiento. En condiciones sin AF, *esk-1* presentó menores niveles de Lhcb2 (proteína componente del CA) y de la razón de trímeros: monómeros (RTM) del CA. Se sugiere que esto podría determinar una menor captación de luz. Esto es consistente con una mayor recuperación de la razón Fv/Fm post-fotoinhibición en este genotipo. La AF disminuyó el nivel de Lhcb2 y la RTM de LHCII en ambos genotipos, no encontrándose diferencias entre estos. La DE aumentó significativamente en *esk-1*. La RFIF aumentó en el genotipo silvestre, y se mantuvo en *esk-1*, no observándose diferencias entre los genotipos. La hipótesis es válida solo para Columbia, pero no para *esk-1*.
Agradecimientos: CONICYT, Proyecto DIUC 205111042-15

156. EXPRESIÓN HETERÓLOGA DE PROMOTORES DE TRANSPORTADORES DE FOSFATO DE ALTA AFINIDAD EN TRIGO SOMETIDO A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE FOSFATO. (Heterologous expression of high affinity phosphate transporter promoters in wheat maintained at different phosphate concentrations).

Espejel, F.[1], Peñaloza, E.[1], Salvo-G, H.[1], Muñoz, G.[1], Silva, H.[2], Neupert, C.[2], Milla, L.[2], Campillo, R.[1], Corcuera, LJ.[3]
[1]INIA Carillanca, Temuco; [2]Universidad Andrés Bello, Santiago; [3]Universidad de Concepción, Concepción.

Los transportadores de fosfato de alta afinidad (Pht1) son proteínas de membrana inducidas en condiciones de deficiencia de fósforo (P) en plantas. Como tal, sus promotores son candidatos para dirigir la expresión de transgenes en respuesta específica a este estrés. Con el objetivo de definir el grado de estrés por deficiencia de P necesario para activar la expresión de genes modulados por promotores Pht1, se evaluaron los promotores de los genes *AtPht1;1* y *AtPht1;4* de *Arabidopsis* fusionados al gen reportero *gus*, e integrados en el genoma de trigo cv. Bobwhite. Los estudios se realizaron en plantas T_3 homocigotas mantenidas en diferentes concentraciones de P en solución nutritiva. Mediante tinción histoquímica y qRT-PCR, se demostró que la funcionalidad de estos promotores está asociada a la concentración de P en raíces, y que la expresión *gus* difiere de acuerdo al grado de estrés y promotor que se trate. Estos resultados demuestran la funcionalidad de promotores de *Arabidopsis* en trigo, y sugieren la potencialidad de aquellos inducibles por la deficiencia de P como estrategia para expresar genes que requieran ser modulados s0lo en respuesta a este estrés.
Agradecimientos: Proyecto FIA (BIOT 01-A-36).

157. MIELES ENDÉMICAS CHILENAS COMO BIOINDICADORES DE CONTAMINACIÓN AMBIENTAL POR METALES PESADOS. (Endemic chilean honeys as bioindicator of environmental pollution by heavy metals).

Mejías, E.*, Bonomelli C., Olivares L., Fredes, C. y Montenegro G.
Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La miel es una compleja mezcla de hidratos de carbono y compuestos aromáticos, la cual es usada ampliamente para consumo humano. Esta se produce en la naturaleza por las abejas (*Apis mellifera*), a partir del néctar de las flores. De esta forma, su rol biológico puede ser de gran importancia en casos de contaminación ambiental. La contaminación por metales pesados de suelos, aguas y especies vegetales de un lugar, puede determinar la presencia de tales elementos en las mieles producidas allí. Debido a la alta toxicidad de los metales pesados, resulta fundamental disponer de una adecuada técnica de identificación y cuantificación analítica de ellos. Por lo tanto, la determinación de estos elementos además, permitiría establecer la potencial capacidad de las mieles como bioindicadores de contaminación ambiental.
Mieles colectadas en las cercanías del yacimiento cuprífero "La Cocinera" (Ovalle, IV Región) junto con mieles obtenidas en las proximidades del camino al Cajón del Maipo (Santiago, Región Metropolitana), fueron analizadas con el fin de comparar el grado de contaminación por metales pesados (Cu y Pb respectivamente) en cada lugar. Cada muestra fue sometida a dos tipos de digestión: calcinación por mufla y digestión húmeda con HNO_3/HCL. En ambos casos, las cenizas obtenidas fueron resuspendidas en HNO_3 (2%) y analizadas mediante la técnica de EAA. La digestión húmeda mostró menor dispersión en los valores obtenidos para las mediciones de una misma muestra. Asimismo, no hubo diferencias significativas en la concentración de los dos metales cuantificados, entre las mieles provenientes de un mismo lugar geográfico. En general, para cada muestra la concentración de Cu resultó ser mayor que la determinada para Pb. No obstante, los valores para Cu fueron mayores para las mieles cercanas al yacimiento. Se discuten los resultados en relación a las fuentes contaminantes de ambos sitios de trabajo y de muestreo.
* Estudiante Programa de Doctorado en Ciencias Vegetales de la PUC. Financiado por proyecto FONDECYT 1060535 a G. Montenegro.

158. ¿ES EL GANADO UNA POSIBLE VÍA DE INTRODUCCIÓN DE ESPECIES INVASORAS EN ALTA MONTAÑA DE CHILE CENTRAL? (Is cattle a possible via of introduction of alien species in alpine central Chile?)

Etchepare, MA.[1] & Cavieres, LA.[1]
(1)ECOBIOSIS. Departamento de Botánica, Universidad de Concepción.

Perturbaciones antrópicas como la actividad ganadera y los sistemas de cultivo están fuertemente relacionadas con la invasión y dominancia de especies no nativas. Se ha documentado la presencia de especies no nativas en la alta montaña de Chile Central, pudiendo ser causa, la historia de perturbación antrópica en estos ambientes. La presencia de ganado vacuno y equino es frecuente en estos terrenos, a pesar de no ser un sitio de calidad para el pastoreo. Frente a este contexto, nos planteamos, si en estos sitios existe una posible relación entre la introducción de especies invasoras y la presencia de ganado como vectores de dispersión de semillas a través de sus heces. Para ello, se colectó materia fecal de ganado, aves y roedores en tres tipos de comunidades. De las muestras de heces colectadas, 50% contenían semillas, registrándose en total 205 propágulos. Casi la totalidad se registró en heces de ganado. Se identificó 4 especies de las cuales la más abundante (84,9%) pertenece a una gramínea de la subfamilia Panicoidea, no registrada en estas altitudes. Se concluye que el ganado es dispersor de semillas de esta especie adventicia, pero las condiciones rigurosas del sistema no serían las apropiadas para su establecimiento.
Beca de Doctorado del Proyecto ICM, código P05-002

159. ANÁLISIS FLORÍSTICO-ESTRUCTURAL Y COMUNITARIO DE UNA FORMACIÓN VEGETAL CON *HAPLOPAPPUS TAEDA*, ASTERACEAE, EN EL AREA ANDINA DE CHILE CENTRAL (Floristic-structure and communities analysis of plant stands with *Haplopappus taeda*, Asteraceae) in the Andean region of Central Chile).

San Martín, J[1]., Voguel, H[2]., González, B[2]. & Doll, U[3].
[1]Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología [2]Escuela de Agronomía [3]Escuela de Ciencias Forestales, Universidad de Talca casilla 747 Talca. Email: jsanmart@utalca.cl

Las comunidades vegetales altoandinas de la zona central, históricamente, han sido objeto de presión antrópica por extracción selectiva y destructiva de especies y el uso en pastoreo de ganado doméstico. A pesar de ello la información acerca de la descripción, composición y organización estructural de las comunidades es exiguo.
En dos comunidades andinas de las VI y VII regiones de Chile Central con dominancia de *Haplopappus taeda*, Asteraceae, y con la metódica sociológica del sur de Europa y en parcelas se realizaron censos florísticos vegetacionales.
Como información preliminar se encontraron 51 especies, principalmente, nativas. La fisonomía del paisaje es dominado por la prevalencia de cobertura del estrato herbáceo y arbustivo. Sin embargo, la mayor diversidad se concentra en las hierbas, y en las cuales domina las formas perennes hemicriptófitas. Las especies más frecuentes que acompañan a *H. taeda* son *Tetraglochin alatum* y *Kageneckia angustifolia*.
Se concluye que la formación con H. taeda se organiza en dos comunidades con diversidad florística similar. La estructura y fisionomía corresponden al típico modelo de matorral bajo andino.
Agradecimiento al Proyecto FIA

160. *TRAUCO*, HOMÓLOGO AL GEN TRITHORAX ASH2, ES NECESARIO PARA LA EMBRIOGÉNESIS Y EL CRECIMIENTO NORMAL EN *ARABIDOPSIS THALIANA*. (*TRAUCO*, a homologue TRITHORAX group gene ASH2, is required for embryogenesis and normal growth in *Arabidopsis thaliana*).

Aquea, F.[1], Grossniklaus, U.[2] y Arce-Johnson, P.[1]
[1]Laboratorio de Bioquímica. Departamento de Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. [2]Plant Science Center, Universidad de Zürich, Suiza.

En nuestro laboratorio estamos interesados en estudiar los genes que se expresan durante las etapas tempranas de la embriogénesis en plantas. Mediante la técnica de cDNA-AFLP identificamos un gen homólogo al Trithorax ASH2 descrito en animales y levaduras que se expresa en estados tempranos de la embriogénesis somática en *Pinus radiata*. Decidimos nombrar a este gen *TRAUCO*, en memoria del mito de Chiloé, quien es el creador de la nueva vida. Para caracterizar y estudiar la función de este gen, hemos clonado *TRAUCO* de la planta modelo *Arabidopsis thaliana*. Este gen es expresado en embriones en desarrollo y en otros tejidos de la planta, y su proteína se localiza en el núcleo. Evaluación de pérdida de función de este gen, mediante la inserción de T-DNA, causa detención del desarrollo embrionario en el estado globular, en aproximadamente 25% de las semillas. En estos embriones homocigotos mutantes, la expresión del gen homeótico *PHERES*, relacionado con el desarrollo de la semilla y el de CICLINA B1, la que participa del ciclo celular, se encuentran alteradas. Además, la mutación de TRAUCO es dominante. Plantas heterocigotas florecen antes y son de menor tamaño que las controles silvestres. Nuestros resultados sugieren que TRAUCO funcionaría como un regulador transcripcional necesario para el proceso de embriogénesis y el normal crecimiento de Arabidopsis.
Agradecimientos: Beca doctorado CONICYT a F. Aquea.

161. GERMINACIÓN ASIMBIÓTICA DE SEMILLAS DE LA ORQUÍDEA NATIVA *Chloraea virescens*. (Asymbiotic germination of seeds of the native orchid *Chloraea virescens*).

Jara, G.[1], Lehnebach, C[2], Seemann, P.[1] y Rivero, M[3].
[1]Instituto de Producción y Sanidad Vegetal. [2]The Allan Wilson Center for Molecular Ecology and Evolution. Massey University, New Zealand. [3]Instituto de Botánica. Universidad Austral de Chile.

La mayor abundancia de orquídeas se concentra en las áreas tropicales, sin embargo, en Chile se encuentran 7 géneros y 50 especies. Entre estas, *Chloraea virescens* presenta hermosas flores blancas, con estrías y ápices verdes, lo que la hace muy atractiva, con lo cual es necesario desarrollar programas para su conservación. Para ello se formuló el proyecto "Multiplicación *in vitro*, caracterización citológica y morfológica de cuatro especies de Orquídeas nativas de los géneros *Chloraea* y *Codornochis* de la provincia de Valdivia", entre cuyos objetivos fue realizar la germinación de semillas bajo condiciones asimbióticas.
Se sembraron semillas maduras e inmaduras de *Ch. virescens*, en el medio de Murashige y Skoog (1962), e incubadas bajo oscuridad y 16 horas de luz; y semillas maduras en cuatro medios de cultivo (MS 50%, MS 100%, Medio Morel, Medio Knudson). Al cabo de 3 meses se evaluó el porcentaje de sobrevivencia y germinación. Se determinó un efecto significativo de la maduración de las semillas sobre la germinación (60%), mientras que la incubación bajo diferentes regimenes de luz no presentó diferencias significativas. El mayor porcentaje de germinación, con formación de protocormos aclorofílicos se obtuvo en el medio MS 50%.

162. BIOGEOGRAFÍA Y EVOLUCIÓN DEL HÁBITO EPÍFITO EN LA TRIBU CORONANTHEREAE (GESNERIACEAE). (Evolution of the epiphytic habit within Coronanthereae Tribe (Gesneriaceae)).

Salinas, M.F., Arroyo, M.T.K. & J.J. Armesto
Instituto de Ecología y Biodiversidad (IEB), Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Casilla 653, Santiago, Chile y CASEB, Universidad Católica de Chile.

Las especies epífitas constituyen cerca del 30% de las plantas vasculares. Sin embargo, la evolución de epífitas ha sido escasamente analizada en un contexto filogenético. En Chile, tres géneros monotípicos endémicos al bosque templado de la tribu Coronanthereae son epífitos. En esta investigación, (1) clasificamos las formas de crecimiento epífito de las especies chilenas y (2) reconstruimos la historia biogeográfica y evolutiva de la tribu con una revisión bibliográfica. Encontramos que (1) dos especies chilenas son trepadoras, y una holoepífita, (2) la distribución de los nueve géneros de la tribu es de tipo Gondwánico, vicariante en el Pacífico Sur. Presenta árboles, arbustos, trepadoras y holoepífitas, difiriendo en el grado de especialización y en el tamaño de la planta. Las flores de los géneros difieren en el número de estambres y en el tipo de fruto. La evolución del linaje podría ser reconstruida considerando un incremento en la especialización, una reducción en el tamaño de la planta y en el número de estambres y una transformación del tipo de fruto. Este devenir evolutivo indicaría que el hábito arbóreo-arbustivo es ancestral al trepador, y este a su vez al holoepífito.
Agradecimientos: Proyecto ICM P05-002, Fondap-Fondecyt 1501-0001, MECESUP, FSD, CONICYT

163. EFECTO DEL ESTRÉS POR COBRE SOBRE NIVELES DE GLUTATIÓN Y FITOQUELATINAS EN LA GRAMÍNEA TOLERANTE *Polypogon australis*. (Effect of copper stress on glutathione and phytochelatin levels, in the tolerant gramineae *Polypogon australis*).

Ortiz, C. y Sánchez, R. Departamento de Biología, Universidad de Santiago de Chile.

Se estudió la relación entre los niveles de glutatión y la síntesis de fitoquelatinas provocada por una concentración de cobre (Cu) menor y superior al EC_{50} (63 mM y 140 mM, respectivamente), en hojas de la gramínea tolerante *Polypogon australis*. El contenido de compuestos tiólicos no proteicos excepto glutatión, fue considerado como una medida del contenido de fitoquelatinas. Un aumento en el nivel de fitoquelatinas se observó a los tres días de tratamiento solo con Cu por sobre el EC_{50}, que fue 7 veces mayor respecto al control. La síntesis de fitoquelatinas observada no se asoció con una disminución del nivel de glutatión, metabolito que presentó un aumento paralelo a la síntesis de fitoquelatinas. Al mismo tiempo, el efecto del tratamiento con Cu no provocó daño oxidativo significativo, determinado mediante lipoperoxidación y oxidación de proteínas. Los resultados muestran que el tratamiento con Cu provoca un aumento en la síntesis de fitoquelatinas sin afectar los niveles del metabolito antioxidante glutatión. Se concluye que la tolerancia a Cu exhibida por *Polypogon australis* depende, en parte, de la producción de fitoquelatinas y de la habilidad de la planta para mantener niveles estables de glutatión, por ejemplo, mediante restricción del ingreso de cobre a la célula.
Trabajo financiado por DICYT, Universidad de Santiago de Chile, Proyecto 020543OC.

164. CONTENIDO DE COBRE EN PLANTAS QUE CRECEN SOBRE UN RELAVE DE LA REGIÓN DE ATACAMA. (Copper content in plants growing on a mine-tailing in the Atacama Region).

Ortiz, C., Alcaide, O. y **Li Kao, J.**
Departamento de Biología, Universidad de Santiago de Chile y Departamento de Química y Biología, Universidad de Atacama.

En 1988, el relave de Planta Matta se forestó con seis especies: *Acacia melanoxylon, Casoarina equisetifolia, Schinus polygamus, Cupressus macrocarpa, Prosopis chilensis y Acacia cyanophilla*. El año 2005, se encontró individuos de las tres primeras especies además de seis especies que no existían originalmente: *Baccharis salicifolia, Atriplex deserticola, Scirpus asper, Pennisetum clandestinum, Cynodon dactylon y Polypogon australis*. Se colectaron hojas y raíces y se analizó el contenido de cobre, el elemento más abundante en el sitio. Los resultados mostraron que la distribución del metal en hojas y raíces, expresada como la razón hoja:raíz (H:R), varía según la especie desde 0,2 (C. equisetifolia) a 9,4 *(B. salicifolia)*. Las plantas de *S. polygamus* y *A. deserticola* acumularon sobre 1 g kg^{-1} p. s. de Cu en hojas, mientras que C. equisetifolia, A. deserticola, A. melanoxylon y P. clandestinum, acumularon entre 1,6 a 6 veces más Cu en raíces que en hojas. La mayor concentración de Cu en raíz fue encontrada en *C. equisetifolia* (2,9 g kg^{-1} p. s.), mientras que los mayores contenidos de Cu en hojas se registraron en *S. polygamus* y *A. deserticola*. Entre las gramíneas, *S. asper, C. dactylon* y *P. australis*, presentaron las mayores (H:R). Por el contrario, *P. clandestinum* presentó una (H:R) bajo 1. Todas las especies presentaron características deseables para uso en fitorremediación de cobre, aunque solo *S. polygamus* y *A. deserticola* fueron consideradas como metalófitas para cobre.

165. NUEVOS REGISTROS Y COMENTARIOS FITOGEOGRÁFICOS PARA LA FLORA DE MUSGOS DE LA ISLA GRANDE DE CHILOÉ, CHILE (New records and phytogeographic notes for the moss flora of Chiloé Island, Chile).

Larraín, J.
Departamento de Botánica, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile.

Durante los años 2002 y 2006 fueron exploradas más de 70 localidades de la Isla Grande de Chiloé donde fueron colectadas todas las especies de musgos encontradas. Hasta el momento 42 taxa no reportados anteriormente, correspondientes a 16 géneros y cuatro familias, han sido identificadas a nivel de especie. Con estos nuevos registros la flora muscinal de la Isla llega a las 163 especies y 3 variedades contenidas en 81 géneros y 39 familias. Del análisis fitogeográfico de estos 166 taxa se desprende que 73 son endémicos del cono sur de Sudamérica e islas adyacentes, representando el 44,5 % del total de especies documentadas para la Isla. Del resto de las especies, 22 (13,25 %) son compartidas con Australia y/o Nueva Zelanda, número considerablemente mayor que las especies comunes con el resto del continente americano (10 especies). Esta mayor similitud se explica por procesos esteno-evolutivos y por la dispersión a larga distancia a través de esporas y/o propágulos vegetativos a través de las carreteras de viento del hemisferio sur descritas recientemente en la literatura.
Se agradece a Fundación Senda Darwin, Chiloé y a William R. Buck (NY).

166. ACTIVIDAD ANTICONGELANTE Y CRIOPROTECTORA EN EXTRACTOS APOPLÁSTICOS Y SIMPLÁSTICOS DE HOJAS DE *Nothofagus dombeyi*. (Antifreeze and cryoprotective activity in apoplastic and symplastic leaf extracts from *Nothofagus dombeyi*).

Gallardo, J., Bravo, L. A., Casanova, M. Corcuera, L. J.
Departamento de Botánica. Universidad de Concepción. Chile

Nothofagus dombeyi es una especie del bosque templado lluvioso del sur de Chile que crece frecuentemente en sitios con baja temperatura invernal y heladas en las otras estaciones. Durante el proceso de aclimatación al frío las plantas resistentes a la baja temperatura pueden acumular proteínas en el interior de las células y en el apoplasto de hojas y ramas. En este trabajo se pretende determinar si las de hojas de *N. dombeyi* acumulan proteínas anticongelantes y crioprotectoras en un curso anual.
Solo los extractos apoplásticos de invierno y primavera mostraron actividad anticongelante modificando la morfología de los cristales de hielo, observándose una histéresis térmica limitada (0,1°C). Esta actividad fue consistente con una banda de aproximadamente 86 kDa observada en geles de acrilamida. La máxima actividad crioprotectora se observó en los extractos simplásticos totales de invierno y primavera a una concentración de proteína total de 10 y 100 μg/ml respectivamente, la que fue consistente con la presencia de una banda de aproximadamente 47 kDa observada en geles de tris-tricina. Los resultados sugieren que uno de los mecanismos de resistencia al congelamiento de *N. dombeyii* está dado por la presencia de proteínas con actividad anticongelante o crioprotectora.
Agradecimientos: Beca CONICYT a JG; Fondecyt 1030663; MECESUP UCO 0214.

167. LOS LIQUENES DEL PARQUE KATALAPI, X REGIÓN, CHILE. (Lichens of Katalapi Park, X Region, Chile).

Pereira, I.
Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Casilla 747, Universidad de Talca, Talca, Chile. E-mail: ipereira@utalca.cl

En este trabajo se dan a conocer los primeros antecedentes acerca de la diversidad liquénica del Parque Katalapi, X Región, Chile. El parque está a 18 Km al sur-este de Puerto Montt. El clima es templado y fuertemente húmedo con tendencia oceánica, aunque en invierno ocurren heladas y con precipitaciones anuales de 2.200 mm. La vegetación superior está representada por elementos del bosque nativo del Alerce costero, como: *Myrceugenella apiculata, Myrceugenia planipes, Amomyrtus luma, A. meli, Drymis winteri, Nothofagus nitida, Weinmannia trichosperma* junto a más de 25 especies de helechos. El muestreo fue realizado del 19-22 de Julio del 2006. Se establecieron 4 circuitos, los cuales permitieron abarcar una gran diversidad de sustratos. Hasta el momento, se han detectado 30 especies. Cabe destacar la presencia de líquenes pertenecientes a géneros, cuyos ficobiontes corresponden a cianófitas tales como: *Collema, Degelia, Dictyonema, Nephroma, Peltigera, Pseudocyphellaria* y *Sticta*, cuya presencia, se correlaciona con la forma de vida perennifolia de los forófitos y con el alto grado de humedad. Otro de los grupos bien representados son las especies terrícolas y muscícolas que crecen en zonas de turbera de *Sphagnum* de los géneros *Cladonia* y *Stereocaulon* y algunas especies de líquenes con tolerancia a la inmersión en cursos de agua.
Financiamiento: Se agradece los aportes del Dr. Luis Corcuera.

168. SISTEMAS DE REGENERACIÓN EN VIDES APROPIADOS PARA TRANSFORMACIÓN GENÉTICA. (Regeneration systems suitable for genetic transformation in grapevines).

Cadavid-Labrada, A. y Arce-Johnson, P.
Universidad de Chile, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La vid es la especie frutal más cultivada en el mundo, y en el país lidera las exportaciones de la industria frutícola y es la base de la industria del vino. La implementación de sistemas de regeneración *in vitro* asociados a un Programa de Mejoramiento Genético, puede ser la herramienta que nos permita generar variedades propias de uva. En este trabajo se han implementado dos sistemas de regeneración en vides: organogénesis y embriogénesis somática, que han permitido realizar ensayos de transformación genética. Regeneración mediante organogénesis somática fue obtenida en dos variedades de uva de mesa: Thompson Seedless, Melissa y en dos variedades de vino: Carménère, Cabernet Sauvignon. Este sistema consistió en la inducción de gran cantidad de botes a partir de segmentos nodales tratados con Bencilaminopurina y sometidos a remoción del meristema apical. De este modo, se obtuvieron masas meristemáticas altamente proliferativas que fueron laminadas y utilizadas en transformación genética. Para la variedad Melissa se obtuvieron 8 líneas transgénicas para el gen *uid*A. Adicionalmente, se implementó embriogénesis somática a partir del cultivo de anteras y/o ovarios en las variedades Carménère, Chardonnay y en el portainjerto 110R. Ensayos de transformación genética en callos embriogénicos de Chardonnay y 110R están actualmente en evaluación. En este caso se utilizaron genes que confieren resistencia a virus y a estrés abiótico en el portainjerto 110 Richter, y se evaluó el gen pistillata involucrado en floración en la variedad Chardonnay.
Agradecimientos: FONDEF G02S1001, Consorcio Vino 05CTE01-03

169. ESTUDIO DEL CARIOTIPO EN *RHODOPHIALA* AFF. *ADVENA* (KER-GAWL.) TRAUB DE LA VIII REGIÓN DE CHILE. (Karyotype of *Rhodophiala* aff. *advena* (Ker-Gawl.) Traub of the VIII Region of Chile).

Escobar, I.*, Baeza, C.*, Schrader, O.**, Ruiz, E.* & Negritto, M.*
*Departamento de Botánica, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Chile. **Federal Centre for Breeding Research on Cultivated Plants, Institute of Horticultural Crops. Germany.

Rhodophiala aff. *advena* (Ker-Gawl.) Traub es una especie endémica de Chile, que se distribuye preferentemente en la zona central. Presenta umbelas de 2-6 flores, con tépalos rojos o amarillos, de 4-6 cm de longitud. Se realiza un estudio del cariotipo de *Rhodophiala* aff. *advena* (Ker-Gawl.) Traub en dos poblaciones colectadas en la VIII Región, mediante hibridación *in situ* fluorescente (FISH) con sondas de rDNA 5S y 18S/25S y tinción con DAPI. Se encuentra una dotación cromosómica $2n = 2x = 18$. Las poblaciones estudiadas no presentan diferencias significativas tanto en el índice de asimetría del cariotipo (AsI %) como en el índice de asimetría intracromosomal A_1. El complemento diploide de ambas poblaciones está constituido por 2 pares de cromosomas metacéntricos, 3 pares submetacéntricos y 4 pares subtelocéntricos. Las secuencias de genes de RNA ribosómico se localizan en 3 de los 9 pares de cromosomas. Los cromosomas 2 y 4 presentan un sitio de rDNA 5S en la porción terminal del brazo largo, mientras que el cromosoma 7 lleva un locus de rDNA 18S/25S en la porción subterminal del brazo, que corresponde a la región organizadora nucleolar (NOR).

170. VARIACIÓN ALTITUDINAL DE LA RESISTENCIA AL CONGELAMIENTO EN HERBÁCEAS ALTO-ANDINAS DE CHILE CENTRAL (Altitudinal variation of freezing resistance in Andean herbs of Central Chile).

Bravo, L.A.[1]; Sierra-Almeida, A.[1,2]; Castro-Arévalo, M.[1]; Corcuera, L.J.[1] y Cavieres, L.A.[1,2]
[1]Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción; [2]Instituto de Ecología y Biodiversidad (IEB)

Las condiciones microclimáticas de temperatura, humedad y radiación varían en un gradiente altitudinal. Por lo tanto, la capacidad de las plantas de adaptarse a estas variaciones microambientales es fundamental para su supervivencia y reproducción. Nuestro objetivo fue establecer las variaciones de la resistencia al congelamiento en 5 especies herbáceas con amplia distribución altitudinal en los Andes de Chile Central. Para ello, se determinó la temperatura de nucleación del hielo (T_n) y la temperatura a la cual se produce el 50% de daño (TL_{50}) en poblaciones de *Cerastium arvense, Colobanthus quitensis, Hordeum comosum, Phacelia secunda* y *Taraxacum officinale*, ubicadas a 2.700 y 3.500 msnm. *C. arvense, P. secunda* y *T. officinale* difieren en su T_n entre las dos altitudes estudiadas. De estas, solo *C. arvense* presentó menor T_n a mayor altitud. *C. arvense* y *P. secunda* presentaron en promedio TL_{50} entre -11 y -14°C, siendo la TL_{50} alrededor de 8°C menor en las poblaciones de mayor altitud. En todas las especies estudiadas y en ambas altitudes las TL_{50} fueron inferiores a las Tn, indicando tolerancia al congelamiento apoplástico. La mayor resistencia al congelamiento en poblaciones de mayores altitudes es consistente con las temperaturas mínimas promedios de cada sitio (6,2°C a 2700 msnm y -3,4°C a 3500 msnm) durante la estación de crecimiento. Fondecyt 1060910.

171. ANALISIS DE VARIABILIDAD NUCLEOTIDICA ENTRE AISLADOS CHILENOS DE VIRUS FLECK DE VIDES. (Analysis of nucleotide variability among Chilean isolates of Grapevine Fleck Virus).

González, A., Bruno, C. and Valenzuela P.D.T. Fundación Ciencia para la Vida e Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada.

Grapevine fleck virus (GFkV), es uno de los principales virus que afectan las vides en Chile. Sin embargo, a la fecha se dispone de una sola secuencia completa de GFkV correspondiente a un aislado italiano. En nuestro laboratorio hemos clonado y secuenciado parcialmente el genoma de cinco aislados chilenos de virus fleck de vides, encontrando regiones altamente conservadas como es el caso de la proteína de cubierta ubicada en la región 3' del genoma de GFkV con un 94% de identidad nucleotidica y regiones variables ubicadas en la región 5' del genoma con identidades entre un 80 a 93%. Además encontramos una región hipervariable que presenta una deleción y/o inserción de 50 pb en la región codificante de la replicasa viral, encontrando ambos tipos de variantes en los aislados chilenos. En este trabajo mostramos un análisis de variabilidad nucleotídica de los aislados chilenos y la única secuencia completa disponible de GFkV.

□

172. EXTRAIBLES DE LAS CUPRESSACEAS NATIVAS DE CHILE Y SU ROL EN LA RESISTENCIA A LA PUDRICION. (Heartwood Extractives of Chilean Native Cupressacea and their Role in Decay Resistance).

[1]**Donoso, C.A.**, [1]Becerra, J., [1]Bittner, M., [2]Elissetche, J.P., [2]Freer, J., [2]Mendoça, R., y [1]Silva, M.
[1]Laboratorio de Química de Productos Naturales, Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile. [2]Laboratorio de Recursos Renovables, Facultad de Ciencias Químicas, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción, Concepción, Chile. Casilla 160-C.Patrocinante Magalis Bittner.

En la naturaleza la madera se encuentra expuesta a la degradación por hongos, insectos y bacterias. Si bien no existe la madera ideal, resistente a todos los agentes bióticos y abióticos, las Cupressaceas destacan por presentar maderas de gran durabilidad. En Chile esta familia, está representada por tres géneros monotípicos, *Austrocedrus chilensis, Fitzroya cupressoides* y *Pilgerodendron uviferum*.
La durabilidad de la madera de las Cupressaceas nativas se debe fundamentalmente a los extraíbles, los cuales comprenden una gran variedad y número de compuestos bioactivos.
En el presente trabajo se informa sobre el estudio del rol de los extraíbles como responsables de la durabilidad natural de la madera. Se evaluó pérdida de masa y cambio en las propiedades dinámico-mecánicas de la madera con y sin extraíbles frente a la acción de hongos degradadores. Se encontró que la madera sin extraíbles presentaba mayor pérdida de masa y disminución en las propiedades dinámico-mecánicas, características opuestas a las encontradas en madera con extraíbles.
AGRADECIMIENTOS: Beca Doctoral CONICYT No. 24050129, FONDECYT N° 1040445 y Escuela de Graduados, Universidad de Concepción.

173. ¿CODIFICA EL GENOMA DEL VIRUS DE LA VID GLRaV-3 PARA UNA PROTEÍNA SUPRESORA DE SILENCIAMIENTO GÉNICO? (Does the GLRaV-3 genome encodes a silencing suppressor protein?)

Engel, E., Bruno, C., González, A. y Valenzuela, P.D.T. Fundación Ciencia para la Vida, Centro de Genómica y Bioinformática, Pontificia Universidad Católica de Chile e Instituto Milenio de Biología Fundamental y Aplicada.

El virus de hoja enrollada de la vid GLRaV-3, está presente en todo el mundo y causa considerables pérdidas económicas a los productores vitivinícolas. Pertenece a la familia *Closteroviridae* y al novel género *Ampelovirus*. Su genoma, monopartito de hebra simple y orientación positiva, consta de aproximadamente 17.900 bases. Contiene 13 marcos de lectura abiertos de los cuales la mitad son de función desconocida hasta ahora. A esto se agregan 2 porciones no codificantes de 1.300 bases cada una. El tamaño y la complejidad de su genoma resaltan entre los virus de ARN, no obstante se conoce muy poco acerca de su biología y función. Un importante mecanismo de defensa utilizado por las plantas contra infecciones virales es el silenciamiento génico, mecanismo que el virus debe interferir para lograr una infección sistémica.
En el presente trabajo se realizó un análisis bioinformático exhaustivo a proteínas virales de función desconocida. Se encontró que algunas de ellas, poseen dominios que podrían interactuar con ARN, adicionalmente se detectó correspondencia estructural con proteínas de otros virus que participan en el proceso de supresión del silenciamiento génico. Los mejores candidatos de este estudio serán analizados por ensayos *in vivo*.

BIOLOGÍA CELULAR

174. EXPRESIÓN DE MARCADORES DE TEJIDO NERVIOSO EN CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMÁTICAS HUMANAS. (Neural tissue markers expression in human mesenchymal stem cells).

Noches, V., Moreno A., Erices A.
Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Las células troncales mesenquimáticas (CTM) son definidas por su capacidad para diferenciarse hacia linajes mesenquimáticos. Sin embargo, algunos estudios sugieren un potencial de plasticidad para estas células que podrían incluir linajes celulares de tejido nervioso como neurona y glia. Para evaluar esta posibilidad hemos utilizado CTM obtenidas de sangre de cordón umbilical o médula ósea humana para analizar la expresión de marcadores tempranos de los linajes mesenquimáticos óseo (runx2, msx2, sox9) y muscular (mif5, myoD), y el linaje no mesenquimático neural (nestina, neuroD, hash1, neuN, ngn3, GFAP).
Las CTM fueron caracterizadas por estudios morfológicos, propiedades inmunofenotípicas y capacidad de diferenciación *in vitro* hacia los linajes osteogénico y adipogénico. Concordante con estas observaciones, tanto las CTM de sangre de cordón umbilical como médula ósea expresan los marcadores de linajes mesenquimáticos de los tejidos óseo y muscular. La evaluación preliminar de los marcadores de tejido nervioso a través de RT-PCR muestra que ambas poblaciones de CTM expresan nestina, neuroD y hash1, aunque en magnitudes diferentes. Resultados de inmunofluorescencia y western blot concuerdan con el resultado anterior, y en forma adicional permiten la detección del marcador NeuN solo en CTM de sangre de cordón umbilical.
Estas observaciones sugieren que las CTM expresan un potencial neural aunque no glial. Además, nuestros resultados sugieren que las CTM fetales presentan un perfil diferente de compromiso hacia los distintos linajes evaluados. Estudios adicionales son requeridos para evaluar la capacidad de estas células de expresar el respectivo fenotipo funcional.
Financiamiento FONDECYT 1030304

175. PAPEL DE SKIP EN LA SEÑALIZACIÓN DE TGF-β1 EN CÉLULAS TRANSFORMADAS. (Rol Of Skip in the TGF-β1 signaling in transformed cells).

Villar, V. y Santibáñez, J. F.
Laboratorio de Biología Celular, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile.

El factor de crecimiento transformante beta -1 (TGF-β1) ha sido descrito como potenciador de la malignidad celular de células transformadas, este factor transduce su señal principalmente a través de la proteínas Smad2,3 y de MAP quinasas, y la regulación de estas vías es primordial para la acción de este factor sobre las células tumorales. En este aspecto recientemente se ha descrito que la proteína Skip es capaz de potenciar la señalización de TGF-β1 vía Smad3, pero se desconoce su impacto en células tumorales. En el presente trabajo hemos estudiado: a) Mediante Western Blot y RT-PCR, la expresión de Skip en células transformadas de ratón (MCA-3D, PDV y CarC) y en la línea celular de cáncer de próstata PC3, y b) el efecto de la expresión ectópica de Skip sobre las vías de Smad3 y ERK1, en co-transfección con reporteros para cada ruta de señalización. Los resultados obtenidos nos indicaron que Skip se expresa en todas las líneas célulares estudiadas, se relaciona con el grado de malignidad en las células de ratón, y que TGF-β1 estimula su expresión en PDV. Por su parte, la sobreexpresión de esta proteína potencia la activación de las vías Smad3 y ERK1,2 por TGF-β1 en PDV y PC3. Estos datos nos sugieren un posible papel de Skip en la modulación de las rutas de transducción de señales de TGF-β1 en células transformadas.
Financiamiento: Fondecyt 1050476

176. LOCALIZACIÓN SUBCELULAR DEL RNA QUIMÉRICO MITOCONDRIAL HUMANO. (Sub cellular localization of the human mitochondrial chimeric RNA).

Zepeda, P[1]., Villegas, J[1,2]., Burzio, V[1,2]. y Burzio, L.O.[1,2]
BiosChile I.G.S.A.[1]., Instituto Milenio MIFAB[1], Fundación Ciencia para la Vida[1]. Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Universidad Andrés Bello[2], Santiago. Chile.

El RNA quimérico (RNAq) mitocondrial humano contiene al rRNA 16S mitocondrial más un fragmento extra de 815 nucleótidos covalentemente unido al extremo 5' de dicho transcrito. Este fragmento extra es complementario a una región interna del rRNA 16S, conformando, en consecuencia, un largo repetido invertido. Mediante hibridación *in situ* (HIS), se ha encontrado una fuerte expresión de este RNA en el citoplasma de la célula.
Con el propósito de determinar la localización subcelular del transcrito, se procedió, en primera instancia, a realizar fraccionamiento subcelular. Mediante RT-PCR de las fracciones obtenidas, fuera de determinarse su localización mitocondrial, se encontró este RNA en la fracción post mitocondrial y en la fracción nuclear. Con el objeto de determinar que la localización extramitocondrial de este RNA, no es el producto de contaminación entre las distintas fracciones, se recurrió a experimentos de colocalización, utilizando sondas fluorescentes, complementarias al RNAq y utilizando marcadores específicos de Golgi, mitocondrias y retículo endoplásmico. Los resultados mostraron que el RNA colocaliza con Golgi, núcleo, mitocondria y RER. Esta sorprendente distribución del RNAq, pareciera ser dependiente del ciclo celular, pues no todas las células muestran la misma distribución del transcrito.
(DI-26-04, DI-56-04, FONDEF DO4I1338, MIFAB P04-071-F)

177. DESARROLLO DE UN SISTEMA DE IDENTIFICACIÓN DE CÉLULAS TUMORALES BASADO EN LA DETECCIÓN DIFERENCIAL DE RNAS QUIMÉRICOS.

Martínez, R.[1] V. Burzio, J. Villegas, L. Burzio.
BiosChile I.G.S.A., Millenium Institute of Fundamental and Applied Biology, Fundación Ciencias para la Vida, Universidad Nacional Andrés Bello, Universidad de Chile.

Las células humanas normales en proliferación expresan un transcrito mitocondrial no codificante denominado RNA quimérico sentido tipo I (RNAq-1), el cual contiene un invertido repetido de 815 nts unido al extremo 5' de el RNAmt 16S sentido. En estas células además se pueden detectar transcritos antisentido, formados por invertidos repetidos de diferente longitud unidos al extremo 5' del RNAmt 16S antisentido. Sorprendentemente, las células tumorales expresan el RNAq-1 sentido, pero no los transcritos antisentido. Esta expresión diferencial de transcritos de RNAq sentido y antisentido puede convertirse en una poderosa herramienta de diagnóstico precoz de cáncer en muestras de tejido (biopsias) y muestras de sangre. El objetivo de este trabajo es desarrollar un sistema de identificación de células tumorales mediante FISH para diagnóstico precoz de algunos tipos de cáncer, especialmente dirigido a la detección de células metastásicas circulantes en sangre. Se desarrolló un protocolo de hibridación *in situ* para células en suspensión, el cual permite recuperar un 80% del número inicial de células. Se utilizaron dos métodos de marca de RNAs quiméricos, una sonda de DNA marcada directamente con un fluoróforo, y una sonda de DNA marcada con digoxigenina, detectada por medio de un anticuerpo antidigoxigenina conjugado a un fluoróforo (FitC). En ambas aproximaciones se pudo diferenciar células tumorales (HL60, 42/95, Devernelle) de células proliferantes normales y células no proliferantes presentes en sangre normal. La optimización de estos protocolos nos permitirá detectar células metastásicas en sangre de pacientes mediante citometría de flujo. (MIFAB P04-071F, FONDEF D04I1338, UNAB DI26-04 y DI56-04)

178. PAPEL DE QM EN LA SEÑALIZACIÓN DE TGF-β1 EN CÉLULAS TRANSFORMADAS. (Role of QM in the TGF-β1 signaling in transformed cells).

Aulestia, F. y Santibáñez, J. F.
Laboratorio de Biología Celular, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile.

En células tumorales se ha descrito que el factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF-β1) es un estimulador de progresión tumoral. Este factor transduce su señal principalmente a través de la activación de Smad2,3 y ERK1,2 MAP quinasas, rutas que aparecen como blanco para la regulación de los efectos de TGF-β1 en tumores. En este aspecto nos ha interesado estudiar el papel de la proteína QM, un posible supresor de tumores, en la señalización de TGF-β1 en células transformadas. Utilizando líneas celulares provenientes del modelo de carcinogénesis de piel de ratón, los análisis de la expresión de QM nos han mostrado que su expresión es elevada en la líneas celulares tumorogénicas (PDV y CarC) en comparación con la células inmortalizadas MCA-3D. A su vez, el tratamiento de las células PDV con TGF-β1 produjo un aumento de la expresión de QM. Al estudiar los efectos de la sobre-expresión de QM en PDV sobre las vías de señalización de Smad2,3 y ERK1,2, se observó un aumento de la actividad de ambas rutas de transducción en respuesta a TGF-β1 en relación con las células control. Estos datos nos sugieren a QM como un posible modulador de las acciones de TGF-β1, vía la regulación de las rutas de señalización de Smads y ERKs, en células transformadas.
Financiamiento: FONDECYT 1050476.

179. BRADICININA Y Lis-Des-[Arg^9]-BRADICININA INDUCEN LA EXPRESIÓN DE MOLÉCULAS DE ADHESIÓN CELULAR ICAM-1 y ELAM-1 EN CÉLULAS ENDOTELIALES HUMANAS *IN VITRO* (Bradykinin and Lys-des-[Arg^9]-bradykinin up-regulate the expression of cellular adhesion molecules ICAM-1 and ELAM-1 in human endothelial cells).

Aguilar, M., Ehrenfeld, P., Matus C.E., Pavicic, F., Figueroa, C.D.
Instituto de Histología y Patología, Universidad Austral de Chile

Las moléculas de adhesión celular, ICAM-1 y ELAM-1 cumplen un rol fundamental en el rodamiento y adhesión de leucocitos al endotelio activado por mediadores inflamatorios como TNFa, IL-1β o IFNγ. Dada su actividad proinflamatoria, es lógico suponer que las cininas también podrían regular la expresión de estas moléculas en el endotelio.
Se estimularon cultivos confluentes de células endoteliales EA.hy926 con agonistas del receptor B_2 (bradicinina, BK) y B_1 (Lis-des-[Arg^9]-bradicinina, LDBK). BK produjo un aumento en la expresión de ICAM-1, dependiente de la concentración del péptido, siendo máxima con BK 100 nM. El agonista B_1 LDBK también sobreexpresó ICAM-1, pero la respuesta fue diferente ya que el máximo se produjo al estimular las células con LDBK 1 nM, disminuyendo levemente cuando se usó LDBK 100 nM. Tanto BK como LDBK 100 nM incrementaron la expresión de ELAM-1 con una expresión máxima entre 3 y 6 h postestimulación con BK y manteniéndose al menos por 24 h. ICAM-1 y ELAM-1 presentaron una distribución variable en la célula, inmunolocalizándose tanto en la membrana celular como en el citoplasma.
Nuestros resultados demuestran que las cininas, vía receptores B_1 y B_2, regulan la expresión de moléculas de adhesión celular ICAM-1 y ELAM-1 en células endoteliales humanas en cultivo.
Financiado por FONDECYT 1030258

180. EXPRESIÓN DE PROLACTINA Y SU RECEPTOR EN TEJIDOS LINFOIDES DEL SALMÓN DEL ATLÁNTICO (*Salmo salar*): POSIBLE ROL EN RESPUESTA INMUNE. Expression of prolactin and prolactin receptor from Atlantic salmon. (*Salmo salar*): Possible function in immune response).

Paredes, M, Romero A, Kausel G y Figueroa J.
Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Existen datos que sugieren que prolactina (PRL) y su receptor (RPRL) estarían implicados en modulación del sistema inmune en peces. En trucha (*Salmo trutta*), PRL está relacionada con la activación de células asesinas naturales (*natural killer cell*), producción de anticuerpos, actividad sero-hemolítica e incremento del título plasmático de inmunoglubulina M. Adicionalmente, la expresión del receptor de prolactina en leucocitos circulantes de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) y tilapia (*Oreocromis niloticus*) sugiere un papel inmunorregulador de prolactina en teleósteos.
Con el objetivo de establecer un posible rol inmunomodulador de PRL y RPRL en salmón, se evaluó la expresión del RPRL y PRL en diferentes tejidos linfoides del pez. Para ello se comparó peces sanos con peces desafiados a patógenos bacterianos (*Piscirickettsia salmonis* y *Vibrio ordalii*). Resultados obtenidos por medio de RT-PCR en Tiempo Real, Inmunohistoquímica y Western Blot indican expresión de RPRL y PRL en células intersticiales de riñón anterior, leucocitos periféricos, bazo y tejido linfoide asociado a intestino y branquia. Se detectó además, por medio de RT-PCR en Tiempo Real y Western Blot, expresión diferencial del RPRL entre peces sometidos a desafío contra patógenos bacterianos y peces no desafiados. Estos resultados sugieren una posible participación de PRL y su receptor en funciones inmunomoduladoras en salmón del Atlántico.
Proyecto FONDECYT 1040073; DID-DOCTORADO 2005-07

181. PARTICIPACIÓN DE LA VÍA PI-3K EN LA INCORPORACIÓN DE GLUCOSA MEDIADA POR TRANSPORTADORES DE GLUCOSA EN CÉLULAS HEK293 ESTIMULADAS CON IL-3. (Participation of PI-3K pathway in glucose uptake via glucose transporters in IL-3 stimulated HEK293 cells).

Murgas, P.[1], Castro[1], Zambrano[2], M. A., Angulo[1], C., Concha[1], I. I.
[1]Instituto de Bioquímica, [2]Instituto de Microbiología, Universidad Austral de Chile.

IL-3 participa en procesos como proliferación, diferenciación y supervivencia de la mayoría de las células hematopoyéticas. Se ha descrito que estas actividades se sustentarían por un aumento de la captación de glucosa, por lo que los transportadores facilitativos de glucosa (GLUTs) tendrían una importante participación. En nuestro laboratorio hemos demostrado la presencia del receptor de IL-3 y los transportadores GLUT1 y GLUT3 en las células HEK293. Además, hemos observado que en respuesta a esta citoquina, estas células son capaces de aumentar el transporte de ^{3}H-o-metilglucosa (OMG). Esto último podría ser explicado por una posible translocación de estos transportadores hacia la membrana plasmática. Para identificar qué ruta intracelular está involucrada en esta movilización, se usaron inhibidores que bloquean las vías PI-3K, MAPKs y JAK/STAT. Se observó que al utilizar Ly294002, inhibidor de la vía PI-3K, se produjo una notoria disminución en la incorporación de OMG en comparación con el resto de los inhibidores. A través de ensayos de inmunofluorescencia y Western blot se determinó que esta ruta se encuentra activa en presencia de IL-3 y que estaría involucrada en la movilización de estos transportadores. (FONDECYT 1060135, DID-UACh 200460)

FISIOLOGÍA-BIOMEDICINA E INMUNOLOGÍA

182. CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA E INMUNOHISTOQUÍMICA DE LA PLACENTA DE TÉRMINO, EN RECIEN NACIDOS PEQUEÑOS PARA LA EDAD GESTACIONAL (PEG). (Morphometric and immunohistochemical characterization of the full-term placenta in newboin children small for their gestational age).

Prieto Gómez, R., Rojas Rauco, M.
Facultad Medicina, Universidad de la Frontera.

Existen factores de riesgo que alteran el patrón de crecimiento en el caso del Retardo del Crecimiento Intrauterino, cuyo resultado será un recién nacido (RN) pequeño para la edad gestacional (PEG). Objetivos: Reconocer diferencias en: A) Parámetros morfométricos de placentas de PEG y de recién nacidos normales. B) Inmunolocalización del lactógeno placentario e IGF-I en vellosidades coriales libres. Relacionar diagnóstico neonatal de PEG con características morfométricas e inmunohistoquímicas placentarias.
Se utilizaron 12 placentas de recién nacidos adecuados a la edad gestacional (AEG) y 13 de PEG. Se tomaron dos segmentos pericordonales por placenta y se fijaron en formalina tamponada al 10%. Las técnicas histológicas (H-. E azul de Alcián, Tricrómico de Masson, Pas-Hematoxilina, Diastasa-Pas y Rojo sirius), e inmunohistoquímicas, Lactógeno placentario y Factor de crecimiento similar a la insulina-I. Para morfométría se utilizó Image Tool.
El área de las vellosidades mostró diferencias significativas entre ambos grupos, (p =00194. El área de los vasos de PEG resultó significativamente mayor (234.05 μm2), que el grupo control (150.99 μm2), p= 0.0001. El número de vasos sanguíneos por vellosidad libre y el área del sinciciotrofoblasto no mostraron diferencias significativas (p= 0.1410). Con inmunotinción del lactógeno placentario se observó un aumento de gránulos en el sinciciotrofoblasto en placentas PEG. La inmunotinsión del receptor de IGF-I en PEG es menor que en el grupo control.
Keywords: placenta, bajo peso, restricción del crecimiento, morfometria placenta, vellosidad corial libre, lactógeno placentario, IGF-I

183. EFECTO DE LA HEMOCIANINA DE *C. concholepas* (CCH) EN LA MADURACIÓN DE CÉLULAS DENDRÍTICAS. (Effect of *C. concholepas* hemocyanin (CCH) on the maturation of murine dendritic cells).

Del Campo, M., Moltedo, B., De Ioannes, A. E., Becker, M. I. (Patrocinadora)
Departamento de Investigación y Desarrollo, BIOSONDA, S.A., Santiago, CHILE.

Las hemocianinas son glicoproteínas transportadoras de oxígeno, presentes en moluscos y artrópodos. Son conocidas por su extrema inmunogenicidad, debido a su carácter xenogénico y gran tamaño, siendo utilizadas como inmunoestimulantes en el tratamiento de algunos cánceres. KLH, la hemocianina de la lapa californiana *M. crenulata*, es la más utilizada hasta el presente. Hemos demostrado que CCH, aun cuando posee un origen y estructura cuaternaria diferente, posee cualidades inmunomoduladoras equivalentes a las de KLH, en modelos murinos de tumor de vejiga. Ambas hemocianinas incrementan la actividad de células Natural killer (NK), e inducen una respuesta de tipo Th1.
En este trabajo se estudia el efecto de la CCH sobre la maduración de las células dendríticas (DCs), por ser estas presentadoras de antígeno por excelencia y moduladoras de la respuesta inmune.
Hemos analizado la incorporación de CCH por DCs mieloides de ratón, *in vivo* e *in vitro*, a diferentes tiempos y concentraciones, conjugada con fluorocromos o revelándola con anticuerpos específicos. Los resultados obtenidos por citometría de flujo en DCs cultivadas *in vitro*, mostraron que CCH es incorporada antes de 1 hr. Mediante microscopía electrónica y confocal, se observó internalización de CCH en vesículas que presentaron moléculas intactas hasta las 72 hrs. *In vivo*, se identificó una población DCs (CD11c+) con CCH hasta las 72 hrs de observación.
La proyección de este estudio, apunta hacia la comprensión de los mecanismos de inmunomodulación de las hemocianinas para desarrollar nuevas estrategias de terapias antitumorales.
FONDECYT 105-0150, Fundación COPEC-PUC SC0014

184.METILACIÓN DEL PROMOTOR DE BRCA1 Y ATM EN TUMORES DE CÁNCER DE MAMA HEREDITARIO. (Promoter methylation status of BRCA1 and ATM in hereditary breast cancer tumours).

[1]**Tapia, T.**, [1]Smalley S., [2]Solís L. [1]Faúndez P., [2]Corvalán A., [1]Carvallo P.
[1]Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas. [2]Departamento de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

La modificación epigenética es un mecanismo de inactivación funcional de genes supresores de tumor. Nuestro objetivo es analizar el estado de metilación de los promotores de los genes BRCA1 y ATM, dos genes supresores de tumores que participan en cáncer de mama. Para esto, se extrajo DNA de 26 tumores de pacientes con cáncer de mama hereditario, y se trató con bisulfito de sodio. La región promotora de los genes BRCA1 y ATM fueron amplificadas por PCR, con partidores diseñados específicamente para la condición metilada (M) y para la condición no metilada (UM) del DNA. Los productos de PCR fueron secuenciados con el fin de confirmar el estado de metilación. Un 27% (7/26) de los tumores presentaron metilación en el promotor del gen BRCA1, uno de los cuales tiene una mutación germinal en el gen BRCA2. Tres de estos tumores son negativos para los receptores de estrógeno y progesterona, frecuentemente descrito para tumores que presentan mutación en el gen BRCA1. Además un 46% de los tumores se encuentran metilados en el promotor de ATM, tres además metilados para BRCA1. La metilación de la región promotora de BRCA1 y ATM nos da cuenta de la participación de ambos genes en el desarrollo del cáncer de mama. Fondecyt 1040779.

185. VARIANTES ALÉLICAS EN EL GEN ATM EVIDENCIAN ASOCIACIÓN CON CÁNCER DE MAMA HEREDITARIO EN LA POBLACIÓN CHILENA. (Allelic variants of the ATM gene give evidence for association with breast cancer in the Chilean population.)

Sánchez, A.[1], Tapia T.[1], Álvarez C.[1],Barriga F.M., Smalley S.[1], Vallejos M.[1], Alvarez M.[2], Carvallo P.[1]
[1]Depto. Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, [2]Centro de Cáncer, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago.

Se ha descrito una asociación de ciertas mutaciones en el gen ATM con el cáncer de mama hereditario. En un estudio previo determinamos que los genes BRCA1 y BRCA2 se encuentran mutados en un 20% de familias chilenas con cáncer de mama hereditario. Con el fin de determinar la participación del gen ATM en este tipo de cáncer se realizó una búsqueda de mutaciones en este gen, en 42 pacientes de nuestro estudio y que no presentan mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2. Se determinó la asociación de las variantes alélicas encontradas usando como control 200 individuos tomados de la población chilena. Como resultado se detectaron 17 variantes alélicas, 10 de las cuales se encontraron en regiones intrónicas y 7 en regiones codificantes. La variante c.5557G>A (p.D1853N), encontrada en el 30,95% de la población con cáncer se presentó con mayor frecuencia en los casos que en los controles OR= 3,67 (95% CI; 1,61- 4,13, P=0,004). Otra variante IVS24-9delT se encontró en una frecuencia alélica de 0,17 en individuos con cáncer y 0,07 en población control asociándose también con un aumento del riesgo OR= 2,58 (95% CI; 1,29-3,30 P=0,04). Estos análisis entregan evidencia de que estas variantes en el gen ATM podrían ser un factor de riesgo para el desarrollo del cáncer de mama en la población chilena. Fondecyt 1040779.

186. CÁNCER COLORRECTAL HEREDITARIO NO POLIPOSO, BÚSQUEDA DE MUTACIONES EN LOS GENES MLH1 Y MSH2 EN 21 FAMILIAS CHILENAS. (Hereditary nonpolyposis colorectal cancer, mutational screening of MLH1 and MSH2 genes in 21 Chilean families).

[1]**Hevia M.**, [1]Alvarez K., [1]Hurtado C., [1]Wielandt A.M., [2]Bellolio F., [2]León F., [2]López-Köstner F., [1]Carvallo P.
[1]Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas. [2]Departamento de Cirugía Digestiva, Facultad de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

El cáncer colorrectal hereditario no poliposo (HNPCC) se origina debido a mutaciones en los genes MLH1 y MSH2 principalmente. El gen MLH1 (cromosoma 2p22-23) está constituido por 19 exones y el gen MSH2 (cromosoma 3p21-23) está constituido por 16 exones. Estos genes codifican para enzimas que reparan el DNA. La ausencia de actividad de estas proteínas puede verificarse analizando secuencias repetidas en el DNA, secuencias microsatélites que son más sensibles a la carencia de actividad reparadora. A este efecto se le llama inestabilidad microsatelital. Se estudiaron 35 pacientes de 21 familias HNPCC. Se analizó el DNA tumoral en las biopsias de los pacientes índice de cada familia y se encontró que 19 de estos presentaban inestabilidad microsatelital. El análisis de mutaciones se realizó por las técnicas de conformómeros de hebra simple y secuenciación de DNA. En 6 familias se detectaron mutaciones en el gen MLH1 y en dos familias mutaciones en el gen MSH2, del total de mutaciones cuatro no han sido descritas previamente. A familias a las cuales no se les detectó una mutación se les analizará la probable presencia de deleciones mayores en estos mismos genes o bien mutaciones en el gen MSH6. FONDECYT #1040827

187. DETECCION DE MUTACIONES EN EL GEN APC EN 25 FAMILIAS CHILENAS CON POLIPOSIS ADENOMATOSA FAMILIAR. (Mutation detection on the APC gene in 25 Chilean families with familial adenomatous polyposis).

[1]**De la Fuente, M.** [1]Álvarez, K. [1]Letelier, A. [1]Acuña, M. [2]Bellolio, F. [2]León, F. [2]López-Köstner, F. [1]Carvallo. P.
[1]Dpto. Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas. [2]Dpto. Cirugía Digestiva. Facultad de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

La poliposis adenomatosa familiar (PAF) es una de las variantes de cáncer colorrectal hereditario más importante. Se caracteriza por la presencia de cientos de pólipos localizados en el colon y recto, cada uno con inevitable progresión a cáncer. La PAF es causada por mutaciones en la línea germinal del gen supresor de tumores, APC. Individuos con mutación en este gen pueden desarrollar otras manifestaciones extracolónicas como los tumores desmoides. Con el fin de identificar mutaciones en la línea germinal del gen APC se analizó la región codificante de este combinando las técnicas de conformómeros de hebra simple, el ensayo de la proteína trunca y la secuenciación de DNA. En 22 de las 25 familias analizadas se detectaron 18 mutaciones diferentes (88%). Diecisiete mutaciones provocan el término prematuro de la proteína y solo una alteraría el splicing del intrón 10, IVS10-1G>A. La gran mayoría de las mutaciones, 14, fueron localizadas en el exon 15, entre los codones 829 y 1570. De todas las mutaciones encontradas nueve no han sido descritas previamente. Destacamos además que 8 de las 25 familias PAF estudiadas mostraron al menos un paciente con desarrollo de tumor desmoide. La identificación mutaciones en el gen APC y su asociación con el fenotipo clínico constituyen una valiosa información para el manejo futuro de casos clínicos similares. FONDECYT #1040827

188. EXPRESIÓN EXTRAHEPÁTICA DE AMILOIDE SÉRICO A (A-SAA) Y PRESENCIA DE AGREGADOS AMILOIDES EN LESIONES MUSCULARES DE TRUCHA ARCOIRIS. (Extrahepatic expression of serum amyloid A (A-SAA) and presence of amyloid aggregates in muscle lesions in rainbow trout).

Villarroel, F., Amthauer R., Concha M.I. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

A-SAA, una de las principales proteínas reactantes de fase aguda descritas en mamíferos aumenta hasta 1.000 veces sus niveles plasmáticos en respuesta a un daño tisular. Sin embargo, la mantención de niveles crónicamente elevados de A-SAA puede conducir al desarrollo de una amiloidosis secundaria del tipo AA. Aunque el hígado constituye el principal sitio de síntesis de A-SAA, se han descrito otros tejidos y células que la expresan.
Mediante RT-PCR e inmunohistoquímica se evaluó la expresión de A-SAA en truchas sanas, enfermas y desafiadas experimentalmente con LPS, detectándose por primera vez la presencia del transcrito y la proteína en piel, intestino y tejido hematopoyético. Utilizando tinción con tioflavina T se detectó la presencia de agregados amiloides en truchas enfermas, y por inmunodetección se observó colocalización de estos agregados con la proteína A-SAA en el músculo esquelético de lesiones cutáneas, lo cual sugiere que estos agregados serían del tipo AA.
En resumen, la expresión de A-SAA en las principales barreras primarias de la trucha sugiere que esta proteína podría jugar un importante rol defensivo a nivel local, pero que su expresión crónica generaría agregados de amiloide AA en el músculo esquelético de estos peces.
Financiamiento: FONDECYT 1050637

189. TLR3 EN EL DESARROLLO DE TIROIDITIS AUTOINMUNE EXPERIMENTAL. (Toll-like receptor 3 (TLR3) involved in experimental autoimmune thyroiditis).

Barría, M., Cerda J., Méndez C., Martínez C. Ojeda R. y Esquivel P.
Instituto de Inmunología, Universidad Austral de Chile.

La tiroiditis autoinmune experimental (TAE) es un modelo experimental de tiroiditis de Hashimoto, una enfermedad autoinmune órgano-específica mediada por células T, caracterizada por una infiltración linfocitaria en la glándula tiroidea y la presencia de autoanticuerpos anti-tiroglobulina. Durante el desarrollo y progresión de la enfermedad, esta depende de expresión de genes de citoquinas, moléculas de adhesión y moléculas de histocompatibilidad, los cuales están regulados por NF-kB entre otros.
Por otra parte, recientemente se ha sugerido que el receptor de tipo "toll" (TLR3), se encuentra sobreexpresado en células tiroides de pacientes con tiroiditis de Hashimoto, también se ha demostrado que TLR3 se encuentra en FRTL-5 (línea celular tiroidea de rata), y bajo estimulación gatillan la activación de NF-kB y subsiguiente transcripción de genes de citoquinas pro-inflamatorias.
En el presente trabajo evaluamos la expresión de TLR-3 mediante inmunohistoquímica, en las tiroides de los ratones que cursan tiroiditis autoinmune, simultáneamente determinamos la activación de NF-kB mediante southwestern.
Nuestros resultados muestran que las células foliculares tiroideas no expresan el receptor TLR3, sin embargo después de la inmunización comienza a observar un aumento progresivo de la expresión de TLR3, en correlación con al activación de NF-kB, Por lo tanto, podríamos concluir que TLR3 está involucrado en desarrollo y progresión de la TAE.
Financiado por Proyecto S-2006-08 DID-UACH.

190. EFECTOS BIOLÓGICOS DE NITROSO ARIL DIHIDROPIRIDINAS. (Biological effects of nitroso aril dihydropyridine derivatives).

[1]**Almárcegui, R.** [1]Montoya,M. [3]Núñez,L, [2]Squella,L. [1]Puente,J. [1]Miranda, D.
[(1)]Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, [(2)]Departamento de Química Orgánica y Fisicoquímica, [(3)]Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Derivados nitroso aril DHP pueden generar especies reactivas de Oxígeno (ROS). Por ello se investigaron distintos efectos biológicos para evaluar el potencial citotóxico de estos compuestos sobre células tumorales. Se abordó el estudio de la viabilidad celular mediante ensayo MTS de células tumorales y de células normales. Se evaluó la generación de ROS intracelulares mediante citometría de flujo usando como marcador diclorofluorescina diacetato (DCFH-DA). También se evaluó el efecto sobre la expresión de COX-2 mediante inmunowesternblot. Finalmente se evaluó el efecto sobre la inmunidad innata cuantificando la actividad citotóxica de las células NK.
Nuestros resultados indicaron que estos compuestos aumentan los niveles de ROS en células K562, pero no en PBMC. Además, mostraron un mayor efecto citotóxico sobre las células tumorales. Los IC50 fueron de 4-19 uM en células tumorales y 43-63 uM en PBMC. También se observó una inhibición de la expresión de COX-2. Finalmente, no se detectó ningún efecto sobre la actividad de las células NK. Estos resultados sugieren que los nitrosocompuestos presentan citotoxicidad sobre células tumorales la que podría estar mediada por generación de ROS. La inhibición de la expresión de COX-2 potenciaría esta actividad antitumoral.

191. PARTICIPACIÓN DE CÉLULAS NATURAL KILLER (NK) EN EL EFECTO INMUNOESTIMULANTE DE HEMOCIANINAS. (Involvements of natural killer cells (NK) in dhemocyanin's immunostimulating effect).

Lagos, L., Puente, J., De Ioannes, A. E., Becker M. I (Patrocinante).
Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile y Departamento de Investigación y Desarrollo, BIOSONDA S.A.

Las hemocianinas de moluscos son glicoproteínas conocidas por su gran inmunogenicidad, debida a su naturaleza xenogénica y gran tamaño. La hemocianina más utilizada como proteína transportadora para producir anticuerpos contra haptenos y como inmunoestimulante en la terapia de tumores, se conoce como KLH, proveniente de *Megathura crenulata*. Hemos estudiado que CCH, la hemocianina del gastrópodo chileno *Concholepas concholepas*, tiene similares propiedades inmunomoduladoras, sugiriendo que el sistema inmune de mamíferos reconoce un patrón-hemocianina. En ratones sensibilizados con hemocianina hemos observado aumento en la actividad NK y un perfil de citoquinas del tipo Th 1.
En este trabajo, se estudia el efecto de hemocianinas sobre células NK de ratones *naive*, evaluando sus cambios fenotípicos y funcionales tanto *in vitro* como *in vivo*, con hemocianina marcada con fluorocromos. Mediante microscopía y citometría de flujo, se caracterizó un cultivo *in vitro* de células NK esplénicas, que al séptimo día presentan fenotipo NK (CDNK1.1+ CD49b+ CD11c-) y secreción de IFNg. Con CCH no muestran variación en la expresión de tales marcadores, pero sí predominio de una población madura, respecto al control, que contiene CCH en su interior. Experimentos *in vivo*, al igual que *in vitro*, muestran que existe una subpoblación de células NK que incorporan CCH. Actualmente evaluamos el significado funcional y su relevancia en el efecto antitumoral de hemocianinas.
FONDECYT: 105-0150 y Fundación COPEC-PUC SC0014

NEUROCIENCIA

192. EFECTO DEL MEDIO CONDICIONADO DE CÉLULAS INFECTADAS CON HTLV-I SOBRE LAS NEURITAS GENERADAS EN NEURONAS ESPINALES INMORTALIZADAS DE RATÓN. (Effect of the conditioning medium of HTLV-I infected cells on neurites generated in immortalized spinal neurons of mouse).

Cruz[1], C., Ramírez[2], E., Vera[3], J.C., Caviedes[4], P., Valenzuela[1], M.A.
[1]Depto. Bioquímica y Biología Molecular, Fac. Cs Químicas y Farmacéuticas, U. de Chile; [2]Instituto de Salud Pública; [3]Depto. de Fisiopatología, U. de Concepción; [4]ICBM, Fac. Medicina, U. Chile.

HTLV-I es un retrovirus que se asocia a una enfermedad neurodegenerativa de los axones motores del haz corticoespinal conocida como Paraparesia Espástica Tropical o mielopatía asociada al HTLV-1 (TSP/HAM). Existe un modelo celular de médula espinal de ratón, M4b, que posee características neuronales y carece de marcadores gliales. En el presente trabajo se muestra que ellas expresan Tau, neurofilamentos y GLUT-1, este último reportado como receptor para HTLV-I. En el estudio se analizó el efecto del tratamiento de M4b con ácido retinoico o NGF para producir elongamiento de neuritas, usando o no, matrigel como soporte. Los resultados mostraron que matrigel no es necesario y que NGF posee mayores efectos. También se analizó el estímulo con medio condicionado proveniente de células MT-2 (linfocitos infectados por HTLV-I), encontrándose que la longitud de las neuritas en estas condiciones es menor a las anteriores. Como este efecto podría deberse a la presencia de proteínas virales en el medio condicionado, genera una nueva hipótesis patogénica para la pérdida de axones motores de TSP/HAM.
Financiamiento: Fondecyt 105-0784; MECESUP UCH 0115

193. EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN CRÓNICA DE FÁRMACOS ESTIMULANTES DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL EN EL APRENDIZAJE VISUO-ESPACIAL DE LA RATA (Effect of chronic administration of central nervous system stimulatory drugs on visuo-spatial learning in the rat).

Burgos, H. [1], Castillo A. [2], Pobrete C. [2], Casaux L. [2] Moraga C. [2], Goldman K.[2], Escobar J.[2], Roldán C.[2], Fernández V.[3], Hernández A.[4].
[1]Escuela de Psicología Universidad de las Américas, [2]Escuela de Psicología, Universidad Santo Tomás; [3]Facultad de Odontología, Universidad Diego Portales; [4]Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile;

Los fármacos estimulantes del sistema nervioso central, como los antidepresivos y excitadores del ánimo, son efectivos para el tratamiento de trastornos del ánimo, depresión, trastorno bipolar, entre otros síndromes. Existe escasa evidencia de los efectos a largo plazo de estos fármacos en el aprendizaje, a pesar que la activación de la neurotransmisión monoaminérgica puede influir en el desempeño cognitivo. Se estudió el efecto de la administración crónica de fluoxetina, amitriptilina, desipramina y metilfenidato (fármacos de alta prescripción médica) en la memoria visuo-espacial de ratas en el laberinto radial octogonal de Olton. Los resultados mostraron que la administración crónica por 18 días de fluoxetina (10 mg/kg), amitriptilina (2 mg/kg) desipramina (10mg/kg) y metilfenidato (10 mg/kg) causó disminución significativa del rendimiento en el laberinto (número de errores y tiempo de recorrido). Estos resultados indican que la activación farmacológica crónica de los sistemas monoaminérgicos centrales ejerce un efecto negativo en el aprendizaje visuo-espacial.
Proyecto INV-03-04-03 UST y Psicología-UDLA 2005-2008.

194. FORMAS FOSFORILADAS DE TAU EN LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO. (Phospho forms of tau in cerebrospinal fluid).

Ortiz-Riaño, E, Kettlun, AM, García L, Valenzuela, M.A. Depto Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Las características neuropatológicas de la Paraparesia Espástica Tropical asociada al HTLV-I (HAM/TSP, "HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis"), que incluyen desmielinización y degeneración axonal de los haces córtico-espinales, son muy similares a la Paraplegia Espástica Hereditaria (HSP). En HSP se ha encontrado mutaciones en proteínas relacionadas con el transporte axonal, dando cuenta de la degeneración axonal. En HAM/TSP el virus no ingresa a las neuronas por lo que se propone que el daño se produciría por la acción de proteínas virales como Tax, secretadas desde los linfocitos T CD+4, que externamente podrían alterar a proteínas del citoesqueleto axonal de estos axones vulnerables por su largo.
Se determinó en líquido cefalorraquídeo de pacientes y controles la presencia de fosforilaciones en distintos residuos de tau, descritos hiperfosforilados en enfermedades neurológicas. Mediante "western blot" se determinó si la banda de tau también mostraba reactividad frente a anticuerpos anti-fosfoSer y anti-fosfoTre, e igualmente frente a anticuerpos específicos para 9 residuos fosforilados de tau.
De las tres bandas del "western blot" reconocidas por anticuerpos anti-tau, la de menor masa molecular (52 kDa) reacciona con los anticuerpos específicos para los 9 residuos fosforilados. La reactividad observada con anticuerpos contra residuos de Ser y Tre sugiere la existencia de sobreposición de otras proteínas igualmente fosforiladas con la banda de tau.
Proyecto Fondecyt 105-0784.

195. BLOQUEO FARMACOLÓGICO DE DIFERENTES SITIOS DE MODULACIÓN DEL RECEPTOR NMDA A NIVEL ESPINAL EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE MONOARTRITIS. EVALUACIÓN ELECTROFISIOLÓGICA. (Pharmacological blockade of different modulatory sites of spinal NMDA receptors in an experimental model of monoarthritis. Electrophysiological evaluation).

Vergara, A.,[1] Davanzo, S.,[2] Hernández, A.,[1] Constandil, L.,[1] Pelissier, T.[2]
[1]Depto. Biología, Fac. Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile; [2]ICBM, Fac. Medicina, Universidad de Chile.

El receptor NMDA puede ser funcionalmente modulado por ligandos que actúan en diversos sitios del receptor. Se investigó la acción de fármacos que actúan en distintos sitios de modulación del receptor NMDA en ratas con monoartritis experimental (adyuvante de Freund completo): (±)CPP (bloqueador competitivo del sitio de glutamato), ketamina (bloqueador no competitivo del canal), DCD (bloqueador del sitio de poliaminas), DCQ (antagonista del sitio de glicina), administrados por vía intratecal. La nocicepción fue evaluada mediante el reflejo nociceptivo C y el *wind-up* espinal. Los resultados mostraron que los fármacos indujeron un efecto antinociceptivo dosis-dependiente de magnitud variable: (±)CPP > DCD > ketamina > DCQ = 0 (de acuerdo a $DE_{12.5}$). Se concluye que la utilización de moduladores de los distintos sitios del receptor NMDA frente a dolor artrítico ejerce efectos antinociceptivos moderados, los cuales podrían eventualmente incrementarse mediante combinaciones de dosis subanalgésicas.
Proyecto FONDECYT 1040873

196. EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE c-FOS EN EL NÚCLEO CAUDAL TRIGEMINAL EN RESPUESTA A DISTINTOS ESTÍMULOS NOCICEPTIVOS EN LA PRIMERA RAMA DEL NERVIO TRIGÉMINO. (Differential expression of c-Fos in caudal trigeminal nucleus in response to different nociceptive stimuli in the first branch of trigeminal nerve).

Barra, R., Hödar, M., Arriagada, O., Laurido, C., Constandil, L.
Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología, Depto. de Biología.

El dolor producido durante una migraña se genera por la inflamación neurogénica vascular en la meninges. Esta inflamación activa las neuronas de segundo orden ubicadas en el núcleo caudal del trigémino (NCT), a través de la primera rama del nervio trigémino (1er NT). Estudiamos dos tipos de estímulos nociceptivos sobre 1er NT. En el primero se estimuló la meninges con aceite de mostaza o sopa inflamatoria y en el segundo, una estimulación ocular (sobre la córnea y la esclera), con aceite de mostaza. Nuestros resultados mostraron que todos los estímulos incrementaron la expresión de c-Fos en neuronas de la región ventral del NCT (zona de aferencias del 1er NT). La mayor respuesta se observó durante la estimulación ocular de animales anestesiados. Adicionalmente, la distribución rostro-caudal de las neuronas que expresan c-Fos mostró que solo la estimulación de la meninges con sopa inflamatoria produce activación diferencial de las neuronas del NCT, siendo mayor en la región caudal. En conclusión, la estimulación ocular podría ser utilizada como un modelo de dolor trigeminal tipo migraña. Sin embargo, se requieren estudios conductuales y electrofisiológicos adicionales.
Financiado por Fondecyt 1050099

197. EFECTO DE LA DESNUTRICION PRENATAL EN LA INTERACCION RECÍPROCA COERULEO-PARAVENTRICULAR. ESTUDIO CARDIOVASCULAR EN LA RATA. (Effect of prenatal undernutrition on the coerulear-paraventricular reciprocal interaction. Cardiovascular study in the rat).

Pérez, H.,[1] Ruiz, S.,[2] Núñez, H.,[1] Navarrete, M.[1]
[1]INTA, Universidad de Chile; [2]Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Diego Portales.

Resultados previos señalan que como consecuencia de la programación fetal, el loop excitatorio entre el núcleo paraventricular hipotalámico (NPH) y *locus coeruleus* (LC) estaría hiperactivo en ratas desnutridas prenatalmente, y que este loop podría ser responsable en parte de la hipertensión y taquicardia desarrollada por estos animales. Se investigó en ratas de 40 días de edad, tanto controles como malnutridas, la presión arterial sistólica, diastólica y la frecuencia cardiaca antes y después de la microinyección de ligandos noradrenérgicos α_1 en NPH, y de ligandos CRHérgicos en LC. Los resultados muestran que, a diferencia de los controles, en los animales malnutridos: (i) CRH intra LC no indujo aumento de presión sistólica y frecuencia cardiaca; (ii) CRH intra LC posterior a prazosin produjo disminución de presión y frecuencia cardiaca; (iii) fenilefrina intra NPH no indujo cambios en los parámetros estudiados; (iv) el antagonista de CRH, α-helical CRF, microinyectado en LC generó disminución significativa tanto de la presión sistólica como de la frecuencia cardíaca. Se concluye que los animales controles son sensibles a los agonistas microinyectados, produciendo aumentos de presión y frecuencia cardiaca, mientras que los animales malnutridos son sensibles a los antagonistas, los que generan disminución de la presión arterial y frecuencia cardiaca.
FONDECYT 1030626.

198. IDENTIFICACIÓN Y AISLAMIENTO DE PROTEÍNAS DE NEUROFILAMENTO DE LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO DE PACIENTES CON PARAPARESIA ESPÁSTICA TROPICAL. (Identification and isolation of neurofilament proteins from cerebrospinal fluid of patients with Tropical Spastic Paraparesis).

Alberti, C., García, L., Kettlun, A.M., Valenzuela, M.A.
Depto Bioquímica y Biología Molecular, Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

El agente etiológico de la Paraparesia Espástica Tropical corresponde al retroviurus HLTV-I que infecta preferentemente a linfocitos T CD4+. La enfermedad es lentamente progresiva y crónica, causando degeneración y desmielinización de los axones de neuronas motoras centrales a nivel dorso-lumbar. Los NFs son proteínas neurona-específicas, encontrándose: el pesado (NF-H), el mediano (NF-M) y el liviano (NF-L), formando heterotrímeros responsables de la integridad y calibre axonal. Alteraciones en su dinámica de ensamblaje debido cambios en estado fosforilación, podría relacionarse con la degeneración axonal. Con el objeto de asociar este rasgo degenerativo con la patogenia de la enfermedad, se procedió por una parte, a identificar estos NFs en líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes y controles, y por otra, a aislarlos del LCR mediante inmunoprecipitación. Los NF-L y NF-M se detectaron por "immunowestern-blot" con anticuerpos específicos, siendo además reconocidos por anticuerpos anti-fosfoSer y anti-fosfoTre. En el caso del NF-M se requirió concentrar el LCR con acetona. Para el aislamiento del NF-M y NF-H se inmunoprecipitó utilizando agarosa conjugada con proteínas A/G. En cambio, para el NF-L, por la interferencia de los anticuerpos primarios, el procedimiento se llevó a cabo a través sefarosa-BrCN unida covalentemente a los anticuerpos.
Proyecto FONDECYT N° 105-0784

199. RESPUESTAS NEURALES SINCRÓNICAS EN LA REGIÓN ENTOPALIAL DEL SISTEMA TECTOFUGAL DE PALOMAS (*COLUMBA LIVIA*). (Synchronic entopalial neuronal responses in the tectofugal system of pigeon).

Ahumada, P. Nelson Cortes, Jorge Mpodozis.

El sistema Tectofugal, es el aparato sensorial visual de mayor desarrollo en aves. Entre sus características, se destaca que el mapa topográfico generado en la retina a partir de 2.4 millones de células ganglionares es no conservado en las etapas centrales de esta vía junto con un aumento en el tamaño de los campos receptivos (70° para entopalio). Estas características, establecen en principio una pérdida de resolución espacial y han planteado la inquietud del *cómo* realizan las aves cada uno de los complejos actos perceptuales.
Aplicando el modelo de sincronía neuronal al problema aludido, se propone una transformación desde un arreglo retinotópico fino a un código sincrónico-dinámico a través de la vía retino-tectofugal.
A través de registros extracelulares multiunitarios de palomas anestesiadas se ha establecido que, frente a un estímulo visual, existen dos tipos de patrones temporales específicos distintos en neuronas de la región central-anterior del entopalio: En un caso, se tiene una respuesta compleja, con dos regiones de máxima actividad. Un segundo tipo de respuesta, muestra una única zona de máxima activación. Por otro lado, en la mayoría de los casos, el patrón de descarga espontánea (trenes de espigas) difiere de aquel observado durante el periodo de estimulación (descarga tónica).
Se han encontrado respuestas sincrónicas (0.3-0.15 seg. de duración) entre unidades aisladas espacialmente por 200 μm o más y se ha determinado que la ocurrencia de estos eventos se asocia, en un porcentaje importante de casos a la región máxima activación en ambas unidades (dentro de la zona de sobreposición de campos receptivos) y/o a lugares espaciales específicos.
Agradecimientos: FONDECYT 1030522; MECESUP 409.

200. CONTRIBUCIÓN DEL Ca^{2+} RESIDUAL EN LA TRANSMISIÓN SINÁPTICA ASINCRÓNICA EN NEURONAS DE CA1 DEL HIPOCAMPO DEL MUTANTE *taiep*. (Contribution of residual calcium on asynchronic transmission in hippocampal CA1 neurons of taiep mutant).

Molina C., Fuenzalida M., Olivares V., Roncagliolo M. y Bonansco C.
Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, CHILE.

En la rata *taiep*, un mutante neurológico con astrogliosis reactiva a la desmielinización central, la corriente postsináptica excitatoria evocada por un estímulo (EPSC inicial) es seguida por un número variable de respuestas asincrónicas, las cuales también dependen de la entrada de calcio extracelular. Sin embargo, se desconoce la relación entre los mecanismos de regulación del calcio presináptico y la génesis de estas corrientes postsinápticas asincrónicas (EPSCasyn) en este mutante. La contribución del calcio residual en la liberación asincrónica de neurotransmisor fue evaluada mediante farmacología convencional en rebanadas de hipocampo, registrando los EPSCs evocados por estimulación eléctrica de las colaterales de Schaffer en piramidales de CA1 (fijación de voltaje, "whole cell"). En *taiep*, el aumento de la concentración extracelular de calcio produjo un significativo incremento en el índice de asincronía (número de EPSCasyn por barrido). La asincronía disminuyó significativamente tanto en presencia de $CoCl_2$ como después de 20 min de incubación con BAPTA-AM. En esta misma línea, la aplicación de pulsos pareados indujo un aumento de asincronía, que decae en función del intervalo entre pulsos (30-120ms). La perfusión con cafeína (10mM) produjo un aumento en la amplitud de los EPSCs iniciales acompañado de una disminución del número de EPSCasyn. Estas evidencias demuestran que la actividad asincrónica observada en *taiep* depende de la maquinaria de liberación del neurotransmisor, presumiblemente por una alteración en la regulación del calcio residual en los terminales presinápticos. Fondecyt CONICYT 1061074 and DIPUV 08/2005.

201. ¿SON LAS PROTEINAS 14-3,3 Y PRION BUENOS MARCADORES MOLECULARES PARA LA ENFERMEDAD DE CREUTZFELDT-JAKOB?. (Are 14-3,3 and prion proteins good molecular markers for Creutzfeldt-Jakob disease?).

Pando, M.E. Collados, L., García L., Valenzuela, M.A., Kettlun, A.M.
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile

La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD) es una enfermedad neurológica rápidamente progresiva y fatal que se produce por un cambio conformacional de la proteína prion aumentando su % de sàbana-β y resistencia a proteasas. La sintomatología clínica es semejante a la de otras demencias y el diagnóstico solo puede comprobarse con una autopsia o con una biopsia de cerebro, este muestra destrucción neuronal y espongiosis.
El objetivo de este trabajo es buscar marcadores moleculares que permitan hacer un diagnóstico pre-mortem de CJD. Como la enfermedad se produce por alteraciones en la proteína prion se pensó cuantificarla. Debido a que se produce además destrucción neuronal se cuantificó la proteína 14-3,3, proteína intracelular muy abundante en el cerebro. Se midieron ambas en el líquido cefalorraquídeo (LCR), fluido que se considera como el mejor reflejo de lo que ocurre en el Sistema Nervioso Central (SNC). Se usó anticuerpos monoespecíficos, demostrado por Western Blot, la cuantificación de las proteínas se hizo por immunodot blot. Se usó como controles LCR de pacientes de otras enfermedades neurológicas y se comparó con CJD esporádicos y CJD familiares. La significancia estadística se calculó por el Test de Student para variables independientes. No se encontró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.
Financiado por Proyecto DI MULT 04/03-2

FISIOLOGÍA

202. INMUNOLOCALIZACIÓN Y EFECTOS DE LA HISTAMINA EN EL CUERPO CAROTIDEO DE GATO. (Immunolocalization and effects of histamine in the cat carotid body).

[1,2]**Del Río, R.**, [1]Moya, E., [2]Koenig, C., [2]Pérez, M., [3]Fujiwara, K., [4]J. Alcayaga., [1]Iturriaga, R.
[1]Laboratorio Neurobiología, [2]Laboratorio Histología, Pontificia Universidad Católica de Chile, [3]Sojo University, Japón y [4]Laboratorio Fisiología Celular, Facultad Ciencias, Universidad de Chile.

Se ha propuesto que la histamina sería un neurotransmisor excitatorio en el cuerpo carotídeo. La hipoxia produce aumento de la liberación de histamina en cuerpos carotídeos de ratas y la histidildescarboxilasa colocaliza con tirosina hidroxilasa, que es un marcador de células quimiorreceptoras. Sin embargo, no hay evidencias que estas células expresen histamina o que la aplicación de histamina exógena produzca excitación quimiosensorial. En cuerpos carotídeos de gatos anestesiados con pentobarbitona (40 mg kg^{-1}, ip) estudiamos la inmunolocalización y los efectos de la aplicación de histamina (0,1-2.000 mg) sobre la descarga quimiosensorial en preparaciones de cuerpos carotídeos perfundidas o superfundidas *in vitro*. Encontramos una reacción positiva para la histamina en los gránulos de secreción de algunas células quimiorreceptoras. La histamina aplicada a cuerpos carotídeos perfundidos o superfundidos produjo una potente excitación quimiosensorial dosis-dependiente, siendo más sensible el efecto excitatorio en la preparación perfundida. Nuestros resultados indican que las células quimiorreceptores expresan histamina, que produce excitación quimiosensorial. Dado que la histamina no excita a las neuronas petrosas que inervan el cuerpo carotídeo, esta podría actuar directamente sobre las células quimiorreceptoras, así como también sobre el músculo liso vascular o el endotelio.
Financiamiento: FONDECYT 1030330.

203. EFECTO DE UTP SOBRE LA EXPRESION Y VELOCIDAD DE HIDRATACION DE MUCINAS RESPIRATORIAS *IN VITRO*. (Effect of UTP upon expression and hydration velocity of respiratory mucins *in vitro*).

Espinosa, M.*, Ríos, M.**, González, C.** , Monasterio, O.* y Villalón M.**
Universidad de Chile*, Pontificia Universidad Católica de Chile**.

El mucus es una secreción formada por agua, iones, mucinas y otras pequeñas moléculas. Las mucinas son glicoproteínas almacenadas en gránulos secretorios, que durante su exocitosis se hidratan y conforman el mucus, una matriz macromolecular con propiedades reológicas específicas. MUC5AC y MUC5B son las principales mucinas del mucus respiratorio humano. En este estudio se determinó el efecto del UTP, inductor de la síntesis y secreción de MUC5AC y MUC5B, sobre la expresión e hidratación de ambas mucinas, en cultivos primarios. Mediante RT-PCR se determinó la expresión de MUC5AC y MUC5B y mediante videomicroscopía y análisis de imágenes se determinó el coeficiente de difusión (D) y con este la velocidad de hidratación del contenido de gránulos secretorios de mucinas durante su exocitosis. El tratamiento con UTP 0,1 mM por 2hrs, disminuyó el ARNm de MUC5AC y aumentó el de MUC5B. Además, se observó un aumento significativo ($p<0,05$) en las velocidades de hidratación de la matriz granular a las 17hrs ($D=6,41x10^{-8}[cm^2/s]$) y 24hrs ($D=3,67x10^{-7}[cm^2/s]$) post tratamiento, respecto del control ($D=2,57x10^{-8}[cm^2/s]$). Estos resultados sugieren que UTP podría modular la expresión de ambas MUCs y producir cambios en las velocidades de hidratación, afectando las propiedades reológicas del mucus. FONDECYT 1040804, CONICYT Beca M.E.

204. EL CANAL EPITELIAL DE SODIO (ENaC) ESTÁ INVOLUCRADO EN LA RESPUESTA INOTRÓPICA ADRENÉRGICA EN TEJIDO CARDIACO DE RATA. (The epithelial sodium channel (ENaC) is involved in the inotropic adrenergic response of rat cardiac tissue).

González, A. L. Michea[2].
[1]Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile. [2]Universidad de los Andes, Chile.

El tejido cardiaco de rata expresa el Canal Epitelial de Sodio, ENaC. Se estudió la función de ENaC en tejido cardiaco de rata adulta, y el potencial papel que jugaría en la respuesta inotrópica adrenérgica. Analizamos el efecto del bloqueo farmacológico de ENaC sobre la función ventricular en la preparación de corazón aislado Langendorff. Tras 20 minutos de aplicación, benzamil (bloqueador específico de ENaC, 1μM) disminuyó significativamente la presión sistólica máxima ($LVSP_{max}$ 16.64±2.48%, $P<0.05$) y la contractilidad del ventrículo izquierdo ($dP/dT_{máx}$ 12.79±-3.70%, $P<0.05$). La aplicación de vehículo no causó cambios en estas variables (3.22±2.71% y 3.60±2.12%, respectivamente). Además, evaluamos la respuesta inotrópica promovida por el agonista β_1-adrenérgico isoproterenol en estudios dosis-respuesta (10^{-10}-10^{-6} M). Isoproterenol aumenta tanto la $LVSP_{max}$ como dP/dt_{max}, incrementos disminuidos significativamente por benzamil (n=7, $P<0.05$) y su análogo amilorida (0.3 μM; n=6, $P<0.05$). Finalmente, analizamos el efecto de isoproterenol sobre la $[Na^+]_i$ en cardiomiocitos aislados de ventrículo izquierdo de rata adulta, cargados con la sonda fluorescente sensible a Na^+, SBFI. Isoproterenol aumentó $[Na^+]_i$ de 10.94±1.28 mM a 26.98±5.28 mM, incremento bloqueado por benzamil (6.66±1.54 mM, $P<0.05$ vs control). Los resultados demuestran la actividad de ENaC en tejido cardiaco, el cual participaría en la contractilidad basal y en la respuesta contráctil por estímulo β_1-adrenérgico. FONDECYT 1050690.

205. EL CANAL EPITELIAL DE SODIO (ENaC) MEDIA EL INFLUJO DE SODIO EN CARDIOMIOCITOS AISLADOS DE RATA. (The epithelial sodium channel (ENaC) mediates the sodium influx in isolated rat cardiac myocytes).

Venegas, F. y Michea, L. Laboratorio de Fisiología Integrativa y Molecular, Universidad de los Andes, Santiago, Chile.

La $[Na^+]_i$ modula la contractilidad y viabilidad del cardiomiocito, y depende del balance en el influjo y eflujo de sodio. Estudiamos la potencial expresión y actividad de ENaC en tejido cardiaco de rata adulta. Mediante RT-PCR se detectaron mRNAs para las subunidades α, β y γ ENaC en ventrículo izquierdo. Estudios de *Western Blot*, utilizando anticuerpos anti α, β y γ ENaC, demostraron la presencia de bandas inmunoreactivas específicas en homogenado de proteínas totales ventriculares de 96, 102 y 92 kDa, respectivamente. Experimentos de inmunoprecipitación evidenciaron asociación física de las subunidades de ENaC. Estudios funcionales fueron realizados en cardiomiocitos ventriculares aislados cargados con la sonda fluorescente sensible a Na^+, SBFI 15μM. Los cardiomiocitos se trataron con el bloqueador específico de ENaC, Benzamilo (10^{-6} M) y la $[Na^+]_i$ fue determinada por calibración *in situ*. Benzamilo (10 min) disminuyó significativamente la $[Na^+]_i$ (9.6±0.1 mM a 6.2±1.4 mM; $P<0.05$, n=12). $[Na^+]_i$ no varió en células tratadas con vehículo. Inhibición de Na^+-K^+ ATPasa con ouabaina 1mM (10 min) aumentó la $[Na^+]_i$ a 43±4 mM en células control; $[Na^+]_i$ aumentó solamente hasta 23±3 mM en cardiomiocitos tratados con Benzamilo (n=12; $P<0.05$). Nuestros resultados demuestran por primera vez la presencia y funcionalidad de ENaC en tejido cardíaco. FONDECYT 1050690.

206. DO ENDOTHELIAL CELLS OF THE BOVINE ADRENAL MEDULLA EXHIBIT BRADYKININ AND HISTAMINE RECEPTORS.

[1]Vinet, R., [1]González, J., [1]Hidalgo, V., [2]Luxoro, M., [3,4]**Delpiano, M.A.** and [1]Cortés, M.
[1]Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile, [2]Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile. [3]Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile. [4]Max-Planck-Institute for Molecular Physiology, Dortmund, Germany.

Bradykinin and histamine induce in endothelial cells from bovine adrenal medulla (BAMECs) a rise in cytosolic Ca^{2+} concentration ($[Ca^{2+}]_i$). The receptors involved in this response were characterized. It was found that bradykinin (3 μM) produces a transient monophasic increase in $[Ca^{2+}]_i$, which was prevented by caffeine (100 μM) but not affected by thapsigargin (1 μM) or withdrawal of extracellular Ca^{2+}. The bradykinin response was specifically blocked by B1650 (0.1 μM), a β_2-bradykinin receptor antagonist. Histamine (100 μM) induces, similar to bradykinin, a transient monophasic increase in $[Ca^{2+}]_i$ that was abolished when cells were pretreated with thapsigargin (1 μM). This component was not affected by withdrawal of extracellular calcium and it was insensitive to caffeine (100 mM). The histamine response was inhibited by the H_1-antagonist, triprolidine (0,1 μM). These results indicate that the $[Ca^{2+}]_i$ increase in BAMECs induced by both agents, bradykinin and histamine, occurs through two different pathways. While bradykinin activates a caffeine-sensitive intracellular Ca^{2+} store, histamine activates a thapsigargin-sensitive one. Finally, it is suggested that the increase in $[Ca^{2+}]_i$ induced by both agents may be of physiological relevance, modulating the production and release of vasoactive substances from BAMECs.

207. EL COBRE MODIFICA LA EXCITABILIDAD DE NEURONAS DEL GANGLIO NODOSO DE CONEJO (Copper modifies rabbit nodose ganglion neurons excitability).

Ortiz, F., Vergara, C., Alcayaga, J.
Laboratorio de Fisiología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

En los mamíferos el ión cuproso (Cu^{2+}) presenta bajas concentraciones extracelulares que modifican la excitabilidad de algunas neuronas del sistema nervioso central, pero sus efectos periféricos son poco conocidos. Por este motivo estudiamos las modificaciones de la excitabilidad inducidas por Cu^{2+} en neuronas del ganglio nodoso (GN), donde se diferencian al menos cuatro poblaciones neuronales.
Se extrajeron 11 GNs de 7 conejos machos White New Zealand, anestesiados con ketamina/xilazina (75/7,5 mg/Kg), y se colocaron en solución Hanks tamponada con HEPES 5mM (pH 7,43, 22°C). Se registró intracelularmente con micropipetas de vidrio llenas con KCl 3M (25-50 MΩ), midiéndose el potencial de membrana en reposo (Vm) y la resistencia de entrada (R_{in}) en diferentes concentraciones de $CuCl_2$ extracelular ($[CuCl_2]_e$).
Las 39 neuronas registradas respondieron en forma concentración-dependiente frente a aumentos del $[CuCl_2]_e$. 29 de ellas se despolarizaron, reduciéndose R_{in} en 21 de ellas sin modificarse en el resto. Las 10 restantes se hiperpolarizaron, aumentando R_{in} en 8 de estas y disminuyendo en 2. Ditiotreitol (5 mM) aplicado al medio no modificó los efectos de $[CuCl_2]_e$ (n=7).
Los resultados indican que Cu^{2+} modifica Vm de las neuronas del GN, efecto asociado a cambios de R_{in} en la mayor parte de ellas, sugiriendo una relación entre los efectos descritos y las poblaciones neuronales del GN.
Financiamiento: FONDECYT 1040681.

208. PAPEL DEL CANAL DE SODIO EPITELIAL (ENAC) DEL ENDOTELIO EN LA VASOCONTRICCION DE ARTERIAS DE RESISTENCIA DE RATAS. (Role of the epithelial sodium channel ENaC present in endothelium in vasoconstriction of resistance arteries).

Pérez, F[1]; Michea, L[1].
[1]Laboratorio de Fisiología Integrativa y Molecular, Universidad de los Andes. FONDECYT 1050690.

El canal de sodio epitelial (ENaC) es un canal multimérico, formado por tres subunidades (α, β, γ). Recientemente se ha descrito la expresión de ENaC células del músculo liso de arterias cerebrales y renales. Sin embargo, también se ha demostrado mRNA en células endoteliales. El objetivo del presente estudio fue analizar la función de ENaC arterial sobre la respuesta vasoconstrictora de arterias de resistencia. Mediante RT-PCR, se detectó la presencia de mRNA de las subunidades ENaC en arterias mesentéricas de la rata y en células endoteliales en cultivo primario. El papel de ENaC en la vasoconstricción se analizó con curvas dosis respuesta a fenilefrina (10^{-8} – 10^{-4}) y serotonina (10^{-9} – 10^{-4}), en arterias presurizadas y perfundidas. La presencia de inhibidores farmacológicos ENaC (Benzamilo 1μM; amilorida 0,5-1 μM) inhibió dramáticamente la respuesta contráctil a ambas sustancias (25.3% ± 6.1 y 75.1% ± 3.2 de inhibición respectivamente, n= 5,6; $P<0.01$). La remoción mecánica del endotelio o el tratamiento con el inhibidor farmacológico de la óxido nítrico sintetasa (LNNA 100 μM), bloquearon completamente el efecto de los inhibidores ENaC. Estos resultados indican por primera vez que ENaC endotelial modula la respuesta contráctil en arterias de resistencia a través de la inhibición de la producción de NO endotelial.

209. CONTRIBUCIÓN DE LA ENDOTELINA-1 A LA POTENCIACIÓN QUIMIOSENSORIAL CAROTÍDEA INDUCIDA POR LA HIPOXIA CRÓNICA INTERMITENTE. (Contribution of endothelin-1 to carotid chemosensory potentiation induced by chronic intermittent hypoxia).

Iturriaga, R., Rey, S.
Laboratorio Neurobiología, Facultad Ciencias Biológicas. P. Universidad Católica de Chile.

La hipoxia crónica intermitente (HCI) produce potenciación de la respuesta quimiosensorial del cuerpo carotídeo a la hipoxia aguda. Un posible mediador de la potenciación quimiosensorial es la endotelina-1, actuando sobre receptores ET_A y ET_B. En cuerpos carotideos de gatos sometidos a HCI por cuatro días, estudiamos la expresión de endotelina-1 (immunohistoquímica) y de los receptores ET_A y ET_B (inmumohistoquímica y Western blot) y del bloqueo farmacológico con bosentan 50 μM de las respuestas quimiosensoriales potenciadas por la hipoxia aguda *in vitro*. Además, medimos los niveles plasmáticos de endotelina-1. Encontramos que la HCI produce un aumento de ~10 veces de la expresión de endotelina-1 en el cuerpo carotídeo, sin modificar los niveles plasmáticos y aumenta al doble la expresión del receptor ET_B, sin afectar al receptor ET_A. El bloqueo de los receptores ET_A y ET_B con bosentan redujo las descargas basales y las respuestas quimiosensoriales a la hipoxia aguda en los cuerpos carotídeos de gatos expuestos a HCI, pero no en los controles. Nuestros resultados sugieren que endotelina-1 contribuye a la potenciación quimiosensorial inducida por la HCI. Dado que el receptor ET_B produce óxido nítrico que inhibe la quimiorrecepción hipóxica, su aumento podría ser un mecanismo compensatorio que frenaría el aumento de la reactividad del cuerpo carotídeo.
Financiamiento: FONDECYT 1030330.

210. REGULACION POSITIVA DE Pit-1 EN LA CALCIFICACION ARTERIAL EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE INSUFICIENCIA RENAL CRONICA. (Upregulation of Pit-1 in arterial calcification in experimental chronic renal failure).

Pino, K.[1, 2], Michea, L.[1], Bravo, I.[1], Marusic, ET.[1], González, M.[1].
[1]Laboratorio de Fisiología Integrativa y Molecular, Universidad los Andes, [2] Universidad Católica de Valparaíso.

La alteración del metabolismo fosfo-cálcico en la insuficiencia renal crónica (IRC) está asociada con arterioesclerosis. La calcificación arterial requiere captación de fosfato, vía cotransportador sodio-fosfato (NaPi). No se conoce si en la arterioesclerosis de la uremia ocurren alteraciones en NaPi y/o receptor de mineralocorticoides (MR) y es objetivo del presente trabajo. La actividad y expresión NaPi fue estudiada en 3 grupos de ratas: control (SHAM), nefrectomía 5/6 (NPX) y NPX tratadas con espironolactona-antagonista MR- (NPXspi). Los valores de fosfatemia fueron: SHAM 6,9±0,2; NPX 13,7±0,6; NPXspi 13,7±1,7mg/dL (P<0,05); Aldosterona SHAM 28±3,5 NPX:180±5, NPXspi:206,2±124,3ng/dL (P<0,05). La actividad NaPi en anillos aórticos fue evaluada mediante captación de ^{32}P sensible a arsenato. La nefrectomía aumentó la actividad NaPi (SHAM 196,1±7,6; NPX 436,6±128,1cpm/mg tejido/10min, P<0,05). Espironolactona previno efecto nefrectomía sobre actividad NaPi (NPXspi 172,9±37,6cpm/mg tejido/10min). Se cuantificó, en aorta, la abundancia del mRNA de las dos isoformas de NaPiIII (Pit-1 y Pit-2) por PCR en tiempo real, observándose un aumento significativo del mRNA de Pit-1 en ratas NPX. El mRNA de la isoforma Pit-2 no se modificó con la nefrectomía. Espironolactona suprimió el aumento en la expresión génica de Pit-1 en aorta de ratas nefrectomizadas. Los resultados indican que NaPiIII participa en el proceso de calcificación, mediado por aldosterona.
(FONDECYT 1040338 y FAI UANDES MED 002/06)

211. RECUPERACIÓN DE LA DEUDA DE SUEÑO DE MOVIMIENTOS OCULARES RÁPIDOS (MOR)ANTE LA PRIVACIÓN TOTAL O SELECTIVA EN LA RATA (Recovery of REM sleep debt after total or selective sleep deprivation)

Peña, S., **Ocampo-Garcés, A.** Programa de Fisiología y Biofísica, ICBM, Facultad de Medicina Universidad de Chile. (Patrocinio: Ennio Vivaldi)

Los intervalos sin sueño de MOR que se prolongan mucho más que la duración espontánea del ciclo de sueño (privación de sueño) favorecen la consolidación de los episodios de sueño MOR y su frecuencia en el período posterior al intervalo sin MOR (rebote de sueño MOR). Interesa evaluar cómo evoluciona la deuda de sueño MOR en el rebote, en función de la cantidad de vigilia y de sueño No-MOR habida durante la privación de sueño. Ratas mantenidas en un régimen estable de luz y oscuridad, fueron registradas en su ciclo sueño-vigilia y sometidas a dos protocolos de 2 horas: privación total de sueño o privación selectiva de sueño MOR en días no consecutivos. Se evaluó el curso temporal de la recuperación de la deuda de sueño MOR post-privación. La recuperación de la deuda posterior a la privación total de sueño fue más lenta que después de la privación selectiva. En ambos protocolos se recuperó el 90% de la deuda de sueño MOR. El curso temporal de la recuperación de la deuda depende del método de privación. La cantidad absoluta de sueño MOR recuperado en el rebote es independiente de la vigilia o del sueño No-MOR acumulados en la privación.
FONDECYT 1061089

212. LISIS CELULAR POR STICHOLISINA II EN ERITROCITOS JOVENES Y VIEJOS. (Cell lysis by Sticholysin II in young and old erythrocytes).

[a]**Barrientos, D.**, [b]Celedón, G., [a]González, G., [c]Lissi, E. . [d]Lanio, M, [d]Alvarez, C. and [d]Martínez, D [a]Instituto de Química, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, [b]Departamento de Fisiología, Universidad de Valparaíso, [c]Departamento de Química, Universidad de Santiago de Chile. [d]Facultad de Biología, Universidad de La Habana.

Sticholisina II (StII) es una citolisina de la anemona de mar *Stichodactyla heliantus*. La velocidad del proceso lítico depende del estado de oxidación de la membrana, siendo más rápida en los eritrocitos preoxidados. Esta diferencia se debe en parte a alteraciones de la salida de potasio, proceso que retarda la lisis celular. El envejecimiento celular implica oxidación, por ello que en este estudio se caracteriza la respuesta lítica a StII de eritrocitos jóvenes (J) y viejos (V) y se evalúa el rol del eflujo de potasio en su velocidad. Respecto a la población total (PT), la concentración de potasio fue 11% mayor en los eritrocitos J y 25% menor en los eritrocitos V. El t_{50} de lisis de cada población respecto a la PT, fue de 1,9 y 0,56 para J y V respectivamente (n=8). Si se reemplaza parcialmente el sodio extracelular por potasio, la lisis en todas las poblaciones es más rápida y, los eritrocitos J presentan un t_{50} similar al de la PT. Estos resultados indican la importancia del eflujo de potasio como mecanismo involucrado en la respuesta más lenta a StII que presentan los eritrocitos jóvenes con respecto a los viejos.
FONDECYT 1030033

213. ROL DEL ASPARTATO DEL FILTRO DE SELECTIVIDAD EN LA CONDUCTANCIA DE LOS CANALES BK_{Ca}.

González, W. Marco A. Vidal, Germán Saavedra, Fernando D. González-Nilo

La región del poro de los canales de potasio (K^+) de alta conductancia, activados por calcio (BK_{Ca}), presenta gran similitud con el resto de los canales selectivos a K^+. Todos ellos presentan un motivo estructural muy conservado (GYGD), conocido como el filtro de selectividad. Este motivo le confiere a los canales de potasio una selectividad mucho mayor al K+ que al Na+. Sin embargo, los canales BK_{Ca} conducen aproximadamente 20 veces más potasio que el resto de los canales. En el canal KcsA, la mutación del residuo D80, presente en la secuencia GYGD, produce canales no funcionales (Guidoni y col., 1999). Sin embargo, la misma mutación en los canales BK_{Ca} (D292N) solamente reduce la conductancia de canal único alrededor de un 40 %. (Haug y col., 2004). Al parecer el residuo D292 en los canales de alta conductancia presenta un rol estructural diferente al resto de los canales selectivos a K^+. Este trabajo se enfoca en el estudio del potencial rol del residuo D292 en los canales BK_{Ca}. La pregunta que nos hacemos es si el residuo D292 regula solamente la energía libre de unión del K^+ en el sitio S1 de unión del filtro de selectividad o si también afecta la concentración local de iones en el vestíbulo extracelular del poro, a través de un mecanismo electrostático. Para responder la pregunta anterior realizaremos cálculos de potencial electrostático resolviendo numéricamente la ecuación de Poisson-Bolzmann y analizaremos mediante el uso de simulación molecular la concentración local de iones en el vestíbulo extracelular del canal hSlo. Cálculos preliminares de Potential of Mean Force (PMF) nos indican que la mutación D292N en el canal de alta conductancia hSlo, disminuye la afinidad del ión K^+ por el sitio S1 de unión en el filtro de selectividad.

Bibliografía

Guidoni L., Torre V. Carloni P. (1999) ***Potassium and sodium binding to the outer mouth of the K+ channel.*** Biochemistry 38:8599-8604.

Haug T., Olcese R., Toro L., Stefani E. (2004) ***Regulation of K+ flow by a ring of negative charges in the outer pore of BKCa channels. Part II: Neutralization of aspartate 292 reduces long channel openings and gating current slow component.*** J Gen Physiol. 124:185-197.

ÍNDICE DE AUTORES

A

Abarzúa, M. R-93
Aceituno, F. F. R-120
Acuña, M. R-135
Adams, B. R-69
Adaui, V. R-104
Aguayo, D. R-43, R-101
Aguayo, F. R-107
Aguayo, L. G. R-118
Aguilar, A. R-93
Aguilar, M. R-93
Aguilera, M. R-91
Aguilera, S. R-69
Ahumada, P. R-140
Alarcón, C. R-53
Alarcón, E. R-65
Alarcón, R. R-113
Alberdi, M. R-34, R-120, R-121, R-123
Alberici, L. C. R-7, R-83
Alberti, C. R-139
Albornoz, A. R-73
Alcaide, O. R-128
Alcaíno, J. R-102
Alcayaga, J. R-67, R-143
Aliaga, E. R-56, R-57
Allende, J. E. R-25
Almárcegui, R. R-136
Almonacid, L. R-93
Altamirano, A. R-61
Altbir, D. R-24
Altura, B. R-66
Alva, O. R-124
Alvarado, J. R-8
Álvarez, C. R-64, R-68, R-108, R-116, R-135, R-144
Álvarez, J. M. R-107
Álvarez, K. R-135
Álvarez, M. R-74, R-75, R-118, R-135
Álvarez, R. R-66
Álvarez-Buylla, E. R-31
Ampuero, S. R-104
Amthauer, R. R-42, R-116, R-136
Andrés, M. E. R-107, R-108, R-111
Andrés, R. E. R-108
Angulo, C. R-133
Apablaza, N. R-27
Aplin, P. R-61
Aquea, F. R-118, R-127
Aqueveque, P. R-81
Araya, A. R-27, R-35
Araya, M. R-39
Araya, R. R-76, R-78, R-79
Arbildua, J. R-39, R-43, R-99, R-111, R-114
Arce-Johnson, P. R-31, R-50, R-51, R-116, R-118, R-119, R-124, R-127, R-129
Arenas, F. R-39, R-101
Arenas, F. A. R-99, R-101
Arenas, G. R-31, R-36
Arenas, M. R-78
Arias, J. R-119
Arias, J. L. R-27
Armesto, J. R-89, R-127
Armijo, G. R-103
Arratia, G. R-20
Arraztoa, J. A. R-109
Arredondo, A. R-94
Arredondo, V. R-117
Arriagada, O. R-139
Arroyo, J. R-67
Arroyo, M. T. K. R-95, R-127
Asenjo, J. R-83
Aspee, A. R-44, R-65
Atala, C. R-62
Aulestia, F. R-132
Avendaño, M. R-84
Ávila, M. R-35
Aylwin, C. R-112

B

Babul, J. R-60
Bachere, E. R-31
Bacigalupe, L. D. R-92
Badano, E. I. R-119
Baez, M. R-60
Baeza, C. R-129
Baeza, M. R-102
Balbontín, C. R-125
Banfield, Kelly R-13
Baptista, Cassio R-13
Barnabé, C. R-104
Bárquez, R. M. R-21
Barra, R. R-139
Barra, V. R-68
Barría, M. R-136
Barrientos, D. R-144
Barrientos, M. R-61
Barriga, F. M. R-135
Barriga, G. A. R-36
Barrios, Y. R-66
Barros, M. R-98
Bascuñán, L. R-125
Bassi, A. R-56
Bauer, N. R-54
Becerra, J. R-81, R-118, R-130
Becerra, P. I. R-98

Becker, E. R-137
Becker, M. I. R-87, R-134
Bellolio, F. R-135
Belmar-Lucero, S. A. R-46
Benavides, E. R-69
Bertinat, R. R-80, R-83
Besoaín, X. R-98
Best, Lional R-13
Besuain, F. R-43
Bittner, M. R-81, R-130
Boccardo, E. R-63
Bonansco, C. R-57
Bonomelli, C. R-126
Boric-Bargetto, D R-21, R-87
Bornhäuser, M. R-54
Boxberger, S. R-54
Bozinovic, F. R-87, R-92
Brauchi, S. R-48, R-115
Bravo, A. R-76
Bravo, I. R-144
Bravo, L. A. R-34, R-121, R-123, R-125, R-128, R-130
Bravo, M. R-28
Bruna, C. R-65
Brunet, J. R-114
Bruno, C. R-130
Bull, P. R-107
Bull, R. R-27
Bulnes, P. R-73
Bunster, M. R-22, R-49, R-65
Burger, C. R-108
Burgos, H. R-138
Burgos, P. R-49
Burzio, L. O. R-41, R-42, R-63, R-131, R-132
Burzio, V. R-42, R-63, R-131, R-132
Bustamante, D. M. R-92
Bustamante, J. R-41
Bustamante, M. R-68
Bustamante, P. R-102
Bustamante. R. R-94, R-95
Bustamante, R. O. R-98, R-119
Butzal, M. R-54

C

Cabrera, H. R-122
Cabrera, N. R-124
Cabrera, R. R-60, R-113
Cadavid-Labrada, A. R-129
Calderón, I. R-39, R-100, R-102
Calderón, I. L. R-99
Caligari, P. R-43, R-50
Campillo, R. R-125
Campos, L. R-68
Campos, V. R-99
Canals, M. R-46, R-91, R-95
Canessa, P. R-35, R-107, R-110
Caniuguir, A. R-113
Cañón, P. R-50
Capella, J. R-95, R-97
Cárcamo, J. R-80
Cárcamo, J. G. R-80, R-84, R-110
Cardemil, E. R-25, R-58, R-78, R-115
Cárdenas, M. de la L. R-6
Carmona, M. R-89, R-102
Carpio, D. R-81, R-110
Carrasco, C. R-81
Carrasco, L. R-67
Carrasco, N. V. R-96
Carrión, F. R-104
Cartagena, J. R-40, R-103
Cartagena, M. R-96
Carter, M. J. R-47
Carvacho, C. R-91
Carvacho, I. R-77
Carvajal, M. R-74
Carvajal, N. R-113, R-114
Carvallo, P. R-13, R-64, R-108, R-134, R-135
Casado, A. R-42
Casanova, M. R-128
Casaretto, J. A. R-51
Casaux, L. R-138
Cassels, B. K. R-85
Castillo, A. R-82, R-102, R-103, R-138
Castillo, D. R-107
Castro S.A. R-45
Castro, M. R-48, R-100, R-101, R-133
Castro, M. E. R-99
Castro-Arévalo, M. R-121, R-130
Caviedes, P. R-85, R-137
Caviedes, R. R-85
Cavieres, L. R-62
Cavieres, L. A. R-63, R-63, R-89, R-92, R-126, R-130
Celedón, G. R-144
Cerda, J. R-136
Chacón, P. R-92
Chales, M. R-57
Chamorro, S. R-65, R-86, R-99
Chandía, S. R-75
Chaparro, A. R-75
Cherry, James R-13
Chilian, J. R-43
Cifuentes, V. R-17, R-102
Cisternas, P. R-114
Claret, M. R-39
Claude, A. R-110
Collado, G. A. R-89

Collados, L. R-140
Concha, I. R-104
Concha, I. I. R-48, R-80, R-133
Concha, M. I. R-42, R-116, R-136
Condurache, A. R-54
Connelly, C. R-25
Constandil, L. R-58, R-138, R-139
Contreras-Levicoy, J. R-41, R-109
Coopman, R. R-125
Corcuera, L. J. R-34, R-61, R-121, R-123, R-125, R-128, R-130
Cordero, E. R-107
Córdova, G. R-108
Cornish-Bowden, A. R-6, R-8
Coronado, X. R-104
Cortés, C. R-55
Cortés, M. R-104, R-142
Cortés, N. R-140
Corvalán, A. R-64, R-108, R-134
Cottet, L. R-102, R-103
Cozzuol, M. R-95, R-97
Cruz, C. R-137
Cruz, G. R-56
Cruz-Neto, A. P. R-87
Cubillos, V. R-68
Cuevas Palma, C. C. R-91

D

Davanzo, S. R-138
De Doncker, S. R-104
De Ioannes, A. R-49, R-87, R-134, R-137
De la Fuente, M. R-135
Decap, J. R-86, R-93
Defilippi, C. R-102
Defilippi, C. C. R-102
Del Campo, M. R-134
Delhaize, E. R-19
Delpiano, M. A. R-66, R-142
Di Piazza, L. R-62
Díaz, C. R-110
Díaz, F. R-68
Díaz, I. A. R-96
Díaz, K. R-51
Díaz, M. M. R-21
Doll, U. R-126
Domingo, R. R-87
Domínguez, C. R-76, R-78
Donoso, C. A. R-130
Donoso, O. R-64
Droppelmann, C. A. R-79
Dujardin, J. C. R-104
Durán, C. R-118

E

Echeverría, C. R-64
Edmondson, D. E. R-85
Edwards, A. M. R-65
Egaña, J. T. R-54
Ehninger, G. R-54
Ehrenfeld, N. R-50
Elgueta, A. R-104
Elías, A. R-100, R-102
Elías, A. O. R-99
Elissetche, J. P. R-130
Engel, E. R-117, R-130
Erices, A. R-131
Escobar, C. R-64
Escobar, E. R-114
Escobar, I. R-129
Escobar, J. R-138
Escobar, P. R-117
Escobar, R. R-125
Escobar, S. R-74
Espejel, F. R-125
Espinosa, M. R-141
Espinoza, A. R-52
Espinoza, C. R-87, R-116
Espinoza, L. R-74
Esquivel, P. R-136
Etchepare, M. A. R-126
Eyzaguirre, J. R-60

F

Faini, F. R-85
Fajardo, M. R-65
Faúndez, M. R-85
Faúndez, P. R-134
Federici, F. R-124
Feinn, C. R-49
Fernández, J. R-110
Fernández, V. R-138
Ferrada, E. R-59
Ferreira, J. R-49
Ferrer, R. R-115
Ferrés, M. R-46
Fiedler-Temer, J. R-84
Field, R. R-61
Fierro, A. R-85
Fierro, F. R-54
Fierro, F. A. R-54
Figueroa, C.C. R-14, R-15
Figueroa, D. R-91
Figueroa, H. R-109
Figueroa, J. R-66, R-75, R-133

Figueroa, M. R-49
Flores, D. R-21
Flores, J. R-101
Folch, C. C. R-35
Franco, C. R-81
Fredes, C. R-126
Freer, J. R-130
Fritz, M. R-60
Fuentealba, D. R-68
Fuentealba, J. R-118
Fuentealba, J. A. R-108
Fuentes, D. R-39, R-48, R-100
Fuentes, D. E. R-99
Fuentes, E. R-75, R-100
Fuentes, E. R-100
Fuentes, E. L. R-99
Fuentes, M. I. R-111
Fuentes, P. R-82
Fuentes, R. R-110
Fuenzalida, M. R-57

G

Gallardo, C. R-81
Gallardo, J. R-128
Gallardo, M. R-52
Gallardo, R. R-111
Galleguillos, D. R-108, R-111
Gamonal, J. R-75
Gárate, J. A. R-77, R-78
Garay, D. R-122
Garbarino, J. R-74
Garcés, A. R-111, R-114
García, A. R-53, R-65
García, G. R-69
García, L. R-138, R-139, R-140
García, M. A. R-53, R-55
García, R. R-113
Garrido, L. R-102
Gatica, R. R-81, R-110
Gayo, E. R-87
Gerth, A. R-123
Gianoli, E. R-14, R-45, R-62, R-94, R-121
Gibbons, J. R-95, R-97
Godoy, P. R-46
Godoy, R. R-61, R-93
Goic, B. R-41
Goldman, K. R-138
Gómez, A. R-108
Gómez, A. V. R-107
Gómez, D. R-31
Gómez, F. R-119
Gómez, I. R-35
Gómez, L. R-108
Gómez-González, S. R-63
González, A. R-43, R-50, R-78, R-79, R-130, R-142
González, B. R-126
González, C. R-141
González, D. R-25
González, E. R-43, R-52, R-124
González, F. G. R-67
González, G. R-144
González, J. R-142
González, M. R-24, R-31, R-84, R-144
González, W. R-48, R-77, R-145
González, W.L. R-14, R-45
González-Nilo, F. D. R-22, R-144
González-Teuber, M. R-14, R-94
Grandón, J. R-68
Grez, M. R-79
Grossniklaus, U. R-127
Gueguen, Y. R-31
Guerrero, R. R-82
Guinovart, J. J. R-5, R-79
Guixé, V. R-113
Gutiérrez, F. R-118
Gutiérrez, J. I. R-44
Gutiérrez, J. R. R-46
Gutiérrez, R. A. R-31, R-120, R-124
Gutstein, C. S. R-95, R-97
Guzmán, F. R-36
Guzmán, L. R-107
Gysling, K. R-108

H

Hamuy, M. R-24
Handford, M. R-31, R-119
Hartley, Todd R-13
Haussmann, D. R-66
Henríquez Gallardo, D. R-40
Henríquez, D. R-100
Henríquez, E. R-114
Hernández, A. R-56, R-138
Hernández, C. E. R-88
Herrera, R. R-50, R-125
Hevia, M. R-135
Hidalgo, C. R-7
Hidalgo, P. R-88
Hidalgo, V. R-142
Hinojosa, L. F. R-88, R-90, R-91
Hinrichs, M. V. R-49, R-109
Ho, T-H R-51
Hödar, M. R-139
Hong, C-Y R-51
Huaiquimilla, H. R-76, R-78

Huichalaf, M. R-119
Hüner, N. P. A. R-34
Hurtado, C. R-135

I

Illanes, S. R-109
Illmer, T. R-54
Imarai, M. R-54
Iturra, P. R-89, R-92
Iturriaga, R. R-67
Ivanov, A. G. R-34

J

Jabalquinto, A. M. R-25, R-115
Jacker, J. R-62
Jaksic, F. M. R-45
Jaña, F. R-85
Jaña, N. R-76
Jara, C. K. R-88
Jara, G. R-127
Jara, V. R-121
Jaramillo, P. R-53
Jarpa, M. R-93
Jeldres, O. R-103
Jiménez, A. R-17
Jing, D. R-54
Jofré, M. R-98
Jordan, M. R-123
Jordana, X. R-35, R-111
Jorquera, P. R-40, R-103

K

Katz, A. R-43
Kausel, G. R-66, R-133
Kelt, D. A. R-46
Kemmerling, U. R-85
Kessi, E. R-82
Kettlun, A. M. R-138, R-139, R-140
Kirsten, L. R-68
Koch, X. R-53
Koenig, C. R-64
Kolter, R. R-5, R-16
Kowaltowski, A. J. R-83
Krüger, S. R-54

L

Labbé, C. R-85
Lagos, B. R-39
Lagos, C. R-78, R-79
Lagos, L. R-137
Lagos, R. R-17, R-39, R-99, R-101, R-110, R-111, R-114
Landaeta, M. R-69
Lanio, M. R-144
Lara, A. R-61
Lara, P. R-109
Lardies, M. A. R-15
Larraín, J. R-128
Larrañaga, C. R-104
Larrondo, L. F. R-110
Latorre, R. R-48, R-49, R-77, R-115
Laurido, C. R-139
Lavandero, S. R-54
Lehnebach, C. R-118, R-127
Leiva, M. R-101
León, F. R-135
León, G. R-68
León, O. R-40
León, R. R-75
Leprovost, G. R-50
Lería, M. J. R-97
Letelier, A. R-135
Letelier, J. C. R-6
Leyton, L. R-53
Li Kao, J. R-128
Lissi, E. R-65, R-144
Lizama, I. R-55
Lodato, P. R-102
López, I. R-68
López, R. R-85
López, R. O. R-69
López-Köstner, F. R-135
Loyola, R. R-51
Lozano, C. R-102
Luchsinger, V. R-104
Ludwig, H. R-83
Ludwig, H. C. R-112
Lum, Nicole R-13
Lusk, C. R-61, R-117
Lusk, C. R-117
Lusk, C. H. R-88
Luxoro, M. R-142

M

Maass, A. R-24
Machens, H. G. R-54
Madrid, A. M. R-102
Maisey, K. R-54
Maldonado, E. R-41, R-109
Manríquez-Navarro, P. R-118
Mantello, C. C. R-83

Manubens, A. R-35
Marchant, L. R-31
Marcoleta, A. R-102
Mardones, T. R-28
Marín, M. R-101
Marquet, P. A. R-119
Márquez, I. N. R-33
Marshall, S. R-31, R-36
Martínez, C. R-136
Martínez, D. R-144
Martínez, F. R-55
Martínez, J. E. R-54
Martínez, K. R-90
Martínez, R. R-68, R-84, R-132
Martínez-Oyanedel, J. R-23, R-49, R-65
Marti-Renom, M. R-59
Marusic, E. T. R-144
Mascayano, C. R-48
Massagué, J. R-53
Mata Villegas, A. R-27
Maturana, M. J. R-107
Matus, J. T. R-51, R-124
Maureira, M. R-83, R-112
Maya, J. D. R-49, R-85
Medel, R. R-14, R-47
Medina, C. R-50, R-51, R-118, R-124
Mejías, E. R-126
Melo, F. R-59
Mena, C. R-84
Méndez, C. R-104, R-136
Méndez, M. R-90
Méndez, M. A. R-89, R-92
Mendoca, R. R-130
Mendoza, H. R-43
Meneses, S. R-118
Mercado, G. R-39
Mercado, L. R-36
Merino, F. R-113
Meserve, P. L. R-46
Meynard, C. R-33
Michea, L. R-67, R-142, R-143, R-144
Milla, L. R-125
Millán, C. R-55
Miranda, D. R-76, R-136
Miranda, J. R-91
Miranda, J. P. R-119
Molina, A. R-74, R-75
Molina, C. R-57, R-95
Molina, M. R-122
Molina, R. R-100, R-101
Molina-Montenegro, M. A. R-89, R-121
Moltedo, B. R-134
Monasterio, O. R-39, R-43, R-99, R-101, R-110, R-111, R-112, R-114, R-141
Monconduit, L. R-57
Mondaca, M. R-56
Mondaca, M. A. R-39, R-99
Montecino, M. R-49, R-65, R-109
Montecinos, F. R-114
Montenegro, G. R-126
Montenegro, P. R-88
Montenegro, R. R-120
Montero, F. R-80
Montero, I. R-97, R-98
Montoya, F. R-53
Montoya, M. R-76, R-136
Mora, G. R-9
Mora, M.L. R-19
Moraga, C. R-138
Moraga, R. R-95
Morales, D. R-81
Morales, I. R-69
Morello, A. R-85
Moreno, A. R-131
Moreno, P.I. R-6
Morera, F. J. R-49
Moya, M. R-50
Moya-León, M. A. R-125
Mpodozis, J. R-140
Mulsow, S. R-122
Munroe, D.J. R-13, R-64, R-108
Muñoz, A. A. R-62
Muñoz, C. R-44
Muñoz, G. R-125
Muñoz, J. L. P. R-87
Muñoz, M. R-65, R-68
Muñoz, M. S. R-95
Muñoz, O. R-123
Muñoz, P. R-103
Murgas, P. R-133

N

Nattero, J. R-14
Naulin, P. R-120
Navarrete, M. R-139
Navarro, C. R-100
Naya, D. E. R-87
Negritto, M. R-129
Nespolo, R. F. R-15, R-92
Neuner, G. R-62
Neupert, C. R-125
Niklitschek, M. R-90
Noches, V. R-131
Noseda, R. R-58
Nualart, F. R-53, R-55

Núñez, D. R-90
Núñez, H. R-139
Núñez, J. R-13
Núñez, L. R-136
Núñez, M. R-89

O

Obando, P. R-73
Obel, N. R-31
Obrecht, O. R-122
O'Brien, J. R-117
Ojeda, F. P. R-44
Ojeda, M. R-75
Ojeda, P. R-73
Ojeda, R. R-136
Olate, J. R-49, R-109
Olivares, L. R-126
Olivares, V. R-57
Oliveira, H. C. F. R-7, R-83
Opazo, P. R-85
Órdenes, A. R-114
Orellana, A. R-31
Orellana, M. R-108
Orellana, M. S. R-113, R-114
Ormazabal, V. R-47, R-112
Orta, G. R-48, R-49, R-115
Ortega, M. R-122, R-123
Ortiz, C. R-51, R-128
Ortiz, F. R-143
Ortiz, J.C. R-20, R-69
Ortiz-Riaño, E. R-138
Osorio-Olivares, M. R-85
Otth, C. R-104
Oyarzún, C. R-61
Oyarzún, I. R-115

P

Padilla, E. R-93
Palma, R. E. R-21, R-46, R-87, R-88
Pando, M. E. R-140
Panjkovich, A. R-59
Parada, T. R-88
Pardo, F. N. R-112
Paredes, M. R-133
Parra, C. R-86, R-121
Parra, D. V. R-34
Parra, O. R-39, R-86, R-93
Pasten, P. R-109
Patricio, P. R. R-83
Pauly, M. R-31
Pavani, M. R-49
Pavez, J. R-40
Pécou, E. R-24
Pelissier, T. R-138
Penna, M. R-57, R-94
Peña, M. P. R-96
Peña-Cortés, H. R-74, R-124
Peña-Foxon, M. E. R-96
Peñaloza, E. R-18, R-52, R-125
Pereira, I. R-129
Pérez Manríquez, C. R-118
Pérez, A. R-47
Pérez, C. R-39
Pérez, E. R-60
Pérez, F. R-143
Pérez, H. R-56, R-139
Pérez, J. R-39, R-100
Pérez, J. M. R-99, R-100, R-101
Pérez, L. M. R-98
Pérez, M. R-81, R-117
Pérez, M. J. R-95
Pérez-Acle, T. R-23, R-50, R-76, R-77, R-78, R-79, R-112
Pesce, O. R-90
Pessoa-Mahana, H. R-84
Pichuantes, S. R-100
Pino, K. R-144
Pino, M. R-96, R-97, R-98, R-122
Pinochet, D. R-18
Piper, F. R-61
Pizzaro, L. R-119
Plantegenest, M. R-15
Plaza, C. R-49
Plaza, J. R-116
Plomion, C. R-50
Poblete, F. R-43, R-52, R-124
Pobrete, C. R-138
Pohl, N. R-14
Polanco, R. R-98, R-110
Ponce, I. R-82
Pouchucq, L. R-110
Poulin, E. R-44
Poupin, M. J. R-124
Pradenas, G. R-100, R-101
Pradenas, G. A. R-99, R-101
Preller, A. R-80, R-82
Prieto Gómez, R. R-134
Prieto, H. R-123
Puente, J. R-75, R-76, R-136, R-137

Q

Quest, A. F. G. R-53
Quezada, C. R-80, R-84, R-110

Quiñones-Olsen, P. R-13
Quiroga, D. R-80
Quiroz, C. L. R-63
Quispe, M. R-94

R

Raddatz, N. R-48
Ramírez de Arellano, A. R-49
Ramírez, C. R-119
Ramírez, E. R-137
Ramírez, R. R-64
Ramos-Jiliberto, R. R-47
Rauch, C. R-110
Rauch, M. R-48
Ravanal, M. C. R-60
Recabarren, O. R-97, R-98
Recabarren-Gajardo, G. R-84
Rehren, G. R-110
Reinicke, K. R-55
Reinoso, R. R-81
Restaino, C. G. R-75
Retamales, J. R-50
Retamales, P. R-69
Rey, S. R-67
Reyes, A. M. R-47, R-73
Reyes, F. R-86
Reyes, F. E. R-54
Reyes-Díaz, M. R-34, R-61, R-123
Reyes-Parada, M. R-85
Ricardo, A. R-40
Ríos, E. R-98
Ríos, M. R-141
Rioseco, T. R-122
Rivas, A. R-110
Rivas, C. R-68
Rivas, C. I. R-112, R-114
Rivas, J. R-25
Rivas-Pardo, A. R-115
Rivero, M. R-118
Rivero, M. R-127
Rodríguez, C. R-31
Rodríguez, F. R-25
Rodríguez, L. R-107
Rodríguez, S. R-68
Rodríguez-Serrano, E. R-21, R-87, R-88
Rojas Rauco, M. R-134
Rojas, L. A. R-117
Rojas, M. C. R-80, R-82
Roldán, C. R-138
Romero, A. R-133
Roncagliolo, M. R-57
Rosas, A. R-19
Roschzttardtz, H. R-35
Rosemblatt, M. R-117
Rosenmann, E. R-49, R-115
Rozas, M. R-104
Rozenblum, E. R-13, R-64
Rubilar-Rogers, D. R-93, R-94, R-96
Rueda, L. R-78
Ruiz del Solar, J. R-24
Ruiz, E. R-129
Ruiz, G. R-93
Ruiz, S. R-139
Ruiz-Lara, S. R-52, R-124

S

Saavedra, C. R-39, R-44, R-101
Saavedra, F. R-125
Saavedra, G. R-77, R-144
Sabaj, V. R-95, R-97
Sabat, C. R-46, R-91
Sáez, K. R-125
Salas, A. R-112
Salas, L. R-107
Salas, M. R-81, R-110, R-113
Salazar, M. R-49, R-52
Saldaña, A. R-14
Saldarriaga, M. R-90
Sali, A. R-59
Salinas, M. F. R-127
Sallaberry, M. R-93, R-94
Salvadores, N. R-104
Salvo-G. H. R-19, R-52, R-125
San Martín, A. R-81
San Martín, J. R-126
Sánchez, A. R-135
Sánchez, R. R-128
Sandino, A. M. R-40, R-103
Sandoval, J. M. R-99, R-101
Sandoval, M. R-100
Sandquist, D.R. R-7
Sanhueza, C. R-121
Santander, P. R-74
Santelices, B. R-8
Santibáñez, J. R-55
Santibáñez, J. F. R-64, R-131, R-132
Santos, M. J. R-27, R-64
Sapkota, G. R-53
Saud, G. R-50
Schmitt, P. R-36
Schrader, O. R-129
Schultze, H.P. R-8
Scott, S. R-92
Searovic, P. R-109

Veloso, C. R-47
Venegas, F. R-142
Venegas, J. M. R-68
Vera, J. R-101
Vera, J. C. R-47, R-68, R-112, R-114, R-137
Vera, M. I. R-74, R-75
Vera, M. I. R-75
Vercesi, A. E. R-7, R-83
Verdugo, I. R-43, R-52
Vergara, A. R-78, R-138
Vergara, C. R-101, R-143
Vial, P. R-46
Victoriano, P. R-69
Vicuña, R. R-35, R-107, R-110
Vidal, E. R-124
Vidal, G. R-65, R-86, R-93
Vidal, M. A. R-77, R-144
Vidaurre, S. R-42
Vila, I. R-89, R-92
Vilina, Y. A. R-95, R-97
Villa, L. R-63
Villalobos, M. R-125
Villalón, M. R-141
Villamar, A. R-86
Villanueva, J. R-116
Villanueva, L. R-57
Villar, V. R-131
Villarreal, J. M. R-25, R-44
Villarroel, E. A. R-119
Villarroel, F. R-42, R-136
Villavicencio, C. P. R-33, R-34
Villegas, J. R-42, R-63, R-131, R-132
Villota, C. R-63
Vinet, R. R-142
Vivaldi, E. A. R-56
Vivar, J. R-81
Voguel, H. R-126

W

Weinstein, D. R-111
Wendt, J. R-122
Westermeier, F. R-81, R-110
Wielandt, A. M. R-135
Wilhelm, V. R-117
Wilken, D. R-123
Wilson, C. A. M. R-80
Wistuba, I.I. R-13
Wozniak, A. R-102

X

Xaiolin, Wu R-13

Y

Yáñez, A. R-84, R-112
Yáñez, A. J. R-79, R-80, R-81, R-83, R-110
Yañez, M. R-52
Yeber, M. C. R-86
Yévenes, A. R-25
Youderian, P. R-39

Z

Zambrano A. R-104, R-133
Zambrano, M. M. R-16
Zamora, P. R-123
Zapata, F. R-122
Zeballos, H. R-21
Zentella, R. R-51
Zepeda, P. R-131
Zúñiga, A. R-86
Zúñiga, F R-47, R-112
Zúñiga, G. E. R-122, R-123
Zúñiga, R. R-121
Zúñiga-Feest, A. R-120, R-121

Seemann, P. R-127
Segovia, R. A. R-94
Segura, M. R-31
Sepúlveda, A. R-85
Sepúlveda, L. R-39, R-78, R-99, R-112
Sepúlveda-Boza, S. R-85
Serrano, C. R-51
Serrano, N. R-56
Shannon, Elizabeth R-13
Shin, J. Y. R-111
Sierra-Almeida, A. R-62, R-130
Sierralta, W. R-56
Silva, A. X. R-45
Silva, D. R-61
Silva, E. R-68
Silva, H. R-125
Silva, M. R-81, R-118, R-130
Simon, J. R-76
Simon, J. C. R-15
Sites, J. W. R-69
Slebe, F. R-66
Slebe, J. C. R-79, R-80, R-81, R-83, R-84, R-110, R-112
Smalley, S. R-134, R-135
Smith-Ramírez, C. R-89
Solari, A. R-104
Solis, L. R-64, R-104, R-108, R-134
Solis, R. R-57
Soto, B. R-19, R-52
Soto, S. R-118
Soto-Moyano, R. R-56
Spencer, E. R-40
Spichiger, C. R-83, R-110
Spotorno, A. E. R-21
Squella, L. R-136
Squeo, F. A. R-46
Stange, C. R-31, R-119
Stewart, Claudia R-13
Suárez, K. R-109
Suárez, L. H. R-45
Suárez, M. R-93, R-94

T

Tantaleán, J. R-39
Tapia, L. R-104
Tapia, T. R-134, R-135
Tapia-Arancibia, L. R-56
Tejo, C. R-96
Tello, M. R-39, R-99
Tibayrenc, M. R-104
Tobar, I. R-115
Toledo, H. R-40, R-49, R-53, R-102
Toledo-Hernández, J. R-84
Toro, A. R-64
Torrejón, M. R-49, R-109
Torres, G. R-85
Torres, R. R-85
Trebilcock, J. R-109
Troncoso, C. R-80, R-82

U

Ugarte, G. R-114
Urbina, F. R-41, R-109
Urbina, H. R-48, R-77
Ureta, T. R-27, R-80
Uribe, E. R-113, R-114
Uribe, P. R-48, R-86
Urrutia, O. R-74
Urrutia, R. R-99
Urzúa, B. R-69

V

Valdés, D. R-54
Valdés, J. R-43, R-48
Valdivia, A. R-53
Valencia, G. A. R-63
Valenzuela, C. R-27
Valenzuela, M. R-39, R-53
Valenzuela, M. A. R-75, R-115, R-137, R-138, R-139, R-140
Valenzuela, M. A. R-115
Valenzuela, M. A. R-137
Valenzuela, M. A. R-138
Valenzuela, M. A. R-139
Valenzuela, M. A. R-140
Valenzuela, P. D. T. R-41, R-48, R-86, R-117, R-130
Valenzuela, X. R-73
Valladares, L. R-56
Vallejos, C. R-102
Vallejos, M. R-108, R-135
Valpuesta, J. M. R-5, R-25
Vargas, F. R-68
Vargas, M. R-73
Vargas, R. V. R-67
Vásquez, C. R-39, R-100, R-101, R-102
Vásquez, C. C. R-99, R-101
Vásquez, M. R-35
Vásquez, R. A. R-33, R-34
Vecchiola, A. R-108
Vega, A. R-51, R-116
Vega, C. R-47
Velásquez, N. R-57
Velázques, Z. R-80
Veloso, A. R-20

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

Versión electrónica:
http://www.scielo.cl/bres.htm