

PANELES I



BIOLOGÍA EVOLUTIVA

1 ANÁLISIS BAYESIANO PARA EVALUAR LA BIOGEOGRAFÍA HISTÓRICA Y HAPLOTIPOS ANCESTRALES DE *DISSOSTICHUS ELEGINOIDES* EN SU DISTRIBUCIÓN SUDAMERICANA (Bayesian approach to asses the historical biogeography and ancestral haplotypes of *Dissostichus eleginoides* in it South American distribution).

Canales-Aguirre, C.B.^{1,2}, Ferrada, S.², Astete, S.², Galleguillos, R.² y Hernández, C.E.¹

¹ Laboratorio de Diversidad Molecular y Filoinformática, Departamento de Zoología. ² Laboratorio de Genética y Acuicultura, Departamento de Oceanografía. Universidad de Concepción, Chile.

Patrocinio: Hernández, C.E.

Dissostichus eleginoides presenta distribución Subantártica-sudamericana. No existe información respecto a procesos evolutivos que ocasionaron los actuales patrones de distribución en Sudamérica. Esto, sumado a la dificultad de encontrar fósiles adecuados para reconstruir la historia completa, ha llevado a utilizar aproximaciones filogenéticas que dan nuevas luces a la comprensión de la historia evolutiva de esta especie.

En este estudio utilizamos una aproximación Bayesiana del Método Comparativo Filogenético para evaluar la incerteza del origen biogeográfico y haplotipos ancestrales de la especie en su distribución sudamericana, utilizando secuencias del gen NADHmt. Los resultados indican mayor probabilidad de origen de *D. eleginoides* entre los ~39-48°S en el sector centro-sur de Chile. La radiación subsiguiente habría ocurrido con mayor probabilidad hacia el sur, con gran intercambio entre esta y la zona Sur-austral en ambos sentidos, y muy bajo hacia la zona Sur-atlántica. El haplotipo ancestral con mayor probabilidad correspondió al H2, presente en todas las zonas y con mayor tendencia de ganancia a través del tiempo.

Estos resultados sugieren un primer escenario histórico para el origen de *D. eleginoides* en su distribución sudamericana y de haplotipos ancestrales.

Agradecimientos: FIP_2006-41.

2 ESTRUCTURA FILOGEOGRÁFICA Y VARIACIÓN GEOGRÁFICA EN CARACTERES MORFOLÓGICOS EN LA VÍBORA DE FOSA (*BOTHROPS ASPER*) DE COLOMBIA (Phylogeographic structure and geographic morphological variation in the lancehead pitviper (*Bothrops asper*) from Colombia).

Saldarriaga, M.^{1,2}, Sasa, M.³ y Méndez, M.¹

¹ Laboratorio Genómica Evolutiva, Universidad de Chile.

² Programa de Ofidismo, Universidad de Antioquia. ³ ICP, Universidad de Costa Rica.

Bothrops asper se distribuye en la región Neotropical, principalmente en el norte de América del Sur. Este trabajo presenta resultados sobre la variación genética (genes *ND4* y Citocromo b) de *B. asper* de Colombia y la variación geográfica en caracteres morfológicos. El análisis filogenético y la red de haplotipos mostró tres clados con alto soporte estadístico: la primera agrupación de *B. asper* corresponde a poblaciones de la vertiente pacífica, tiempo de divergencia (TD) = ~ 1.24 MYA; el segundo clado conformado por poblaciones de la costa caribe, TD= ~ 0.65 MYA, y un tercero conformado por poblaciones del Valle del río Magdalena, TD= ~ 0.26 MYA. Los datos sugieren que la divergencia de los clados ocurrió posiblemente durante el Pleistoceno, periodo con intensos cambios climáticos y en el que las cordilleras alcanzaron su altura máxima (efecto vicariante). Con respecto a la variación morfológica, el análisis univariado mostró que las hembras de la vertiente pacífica son de menor tamaño, tienen un número menor de escamas ventrales y manchas que especímenes de los otros dos clados. Estas diferencias pueden ser explicadas en términos de aislamiento por distancia entre poblaciones dentro de cada clado.

Agradecimientos: Beca AT-24060101, CONICYT; MHUA.

3 DISTRIBUCIÓN DE LA VARIACIÓN GENÉTICA EN POBLACIONES ALTIPLÁNICAS DE *BUFO SPINULOSUS* (ANURA: BUFONIDAE) (Distribution of genetic variation in altiplanic populations of *Bufo spinulosus* (Anura: Bufonidae)).

Pastenes, L.¹; Correa, C.¹; Palma, R.E.²; Veloso, A.³ y Méndez, M.A.¹

¹ Laboratorio de Genómica Evolutiva, INTA, Universidad de Chile. ² Center for Advanced Studies in Ecology and Biodiversity y Departamento de Ecología, Pontificia Universidad Católica de Chile. ³ Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Bufo spinulosus es un anfibio que se distribuye en la cordillera del extremo norte y centro de Chile (17°35'S - 34°00'S). Debido a la alta variabilidad morfológica que presenta la especie, se investigó la variación genética intra e interpoblacional utilizando secuencias de la región control de DNA mitocondrial de las poblaciones de la distribución norte de esta especie. Se realizó un extenso muestreo de la zona de estudio (17°44'S - 23°47'S) incluyendo 32 poblaciones y 209 individuos. Se establecieron las relaciones entre haplotipos utilizando el método de "median-joining network". Este análisis junto con métodos de reconstrucción filogenética muestran dos linajes que se distribuyen entre Visviri y el Salar de Alconcha (regiones de Árica-Parinacota y Tarapacá) y entre Salar de Carcote y Tilomonte (región de Antofagasta). El linaje más septentrional presenta una escasa estructuración filogeográfica, al contrario de lo observado en el linaje sur, que presenta una alta estructuración. En este trabajo se discute una posible asociación entre la ubicación de estos haplotipos y la distribución de las cuencas hidrográficas del altiplano de Chile.

Financiado por FONDECYT 1061256.

4 FILOGEOGRAFÍA DE *ABROTHRIX LONGIPILIS* (RODENTIA: SIGMODONTINAE) (Phylogeography of *Abrothrix longipilis* (Rodentia: Sigmodontinae)).

Araneda-Urrutia, C.¹ y Palma, R.E.¹

¹ Laboratorio de Biología Evolutiva, Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, and Center for Advanced Studies in Ecology & Biodiversity, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Abrothrix longipilis es considerada la especie más basal de la aún no formalizada categoría taxonómica con rango tribal denominada "Clado Andino". La distribución de la especie en Chile se ha descrito desde el paralelo 28, norte de Coquimbo, hasta el paralelo 54, correspondiente a Tierra del Fuego, habitando principalmente ambientes boscosos

densos. La restringida vagilidad de esta especie, su distribución asociada a bosques relictos y templados, y rasgos fenotípicos distintivos, que han llevado a la descripción de al menos siete subespecies en Chile, transforman a *A. longipilis* en un interesante foco de investigación filogeográfica.

El objetivo de este trabajo es evaluar las diferencias a nivel nucleotídico, en individuos de poblaciones naturales de *Abrothrix longipilis* a lo largo del rango de distribución de esta especie. Para cumplir con este objetivo, se realizaron diversas aproximaciones filogenéticas y filogeográficas, utilizando para esto las secuencias obtenidas a partir del marcador molecular citocromo-b. Además, con esta investigación se busca encontrar evidencia de rasgos de estructuración filogeográfica entre las diversas poblaciones de *Abrothrix longipilis*, que sostengan la probable existencia de las subespecies descritas para este especie.

FONDECYT 1070331, NIH HANTAVIRUS GRANT CHILE-PANAMÁ, FONDECYT-CASEB 1501-0001.

5 FILOGEOGRAFÍA E HISTORIA DEMOGRÁFICA DE DOS ESPECIES DE ISÓPODOS (CRUSTÁCEA) DEL GÉNERO *EXCIROLANA* EN LA COSTA DE CHILE (Phylogeography and demographic history of two isopod (Crustacea) species of the genus *Excirrolana* in the coast of Chile).

Varela, A., Haye, P.A. y Thiel, M.

Departamento de Biología Marina, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Católica del Norte, Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas (CEAZA).

Los isópodos marinos *Excirrolana hirsuticauda* (Eh) y *E. braziliensis* (Eb) son pequeños incubadores bentónicos que habitan el sedimento de playas de arena. Dado el bajo potencial de dispersión de estas especies, se hipotetiza que presentan un patrón de Aislamiento por Distancia (APD) con una alta diferenciación genética entre las poblaciones. Además, ya que tienen historias de vida y rangos de distribución similares en la costa de Chile, se hipotetiza que sus historias demográficas son similares. Se obtuvieron secuencias parciales del gen Citocromo Oxidasa I de ambas especies y se realizaron análisis filogeográficos. Se determinó que ambas especies presentan un patrón de APD y una alta diferenciación genética entre poblaciones, lo que valida la primera hipótesis planteada. Para ambas especies, el gráfico de Mismatch Distribution es bimodal, coincidiendo con los dos haplogrupos observados en las redes de haplotipos (25°S - 29°S y 31°S - 42°S para Eh, 21°S - 26°S y 34°S - 39°S para Eb). Ambas especies están estructuradas en un grupo norte y uno sur, pero en Eb existe una mayor distancia genética entre haplogrupos. Para Eh y Eb el tiempo de divergencia estimado entre los haplogrupos es de 1,6 y 4,5 millones de años, por lo que podemos concluir que tienen historias demográficas distintas.

Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1051076-2005.

6 RATADA EN EL PARQUE NACIONAL VILLARRICA: EVIDENCIA DE DERIVA GÉNICA EN *OLIGORYZOMYS LONGICAUDATUS* (A mouse outbreak in the Villarrica National Park: evidence of genetic drift in *Oligoryzomys longicaudatus*).

Boric-Barguetto, D.¹, Rodríguez-Serrano, E.¹, Palma, R.E.¹ y Jaksic, F.M.¹

¹ Laboratorio de Biología Evolutiva y Centro de Estudios Avanzados en Ecología y Biodiversidad, Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Algunas especies de roedores presentan un gran aumento demográfico en un corto período de tiempo (ratadas). Aunque se deben a múltiples causas, en términos demográficos el resultado es similar: aumento abrupto y posterior reducción en el tamaño poblacional. Esto trae consecuencias en la variabilidad genética de las especies. Hay antecedentes de selección de caracteres morfológicos y de historia de vida. Sin embargo, poco se sabe de la deriva génica. Evaluamos si la disminución poblacional (cuello de botella) favoreció a la deriva. Se determinó si los individuos post-ratada descienden de ancestros del mismo linaje o son colonizadores de áreas aledañas. La hipótesis es: El descenso poblacional provocaría una disminución en la variabilidad genética de los individuos post-ratada producto de la deriva génica. Evaluamos esta hipótesis secuenciando 500pb de la región control del ADNmt en 79 especímenes de *O. longicaudatus* y se agruparon en pre-ratada, ratada y post-ratada. Se utilizaron índices de variabilidad genética y se construyó un árbol de haplotipos. Se concluye que la deriva génica actuó disminuyendo la variabilidad genética, favorecida por la disminución poblacional. Los individuos post-ratada descienden de un linaje propio del parque.

Financiamiento: FONDECYT-FONDAP-CASEB; NIH-ICIDR 1 U19 AI45452-01.

7 VARIACIÓN MORFOMÉTRICA Y MOLECULAR EN POBLACIONES DEL GÉNERO *BIOMPHALARIA* PRESTON, 1910 (GASTROPODA: PLANORBIDAE) DEL ALTIPLANO SUR (Morphometric and molecular variation in populations of the genus *Biomphalaria* Preston, 1910 (Gastropoda: Planorbidae) from Southern Altiplano).

Collado, G.A.¹, Vila, I.² y Méndez, M.A.¹

¹ Laboratorio de Genómica Evolutiva, INTA, Universidad de Chile. ² Laboratorio de Limnología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

En el Altiplano Sur existen sistemas hidrológicos aislados donde habitan caracoles de agua dulce del género *Biomphalaria*. Este estudio examina las relaciones filogenéticas del grupo utilizando los genes mitocondriales COI y 16S. Adicionalmente, se describe la variación morfológica en siete poblaciones mediante técnicas estadísticas multivariadas. Las reconstrucciones filogenéticas consideraron secuencias de once poblaciones altiplánicas más secuencias de especies de *Biomphalaria* de otras regiones geográficas. El estudio morfométrico incluyó once caracteres morfológicos de la concha de siete poblaciones (Caquena, Salar de Ascotán, Salar de Carcote, Chungará, Parinacota, Lauca e Isluga) que fueron examinadas mediante análisis de componentes principales y análisis discriminante lineal.

Los resultados sugieren que las poblaciones altiplánicas constituyen un grupo monofilético. En este clado las poblaciones de Caquena, Salar de Ascotán y Salar de Carcote constituyen linajes independientes mientras las otras poblaciones no mostraron resolución para los genes estudiados. Los análisis multivariados diferenciaron morfológicamente todas las poblaciones estudiadas con valores sobre el 80% de clasificación correcta. Se discuten los resultados en el contexto filogenético del género y la taxonomía de las especies reconocidas para el Altiplano Sur.

Financiamiento: MULT 05/04-2, Universidad de Chile; FONDECYT 1061256; GAC es becario CONICYT.

8 FILOGENÉTICA MOLECULAR DE LOS POLIQUETOS “ERRANTES” (ANNELIDA: POLYCHAETA): UNA REEVALUACIÓN DE LA SISTEMÁTICA BASADA EN MORFOLOGÍA (Molecular phylogenetic of the polychaeta “errantia” (Annelida: Polychaete): An reevaluation of the systematic based on morphology).

Sampértegui, S. y Hernández, C.E.

Laboratorio Diversidad Molecular y Filoinformática, Departamento Zoología, Universidad de Concepción. Patrocinio: Hernández, C.E.

Análisis filogenéticos basados en datos moleculares pueden resolver patrones de divergencia evolutiva entre unidades taxonómicas de grupos altamente diversos y poco estudiados como los Polychaeta, debido a la rigurosidad con que evalúan los paradigmas evolutivos involucrados y a que los genes empleados como marcadores moleculares son altamente conservados.

El objetivo del trabajo fue usar bases de datos moleculares para evaluar la monofilia del clado Aciculata (Eunicida+Phyllococida) empleando Inferencia Bayesiana. Se analizaron 155 secuencias del gen 18SrRNA obtenidas desde GenBank-NCBI, más dos especies como *outgroup*. El árbol filogenético obtenido no mostró evidencia para sustentar la monofilia de Eunicida y Aciculata, si bien muchos de los grupos tradicionales fueron recuperados. La presencia de ramas comparativamente cortas y el bajo soporte de muchos nodos basales sugieren un rápido proceso de diversificación temprana en la historia de Aciculata coincidente con el proceso de radiación adaptativa propuesto para anélidos durante el Cámbrico. Nuestros resultados basados en evidencia molecular y la evaluación de incerteza filogenética nos permiten plantear que para los poliquetos “errantes” hay especies emparentadas por caracteres morfológicos mas no emparentadas filogenéticamente. Estas semejanzas morfológicas serían producto de convergencia evolutiva, debido a respuestas semejantes frente a una misma presión selectiva.

Agradecimiento: CONA C12F 06-06; AGCI.

9 DIVERSIDAD GENÉTICA DEL LANGOSTINO COLORADO (PLEURONCODES MONODON) EN LA COSTA DE CHILE Y PERÚ (Genetic diversity of the red crab (*Pleuroncodes monodon*) in the chilean and peruvian coast).

Salinas, P. y Poulin, E.

Laboratorio Ecología Molecular, Instituto de Ecología y Biodiversidad, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Hays P.A., Acuña, E. Departamento de Biología Marina, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Católica del Norte.

El langostino colorado, *Pleuroncodes monodon*, se distribuye en las costas del Pacífico Este desde Ancud en Chile hasta la isla Lobos de Afuera en el Perú. Entre Coquimbo y Talcahuano, *P. monodon* está considerada como una especie de hábitos bentodemersales y forma parte de una importante pesquería de arrastre. En cambio, en el norte de Chile y en el Perú, este recurso se caracteriza por una talla mucho más reducida, se encuentra asociado a pesquerías pelágicas y no parece pasar por una fase bentónica. De estas diferencias morfológicas y ecológicas han surgido preguntas acerca del estatus taxonómico de estas dos formas geográficas. Con el objeto de aclarar la posible existencia de poblaciones diferenciadas en *P. monodon*, se llevó a cabo un análisis de secuencias del gen mitocondrial COI, incluyendo muestras provenientes de regiones del norte y sur de Chile, y de una localidad de Perú. Los resultados indican que todos los individuos analizados pertenecen a una misma población, por lo que las diferentes localidades formarían parte de una única población a lo largo de su área de distribución y que las diferencias observadas en su ciclo de vida podrían corresponder a factores ambientales.

NEUROCIENCIA

10 PURIFICACIÓN DE TAX A PARTIR DE CULTIVOS CELULARES INFECTADOS CON EL VIRUS HTLV-1 (Purification of Tax from infected cellular cultures with HTLV-1 virus).

Pando, M.E., Kettlun, A.M. y Valenzuela, M.A.

Departamento Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

La Paraparesia Espástica Tropical es una enfermedad neurodegenerativa causada por el retrovirus HTLV-1. Esta patología se caracteriza por la degeneración axonal de las motoneuronas de haz cortico-espinal. Este efecto se atribuye a la expresión y secreción de la proteína viral Tax en linfocitos T CD4+ infectados con el virus. Por este motivo es importante comprender la manera en que Tax participa en la degeneración axonal. El objetivo de este trabajo fue purificar esta proteína para ensayar su efecto sobre cultivos neuronales.

La purificación de la proteína Tax se efectuó a partir de lisados de células linfoides MT2 infectadas con el HTLV-1 y de su medio de cultivo (medio condicionado) al cual secretan proteínas. El medio condicionado de MT2 fue previamente tratado para eliminar la albúmina proveniente del suero fetal de bovino con el cual se cultivan las células y que podría interferir en la detección de Tax por "western blot". En cuanto a los lisados celulares estos fueron centrifugados para aislar los restos de membranas y trabajar con la fracción soluble. La purificación de Tax se llevó a cabo mediante inmunoprecipitación utilizando un kit cromatográfico "aminolink" de Pierce.

Las fracciones eluidas de la columna "aminolink" mostraron por "Western blot" la presencia de Tax ubiquitinado y fosforilado en residuos de S. Estas modificaciones son concordantes con los reportes de esta proteína viral.

Proyecto Fondecyt 105-0784.

11 DESARROLLO DE UNA ESTRATEGIA DE PURIFICACIÓN POR AFINIDAD EN TÁNDEM PARA DETERMINAR EL INTERACTOMA DE LA PROTEÍNA SINÁPTICA ERC (Developing a tandem affinity purification approach to determine the interactome of the synaptic protein ERC).

Barra, L., Pizarro, E., Zamorano, P., Garner, C., y Torres, V.

Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta, *Stanford University.

La zona activa presináptica es una especialización de membrana donde reside la maquinaria de fusión vesicular. Esta zona está compuesta por diversas proteínas cuya función no está claramente establecida. Varias de estas proteínas presentan una distribución espacio-temporal

dinámica durante la sinaptogénesis, lo que sugiere funciones específicas en este período. Nuestros estudios de localización celular de la proteína ERC indican que presenta diferentes distribuciones subcelulares durante el desarrollo de la sinapsis. Esto permite suponer que ERC podría jugar roles específicos en los distintos compartimentos dependiendo de las proteínas a las cuales se asocia. Para entender la función de esta proteína y sus isoformas durante la sinaptogénesis, hemos diseñado una estrategia que permite aislar interactores de ERC mediante un constructo que posee una etiqueta de doble afinidad al extremo N-terminal de una de sus isoformas. En este trabajo validamos este constructo en células heterólogas HEK 293T por coexpresión con interactores conocidos de ERC. La expresión de este constructo a través de un vector lentiviral en neuronas en cultivo nos permitirá aislar complejos proteicos asociados a ERC desde los diferentes compartimentos a los cuales se asocia.

Financiamiento Dirinv Universidad de Antofagasta # 1314.

12 ELIMINACIÓN DE INTERFERENTES PARA EL ANÁLISIS PROTEÓMICO DE LA SUBUNIDAD LIVIANA DE NEUROFILAMENTOS (Reduction of interferents for the proteomic analysis of the neurofilament-light subunit).

Medina, F., Collados, L., Alberti, C., García, L. y Valenzuela, M.A.

Departamento Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Nuestro grupo intenta dilucidar el mecanismo por el cual se produce la degeneración axonal de los haces cortico-espinales en individuos infectados con HTLV-I. Los neurofilamentos, compuestos de subunidades pequeña (Nf-L), mediana y pesada, junto con otros elementos del citoesqueleto definen la forma y tamaño del axón, participando además en el transporte axónico, esencial en axones largos. Se sabe que la fosforilación de Nf-L en residuos de S en el extremo amino-terminal regula su ensamblaje con las otras subunidades. Para estudiar esto decidimos aislarlo del líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes infectados con HTLV-I para su posterior análisis proteómico de fosforilación.

Estudios previos mostraron que la presencia de albúmina sérica (HSA), correspondiente aproximadamente al 80% de las proteínas del LCR, interfiere en el análisis proteómico de Nf-L, por su masa molecular similar a la del Nf-L y porque está fosforilada en residuos de S y T. Por esta razón, se efectuó una eliminación de HSA del LCR mediante un kit de Millipore (Albumin depletion kit). Las fracciones eluidas de estas columnas de inmunofinidad presentaron un remanente de solo un 10% de albúmina demostrado mediante geles de SDS/PAGE, electroforesis capilar e "immunowestern blot", las cuales a su vez conservaron la inmunorreactividad frente a anticuerpos contra Nf-L. Esta fracción parcialmente libre de HSA se sometió a una inmunoprecipitación para poder posteriormente realizar estudios de Espectrometría de masas.

Financiamiento: Fondecyt 105-0784.

13 EXPRESIÓN GÉNICA Y CONCENTRACIÓN HIPOTALÁMICA DEL PÉPTIDO CRH, Y NIVELES PLASMÁTICOS DE CORTICOSTERONA EN RATAS MALNUTRIDAS PRENATALMENTE (Gene expression and concentration of hypothalamic CRH peptide and levels of plasma corticosterone in prenatally malnourished rats).

Núñez, H., Pérez, H., Navarrete, M. y Soto-Moyano, R.
Laboratorio de Hormonas y Receptores, INTA, Universidad de Chile.

Estudios epidemiológicos sugieren una asociación entre bajo peso de nacimiento y posterior hipertensión en la vida adulta. Evidencias experimentales muestran que períodos de malnutrición materna durante la preñez conducen a malnutrición fetal y a retardo del crecimiento del feto, los que desarrollan presión arterial elevada durante la vida postnatal. Dentro de la secuencia de eventos inducidos por malnutrición prenatal que llevan al desarrollo posterior de hipertensión arterial, podría estar la hiperactividad del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA). En ratas de 2 y 40 días de edad, nacidas de madres que experimentaron malnutrición calórico-proteica durante la gestación, se determinaron los niveles hipotalámicos del RNAm de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) mediante PCR en tiempo real, así como la concentración de CRH hipotalámico y de corticosterona plasmática mediante radioinmunoensayo. Los resultados muestran que tanto la expresión génica de CRH como el péptido se encuentran aumentados en el hipotálamo de ratas que experimentaron malnutrición prenatal en comparación a controles eutróficos. Concomitantemente, las ratas malnutridas presentaron un aumento de los niveles plasmáticos de corticosterona. Estas alteraciones podrían conducir a la hiperactividad del eje HHA y por lo tanto a la programación de hipertensión durante la vida adulta de los animales malnutridos prenatalmente.

FONDECYT: 1030626.

14 ANÁLISIS DE FOSFORILACIONES DE TAU EN LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO DE PACIENTES CON PARAPARESIA ESPÁSTICA TROPICAL (Analysis of Tau phosphorylations in cerebrospinal-fluid of patients with Tropical Spastic Paraparesis).

Maldonado, H., Barriga, A. y Valenzuela, M.V.

Departamento Bioquímica y Biología Molecular, Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

La Paraparesia Espástica Tropical (TSP/HAM) afecta crónica y progresivamente al SNC con degeneración axonal del Haz corticoespinal. Tau es una proteína axonal habitualmente fosforilada en las células SNC, participa en la polimerización y estabilización de microtubulos. La hiperfosforilación de determinados residuos se asocia a algunas neuropatías. El presente trabajo tiene por objetivo

determinar la fosforilación de residuos de Tau en muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR).

Mediante ELISA se analizó la fosforilación en T181. Se definió un protocolo de selección los péptidos fosforilados de Tau empleando cromatografía de afinidad (Ga3+ y Fe3+). En este segundo caso hubo que eliminar la albúmina por encontrarse también fosforilada. Los péptidos tripsinizados se sometieron análisis por Espectrometría de Masas (MALDI-Tof).

El análisis por ELISA mostró un aumento de fosforilación del residuo T181 expresado por Tau total en TSP/HAM comparado con controles, otras demencias y pacientes con Creutzfeldt-Jakob. Por WB el residuo T181 en LCR se encontró asociado a una banda de 52 kDa. La columna de Ga3+ retuvo una proteína Tau de 52 kDa determinado por WB mostrando estar fosforilada en T181, T205 y S356. Esta columna asimismo retuvo péptidos obtenidos por digestión triptica. Los péptidos analizados por MALDI-Tof mostraron la presencia de péptidos compatibles con péptidos fosforilables de Tau. La próxima etapa será la secuenciación de dichos péptidos de LCR de TSP/HAM.

Proyecto Fondecyt 105-0784, DI-MULT 04/03-02, MecesusUCH:015.

15 EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN INTRATECAL DE D-SERINA EN LA NOCICEPCIÓN Y EN LA EXPRESIÓN DE C-FOS EN RATAS CON INHIBICIÓN DE LA FUNCIÓN GLIAL (Effect of intrathecal D-serine on nociception and c-Fos expression in rats with inhibited glial function).

Mariqueo, T.¹, Pelissier, T.², Espinoza, K.¹, Laurido, C.¹, Hernández, A.¹ y Constandil, L.¹

¹Laboratorio de Neurobiología, Universidad de Santiago de Chile. ²CBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

D-serina es un ligando para el sitio de glicina de los receptores NMDA, un subtipo de receptor que juega un rol clave en la transmisión del dolor en la médula espinal. Dado que D-serina es secretada principalmente por las células gliales, evaluamos los cambios en la nocicepción y en la expresión de c-Fos del cuerno dorsal inducidos por la administración intratecal de D-serina en ratas normales y con inhibición de la función glial. Ratas Sprague-Dawley fueron inyectadas intratecalmente con el inhibidor glial propentofilina (10µg/10µl/día) o salino (10µl/día) durante 10 días. La nocicepción fue evaluada en el día 11 mediante el test de Randall-Selitto (nocicepción mecánica) y el reflejo nociceptivo C (nocicepción de fibras C). Los resultados mostraron que la administración intratecal de 100µg/10µl de D-serina (i) incrementó la nocicepción en las ratas con inhibición glial tanto en el test de Randall-Selitto como en el reflejo C, (ii) no modificó (Randall-Selitto) o disminuyó (reflejo C) la nocicepción en ratas normales, (iii) aumentó la expresión de c-Fos en las ratas con inhibición glial. Los resultados indican que en la médula espinal de ratas con la función glial inhibida se manifiesta claramente un rol pronociceptivo de D-serina.

Proyecto Fondecyt 1030115.

16 DISTRIBUCIÓN SINÁPTICA DEL RECEPTOR FRIZZLED-1 DE LA VÍA WNT (*Synaptic distribution of Frizzled-1 receptor of the Wnt pathway*).

Grabowski, C., Varela-Nallar, L. e Inestrosa, N.C.

Centro de Regulación Celular y Patología "Joaquín V. Luco" (CRCP), Instituto Milenio MIFAB, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La vía de señalización Wnt juega un papel clave en la regulación de la diferenciación sináptica. La vía de señalización se inicia con la unión del ligando a su receptor de membrana Frizzled (Fz). Se sabe que los receptores Fz, se expresan en el sistema nervioso central, pero se desconoce su localización en neuronas. El objetivo de nuestro trabajo fue determinar la localización del receptor Frizzled-1, que ha sido asociado a la vía de señalización Wnt canónica, en neuronas de rata adulta y en cultivo primario de hipocampo. Por inmunofluorescencia se encontró que Fz-1 colocaliza con proteínas presinápticas y un análisis bioquímico de sinaptosomas, aislados de cerebro de rata adulta, reveló que está enriquecido en terminales sinápticos. Además, utilizando la sonda fluorescente FM4-64 detectamos que Fz-1 está presente en vesículas sinápticas funcionales. Estos datos nos indican que el receptor Fz-1 se encuentra en la región presináptica colocalizando con terminales sinápticos activos. Los resultados sugieren que la activación específica del receptor Fz-1 a nivel presináptico podría estar modulando diferentes procesos neuronales. Actualmente estamos estudiando el efecto de la sobreexpresión del receptor Fz-1 sobre la función sináptica.

Financiado por: FONDAP N° 13980001, MIFAB y Beca post-doctoral CONICYT para LV-N.

17 ROL DE LA CORTEZA SOMATOSENSORIAL S1 EN LA MODULACIÓN DE LA INFORMACIÓN NOCICEPTIVA MENINGEA A NIVEL DEL NÚCLEO CAUDAL DEL TRIGÉMINO EN LA RATA (*Rol of the somatosensory cortex S1 in the modulation of meningeal nociceptive information at level of trigeminus caudal nucleus in rat*).

Tornabene, L.¹, Noseda, R.², Quiroz, M.¹, Villanueva, L.³, Laurido, C.¹, Hernández, A.¹ y Constandil, L.¹

¹Laboratorio de Neurobiología, Universidad de Santiago de Chile. ²Universite d'Auvergne, Francia. ³INSERM U677, Site Pitie Salpetriere, Francia.

La migraña se produce por la activación de nociceptores perivasculares meníngeos que envían información al núcleo caudal del trigémino (NCT). En previos trabajos reportamos dos regiones corticales (S1 e insular) que

proyectan al NCT y que convergen con las entradas sensoriales meníngeas y periorbitales. Esta observación sugiere que las cortezas S1 e insular podrían modular la información sensorial meníngea y por tanto participar en la generación o mantención de la migraña. Estudiamos el efecto de la manipulación farmacológica de la corteza somatosensorial S1 sobre la actividad eléctrica de las neuronas del NCT, en respuesta a la estimulación táctil periorbitar y eléctrica sobre la meninge. Nuestros resultados muestran que estimular la región S1 con bicuculina, incrementa la actividad de las neuronas del NCT en respuesta a la estimulación táctil y eléctrica, además de la expresión de c-Fos en neuronas del NCT. La inyección de KCl en la región S1 disminuye la actividad de las neuronas del NCT en respuesta a ambas estimulaciones. Nuestros resultados sugieren que la región S1 modula positivamente la información sensorial meníngea en el NCT.

Financiado: ALBAN E04D027959CL; ECOS C04S01; FONDECYT 1050099.

18 ALTERACIONES EN LA MEMORIA ESPACIAL, LA PLASTICIDAD SINÁPTICA Y SU RELACIÓN CON ESTRÉS OXIDATIVO DURANTE EL ENVEJECIMIENTO (*Alterations in spatial memory, synaptic plasticity and oxidative stress during aging*).

Ponce, A., Elgueta, C., Palacios, A.G. y Muñoz-Carvajal, P.

Centro de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.

El deterioro cognitivo, que suele acompañar al envejecimiento, podría explicarse por un desbalance oxidativo, afectando la funcionalidad y regulación génica de proteínas involucradas en la plasticidad sináptica (PS), posible sustrato celular de la memoria. En este trabajo estudiamos la PS en rebanadas de hipocampo y la expresión de proteínas sinápticas, correlacionándolas con marcadores de estrés oxidativo (EO), tanto en ratas envejecidas (24 meses), como jóvenes (2 meses) caracterizadas conductualmente en un laberinto espacial de tipo T. Al evaluar los individuos, observamos que las ratas envejecidas no logran alcanzar el criterio de aprendizaje espacial comparado a los jóvenes. A su vez, la potenciación de largo término y la facilitación por pulsos pareados, se encuentran disminuidas, sugiriendo un deterioro de la PS en estos animales. Mediante inmunoblot, encontramos que la proteína Sinapsina I está sobreexpresada, mientras que la proteína PSD95 se encuentra disminuida en animales viejos. Finalmente usando anticuerpos contra aductos de proteínas lipoperoxidadas (Hidroxinonenal) y de ADN oxidado (8-hidroxi-guanosina) detectamos una mayor presencia de estos marcadores en animales viejos. Los datos muestran una relación entre EO observado en animales viejos y las alteraciones de proteínas sinápticas, la PS y la memoria espacial.

Financiamiento: Anillo PBCT ACT-045, FIRCA-NIH.

19 RELACIÓN ENTRE PROPIEDADES ELECTROFISIOLÓGICAS Y MODALIDAD SENSORIAL EN LAS NEURONAS DE GANGLIO PETROSO DE CONEJO (Relationship between electrophysiological properties and sensory modality in the rabbit petrosal ganglion neurons).

Valdés, V.^{1,2}, Iturriaga, R.¹ y Alcayaga, J.²

¹ Facultad Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, y ² Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

El ganglio petroso (GP) posee los somas de neuronas mecano y quimiosensoriales que inervan el seno y el cuerpo carotídeo (CC), respectivamente. Las neuronas quimiosensoriales modifican su descarga por cambios en los gases y el pH sanguíneo, mientras que las mecanosensoriales lo hacen por cambios en la presión arterial. Se ha sugerido que las propiedades electrofisiológicas y la modalidad sensorial están relacionadas, pero no existe una demostración concluyente. Por esto estudiamos las propiedades de neuronas quimio y mecanosensoriales del GP de conejo.

Se extrajeron GPs, conectados a la bifurcación carotídea, de conejos machos New Zealand White anestesiados con ketamina /xilazina (75/7,5 mg/Kg). En GPs superfundidos (pH 7.43, 37°C), se registraron neuronas intracelularmente. En cultivos primarios de GPs, se registró de parches de membrana en modalidad célula completa (pH 7.43, 22°C). Solo las neuronas quimiosensoriales presentan potenciales de acción con una "joroba" en la fase de repolarización y una posthiperpolarización de larga duración. La "joroba" está asociada a la actividad de al menos de un canal de Ca²⁺, que reclutaría canales de K⁺ activados por Ca²⁺, subyacentes a la larga posthiperpolarización. Nuestros resultados sugieren que la forma del potencial de acción estaría relacionada con la modalidad sensorial.

Proyecto FONDECYT 1040638.

20 LA ACTIVACIÓN DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN *IN VIVO* WNT PROTEGE DEL DAÑO COGNITIVO E HISTOLÓGICOS EN UN MODELO DE ALZHEIMER (Activation of the Wnt Signaling Pathway in vivo protects against cognitive and histological damage in a model for Alzheimer's).

Toledo E.M.¹, Theanne, G.², Waldo, C.¹ y Nibaldo, C.I.¹

¹ Centro de Regulación Celular y Patología "Joaquín V Luco" (CRCP). Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. ² Smith College, Neuroscience Program, Northampton, MA USA.

En modelos de la enfermedad de Alzheimer se observa una disminución en la memoria espacial, lo cual está correlacionado con un incremento en la cantidad de placas del péptido β -amiloide (A β) y una disminución de marcadores sinápticos. Previamente, hemos demostrado

que la activación de la señalización *Wnt* protege del daño neurotóxico de agregados de A β *in vitro*. En este trabajo se utilizó un modelo, doble transgénico de la enfermedad de Alzheimer (APP_{swc} + PS1/E Δ 9), los que fueron tratados durante 120 días con litio, un inhibidor de la glicógeno sintasa quinasa (GSK-3 β) y la rosiglitazona, un agonista PPAR γ , ambos procedimientos activan *in vitro* la vía *Wnt*. Posteriormente, se evaluó la memoria espacial, obteniéndose un mejoría frente al animal transgénico control. Un análisis histológico de los cerebros, mostró una disminución de la astrogliosis y del número de placas de A β de mayor tamaño (>1000 μ m²) en favor del aumento de las de menor tamaño (<700 μ m²). Al analizar marcadores sinápticos como PSD-95 y VAMP, y proteínas involucradas en la señalización *Wnt* como b-catenina, se observó un incremento en su expresión versus el animal transgénico control.

Financiado por FONDAP N°13980001 y MIFAB, beca doctoral Conicyt a WC.

21 POSIBLE ROL DEL NÚCLEO ARCOPALLIUM EN LA MODULACIÓN DE LOS MOVIMIENTOS SACÁDICOS DE LA PALOMA (*COLUMBA LIVIA*): ESTUDIO NEUROANATÓMICO Y FISIOLÓGICO (Possible role of the nucleus Arcopallium in saccadic movements modulation in the pigeon (*Columba livia*): A neuroanatomic and physiological study).

Pottstock-Vidal, H., Letelier, J.C., Watanabe, S.* y Mpodozis, J.

Laboratorio de Neurobiología y Biología del Conocer. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile. *Comparative Cognitive Neuroscience Laboratory. KEIO University. Tokyo, Japan.

Aunque en aves el núcleo Arcopallium (antes llamado Archistriatum, ubicado ventro-lateralmente en la mitad mas caudal del telencéfalo), ha sido poco caracterizado, su rol en ciertas funciones dentro de las vías descendentes sensoriomotoras y somatosensoriales, ha sido descrito principalmente en aves paseriformes y lechuzas. En estas últimas, datos electrofisiológicos muestran que la microestimulación de la zona del Arcopalio involucrada en la orientación espacial atencional de la cabeza (*Arcopallial Gaze Fields*; AGF), produce movimientos sacádicos de esta. Datos anatómicos indican que neuronas del AGF proyectan directamente hacia los núcleos tegmentales del tronco encefálico que median los cambios posturales que fijan la mirada.

En este trabajo evaluamos la conectividad y las propiedades electrofisiológicas del Arcopalio en palomas, aves cuyas conductas se presentan sesgadas visualmente y no auditivamente como es el caso de las lechuzas. Principalmente, se encontró que el Arcopalio se conecta ipsilateralmente con zonas telencefálicas, talámicas y núcleos tegmentales que han sido asociados al sistema oculomotor. Fisiológicamente se encontró, en animales despiertos, una correlación entre la actividad de las neuronas del Arcopalio y los movimientos sacádicos oculares.

Fondecyt N° 1030522 y Mecesus UCH 0306.

22 LA RED ISTMOTECTAL EN AVES: UN ESTUDIO *IN VITRO* (The avian isthmotectal network: an *in vitro* study).

Faunes, M., Ahumada, P., Mpodozis, J., Letelier J.C. y Marín, G.

Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

El Tectum óptico (TO) es la principal estructura retino-recipiente en aves. Las principales eferencias que origina son hacia el tálamo y hacia los núcleos del complejo del istmo, con los cuales está recíprocamente conectado. Se ha propuesto que el complejo del istmo potencia las respuestas visuales en regiones discretas del mapa visual tectal, mediante una modulación colinérgica generada por sus divisiones parvocelular (Ipc) y semilunaris (SLu), a la vez que suprime las respuestas en el resto de TO a través de una modulación GABAérgica generada su división magnocelular (Imc).

Con el objetivo de comprender con mayor detalle la modulación de Ipc sobre las respuestas visuales en TO, hemos montado un sistema experimental para hacer registros en rebanadas de mesencéfalo de pollo. Mediante la inyección de cristales de biocitina en TO e Ipc, mostramos que las rebanadas contienen el circuito TO-Ipc completo y funcional.

La estimulación eléctrica de Ipc genera potenciales evocados en TO, en los que se distingue un componente presumiblemente presináptico, y otro postsináptico de mayor latencia, que es suprimido al aplicar bloqueadores y antagonistas colinérgicos.

La amplitud de los potenciales evocados en TO por estimulación eléctrica de las fibras retinianas aumenta con la aplicación de acetilcolina al baño. Usando pulsos pareados, mostramos el efecto modulador de Ipc sobre estas respuestas.

FONDECYT 1061108, CONICYT 21050932, MECESUP 409.

23 INFLUENCIA DE LA POLIESTIMULACIÓN SENSORIO-MOTORA COMO FACTOR COMPENSADOR DE LA MALNUTRICIÓN INTRAUTERINA EN TAREAS DE APRENDIZAJE COMPLEJO EN CAJA SKINNER (Influence of sensorimotor stimulation as a compensating factor of intrauterine malnutrition in complex learning tasks in Skinner box).

Burgos, H.¹, Cofré, C.¹, Martínez, J.¹, Reyes, L.¹, Rodríguez, S.¹, Zapata, C.¹, Gaete, P.¹, Núñez, K.¹, Meza, K.¹, Fernández, V.², Soto-Moyano, R.³, Pérez, H.³ y **Hernández, A.**⁴

¹ Escuela de Psicología, Universidad de las Américas. ² Centro de Educación Montessori. ³ INTA, Universidad de Chile. ⁴ Laboratorio de Neurobiología, Universidad de Santiago de Chile.

La sustitución de proteínas por carbohidratos y lípidos, especialmente en el período gestacional, otorga el carácter oculto de los efectos de la malnutrición en el cerebro. Alteraciones del sistema noradrenérgico central a nivel de neocorteza e hipocampo han sido descritas. Por otra parte, la poliestimulación sensorio-motora provoca cambios favorables en las ramificaciones neuronales que pueden incidir en el mejoramiento de aspectos cognitivos conductuales. Dos grupos de ratas malnutridas *in útero* fueron sometidas a poliestimulación sensorio-motora desde el día 3 de nacimiento. Un tercer grupo estuvo constituido por ratas normales poliestimuladas y un cuarto grupo fue control. Al día 60 fueron medidos en la caja Skinner, a través del número de respuestas exitosas al completar una tarea compleja. Los resultados muestran un incremento significativo del rendimiento en sujetos normales poliestimulados respecto al control; igualmente, sujetos con privación nutricional muestran avances significativos cuando son poliestimulados, acercándose al grupo control. Estos resultados sugieren que la poliestimulación ejerce un rol compensador de deterioros cognitivos causados en el sistema nervioso central por la privación nutricional.

Proyectos UDLA 2006-2007 y Fondecyt 1070028.

24 LA MALNUTRICIÓN PROTEICA PRENATAL REDUCE LA DENSIDAD DE ADRENORRECEPTORES BETA Y LA POTENCIACIÓN DE LARGO PLAZO EN LA CORTEZA OCCIPITAL DE LA RATA: EFECTO COMPENSADOR DEL AGONISTA BETA-2 CLENBUTEROL (Prenatal protein malnutrition reduces beta-adrenoceptor density and long-term potentiation in the rat occipital cortex: Compensating effect of the beta-2 agonist clenbuterol).

Mondaca, M.¹, Soto-Moyano, R.¹, Serrano, N.¹, Valladares, L.¹, Sierralta, W.¹, Pérez, H.¹ y Hernández, A.²

¹ INTA, Universidad de Chile. ² Laboratorio de Neurobiología, Universidad de Santiago de Chile.

Noradrenalina central incrementa la potenciación de largo plazo neocortical vía adrenoceptores β , en particular del subtipo β_2 . La malnutrición proteica prenatal induce reducciones significativas de la liberación de noradrenalina en la neocorteza de ratas adultas, sugiriendo que los déficits de memoria visuo-espacial que presentan esos animales pueden deberse a una reducción de estimulación β adrenérgica. Se estudió en la corteza occipital de ratas de 60 días de edad que fueron sometidas malnutrición prenatal: (i) la densidad de adrenoceptores β mediante técnicas de radioligando (³H-dihidroalprenolol); (ii) la potenciación de largo plazo evocada *in vivo* mediante estimulación eléctrica tetanizante transcallosal; y (iii) el posible efecto compensador del agonista específico β_2 clenbuterol en la potenciación de largo plazo cortical. Los resultados mostraron que la malnutrición proteica prenatal disminuyó la densidad de adrenoceptores β y redujo la potenciación sináptica en la corteza occipital. La administración i.p. de clenbuterol restauró la potenciación de largo plazo en los animales malnutridos. Se sugiere que la disminución de la expresión de adrenoceptores β neocorticales, consecutiva a malnutrición proteica prenatal, afecta los mecanismos neuroplásticos que sustentan la potenciación de largo plazo neocortical.

Fondecyt 1070028.

25 EXCITACIONES INDUCIDAS POR GABA EN EL CUERPO CAROTÍDEO Y GANGLIO PETROSO DEL CONEJO (GABA-induced excitation in the rabbit carotid body and petrosal ganglion).

Vargas, R.V.¹, Del Río, R.², Moya, E.², León, C.G.², Arroyo, J.¹, Iturriaga, R.² y Alcayaga, J.¹

¹ Laboratorio Fisiología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile y ² Laboratorio Neurobiología, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La actividad quimiosensorial carotídea es desencadenada por transmisores, liberados por las células glómicas del cuerpo carotídeo (CC), actuando en terminales de neuronas del ganglio petroso (GP) que las inervan. GABA inhibiría la quimiotransducción, pero se desconoce su papel en la generación de la actividad quimiosensorial. Por esto, caracterizamos las respuestas inducidas por GABA en GPs y CCs del conejo.

GPs y CCs de conejos machos New Zeland White, anestesiados con ketamina/xilazina (75/7,5 mg/kg), se extrajeron, colocaron en una cámara y se registró la frecuencia de descarga del nervio carotídeo (f_{NC}). GPs se superfundieron con solución Hanks equilibrada con aire y CCs se perfundieron-superfundieron con solución Tyrode equilibrada con aire y 5% CO₂, tamponadas con Hepes 5mM (pH 7.43; 38°C). GABA y baclofén (agonista GABA_B) se aplicaron a los GPs y CCs y los antagonistas GABA_A, picrotoxina y bicuculina, en el medio. GABA evocó aumentos dosis-dependiente de f_{NC} , efecto bloqueado en forma reversible por los antagonistas. Baclofén no tuvo efecto.

Estos resultados muestran que GABA, aplicado al GP o al CC, aumenta f_{NC} , efecto que estaría mediado por receptores GABA_A, sugiriendo que GABA participaría en la generación de la actividad quimiosensorial del conejo.

Financiamiento: FONDECYT 1040638.

26 MODELO DE HIPOXIA INTERMITENTE CRÓNICA EN RATAS (Model of chronic intermittent hypoxia in rats).

Vio, F., Del Río, R., Arias, P.¹, Alcayaga, J. y Iturriaga, R.

Laboratorio Neurobiología, Facultad Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. ¹Laboratorio Fisiología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Se ha propuesto que la hipoxia intermitente crónica (HIC) potencia las respuestas ventilatorias a la hipoxia aguda y produce hipertensión. Sin embargo, cuando sometimos ratas a ciclos de 10% O₂ por 1 min seguidos de normoxia por 4 min, durante 8 horas por 10 días en una cámara de 35L, no encontramos potenciación ventilatoria ni aumento de la presión arterial con respecto al grupo "sham". Un problema importante en estos experimentos es el estrés causado por el ruido del compresor de aire y las válvulas solenoides que permiten la inyección alternada de N₂ y aire. Por lo tanto, diseñamos un nuevo sistema para producir HIC más silencioso, formado por 12 cámaras individuales de 2.2L, donde el flujo de aire se mantiene con ventiladores. Los ventiladores se detienen cada 5 min y se inyecta 100% N₂ por 1 min, reduciendo el O₂ al 6%. Los ciclos de hipoxia-normoxia se repiten por 8 horas, mediante un temporizador computarizado que maneja las válvulas y los ventiladores. Hemos expuesto ratas Sprague-Dawley machos de 200 g a este protocolo. Estudiamos en las ratas despiertas las respuestas ventilatorias inducidas por hipoxia aguda (1-10% O₂ por 15-60 s), registramos la presión arterial con un transductor de presión en la cola y medimos la glicemia. Los resultados muestran que a los 12 días de exposición a HIC, las respuestas ventilatorias al 100% N₂ se encuentran aumentadas en un 36.7% (p< 0.05) con respecto a las respuestas medidas al segundo día de exposición HIC. Sin embargo, la presión arterial no se modificó. Nuestros resultados sugieren que se requiere un tiempo mayor de exposición a la HIC para producir hipertensión.

Financiamiento: FONDECYT 1070584.

27 EXPRESIÓN DE TNFR-1 EN EL CUERPO CAROTÍDEO Y EN EL COMPLEJO GANGLIONAR PETROSO-YUGULAR-NODOSO DE LA RATA (TNFR-1 expression in rat carotid body and nodose-petrosal-jugular ganglion complex).

Simon, F., Fernández, R., Álvarez, P., Becerra, A. y Squicciarini, V.

Laboratorio de Fisiología, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile.

Durante la inflamación sistémica, cambios en los niveles circulantes de TNF-*alpha* modifican la actividad de las neuronas del núcleo del tracto solitario (NTS), a través de neuronas aferentes vagales, que transmiten hacia el sistema nervioso central señales periféricas generadas por células del sistema inmune. Sin embargo, ratas bivagotomizadas igualmente aumentan la actividad del NTS en respuesta a la inflamación, lo que sugiere la participación de una vía aferente adicional. El cuerpo carotídeo (CC) y el complejo ganglionar petroso-yugular-nodoso (cgPYN) conforman una vía aferente sensorial que proyecta hacia el NTS, de la cual se desconoce la expresión de receptores a TNF-*alpha*. Nuestro objetivo fue demostrar la expresión del receptor tipo-1 para TNF-*alpha* (TNFR-1) en el CC y en el cgPYN de la rata. Nuestros resultados muestran que el CC y el cgPYN extraídos de ratas anestesiadas con pentobarbitona (60 mg/Kg I.P.) expresan el mRNA de TNFR-1 determinado mediante RT-PCR. Además, mediante inmunodetección se determinó la expresión de la proteína de TNFR-1 en cultivos primarios de CC y el cgPYN. Estos resultados demuestran que las células que componen el CC y el cgPYN expresan TNFR-1, proponiendo la acción directa de TNF-*alpha*.

Financiado por: DI-UNAB 03-06/R (FS) y 02-06/R (RF).

FISIOLOGÍA

28 INDUCCIÓN DE HEME OXIGENASA-1 (HO-1) POR GONADOTROFINA CORIÓNICA HUMANA (HCG) EN CÉLULAS ENDOTELIALES DE LA VENA UMBILICAL HUMANA (HUVEC) (Induced HO-1 expression by human chorionic gonadotropin in human umbilical vein endothelial cells).

Aguilar, R., Tobar, I., Concha, A. y Gallardo, V.

Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción. Financiado por Proyecto. DIUC 24.33.97-1.0

La hCG es esencial para el desarrollo vascular de la placenta y la remodelación de los vasos uterinos. La heme oxigenasa (HO) cataliza la oxidación de heme produciendo cantidades equimolares de monóxido de carbono (CO) biliverdina y ión ferroso. HO-1, isoforma inducible de HO, participa en la regulación de procesos tales como angiogénesis, proliferación celular, apoptosis e induce tolerancia inmunológica. Reducidos niveles de HO-1 se han encontrado en preeclampsia y RCF, patologías que se asocian con fallas en la placentación y en modelos animales de aborto. El propósito de esta investigación es explorar una posible relación funcional entre hCG y HO-1 y demostrar que hCG es un agente inductor de HO-1. Cultivos primarios de HUVEC, fueron expuestos a concentraciones fisiológicas de hCG (0,5-100 UI/ml), por distintos tiempos. La abundancia de la proteína HO-1 fue detectada por Western Blot. La exposición a hCG produjo un aumento en la abundancia relativa de HO-1 dependiente del tiempo y de la concentración de la hormona, a través de una cascada que involucraría cAMP. Estos resultados sugieren que hCG regula la expresión de HO-1 cuya actividad podría ser relevante en etapas iniciales de la gestación.

29 LOS CANALES DE NA⁺ DEPENDIENTES DE VOLTAJE PARTICIPAN EN EL MECANISMO VASODILADOR ENDOTELIAL ACTIVADO POR ACETILCOLINA (Voltage-dependent Na⁺ channels are involved in the endothelial vasodilator mechanism activated by acetylcholine).

Ortiz, F.¹, Gaete, P.¹, Prieto, C.P.¹, Duling, B.R.² y Figueroa, X.F.¹

¹ Departamento de Ciencias Fisiológicas. FCB, Pontificia Universidad Católica de Chile. ² University of Virginia, Charlottesville, USA.

Recientemente demostramos que los canales de Na⁺ dependientes de voltaje (Na_v) son esenciales para la conducción de las señales vasodilatadoras endoteliales en las arteriolas del cremáster de ratón (Figueroa et al., Am. J.

Physiol. 2007). En este trabajo usamos la preparación del músculo cremáster de ratón *in vivo*, la red arterial mesentérica de rata aislada y cultivos de células endoteliales del mesenterio de rata, para estudiar la participación de los Na_v en la vasodilatación inducida por acetilcolina (ACh). El anestésico local bupivacaina (500μM) bloqueó la rápida vasodilatación de las arteriolas del cremáster inducida por la microaplicación de un pulso de ACh (300ms). En la red arterial mesentérica precontraída con fenilefrina, ACh (0,01-10μM) evocó una vasodilatación concentración-dependiente (17,0±6,3%-82,5±5,7%). Consistente con el efecto de bupivacaina, el reemplazo equimolar del Na⁺ por colina bloqueó la relajación inducida por ACh. En el mesenterio se identificó por inmunotransferencia la expresión de las isoformas Na_v1.2, 1.6 y 1.9. La isoforma Na_v1.2 también se detectó en los cultivos primarios de células endoteliales del mesenterio. Estos resultados sugieren que los Na_v son fundamentales en la vasodilatación dependiente del endotelio inducida por ACh en los vasos de resistencia.

FONDECYT 11060289, VRAID 2006/14 inicio y BM14/2007.

30 LA ACTIVACIÓN DE MTOR POR TESTOSTERONA REQUIERE AUMENTOS DEL CA²⁺ INTRACELULAR EN CARDIOMIOCITOS (Testosterone-induced mTOR activation is mediated by intracellular Ca²⁺ increase in cardiomyocytes).

Altamirano, F., Oyarce, C. y Estrada, M.

ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La testosterona posee efectos anabólicos en el corazón, pero los mecanismos moleculares son poco conocidos. La vía mTOR regula positivamente la síntesis de proteínas y ha sido involucrada en hipertrofia cardíaca. Resultados previos de nuestro laboratorio muestran que testosterona induce la activación de mTOR en cardiomiocitos. En este trabajo investigamos la participación del Ca²⁺ intracelular inducido por testosterona en la activación de la vía mTOR. La proteína mTOR puede ser activada por PI3K/Akt o MEK/ERK1/2. La testosterona aumentó la fosforilación de Akt1/2 y ERK1/2. La participación de estas quinasas en la activación de mTOR se determinó midiendo la fosforilación de sus blancos río abajo, S6K1 y 4E-BP1, en presencia de inhibidores para Akt y MEK/ERK1/2 (Akt-inhibitor-X y PD98059). La fosforilación de S6K1 y 4E-BP1 fue bloqueada solo por la inhibición de ERK1/2. La activación de ERK1/2, S6K1 y 4E-BP1 fue bloqueada por U73122, 2-APB (inhibidores de la vía IP₃) y por quelantes de Ca²⁺ intracelular (BAPTA y sobreexpresión de la proteína Parvalbúmina). Adicionalmente la activación de estas quinasas fue inhibida por toxina pertussis (inhibidor de proteína G). Estos resultados demuestran que el aumento de Ca²⁺ intracelular, inducido por testosterona, activa ERK1/2 y la vía mTOR, sugiriendo un importante papel de esta vía en los efectos anabólicos de la testosterona en cardiomiocitos.

FONDECYT 1060077.

31 NUCLEÓTIDOS EXTRACELULARES REGULAN LOS TRANSITORIOS DE CALCIO INDUCIDOS POR ESTÍMULO ELÉCTRICO TETÁNICO EN CÉLULAS MUSCULARES ESQUELÉTICAS (Exogenous nucleotides modulate calcium signals evoked by tetanic electrical stimulation of skeletal muscle cells).

Buvinic, S. y Jaimovich, E.

CEMC, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La estimulación eléctrica tetánica de miotubos genera una señal rápida de calcio relacionada con el receptor de Ryanodina, seguida de una onda lenta de calcio (60-100s más tarde) dependiente de la vía fosfolipasa C/inositol 1,4,5-trifosfato. Las células musculares liberan ATP al medio extracelular durante la contracción muscular. Se ha descrito la presencia de receptores metabotrópicos P2Y y canales iónicos P2X en estas células, que responden a nucleótidos extracelulares. Con estas evidencias proponemos que los nucleótidos pudiesen ser una señal autocrina que regule las señales de calcio del músculo esquelético. Demostramos que la aplicación de nucleótidos exógenos (ATP, ADP), promueve la aparición de transitorios de calcio tanto en cultivo primario de músculo esquelético de rata, como en la línea celular C2C12 diferenciada. El bloqueo no selectivo de receptores P2Y y P2X utilizando Suramina (10-100 μ M) disminuye significativamente tanto la onda rápida como la onda lenta de calcio inducidas por estimulación tetánica de miotubos de rata. Lo mismo ocurre al incubarse estas células con 10 μ M MRS2179, un antagonista selectivo para el subtipo de receptor P2Y₁. Estos resultados sugieren que la liberación endógena de nucleótidos, por activación de receptores de la superficie celular, regula la señalización por calcio inducida durante la actividad del músculo esquelético.

FONDAP 15010006.

32 CAPTOPRIL REVIERTE PARCIALMENTE LOS EFECTOS DE GLUCOSA ALTA EN LA SEÑALIZACIÓN ACTIVADA POR BK (Captopril partly reverses glucose effects on BK activated signaling).

Hernández, R. y Velarde, V.

BCF. Pontificia Universidad Católica de Chile.

Bradicinina (BK) es el principal efector del sistema caliceína-cinina y participa en la regulación de la función endotelial. Esta cinina promueve la activación de diferentes vías de transducción que están alteradas en individuos diabéticos. Captopril, un inhibidor de la enzima convertidora de Angiotensina revierte algunas alteraciones observadas en Diabetes.

Para identificar los mecanismos por los cuales glucosa modifica la respuesta a BK en células endoteliales analizamos la respuesta de diferentes moléculas que participan en la señalización intracelular de BK en la línea endotelial EAhy 926 cultivada en glucosa 5 (GN) o 25 mM (GA), en presencia o ausencia de Captopril.

La actividad de PKC es menor en GA. Captopril no revierte este efecto. En GN, BK disminuye la actividad de PKC (180 min), y en GA la aumenta (240 min). Este efecto es revertido por Captopril. Los niveles basales de NO son iguales en GA y GN. BK incrementa la acumulación de NO en ambas condiciones. Captopril bloquea este aumento. Los niveles basales de PGE2 son mayores en GA. BK y Captopril no los modifican. Los niveles de PGF1a no se modifican bajo ninguno de los tratamientos.

En resumen la respuesta a BK es alterada en GA. La presencia de Captopril modifica esta respuesta, sin embargo su efecto es diferencial dependiendo del parámetro que se mida.

33 SEÑALES LENTAS DE CALCIO INDUCIDAS POR ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA EN FIBRAS MUSCULARES ADULTAS (Slow-calcium signals induced by electrostimulation in adult skeletal muscle fibers).

Casas, M., García, I., Figueroa, R. y Jaimovich, E.

CEMC, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

En miotubos, estímulos tetánicos inducen dos señales de Ca²⁺ independientes, una señal rápida asociada a la contracción y dependiente de los receptores de rianodina y una señal lenta, dependiente de los receptores de dihidropiridinas (DHPR) e IP₃ y asociada a eventos transcripcionales. Sin embargo, hasta ahora, esta señal lenta de Ca²⁺ no ha sido reportada en músculo adulto.

En este trabajo, mostramos que en fibras adultas del flexor digitorum brevis (FDB), una estimulación eléctrica de 270 pulsos a 45 Hz, induce una señal rápida de Ca²⁺ ligada a la contracción y una señal más lenta, similar a la descrita en miotubos primarios. En un subgrupo de experimentos, esta señal lenta se presenta fusionada con la señal rápida, observándose en forma de retardo en el retorno a los niveles basales de fluorescencia. Es interesante que este componente lento fue inhibido por 25 μ M nifedipino, sugiriendo un rol para el DHPR en la generación de la misma.

En músculos de ratón, encontramos que los distintos tipos de receptores de IP₃ son expresados de manera diferencial entre los distintos tipos de fibras musculares. El conjunto de resultados nos permite apoyar la hipótesis de un rol de estas señales de Ca²⁺ ligadas al establecimiento de fenotipos específicos en fibras musculares adultas.

FONDAP 15010006, Bicentenario-PSD24.

34 LOS RECEPTORES DE ADENOSINA A₁ Y A_{2B} CONTROLAN LA LIBERACIÓN DE VEGF-A DESDE GLOMÉRULOS Y PODOCITOS DE RATA (Adenosine receptors A₁ and A_{2B} regulate VEGF-A release from rat glomeruli and podocytes).

Valladares, D. y San Martín, R.

Laboratorio de Patología Molecular, Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

El factor de crecimiento de endotelio vascular-A (VEGF) se expresa constitutivamente en glomérulos renales, principalmente en podocitos. El incremento en la actividad de VEGF provoca disfunción glomerular y es un factor patogénico en la nefropatía diabética. Actualmente se desconoce el control de la liberación glomerular de VEGF. Métodos. Glomérulos renales de rata fueron purificados utilizando tamices. Los podocitos fueron cultivados en medio DMEM/F12 (10% SBF) a 37°C y 5% CO₂ desde glomérulos descapsulados. Los glomérulos y podocitos fueron expuestos a 1µM NECA, 50nM MRS1754, 30nM CPA y/o 30nM DPCPX en medio HAM/F10 por 6h. La liberación de VEGF-A se cuantificó mediante ELISA. Resultados. El tratamiento con NECA aumentó la liberación de VEGF-A en glomérulos (23±0,7 basal v/s 119±0,7 ng/ml, *P*<0,05) y podocitos (62±20 basal v/s 190±8 ng/ml, *P*<0,05) lo cual fue bloqueado utilizando MRS1754. CPA disminuyó la liberación en glomérulos (22,5±2,9 basal v/s 9,5±2,8 ng/ml, *P*<0,05) y podocitos (62±20 basal v/s 23±8 ng/ml, *P*<0,05) lo cual fue bloqueado por DPCPX. Conclusiones. Cambios en la biodisponibilidad extracelular de adenosina en los glomérulos renales puede modificar la liberación de VEGF-A mediante la activación de los receptores de adenosina A₁ y A_{2B}.

Financiamiento: FONDECYT1070614, Fundación Andes C14060/50 y DI-UACH S-2006-67.

35 PAPEL DE LOS RECEPTORES DE ADENOSINA SOBRE LA EXPRESIÓN DE LAS MOLÉCULAS DE ADHESIÓN VCAM-1 Y MCP-1 EN ENDOTELIO CORONARIO DE RATA (Role of adenosine receptors on the expression of VCAM-1 and MCP-1 adhesion molecules in rat coronary artery endothelial cells).

Montecinos, P. y San Martín, R.

Laboratorio de Patología Molecular, Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

La enfermedad coronaria (CAD) está asociada con una acelerada aterosclerosis y aterotrombosis. Varios factores contribuyen al estado proaterogénico y protrombótico, entre ellos la expresión de las moléculas de adhesión

VCAM-1 y MCP-1. Se desconoce el papel de adenosina y sus receptores sobre la expresión de estas moléculas. Métodos. Se estandarizó el cultivo primario de células endoteliales de coronarias de rata (rCAEC) mediante perfusión reversa del corazón con colagenasa tipo I (1mg/ml). rCAEC fueron cultivadas en medio M199 suplementado con 20% SFB a 37°C y 5% CO₂. Las células fueron expuestas a 1mM NECA y 50nM MRS1754 por 15h. El contenido de transcritos de VCAM-1 y MCP-1 se determinó mediante RT-PCR semicuantitativo. Resultados. El cultivo celular presentó la morfología característica de empedrado y contiene el factor VIII. rCAEC expresan los subtipos A₁ y A_{2B} de los receptores de adenosina. La exposición de rCAEC a NECA produce una disminución de la abundancia de los transcritos VCAM-1 (38,2%) y MCP-1 (42,5%). Este efecto pudo ser parcialmente bloqueado utilizando MRS1754. Conclusiones. La activación del receptor de adenosina A_{2B} reduce el contenido de transcritos de VCAM-1 y MCP-1 en rCAEC.

Financiado por proyecto FONDECYT1070614.

36 DAÑO PULMONAR INDUCIDO POR COBRE O CINC Y SU EVENTUAL INTERACCIÓN CON OZONO (Pulmonary damage induced by copper or zinc and their eventual interaction with ozone).

Medina, C., Miller, M.E., Dussaubat, N., González, S. y Oyarzún, M.

Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Departamento Patología, Pontificia Universidad Católica y USACH.

La toxicidad pulmonar aguda del material particulado del aire atribuida a su contenido de metales y especialmente al cinc, podría aumentar con la exposición a ozono (O₃). **Objetivo:** evaluar el efecto agudo de la instilación intratraqueal de cobre o cinc sobre el pulmón de rata y su eventual modificación con la exposición a O₃. **Métodos:** 85 ratas Sprague-Dawley de dos meses, fueron instiladas con 5 µg de CuSO₄ o ZnSO₄, y 36h después fueron expuestas a 0,25, 0,5 o 1ppm de O₃ por 4h. Los controles fueron instilados con NaCl 0,9% y respiraron aire filtrado. Del lavado broncoalveolar se determinó recuento diferencial de células, proteínas totales y actividad de fosfatasa alcalina (FA). Además, se realizó estudio histopatológico y determinación de malondialdehído. **Resultados:** La exposición a O₃ provocó inflamación neutrofílica. La instilación con ZnSO₄ se asoció a incremento de células totales, neutrófilos, macrófagos, FA y malondialdehído y con CuSO₄ a incremento de neutrófilos, FA y malondialdehído. La histopatología mostró daño alveolar difuso leve e inflamación postexposición a O₃. **Conclusiones:** CuSO₄ también produce alteraciones pulmonares aunque en menor grado que ZnSO₄. No se observó efecto sinérgico entre la instilación de Cu⁺² o Zn⁺² y la exposición a O₃.

Proyecto FONDECYT N°1061085.

37 CANALES DE CLORURO DEPENDIENTES DE CALCIO EN EL COLON DE RATÓN (Calcium-dependent chloride channels on mice colon).

Cisterna, D., Flores, C.A. y Niemeyer, M.I.

Centro de Estudios Científicos (CECS).

La secreción intestinal de cloruro se ve severamente afectada en la fibrosis quística. En los modelos animales de la enfermedad, como en pacientes humanos, se ha observado que los individuos con mejor sobrevida presentan corrientes de cloruro activadas por calcio, las que hasta la fecha no han sido caracterizadas. Existen 2 familias de genes que son candidatos a codificar este tipo de canales, la de los ClCa y la de las bestrofinas (Vm). Decidimos entonces buscar estos canales en el epitelio del colon.

Criptas colónicas fueron aisladas desde ratones y se procedió a generar cDNA. También se estudiaron las corrientes nativas utilizando técnicas electrofisiológicas de cámara de Ussing para epitelio intacto y patch-clamp en configuración célula-entera para identificar las corrientes en las criptas.

La RT-PCR demostró la presencia los siguientes transcritos correspondientes a CCaCs en el colon: mClCa1, mClCa2, mClCa3, mClCa4, mClCa6, Vm1, y Vm2. Los estudios en cámara de Ussing muestran actividad para un canal activado por hipotonidad inhibible por ácido niflúmico, características de algunos miembros de la familia de los ClCa, mientras que las corrientes observadas de criptas aisladas son de tipo rectificadoras externas no inhibidas por cadmio, características que calzan con las observadas para corrientes de cloruro activadas por calcio.

La búsqueda por RT-PCR y los estudios funcionales de electrofisiología demostraron que los CCaC están presentes en el epitelio del colon. En estos momentos estamos ampliando los experimentos de patch-clamp en criptas e incluiremos en estos estudios modelos animales de fibrosis quística.

Financiado por Fondecyt 1061069

38 ERITROPOYESIS PRIMITIVA Y DEFINITIVA OCURRE EN LA PARED DEL SACO VITELINO HUMANO (Primitive and definitive erythropoiesis occur in the human yolk sac wall).

Pereda, J.

Unidad de Embriología Humana, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago de Chile.

En humano, dos tipos de eritropoyesis se expresan en el curso del desarrollo: una primitiva (EP) que ocurre durante el período embrionario caracterizada por la generación de eritroblastos nucleados, y otra definitiva (ED) que ocurre en el período fetal caracterizada por la producción de células sanguíneas anucleadas. El origen extraembrionario de la EP a partir de los islotes sanguíneos que se diferencian en el mesénquima de la pared del saco vitelino

(SV) está bien establecido, así como el origen intraembrionario de la ED que se inicia una vez que el SV transfiere su función hematopoyética al hígado. En este trabajo entregamos evidencias morfológicas que señalan la presencia de eritrocitos maduros en la pared del SV humano. Sacos vitelinos de embriones entre 4 y 8 semanas de desarrollo, colectados desde salpingectomías realizadas debido a embarazo ectópico tubario, fueron analizados. Las muestras fueron fijadas en glutaraldehído y tratadas de acuerdo a las técnicas convencionales para microscopía de luz, transmisión y microscopía electrónica de barrido. Cortes semifinos se tiñeron con azul de toluidina. Los resultados que se presentan demuestran por primera vez en humano, la existencia de eritropoyesis definitiva solo en el sistema vesicular endodérmico de la pared del SV a partir de la semana 5 de desarrollo embrionario. Proyecto continuidad DICYT.

39 ADENOSINA DISMINUYE EL EFECTO CONTRACTIL DE ATP EN VENA UMBILICAL HUMANA MEDIANTE LA SÍNTESIS DE ÓXIDO NÍTRICO POR EL ENDOTELIO (Adenosine decreases ATP-contractile effect of human umbilical vein by endothelial-derived nitric oxide).

Cifuentes, F.¹, Bravo, J.¹, Palacios, J.² y Sobrevia, L.³

¹ Laboratorio de Fisiología Experimental, Universidad de Antofagasta. ² Departamento de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad Católica del Norte. ³ Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL), Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Adenosina aumenta síntesis de óxido nítrico (NO) en cultivos primarios de endotelio de vena umbilical humana (HUVEC). Las variaciones del aporte de sangre al feto dependen en una fracción importante de la reactividad de las venas umbilicales. Se estudió la reactividad de anillos de vena umbilical *in vitro* y la capacidad de síntesis de NO en cultivos primarios de HUVEC en respuesta a adenosina. Anillos de vena umbilical fueron montados en una cámara de órgano aislado para determinar tensión. Las preparaciones fueron expuestas a adenosina (10 µM), ATP (100 µM), o fueron preincubadas (30 seg) con adenosina y luego expuestas a ATP. ATP contrae los anillos de vena umbilical (90% respecto a contracción máxima por KCl 90 mM), un efecto que fue parcialmente bloqueado por adenosina (50%). ATP contrae el anillo de vena umbilical independientemente de la presencia de endotelio, pero el efecto bloqueador de adenosina dependió de la presencia de endotelio. Adenosina aumenta la síntesis de NO (formación de L-citrulina) y fosforilación de NO sintasa endotelial (eNOS) en serina¹¹⁷⁷ (Western blot) en cultivos de HUVEC. Adenosina disminuye la contracción inducida por ATP requiriendo endotelio intacto y actividad de eNOS en vena umbilical humana.

DI-1339-07 UNIVERSIDAD DE ANTOFAGASTA, FONDECYT-1070865, VRAID-BM16/2007.

40 LA EXPRESIÓN Y ACTIVIDAD DE INOS ES REGULADA POR ADENOSINA VÍA RECEPTOR DE ADENOSINA A_{2A} EN ENDOTELIO MICROVASCULAR DE PLACENTA HUMANA EN PREECLAMPSIA (Expression and activity of inducible nitric oxide synthase are regulated by A_{2A} adenosine receptor in placental microvascular endothelium from preeclampsia).

Escudero, C., Acurio, J., Casanello, P. y Sobrevia, L.

Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL) y Laboratorio de Investigación en Perinatología (PRL), Departamento de Obstetricia y Ginecología, CIM, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Preeclampsia se asocia con reducción del flujo placentario y aumento de la adenosina plasmática. En endotelio microvascular de placenta humana (hPMEC) normales y preclámpicas determinamos el efecto del agonista (CGS-21680, 30 nM) y antagonista (ZM-241385, 100 nM) del receptor de adenosina A_{2A}, sobre la actividad y expresión de iNOS. En preeclampsia aumenta la actividad de NOS (~4 veces), y disminuye la abundancia de la proteína (~3 veces) y del mRNA (~25%) para iNOS. hPMEC normales muestran menor fosforilación en tirosinas (~66%) respecto preeclampsia. CGS-21680 disminuye (~30%) la abundancia del mRNA sin cambiar la proteína ni la actividad de iNOS en células normales, mientras que reduce la abundancia del mRNA (~25%) y bloquea la estimulación de la actividad de NOS en preeclampsia, sin cambiar la abundancia de la proteína. ZM-241385 no altera el efecto de CGS-21680 en preeclampsia. Así, los receptores de adenosina A_{2A} participan en la regulación de la expresión y actividad de iNOS en hPMEC de embarazos con preeclampsia.

CE (beca doctoral MECESUP-PUC), FONDECYT 1070865, VRAID BM16/2007 y BM14/2007.

41 EXPRESIÓN DE MOLÉCULAS DE LA VÍA METABÓLICA INDUCIDA POR INSULINA EN ENDOMETRIOS DE MUJERES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO (SOP) (Expression of signaling molecules of insulin pathway in endometria from PCOS women).

Fornes, R.¹, Bacallao, K.¹, León, L.¹, Soto, E.², Gabler, F.³, Romero, C.¹, y Vega, M.¹

¹ Laboratorio de Endocrinología y Biología Reproductiva, Departamento de Obstetricia/ Ginecología, Hospital Clínico (HCUCH). ² Departamento de Obstetricia/ Ginecología-Centro. ³ Departamento de Anatomía Patológica-Centro. Facultad de Medicina, Universidad de Chile (FONDECYT 1050098).

El SOP es un desorden endocrino-metabólico asociado con insulino-resistencia (50-60%). En la vía metabólica de insulina participan PI3K, Akt, AS160 y GLUT4. Se ha

reportado que el transportador basal de glucosa, GLUT1, aumenta en tejidos neoplásicos. En endometrio SOP, se desconoce la expresión de estas moléculas. **Objetivo:** Evaluar los niveles proteicos de AS160, GLUT4 y GLUT1, en endometrios de fase proliferativa de pacientes-SOP, con y sin insulino-resistencia. **Metodología:** En endometrios controles (EN) y de mujeres-SOP (ESOP), con (ESOPIR) o sin insulino-resistencia (ESOPNIR), se evaluó la presencia de las proteínas AS160, GLUT4 y GLUT1 mediante Inmunohistoquímica y Western Blot; (n=7). **Resultados:** El nivel de AS160 fue significativamente mayor en ESOPIR (p<0.05), siendo la expresión de GLUT4 menor en ESOPIR (20% vs EN). En tanto, el nivel proteico de GLUT1 aumentó significativamente en ESOPNIR vs EN (p < 0,05). **Conclusión:** El aumento de AS160 y disminución de GLUT4, sugieren que ESOP presenta potencialmente menor captación de glucosa, siendo compensado en ESOPNIR por el aumento de GLUT1.

42 EFECTO DE UNA INTERVENCIÓN SIMPLE EN EL MANEJO DE TIC'S PARA EL APRENDIZAJE (Effects of a simple intervention on the use of TIC's for learning).

Ramírez, B.U.

Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Santiago de Chile.

Los estudiantes que ingresan a las universidades chilenas son usuarios sociales de internet. Sin embargo, en primer año son muy pocos los que usan los sitios web de las asignaturas para su aprendizaje. El objetivo de este estudio fue evaluar el nivel de manejo de internet en estudiantes de segundo año de una carrera de la salud y el efecto de una intervención muy simple en el desarrollo de sus habilidades en el uso de TIC's para el aprendizaje.

El estudio se hizo en 54 estudiantes, que aceptaron participar como sujetos de investigación. El efecto de la intervención se midió como el cambio en la autoevaluación de habilidades realizada antes y después de la intervención. La intervención consistió en la aplicación de tests "en línea" y el requisito de subir material al sitio web de la asignatura.

Un 85% de los estudiantes respondió ambas encuestas. El manejo general de TIC's aumentó principalmente en los aspectos reforzados (mal manejo bajó de 45% a 8% en subir archivos; de 20% a 2% en bajar archivos) y hubo mejoría en otros (búsqueda crítica de información, capacidad para encontrar sitios web).

Conclusión: Los estudiantes deben aprender a "usar internet para el aprendizaje", ya que no traspasan automáticamente sus habilidades del ámbito social al académico.

43 TEJIDO GLANDULAR PROSTÁTICO HUMANO SOBREENPRESA TRANSPORTADORES DE FRUCTOSA (Fructose transporter expression in human prostatic gland).

Reinicke, K., Orellana, G., Martínez, F., Koch, X., García, M.A. y Nualart, F.

Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

El transporte de glucosa es la etapa limitante del consumo de glucosa en células tumorales. En un número significativo de adenocarcinomas se ha correlacionado: aumento de GLUT1, actividad glicolítica y agresividad tumoral. La tomografía de emisión de positrones (PET) utiliza fluro-deoxi-glucosa, que incorporado por células con metabolismo aumentado, permite localizar y seguir el curso de tumores. En el caso de próstata los resultados no han sido consistentes, descartándose problemas técnicos, y sugiriendo que el sustrato adecuado pudiese no ser glucosa. El tejido glandular prostático cambia de un metabolismo anaeróbico, con elevada secreción de citrato, a un metabolismo oxidativo en carcinomas. Para aproximarnos al requerimiento metabólico del tejido prostático, se sometieron muestras (prosectomías radicales) a inmunodetección para GLUT1-2-5-7 y 12, detección de mRNA, Western blot, e hibridización "in situ". Estudios de cortes en parafina y congelación, con marcaje para peroxidasa y/o fluorescencia, permitió reconocer GLUT1 en membrana y citoplasma de células basales, y membrana basolateral de células secretoras. GLUT2 mostró reacción citoplasmática en células basales y GLUT5 en el polo apical de células secretoras. El transportador GLUT7 se detectó en el citoplasma de células basales y en membrana apical y basolateral de células lumbinales. Finalmente, GLUT12, se observó en el citoplasma de células basales y lumbinales. Estudios de RT-PCR pesquizaron el mRNA para GLUT1-5-7 y 12 en el tejido glandular, lo que fue confirmado por hibridización "in situ" para GLUT1 y 5. Según antecedentes en otros tejidos, GLUT5 es el transportador de fructosa, GLUT2, 7 y 12 transportarían fructosa y glucosa. Todo lo anterior permite postular, que si bien, la glándula prostática tiene mecanismos para incorporar y utilizar glucosa, fructosa parece ser una alternativa metabólica importante.

Financiamiento Proyectos: DIUC 204.031.097-1, Anillo ACT 02.

44 AGREGACIÓN DE LIPOSOMAS E INESTABILIDAD DE MEMBRANAS (Vesicle aggregation and membrane instability).

Cabrera, S., Briones, J.L., Silva, E. y **De la Fuente, M.**

Programa de Fisiología y Biofísica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Las vesículas de membrana son sistemas muy estables. Sin embargo la unión de tripsina a liposomas causa fuga de sus

contenidos internos. Esto es sorprendente pues solo las proteínas que penetran la membrana pueden desestabilizar la bicapa permeabilizando las vesículas. En este trabajo se demuestra que la tripsina se une reversiblemente a liposomas de PS con afinidad relativamente baja y sin causar fusión. Concentraciones relativamente altas de la proteína indujeron agregación de las vesículas y una masiva fuga de contenidos. La velocidad de fuga mostró una dependencia cinética de segundo orden respecto a la concentración de vesículas y proteína. La unión a concentraciones bajas no causó fuga de contenidos ni agregación. Estos resultados indican que la fuga sería causada por la agregación de las vesículas promovida por la unión de tripsina. Esto no es un efecto general ya que la agregación causada por la anexina A1 (que se une superficialmente y con alta afinidad a los mismos liposomas), no fue acompañada por fuga de contenidos. Las micrografías electrónicas de vesículas agregadas por tripsina muestran extensas zonas de contacto aplanadas con una marcada curvatura de membrana en sus extremos. Proponemos que la afinidad relativamente baja de la tripsina por la bicapa haría necesaria una cantidad relativamente alta de moléculas de la proteína para estabilizar el contacto entre las membranas. Esto generaría un área de contacto relativamente grande y plano con un límite de alta curvatura que desestabilizaría la membrana facilitando la fuga de los contenidos internos.

45 NUEVA CONFORMACIÓN DE ANEXINA A1 A PH ÁCIDO (A new conformation of annexin A1 at acidic pH).

Miranda, E., Ocampo, M., Toro, V., Mora, S., y **De la Fuente, M.**

Programa de Fisiología y Biofísica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

La anexina A1 es una proteína relacionada con la inflamación, exocitosis y transporte de vesículas; en presencia de Ca^{2+} esta proteína se une superficialmente a vesículas de membrana, agregándolas. En este proceso la permeabilidad de la vesícula no se altera. En este trabajo se informa que a pH 6 (pero no a pH 7.4) y en ausencia de Ca^{2+} la anexina A1 causó una rápida liberación de los contenidos internos de liposomas de PS, sin agregar las vesículas. La fuga causada por la anexina A1 no terminó al llevar el pH a 7.4, lo que indica un proceso irreversible en la unión de la proteína a pH 6. La velocidad de fuga fue muy dependiente de la temperatura, y la fluorescencia intrínseca de la proteína se redujo a pH 6, lo que sugiere un cambio conformacional. Aunque el cambio conformacional no involucró al dominio N-terminal, la remoción de este dominio inhibió la fuga de contenidos. La proteína no fue más hidrofóbica a pH 6 que a pH 7.4. Proponemos que la proteína puede existir en dos estados conformacionales estabilizados por iones Ca^{2+} o por iones H^+ y que interactúan de distinta manera con la bicapa. El dominio N-terminal sería esencial en la unión a bicapa dependiente de iones H^+ .

46 ARGINASA II PARTICIPA EN LA DISMINUCIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA SINTASA DE ÓXIDO NÍTRICO ENDOTELIAL EN HIPOXIA EN ENDOTELIO DE VENA UMBILICAL HUMANO (Arginase II is involved in the reduced-endothelial nitric oxide synthase activity in hypoxia in human umbilical vein endothelium).

Prieto, C., Krause, B., Acurio, J., Sobrevia, L. y Casanello, P.

Laboratorio de Investigación en Perinatología (PRL) y Laboratorio de Fisiología Celular y Molecular (CMPL), Departamento de Obstetricia y Ginecología, CIM, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Hipoxia disminuye la actividad de la sintasa de óxido nítrico endotelial (eNOS) en endotelio de vena umbilical humana (HUVEC). Arginasas y eNOS compiten funcionalmente por la utilización de L-arginina. Estudiamos el efecto de hipoxia sobre la expresión de arginasas y la actividad de eNOS. **Métodos.** HUVEC en normoxia (5% O₂) o hipoxia (2% O₂) fueron expuestas (0-24 hrs) a S-(2-boronoetil)-L-cisteína (BEC, inhibidor de arginasas, 100 µM) o N^ω-nitro-L-arginina-metiléster (L-NAME, inhibidor de NOS, 100 µM). La actividad de NOS fue determinada por formación de L-[³H]citrulina, y la abundancia de proteína y mRNA, por Western blot y RT-PCR. **Resultados.** Hipoxia aumentó la abundancia de la proteína y mRNA de arginasa II, pero aumentó solamente el mRNA para eNOS. L-NAME no alteró la abundancia de arginasa II. BEC aumentó la abundancia de proteína eNOS y arginasa II, y revirtió la disminución de la actividad de NOS en hipoxia. **Conclusión.** La sobreexpresión de arginasa II podría explicar la disfunción endotelial observada en HUVEC en hipoxia.

CP tiene beca doctoral CONICYT, FONDECYT 1070865, VRAID-PUC BM14/2007.

BOTÁNICA

47 ESTRUCTURA COMUNITARIA DEL MATORRAL MEDITERRÁNEO COSTERO, LOS MOLLES, IV REGIÓN: EL ROL DEL FUEGO Y DE LA ALELOPATÍA (Community structure in the coastal mediterranean matorral, Los Molles, IV Región: the role of fire and allelopathy).

Bustamante, R.O.^{1, 2}, Marín, R.¹, Sotes, G.^{1, 2}, Teillier, S.³ y Henríquez, C.²

¹ Departamento Ciencias Ecológicas. ² Instituto de Ecología y Biodiversidad. ³ Universidad Central.

La vegetación nativa de Los Molles (IV Región) se estructura formando manchones de vegetación dominados por *Pouteria splendens* (lúcumo), rodeados por espacios abiertos. Bajo el dosel de estas plantas, la riqueza de especies es mucho menor que la que se observa en los espacios abiertos. La escasa luz disponible y/o el ambiente químico de la hojarasca acumulada bajo el dosel pueden explicar esta diferencia en riqueza de especies. En el campo, se midió la riqueza de especies de plantas bajo el dosel y fuera del dosel en sitios con y sin la influencia de incendios forestales. En el laboratorio se evaluaron posibles efectos alelopáticos de las hojas de *P. splendens* sobre la germinación de *Triticum spp.*

La riqueza de especies fue significativamente menor bajo el dosel que en los espacios abiertos, pero esta incrementó significativamente en los sitios incendiados, habiendo además un incremento en la proporción de especies exóticas. El extracto de hojas de *P. splendens* redujo significativamente la germinación de las semillas de las dos especies focales. Estos resultados sugieren que el fuego al reducir el dosel y modificar la química del suelo permitirían el reclutamiento de plantas, incrementando así la riqueza de especies. Se discuten estos resultados en relación a la conservación de la biodiversidad existente en la zona de Los Molles.

Trabajo financiado por el proyecto ICM P05 - 002.

48 EFECTO DEL ÁCIDO SILÍCICO EN LA TOLERANCIA DE TRITICUM AESTIVUM AL EXCESO DE NaCl (Effect of silicic acid on the tolerance of wheat to NaCl).

Ortega, M., Vásquez, S. y Zúñiga, G.E.

Laboratorio de Fisiología y Biotecnología Vegetal, Universidad de Santiago de Chile.

El silicio es uno de los elementos más abundantes en la superficie terrestre y es acumulado en grandes cantidades en tejidos vegetales sin causar daño, y es capaz de potenciar mecanismos de defensa frente a condiciones adversas. La captación de silicio por las plantas es en la forma de ácido silícico, y plantas que se desarrollan en un ambiente deficiente, son menos tolerante a condiciones de alta salinidad, alta concentración de metales pesados o a la infección por patógenos. En este trabajo se evaluó la hipótesis "la aplicación exógena de ácido silícico en plantas de trigo, aumentaría la tolerancia al exceso de NaCl". Plantas de *Triticum aestivum* cv Pandora de 7 días postgerminación, fueron irrigadas con una solución de ácido silícico 0,1M durante 7 días y posteriormente tratadas con NaCl (0-300 mM) durante otros 7 días. Al cabo de este tiempo se evaluaron los niveles de lipoperóxidos (MDA), contenido de fenoles y contenido de ácidos hidroxámicos. Las plantas tratadas con ácido silícico, presentaron menores niveles de MDA, un leve aumento del contenido de fenoles y un aumento en el contenido de ácidos hidroxámicos en comparación a plantas no tratadas, con lo que se puede concluir que la aplicación exógena de ácido silícico en plantas de trigo aumenta la tolerancia al exceso de sal.

49 ABSORCIÓN Y DISTRIBUCIÓN DEL COBRE EN ESTRUCTURAS VEGETATIVAS Y FLORALES DE MIMULUS GUTATTUS Y MIMULUS CUPREUS (Copper uptake and distribution on vegetative and floral structures of *Mimulus guttatus* and *Mimulus cupreus*.)

Díaz-Forestier, J.¹, Ginocchio, R.², De la Fuente, L.M.², Bustamante, E.², Silva, Y.² y Montenegro, G.¹

¹ Departamento Ciencias Vegetales, Pontificia Universidad Católica de Chile (jadiazf@uc.cl). ² Centro de Investigación Minera y Metalúrgica.

La acumulación de metales pesados en el polen y en el néctar podría afectar interacciones planta-polinizador y sus derivados para consumo humano como el polen y la miel. El objetivo de este estudio fue cuantificar el traspaso de cobre a las estructuras reproductivas de dos especies; *Mimulus cupreus*, sensible y *Mimulus guttatus*, tolerante al

cobre. Ambas especies crecieron en soluciones hidropónicas con concentraciones de 0 (control); 0,125; y 1 mg/L de CuSO₄, y luego se analizó el contenido de cobre en sus tejidos. En los controles, el contenido de Cu fue mayor en las flores, seguido de las raíces y los vástagos. En los tratamientos de 0,125 y 1 mg/L de Cu en ambas especies, la concentración fue significativamente mayor en las raíces seguido de las flores. A nivel floral, hubo una mayor concentración en los estambres seguido de los pistilos, manteniendo las proporciones encontradas en el control. El contenido de Cu fue mayor en los tejidos aéreos vegetativos y florales de *M. guttatus*. Se discute la relevancia de la absorción de cobre como vía de contaminación para productos de la colmena.

FONDECYT 1060535 a Gloria Montenegro; Innova Chile de CORFO 04CR9IXD-01 a Rosanna Ginocchio.

50 PHOTOSYNTHETIC PERFORMANCE OF DECIDUOUS SOUTH AMERICAN NOTHOFAGUS BLUME SPECIES (Actividad fotosintética de especies caducifolias sudamericanas de *Nothofagus Blume*).

Veste, M., Ramírez, C. y Feuerer, T.

Institute of Botany, University of Hohenheim; Instituto de Botánica, Universidad Austral de Chile, Biozentrum, University of Hamburg.

The temperate forest in southern South America lies on both sides of Andes Mountains covering a broad latitudinal range (33°-55° S). The genus *Nothofagus* with evergreen and deciduous species, is the most important component of this ecosystems. The light responses of the deciduous *Nothofagus* species (*N. antarctica*, *N. alpina*, *N. obliqua*) were investigated with a PAM modulated chlorophyll fluorescence system. Electron transport rate for photosystem II were calculated from light response curves and under ambient light conditions. Net photosynthesis, transpiration and leaf conductance of fully expanded leaves were measured with an open minicuvette system at light saturation. The highest electron transport rates of sun-exposed leaves were found in *N. antarctica* with 135.7 – 187.4 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, while in *N. alpina* 73.2 – 81.3 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and *N. obliqua* 86.2 – 103.7 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The photosynthetic performance of the three investigated species correspond with their ecological behaviour and with their habitat conditions: *N. alpina* and *N. obliqua* are shade tolerant species that growing in depth and good drainage soils, while *N. antarctica* prefers extrem habitats in open areas with stony or organic soil and with cold, flooding or dry conditions.

Financial support of CONICYT/BMBF, Proyecto 080-4-2006

51 ANATOMÍA COMPARADA DE HOJAS DE ESPECIES ARBUSTIVAS DOMINANTES DEL MATORRAL XEROFÍTICO COSTERO DEL NORTE DE CHILE (Anatomical comparison of leaves of dominant shrubs species of xerophytical coastal matorral from the North of Chile).

Mujica, A.M., Gómez, M. y Montenegro, G.

Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago. amujicar@puc.cl

La región mediterránea árida de Chile se extiende entre los paralelos 29° y 30° S y se caracteriza por la escasez y variabilidad de precipitaciones, determinando un largo periodo de sequía estival. La vegetación característica de esta región corresponde a un matorral xerofítico formado por arbustos bajos de hojas duras y reducidas, adaptados a las condiciones de escasa disponibilidad hídrica y alta radiación solar. La morfología y anatomía foliares reflejan, de esta manera, las adaptaciones desarrolladas por los xerófitos para tolerar y sobrevivir a los factores limitantes impuestos por el ambiente.

Con el objetivo de encontrar similitud en patrones anatómicos foliares adaptativos comunes se analizó y comparó la anatomía foliar de cinco especies nativas arbustivas, dominantes del matorral xerofítico costero de la IV Región del país, para lo cual se realizaron cortes transversales de hojas, mediante micrótopo, se tiñeron con safranina y verde rápido y se analizaron mediante microscopía óptica.

Los resultados obtenidos mostraron que las hojas de *Balbisia peduncularis*, *Bridgesia incisifolia*, *Heliotropum stenophyllum*, *Ophryosporus triangularis* y *Oxalis gigantea*, presentan en común epidermis monoestratificadas formadas por células de gran volumen, cutículas muy desarrolladas, estomas estructuralmente protegidos, gran desarrollo de tejido esclerenquimático y un incremento del tejido en empalizada a expensas del tejido esponjoso. Se discuten estas características en relación a convergencia evolutiva en especies de distinto origen filogenético. Anatomía foliar, xerófitas, patrones anatómicos.

Fondecyt 1060535 a G. Montenegro.

52 IDENTIFICACIÓN DE GENES EXPRESADOS DIFERENCIALMENTE DURANTE ESTRÉS HÍDRICO EN NÓDULOS DE *LOTUS GLABER* Y SU RELACIÓN CON LA CAPACIDAD DE FIJACIÓN DE NITRÓGENO (Identification of genes differentially expressed during drought stress in nodules of *Lotus glaber* and relationship with nitrogen fixation capacity).

Tapia, G., Inostroza, L. y Acuña, H.

Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA-Quilamapu, Chillán, Chile.

Las especies leguminosas, y en particular las pertenecientes al género *Lotus*, se caracterizan por ser capaces de fijar nitrógeno gracias a la simbiosis con bacterias. Estas

estructuras simbióticas conocidas como nódulos presentan sensibilidad variable frente a cambios medioambientales, tales como salinidad y sequía, entre otros. El déficit hídrico provoca una senescencia acelerada de los nódulos lo que trae como consecuencia una reducción en la fijación biológica de nitrógeno (BNF) y una disminución en su potencial de crecimiento.

Mediante la utilización de una metodología modificada de "differential display" basada en "annealing control primer" se han aislado una serie de ESTs a partir de nódulos de plantas de *L. glaber* inoculadas con la cepa de *R. loti* NPZ2037 y sometidos a estrés hídrico. Estos genes mostraron ser expresados diferencialmente durante el estrés, lo que sugiere que podrían cumplir un rol importante en la mantención de la viabilidad de los nódulos durante una fase inicial. Junto con esto, se evaluó el efecto del estrés hídrico sobre la expresión de genes que codifican para proteínas relacionadas con el proceso de fijación de nitrógeno: Leghemoglobina, Sacarosa sintasa, Glutamina y Glutamato sintasa. Estos resultados fueron correlacionados con un decrecimiento en la capacidad de fijación de nitrógeno y una disminución en la tasa de crecimiento de las plantas.

Financiamiento: Proyecto PSD 04, PBCT; Proyecto Fortalecimiento institucional, INIA.

53 IDENTIFICACIÓN Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE HAPLOTIPOS DEL CLOROPLASTO EN *LAPAGERIA ROSEA* (Identification and geographic distribution of *Lapageria rosea* chloroplast haplotypes).

Riegel, R., Quiral, Y. y Hoffens, K.

Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Patrocinio A. Zúñiga

El genoma del cloroplasto no presenta recombinación, es haploide y de herencia maternal en las angiospermas como el copihue (*Lapageria rosea* Ruiz et Pav.). Estas características hacen que su flujo genético sea reducido al compararlo con el flujo genético nuclear. Es por ello que la descripción de haplotipos del cloroplasto es una atractiva herramienta para estudios filogenéticos, reconstruir rutas de migración postglaciación y diferenciar genéticamente poblaciones. Para nuestra flor nacional, se analizaron secuencias de 3 regiones del cloroplasto. De ellas, la correspondiente a parte del gen psbK presentó la mayor variabilidad entre individuos de distinto origen geográfico. Comparando la secuencia de 18 individuos destacó un in/del de 18bp. Para una diferenciación rápida de esta mutación se diseñaron partidores específicos que permitieron diferenciar dos haplotipos. Con esta técnica se analizaron 142 individuos provenientes de 15 poblaciones entre Fray Jorge y Osorno, representando así toda su área de distribución. Mientras uno de los haplotipos se presenta principalmente en la zona centro-norte, el otro, es exclusivo de las poblaciones del sur. La frecuencia de los haplotipos en las poblaciones estudiadas tienen una clara correlación con su origen geográfico. Sin embargo, la inesperada mayor diversidad encontrada en el sur, no coincide plenamente con los refugios esperados, para una especie termófila, durante el último máximo glacial.

Financiamiento: FONDECYT-1060192

54 MICROPROPAGACIÓN *IN VITRO* DE *ALOE VERA* (*In vitro micropropagation of Aloe vera*).

¹Reyes, MA. y ²Obreque, V.

¹ INIA, La Platina, Santiago, Chile. ² Centro de Biotecnología, Dirección de Ciencias Básicas, Universidad Iberoamericana de Ciencias y Tecnología, Santiago, Chile. vobreque@unicit.cl

El *Aloe vera* Linn syn *A. barbadensis* Mill es una planta introducida que pertenece a la familia *Liliaceae*. Existen alrededor de 400 especies de *Aloe*, siendo el *Aloe barbadensis* Mill la especie más valorada en el mercado. Sus principales propiedades están localizadas en el gel, que posee diversas propiedades humectantes, bioestimulantes, antiinflamatorias y bactericidas. La explotación de esta planta en torno al desarrollo de una agroindustria en las regiones del norte de Chile, se asocia con una alta demanda por nuevas plantas, por lo cual se ha desarrollado un programa de propagación para su producción masiva y económica. Para este efecto se estableció un protocolo de cultivo *in vitro* a partir de ápices meristemáticos de plantas de *Aloe vera* provenientes de terreno, los que fueron desinfectados con una solución antifúngica, hipoclorito de sodio al 25% y alcohol al 70%, para luego ser cultivadas en un medio nutritivo MS conteniendo fitohormonas. Una vez establecidos los explantes, estos fueron transferidos a un medio de multiplicación. Manteniendo los cultivos en cámaras de crecimiento a una temperatura de 25°C ±2°C, con un fotoperíodo de 16 horas de luz. Finalmente, las plántulas enraizadas *in vitro* fueron trasplantadas y aclimatadas en invernadero. Actualmente se está evaluando su comportamiento en terreno.

Financiado por Innova Chile (ex FDI) Proyecto N° 04CR91AT-02.

55 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE ESPECIES Y ECOTIPOS EN EL GÉNERO *ALOE*, MEDIANTE FINGERPRINTING-ISSR (Molecular characterization of species and ecotypes in the genus *Aloe* using ISSR-Fingerprinting).

Arenas, A. y Obreque, V.

Centro de Biotecnología, Dirección de Ciencias Básicas, Universidad Iberoamericana de Ciencias y Tecnología, Santiago, Chile. ana_arenas_miranda@yahoo.com

El nivel de polimorfismo en seis especies del género *Aloe* (*Aloe humilis mili*, *Aloe jucunda*, *Aloe saponaria*, *Aloe arborescens*, *Aloe ferox*, *Aloe vera barbadensis* Mill) y dos ecotipos de *Aloe vera* (*Aloe vera* ecotipo tejana y ecotipo venezolana) fue estudiado con ISSR. Este marcador molecular analiza directamente polimorfismos asociados a regiones genómicas delimitadas por microsatélites. Se

evaluó un panel de trece marcadores, dirigidos a repeticiones de di, tri y tetranucleótidos, encontrando cinco partidores altamente informativos para determinar las relaciones genéticas entre las especies evaluadas. Además la combinación de dos marcadores analizados, permitió la distinción entre ecotipos. Los marcadores informativos corresponden a partidores con repeticiones de dinucleótidos “AG” y “AC”, sugiriendo una abundancia relativa mayor de estas repeticiones en el genoma de estas suculentas. De esta forma la técnica de fingerprinting-ISSR aparece como un marcador molecular rápido, reproducible y altamente efectivo para estudiar variaciones genéticas en el género *Aloe*.

Financiado por Innova Chile (Ex FDI) Proyecto N°04CR91AT-02

Agradecimientos a I. Schaub y R. Keim “Cactusalvaralto”.

56 INFLUENCIA DEL FOTOPERÍODO Y BAJA TEMPERATURA EN LA ACLIMATACIÓN AL FRÍO Y LA RESISTENCIA A LA FOTOINHIBICIÓN INDUCIDA POR BAJAS TEMPERATURAS EN TRES PROTEACEAE DEL SUR DE CHILE (Influence of photoperiod and low temperature on freezing resistance and low temperature-induced photoinhibition in three Proteaceae from southern Chile).

Fuentes-Neira, F.¹, Bravo, L.A.¹ y Corcuera, L.J.¹

¹ Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Chile.

Embotrium coccineum (*Ec*), *Gevuina avellana* (*Ga*), y *Lomatia ferruginea* (*Lf*) difieren en sus patrones de regeneración y requerimientos lumínicos y térmicos. *Ec* es pionera y heliófita, *Ga* es esporádicamente pionera y semi-sombra tolerante y *Lf* nunca es pionera y es sombra-tolerante. Investigamos la relación entre temperatura y fotoperíodo en la aclimatación al frío y la tolerancia a la fotoinhibición inducida a baja temperatura. Las plantas fueron tratadas a 15 y 4°C y fotoperíodo largo (FL) y corto (FC) de 14 y 8 h, respectivamente. La TL50 no varió significativamente a 4°C y FL. Contrariamente, la TL50 disminuyó en plantas tratadas a 15°C y FC. FC y 4°C en conjunto causaron una mayor disminución de las TL50 con respuestas diferenciales entre las especies, bajando más en especies de biótopos más expuestos. El índice de fotodaño NPQs post-fotoinhibición a 4°C fue más alto en plantas expuestas a FC que a FL. No se observó correlación entre la resistencia al congelamiento y a la fotoinhibición inducida por baja temperatura. Los procesos estudiados son dependientes del fotoperíodo y la temperatura según la especie y sus biótopos.

Fondecyt 1050640.

57 VALORACIÓN DE LA FLORA NATIVA DE LA REGIÓN DE COQUIMBO: POTENCIALES BENEFICIOS Y USOS ANTRÓPICOS (Added value of the Native Flora of the Region of Coquimbo: Potential Benefits and Antropic Uses).

Orchard, C.¹, Montenegro, G.¹, León-Lobos, P.² y Ginocchio, R.³

¹ FAIF, Pontificia Universidad Católica de Chile. ²I NIA-Intihuasi. ³CIMM.

Una fracción importante de la población rural de la Región de Coquimbo se encuentra en una condición de alta pobreza, destacando la crianza caprina entre sus principales actividades económicas, con los consiguientes perjuicios ambientales. La flora nativa de la Región puede ser utilizada para satisfacer necesidades antrópicas, constituyendo un patrimonio biológico para el beneficio de comunidades rurales. Sin embargo, el desconocimiento de los potenciales económicos y ecológicos de estas especies explica que no se haya indagado en su manejo. Con el propósito de contribuir en el bienestar de la población de la Región y en la conservación de los recursos naturales, se hace relevante rescatar los usos que se le ha dado tradicionalmente a la flora nativa. A partir de una revisión de la literatura etnobotánica de Chile se han identificado 743 especies con algún uso, un 50% de la flora nativa regional, siendo los principales el forrajero, ornamental, melífero y medicinal. Las familias que presentan mayor cantidad de especies utilizadas son: Asteraceae, Papilionaceae, Poaceae, Scrophulariaceae, Cyperaceae y Cactaceae. Además, 29 de las 36 especies en peligro de extinción a nivel regional tienen descrito al menos un uso potencial, relevante considerando que su uso sostenible podría contribuir en su conservación.

Proyecto CORFO 04CR9IXD-01.

58 SISTEMÁTICA DE *MEGALACHNE* STEUD (POACEAE) GÉNERO ENDÉMICO DEL ARCHIPELAGO DE JUAN FERNÁNDEZ, CHILE (Systematic of *Megalachne* Steud (Poaceae) endemic genus of Juan Fernandez Islands, Chile).

Peña, C., Negritto, M.A., Ruiz, E. y Baeza, M.

Departamento de Botánica. Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción, Concepción. cpenna@udec.cl.

Megalachne (Steudl.) es un género endémico del archipiélago de Juan Fernández, hasta el momento compuesto por dos especies, *M. masafuerana* y *M. berteroniana*. La sistemática de este género ha sido poco clara siendo dificultosa la identificación de las especies. Por otro lado, su ubicación dentro del sistema de clasificación de la subfamilia Pooideae ha variado, ya que ha estado incluida en las tribus Bromeae, Poeae y actualmente en Stipeae. Por ello, el objetivo de este estudio es establecer los límites específicos y genéricos mediante el uso de la taxonomía numérica, y aclarar la posición tribal de *Megalachne* mediante análisis filogenéticos basados en morfología y datos moleculares (ITS y *matK*). Los análisis numéricos evidencian la existencia de una tercera entidad en *Megalachne*, *M. robinsoniana*. Los análisis filogenéticos muestran que este género es más afín a la tribu Poeae que a la tribu Stipeae en la que se encuentra ubicada actualmente.

Agradecimientos: Proyecto Fundación Andes C-14055-7, Dirección de Investigación Universidad de Concepción.

59 ESTRUCTURACIÓN POBLACIONAL EN *ALSTROEMERIA HOOKERI* SUBSP. *HOOKERI*, EVIDENCIADA A TRAVÉS DEL USO DE ALOENZIMAS (Population structure in *Alstroemeria hookeri* subsp. *hookeri*, evidence from allozyme variability).

Balboa, K., Ruiz, E., Parada, M., Baeza, C. y Negritto, M.A.

Departamento de Botánica, Universidad de Concepción, Concepción, Chile. kbalboa@udec.cl

Alstroemeria L (Alstroemeriaceae) es un género sudamericano, distribuido principalmente en Chile central y Brasil. Dada la belleza de sus flores, las especies de este género han adquirido relevancia como plantas ornamentales. *Alstroemeria hookeri* Lodd. subsp. *hookeri* crece en la zona centro-sur de Chile, en dos sectores separados por la Cordillera de la Costa. Estudios preliminares sobre esta subespecie han detectado diferencias entre los cariotipos de poblaciones del interior y de la costa. Dados los antecedentes presentados y el potencial valor económico que pudiera tener esta subespecie, el objetivo del presente trabajo fue estimar la variabilidad genética y diferenciación poblacional en *A. hookeri* subsp. *hookeri*, a través del uso de aloenzimas. La variabilidad y diferenciación genética se estimaron usando los programas FSTAT 2.9.3.2 y TFPGA. Los resultados muestran una clara diferenciación entre algunas poblaciones costeras y del interior. Además, las poblaciones costeras analizadas, son similares genéticamente entre sí y diferentes a la mayoría de las poblaciones del interior. Los resultados coinciden con los encontrados a través del uso de la morfología y cariología.

Agradecimientos: FONDECYT N° 1070520, DIUC 204.111.036-1.0, Fundación Andes C-14055-7.

ECOLOGÍA

60 IDENTIFICACIÓN DE ALGUNOS INDICADORES DE SALUD EN EL PLAYERO BLANCO (*CALIDRIS ALBA*), ESPECIE MIGRATORIA DE LARGA DISTANCIA EN CHILE (Identification of some health indicators on the Sanderling (*Calidris alba*), a long distance migratory specie in Chile).

Sallaberry, M.¹, Roa, A.M.² y Hidalgo, H.²

¹ Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

² Departamento de Patología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

Las costas de Chile es el destino final de varias especies migratorias intercontinentales de larga distancia. Estas aves llegan al hemisferio sur en primavera, permanecen todo el verano y luego regresan a sus sitios reproductivos en el hemisferio norte. Durante su permanencia en Sudamérica estas especies coexisten con otras residentes, las que son susceptibles a infecciones bacterianas y virales, lo que puede afectar su condición de salud y de paso, constituyendo un riesgo para otras aves silvestres, domésticas y en cautiverio.

El propósito de este estudio es caracterizar el estatus sanitario del Playero blanco mediante un monitoreo de aislamiento de patógenos y pruebas serológicas para la determinación de infecciones por los virus de la Enfermedad de Newcastle e Influenza aviar; e infecciones bacterianas por micoplasmas y Salmonellas sp., en Chile.

Como parte de este proyecto, en abril de 2007, en Santo Domingo (V Región), con redes de niebla, se capturaron y muestrearon un total de 56 Playeros blancos, obteniendo muestra de sangre y tórculas cloacales. Los resultados de los análisis de laboratorio para las 3 enfermedades estudiadas fueron negativos.

Agradecimientos: Proyecto Multidisciplinario DI, MULT 06/22-2.

61 ZONIFICACIÓN DE SEVERIDAD DE UN INCENDIO NATURAL Y SU DESCRIPCIÓN TOPOGRÁFICA CUANTITATIVA EN EL PARQUE NACIONAL TOLHUACA, IX REGIÓN, CHILE (Zonification Of The Severity Of A Wildfire And Its Quantitative Topographic Description In The National Park Tolhuaca, IX Region, Chile).

Peñaloza, R.¹, González, M.E.^{1,2} y Villagra, J.³

¹ Instituto de Silvicultura, Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Austral de Chile. ² Núcleo Científico Milenio FORECOS. ³ Instituto de Ecología y Evolución, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

En el Parque Nacional Tolhuaca, la severidad del incendio del 2002 se relacionó con la altitud, exposición, pendiente y vegetación prefuego. Se utilizaron fotografías aéreas 1:11.000 y un fotomosaico digital. En SIG se obtuvo un mapa de severidad, el que evidenció un efecto mosaico en el paisaje. El fuego afectó un 66,9% del Parque (4232,2 ha). La mortalidad de vegetación alcanzó el 57%, dada por rodales completamente quemados y otros "chamuscados" por alta temperatura. El daño a la vegetación aumentó a mayor altitud, al igual que las áreas xéricas (N-NE-NO), debido a la mayor temperatura y radiación incidente junto a una menor humedad. La pendiente no mostró tendencia. La participación de *Festuca* sp. aumentó el daño, debido a su alta combustibilidad en verano. En coberturas de *Festuca* sp. y *Nothofagus antarctica*-*Festuca* sp. el fuego alcanzó un 100 y 96,6%, respectivamente. Les siguieron *Araucaria araucana*-*Nothofagus* spp (67,6%), *Nothofagus* spp (64,6%) y *Nothofagus antarctica* (60,4%).

Agradecimientos: International Foundation for Science (IFS, /3124-2).

62 COMPARACIÓN DE COMUNIDADES LIQUÉNICAS CORTICÍCOLAS PRESENTES EN FORÓFITOS ENDÉMICOS DE UN BOSQUE TEMPLADO ANDINO, IX REGIÓN, CHILE (Comparison Of Communities Corticolous Lichenics In Endemic Phorophytes Of A Temperate Rainforest Andean, IX Región, Chile).

Villagra, J.¹; Redon, J.²; Zamorano, J.¹; Riveros, M.³ y Peñaloza, R.⁴

¹ Instituto de Ecología y Evolución. Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. ² Escuela de Ingeniería. Universidad de Viña del Mar. ³ Instituto de Botánica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. ⁴ Instituto de Silvicultura, Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Austral de Chile.

Antecedentes acerca de la flora líquénica epífita, indican que son un componente importante en los bosques

templados de Chile. Sin embargo, existe precario conocimiento en cuanto a su flora y ecología. Este estudio describe la riqueza específica y principales comunidades líquénicas epífitas corticícolas dentro del Parque Nacional Conguillío, considerando a *Araucaria araucana*, *Nothofagus antarctica* y *Nothofagus dombeyi* con 25 forófitos cada una. Los censos se aplicaron a 20, 80 y 140 cm del suelo, considerando además la orientación Norte-Sur en *A. araucana*. En el análisis florístico fueron determinadas 42 especies líquénicas. Los porcentajes de cobertura, abundancia y similitud florística variaron entre forófitos estudiados; *A. araucana* presentó mayor porcentaje de cobertura (81,81%), seguida por *N. antarctica* (69,17%) y *N. dombeyi* (61,70%). La mayor diversidad de líquenes la alcanzó *N. dombeyi* con 27 especies. Los análisis comunitarios aplicados, hacen referencia de una disimilitud florística, existiendo un alcance mayor entre *A. araucana* y *N. antarctica* y entre *A. araucana* y *N. dombeyi* que entre las dos Fagáceas.

63 ANÁLISIS MORFOLÓGICO Y GENÉTICO DE *BASILICHTHYS MICROLEPIDOTUS* SPS. GR (Morphologic and genetic analysis of *Basilichthys microlepidotus* sp. gr.).

Cifuentes, R.¹; Sommer, J.²; Ortí, G.²; Dyer, B.³; Victoriano, P.⁴ y Habit, E.¹

¹ Laboratorio de Ecología y Conservación de Peces, EULA-Chile, Universidad de Concepción. ² Nebraska University, Lincoln, USA. ³ Escuela Recursos Naturales, Universidad del Mar, Viña del Mar. ⁴ Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción.

El género *Basilichthys* es endémico de la vertiente Oeste de los Andes y está representado por dos grupos de especies, *microlepidotus* y *semotilus*. Dentro del primer grupo, la especie *B. microlepidotus* es descrita para el rango norte (ríos Huasco al Maipo) y *B. australis* para el rango sur (Aconcagua a Isla de Chiloé), siendo simpátricas en las cuencas del Aconcagua y Maipo. En revisiones del 2000 y 2006, Dyer mantiene ambas especies dentro de grupo *microlepidotus*, dada la falta de caracteres diagnósticos. Hasta ahora la diferenciación se ha basado principalmente en el número de cromosomas reportado por Gajardo (1992), mostrando los demás caracteres una variación clinal nortesur. Con el objetivo de avanzar en dilucidar si *B. microlepidotus* sp. gr. está constituido por una o dos especies, en este trabajo analizamos 13 poblaciones a lo largo de su rango distribucional y estudiamos caracteres morfológicos, mediante morfometría geométrica, y genéticos, mediante secuenciación de CytB. Los resultados para ambos tipos de análisis son consistentes, indicando la presencia de una única especie en todo el rango distribucional.

Financiado por NSF OISE (PIRE) 0530267.

64 DISTRIBUCIÓN DE ACUAPORINAS EN PASAJES NASALES DE *OCTODON DEGUS*: IMPLICACIONES EN LA CONSERVACIÓN DE AGUA.

Gallardo, P.¹, Herrera S.¹, Saffer, K.², Bozinovic, F.²

¹ Departamento de Fisiología, ² Departamento de Ecología. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica.

Los roedores de ambientes áridos y semiáridos viven bajo una disponibilidad limitada de agua tanto espacial como temporal. *Octodon degus* es un roedor que habita ambientes áridos y semiáridos del norte y zona central de Chile. Su supervivencia depende de adaptaciones morfológicas, fisiológicas y conductuales que permiten optimizar la conservación de agua. Este tiene una alta capacidad de concentración urinaria y de deshidratación de la fecas, además de una baja tasa de evaporación pulmocutánea, relacionada con la capacidad de los pasajes nasales para condensar agua contenida en el aire espirado; el agua condensada debe ser absorbida en orden de evitar su acumulación y potencial pérdida por las fosas nasales. Nuestra hipótesis es que el epitelio de los pasajes nasales expresaría acuaporinas (AQPs) que podrían servir como una vía rápida de absorción del agua condensada. Se estudió la distribución de AQP-1, AQP-2, AQP-3 y AQP-4 mediante inmunocitoquímica en cortes provenientes de animales controles y sometidos a un periodo de restricción acuosa. Se detectó abundante inmunorreactividad para AQP-1 en la red vascular subepitelial, no se detectó expresión de AQP-1 en el epitelio de los pasajes nasales. No se detectó ni AQP-2 ni AQP-4 en el mismo epitelio. Se detectó inmunorreactividad para AQP-3 en el epitelio no olfatorio que recubre los turbinales en pasajes nasales estrechos y ciegos. No se evidenciaron cambios en la abundancia de inmunorreactividad para AQP-3 entre ambos grupos. La inmunorreactividad para AQP-1 subepitelial y para AQP-3 epitelial coincide a nivel de los turbinales, aunque en diferentes tipos celulares; ello sugiere que estas acuaporinas podrían servir como una vía para la absorción de agua desde la superficie de los pasajes nasales, vía AQP-3 hacia los capilares subepiteliales a través de AQP-1.

Financiamiento FONDAP 1501-001, Programa 1, FB.

65 APOORTE DE LITERA Y MANTILLO: CAPITAL DE NUTRIENTES EN BOSQUES SIEMPREVERDES DEL SUR DE CHILE (Input of litter and litter layer: capital of nutrient in evergreen forest of southern Chile).

Almonacid, L.; Padilla, E.; Godoy, R; Barrientos, M.; Staelens, J. y Ameloot, N.

Instituto de Botánica, Universidad Austral de Chile.

Ecosistemas boscosos templados prístinos que se desarrollan en suelos volcánicos, poseen una economía de nutrientes de carácter conservativa, donde los ciclos biogeoquímicos internos vía aporte y descomposición de la materia orgánica en el suelo, constituye un importante reservorio de nutrientes.

En un bosque original en la precordillera (39° S), se realizó un estudio comparativo para evaluar el efecto de una antigua intervención antrópica, en el aporte cualitativo de hojarasca y mantillo, como flujo y capital de nutrientes.

La hojarasca y mantillo fue colectada y fraccionada, con el fin de determinar N, P, K⁺, Ca²⁺ y Mg²⁺. Mediante *litter-bags* se estimó velocidad de descomposición.

Los montos de hojarasca son 4,895 y 5,139 kg ha⁻¹ año⁻¹, mientras que el mantillo es 17,10 y 14,89 ton ha⁻¹, para el bosque prístino y alterado, respectivamente.

El *input* de nutrientes vía hojarasca fue N: 50,4-52,6; P: 3,4-3,0; K⁺: 12,5-25; Ca²⁺: 38,7-70,5; Mg²⁺: 5,4-14,7 kg ha⁻¹ año⁻¹ y la contribución del mantillo: N: 733,5-570,6; P: 57,7-65,2; K⁺: 29,2-49,2; Ca²⁺: 413,9-585,9 y Mg²⁺: 40,4-67,2 kg ha⁻¹, para el bosque prístino y alterado, respectivamente.

Los resultados se discuten en base velocidad de descomposición, estructura y composición del rodal, asociado a potenciales mecanismos de retención y capacidad de resiliencia.

Fondecyt 1050313.

66 ESTRUCTURA ANIDADA DE LAS COMUNIDADES PLANCTÓNICAS DE LAS AGUAS DULCES CHILENAS (Nested structure of plankton communities from Chilean freshwaters).

Ramos-Jiliberto, R., Oyanedel, J.P., Vega-Retter, C. y Valdovinos, F.

Departamento de Ciencia Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

En una metacomunidad cuya distribución de especies es anidada, los sitios pobres en especies son subconjuntos propios de sitios relativamente ricos, implicando que la conservación de muchos hábitats pobres puede ser inútil. Esta organización biogeográfica puede ser explicada parcialmente por prevalencia de colonización o extinción diferencial. En base a una extensa revisión, nos propusimos determinar: (a) si las comunidades planctónicas chilenas exhiben una estructura significativamente anidada, y (b) identificar qué característica del hábitat (como proxy de procesos biogeográficos) explica mejor la organización observada.

Se construyeron matrices binarias de presencia-ausencia para Bacillariophyceae, Chlorophyceae, Cyanophyceae, Cladocera, Copepoda, Rotifera, y para zooplancton y fitoplancton agrupado, de comunidades planctónicas desde el lago Rungue hasta General Carrera. Para cada matriz, calculamos su grado de anidamiento en contraste con diferentes modelos nulos. Luego evaluamos si el anidamiento se mantiene cuando la estructura de la comunidad está organizada de acuerdo a la latitud, altitud, área y aislamiento.

Nuestros análisis revelan que las comunidades planctónicas chilenas no están azarosamente dispuestas, sino que significativamente anidadas, y que las variables aislamiento y latitud explican buena parte de la estructura observada. Nuestros resultados sugieren que la organización biogeográfica del plancton de los lagos chilenos es principalmente influenciada por sucesos de colonización y por variables ecológicas asociadas al gradiente latitudinal.

Financiamiento parcial: proyecto ACT34/2006.

67 ESTRUCTURAS ALTERNATIVAS DE DISPERSIÓN Y ABUNDANCIA EN EL ALGA APARENTEMENTE INVASORA *MASTOCARPUS PAPILLATUS* (RHODOPHYTA) (Alternative dispersing structures and abundance of the apparent invading seaweed *Mastocarpus papillatus* (Rhodophyta)).

Oróstica, M.H., Otaíza, R.D. y Neill, P.E.

Departamento Ecología Costera, Facultad Ciencias, Universidad Católica Sma. Concepción.

La distribución geográfica disjunta de *Mastocarpus papillatus* (Pacífico norte y VIII Región, Chile), sugiere que se trata de una especie no indígena a Chile. Talcahuano (36°44'S) es la localidad de primer registro y posible lugar de introducción. Se determinó la abundancia de *M. papillatus* en diez localidades (35°10'-37°19'S), encontrándose mayor densidad en localidades cercanas a Talcahuano. Por otra parte, la capacidad de colonización podría favorecerse al presentar estructuras de dispersión adicionales a las esporas. Láminas maduras y papilas con cistocarpos fueron encontradas a la deriva, y para ambos tipos de estructura se obtuvo esporulación en laboratorio. En terreno, el desprendimiento de láminas requirió menos fuerza que para otras algas intermareales y, además, todas las láminas presentaron cicatrices correspondientes a papilas desprendidas. Estas características permiten considerar láminas y papilas con cistocarpos como estructuras alternativas de dispersión. En el ambiente natural, el transporte a la deriva de estas estructuras por corrientes locales las acumularía en sectores protegidos de la costa, coincidiendo con los sitios donde suelen ser abundantes. Sería necesario evaluar si las diferencias en abundancia encontradas a lo largo del gradiente latitudinal corresponde al de una especie en activa invasión. Estudios moleculares son necesarios para confirmar si realmente esta especie es invasora en Chile.

Agradecimientos: Facultad Ciencias, UCSC.

68 ANÁLISIS ESPACIAL DE CARPOESPORÓFITOS SUGIERE COMPETENCIA EN LÁMINAS DE MAZZAELLA LAMINARIOIDES (RHODOPHYTA) (Spatial analysis of carposporophytes suggests competition in blades of *Mazzaella laminarioides* (Rhodophyta)).

Brito, I.A.¹, Otaíza, R.D.¹ y Abades, S.R.²

¹ Departamento Ecología Costera, Facultad Ciencias, Universidad Católica Sma. Concepción. ²CASEB, Departamento Ecología, Pontificia Universidad Católica de Chile.

En muchas algas rojas, el desarrollo de los cigotos genera la tercera fase del ciclo de vida (carposporófitos) que crece en forma parásita dentro de las láminas femeninas. En *Mazzaella laminarioides*, la ocurrencia de miles de individuos carposporófitos por lámina podría generar interacciones negativas entre ellos, lo que se reflejaría en su patrón de distribución espacial. El patrón de distribución de carposporófitos en diferentes láminas fue evaluado utilizando análisis de imagen y estadísticos de segundo orden para patrones de puntos (función *K*-Ripley modificada a escala local). En la zona media de las láminas, que es la primera en madurar, el patrón de distribución mostró una tendencia agrupada; en la zona basal y distal el patrón de distribución fue regular. La inhibición que podrían ejercer algunos carposporófitos sobre otros en su entorno inmediato fue evaluada comparando la distancia al vecino más cercano en individuos de diferente tamaño. La distancia fue mayor cuando el individuo focal era más grande. Estos resultados sugieren que el patrón de distribución de los carposporófitos estaría determinado no solo por algún tipo de interacción competitiva entre ellos, sino también por el patrón de crecimiento, maduración y fecundación de las láminas.

Agradecimientos: Facultad Ciencias, UCSC.

MICROBIOLOGÍA

69 EXPRESIÓN HETERÓLOGA DEL GENOMA DEL MICOVIRUS BCV1 QUE INFECTA A BOTRYTIS CINEREA CCG378 (Heterologous expression of the *BcV1* mycovirus genome that infects to *Botrytis cinerea* CCG378).

Bustamante, P., Cottet, L., Gallardo, P., González I., Jeldres, O. 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.

Botrytis cinerea CCG378 se encuentra infectada por un micovirus icosaédrico de 32 nm de diámetro denominado *BcV1* cuyo genoma corresponde a dos moléculas de RNA de doble hebra (dsRNA) de 2196 y 2219 pb. Cada segmento genómico posee solo un marco de lectura abierto (ORF), codificando uno de ellos para el polipéptido de la cápside viral y el otro para la RNA polimerasa (RdRp). Utilizando los cDNAs generados a partir del genoma de *BcV1*, se amplificó sus ORFs y se clonaron en el vector de expresión pET-21d(+). Se obtuvo dos vectores recombinantes denominados pET/cDNA-1 y pET/cDNA-2, que poseen los ORFs insertados río abajo del promotor T7/*lac* fusionados en sus extremos 3' a seis codones de histidina (His-tag). *E. coli* BL21(DE3) fue transformada con cada vector y se indujo la expresión con IPTG. Los productos de expresión se purificaron en columnas de Ni-NTA y se analizaron por SDS-PAGE. Se obtuvieron dos polipéptidos de aproximadamente 64 y 70 kDa, cuyos tamaños concuerdan con los deducidos bioinformáticamente para la RdRp y el polipéptido de la cápside, a los cuales se les determinará actividad de RNA polimerasa y de autoensamblamiento de cápsides vacías, respectivamente.

70 ESTUDIO *IN VITRO* DEL MECANISMO DE TRADUCCIÓN DEL VIRUS DE LA NECROSIS PANCREÁTICA INFECCIOSA (*In vitro* study of infectious pancreatic necrosis virus translation mechanism).

Reinoso, C., Jorquera, P., Muñoz, P., Sandino, A.M.

Laboratorio de Virología, Departamento Biología, Facultad de Química y Biología, USACH. Fondecyt 1010042 y Dicyt –USACH.

El virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) pertenece al género *Aquavirnavirus* y a la familia *Birnaviridae*. Su genoma de dsRNA bisegmentado codifica para las proteínas constituyentes del virión. Su mecanismo de traducción es desconocido, sin embargo, se caracteriza por la ausencia de estructura 5'Cap en sus mRNAs, lo cual sugiere que el mecanismo de traducción no lo requiere. Mediante análisis bioinformáticos del extremo 5'UTR de ambos segmentos, se identificó estructuras secundarias semejantes a sitios internos de entrada del ribosoma (IRES). Se realizó transcripción y traducción *in vitro* de productos de RT-PCR que incluyeran parte de la región codificante de ambos segmentos en presencia y ausencia de la región 5'UTR, cuyos mRNAs fueron capeados. También se realizaron ensayos de competencia agregando un análogo de Cap durante la traducción *in vitro*. Las proteínas generadas fueron detectadas por la incorporación de [³⁵S]-metionina y visualizadas por autorradiografía. Los resultados indicaron que los mRNA de ambos segmentos del genoma viral inician su traducción independiente de Cap. Paralelamente, vectores bicistrónicos en cuya región intercistrónica se insertó el extremo 5'UTR por sí solo y parte de la región codificante del segmento A viral, se utilizaron como templado en ensayos de transcripción y traducción *in vitro*. Los resultados mostraron que la región 5'UTR por sí sola es suficiente para mediar la traducción del segundo cistrón.

71 CLONAMIENTO Y SECUENCIACIÓN DE PLASMIDIOS LINEALES DE DNA DE *XANTHOPHYLLOMYCES DENDRORHOUS* (Cloning and sequencing of linear DNA Plasmids of *Xanthophyllomyces dendrorhous*).

Sanhueza, M., Oviedo, V., Flores, O., Niklitschek, M., Barahona, S., Cifuentes, V., Baeza, M.

Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. mariosanhueza@gmail.com

Diversos eucariontes inferiores poseen plasmidios lineales de DNA de doble hebra (dsDNA) que, por ejemplo, en *Kluyveromyces lactis* están asociados a la producción de micotoxinas. Sin embargo en la mayoría de las especies estudiadas su función se desconoce, como ocurre en la levadura carotenogénica *Xanthophyllomyces dendrorhous*, modelo de estudio en nuestro laboratorio. Como primer paso para estudiar la función de estos dsDNA, el objetivo del presente trabajo fue clonar y analizar a nivel nucleotídico estas moléculas. La extracción de ácidos nucleicos totales de diversas cepas de *X.dendrorhous*, muestra principalmente la presencia de 2 dsDNA de 4.6 (pXDL) y 2.8 kb (pXDS). Cada molécula fue purificada desde geles de agarosa, tratada con fragmento Klenow, fosforilada y ligada a pBlueScript. Se transformó la cepa DH5α de *E.coli* y los clones recombinantes fueron analizados mediante PCR de colonia. Se seleccionaron los clones que portaran un inserto de tamaño esperado y fueron secuenciados por ambas hebras. En el análisis bioinformático de las secuencias obtenidas tanto para pXDL como para pXDS, no se ha observado regiones homólogas con secuencias nucleotídicas ni traducidas depositadas en la base de datos GenBank. Esto nos indicaría la existencia de un nuevo tipo de dsDNA presente en *X.dendrorhous*.

Fondecyt N° 11060157 y N° 1040099.

72 ESTUDIO DE LA TRADUCCIÓN DEL VIRUS DE LA NECROSIS PANCREÁTICA INFECCIOSA EN CÉLULAS CHSE-214 (Study of Infectious Pancreatic Necrosis Virus translation in CHSE-214 cells).

Muñoz-Torres, P., Reinoso, C., Jorquera, P. y Sandino, A.M.

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 las cinco proteínas que componen el virión. Previamente se ha descrito *in vitro* que transcritos que portan el 5'UTR más la región del gen *vp2*, los cuales no poseen una estructura 5'CAP, son traducionalmente activos en lisados de reticulocitos de conejo y que la adición de análogos de CAP en ensayos de competencia no altera la eficiencia de la traducción. Sin embargo, aún no se ha delimitado la región del extremo 5' que estaría comandando la traducción de los mensajeros virales y si estos son funcionales en células de salmón. Para esto, se diseñaron vectores bicistrónicos que portan el extremo 5'UTR del segmento A con o sin parte de la región codificante del gen *vp2* en el espacio intercistrónico los cuales fueron utilizados para transformar células CHSE-214. Los resultados obtenidos demuestran que el extremo 5'UTR del segmento A por sí solo es capaz de comandar la iniciación interna de la traducción de la proteína β -Galactosidasa utilizada como gen reportero en células CHSE-214 y que no se requiere parte de la región codificante del gen *vp2* para que ocurra la traducción viral.

Financiado por FONDECYT 1040282 y DICYT-USACH.

73 PROPIEDADES ELECTROFISIOLÓGICAS DE LA PROTEÍNA DE MEMBRANA EXTERNA OMPW DE SALMONELLA ENTERICA SEROVAR TYPHIMURIUM INCORPORADA EN BICAPAS PLANAS LIPÍDICAS (Electrophysiologic properties of the outer membrane protein OmpW of Salmonella enterica serovar Typhimurium incorporated on planar lipid bilayers).

Delgado, M.G.^{1,2}, Vergara, C.² y Saavedra, C.¹

¹ Laboratorio de Microbiología Molecular, Universidad Andrés Bello. ² Laboratorio de Fisiología Celular, Universidad de Chile.

Las proteínas de la membrana externa de bacterias Gram negativo forman canales acuosos (porinas) que median el movimiento de iones, nutrientes y probablemente la eliminación de sustancias nocivas.

Se ha aislado y caracterizado cepas de *E.coli* mutantes de la porina OmpW que son sensibles a Metil Viológeno (MV), una sal de amonio cuaternaria tóxica para la bacteria. Recientemente se demostró *in vivo* que el gen *ompW* de *S.Typhimurium* es requerido para la resistencia a MV y su

expresión se induce en presencia de este tóxico. Estos antecedentes han permitido proponer que la porina OmpW estaría relacionada con la salida de MV desde la célula.

El conocimiento de las propiedades de conducción de iones es fundamental para apoyar esta hipótesis. La reconstitución de OmpW en bicapas lipídicas planas y el estudio bajo condiciones de Voltaje controlado permitieron establecer las propiedades electrofisiológicas de esta proteína. Los resultados indican que OmpW se comporta como un canal iónico en condiciones de KCl simétrico y presenta un bloqueo dependiente de voltaje cuando es expuesto al tóxico MV.

Financiamiento: FONDECYT 1050037, DI-UNAB 56-04, DI 2007-CV.

74 DISEÑO DE PARTIDORES PARA GENES COPA: UNA HERRAMIENTA ÚTIL PARA EL ESTUDIO DE MECANISMOS DE RESISTENCIA A COBRE EN MUESTRAS AMBIENTALES (Primers design for *copA* genes: A useful tool to study mechanisms of copper resistance in environmental samples).

Valenzuela D.¹, De la Iglesia R.¹, Correa J.² y González B.¹

¹ Departamento Genética Molecular y Microbiología. ² Departamento Ecología. Facultad de Ciencias Biológicas, Center for Advanced Studies in Ecology and Biodiversity. Núcleo Milenio en Ecología Microbiana y Biotecnología Ambiental (EMBA). Pontificia Universidad Católica de Chile. davalenz@puc.cl.

El cobre es un metal esencial a nivel celular, ya que funciona como cofactor para diversas enzimas. Sin embargo, a elevadas concentraciones presenta efectos nocivos para el funcionamiento celular. Muchas bacterias poseen diversos mecanismos de resistencia para este catión, siendo uno de los más importantes y ampliamente distribuido, el mecanismo de eflujo realizado por la P-ATPasa CopA. El objetivo de este trabajo fue diseñar partidores de PCR para genes que codifiquen bombas de eflujo tipo CopA. La eficiencia de los partidores diseñados así como la diversidad de secuencias detectadas en muestras ambientales fue evaluada por secuenciación de los clones obtenidos a partir de los productos de PCR, y también mediante la determinación de los perfiles de polimorfismos en los largos de los fragmentos de restricción terminales (T-RFLP). Las secuencias detectadas presentaron buena homología a genes descritos para bombas de eflujo CopA. A su vez, los patrones de T-RFLP en muestras ambientales mostraron diferencias significativas cuando se compararon sitios fuertemente impactados por cobre con sitios no impactados. En conclusión, este es el primer trabajo que describe el uso de partidores dirigidos hacia el gen *copA*, por lo que proporciona una herramienta de gran utilidad para el estudio de mecanismos de resistencia a cobre en muestras ambientales y en bacterias aisladas.

75 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS FENÓLICOS PROVENIENTES DE MIELES MONOFLORALES CHILENAS (Antibacterial activity of phenolic extracts from unifloral Chilean honeys).

Salas, F. y Montenegro, G.

Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Pontificia Universidad Católica de Chile. fsalasl@uc.cl; gmonten@uc.cl

La miel es una solución altamente concentrada de carbohidratos, elaborada por la abeja (*Apis mellifera* L.), a partir del néctar de las flores y sustancias resinosas azucaradas de distintos tejidos vegetales. Su uso en la alimentación humana es altamente difundido en diversas culturas. No obstante aquello, la miel posee interesantes atributos biológicos, como su capacidad antibacteriana. Durante los últimos años se han intensificado las investigaciones tendientes a identificar y cuantificar los compuestos responsables de la actividad antibacteriana de las mieles. Características químicas como la alta presión osmótica de las mieles, el contenido de peróxido de hidrógeno (compuestos peroxídicos), acidez y compuestos no peroxídicos, otorgan en distinta magnitud la actividad antibacteriana presente en la miel. Dentro de la fracción que corresponde a los compuestos no peroxídicos presentes, se incluyen los compuestos aromáticos, ácidos fenólicos y flavonoides, productos derivados del metabolismo secundario de las plantas que se traspasan a la miel desde el néctar de la fuente floral que les dio origen. La flora de Chile, debido a su gran endemismo (50% de las especies nativas son endémicas) por esta razón, en Chile se producen mieles únicas en cuanto a su composición floral y atributos antibacterianos. Extractos fenólicos de mieles monoflorales chilenas se obtuvieron a través de cromatografía en amberlita XAD-2, determinándose la concentración de fenoles totales a través del método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu. Posteriormente, se caracterizaron los compuestos a través de HPLC.

La actividad antibacteriana se analizó *in vitro*, en bacterias patógenas humanas *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 2785; *Escherichia coli* ATCC 25922; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Salmonella typhi* STH 2370; *Vibrio cholerae* ISP y *Streptococcus β-Hemolítico*, además de la bacteria fitopatógena *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, con la técnica de microdilución en pocillos Elisa incubados a 37°C x 24 horas, determinándose la mínima concentración de inhibición bacteriana (MIC) de los extractos. Extractos fenólicos de mieles monoflorales de Ulmo (*Eucryphia cordifolia*) mostraron una mayor actividad de inhibición en todas las bacterias estudiadas. La composición química del extracto reveló la presencia de ácidos: gálico, cumárico, ferúlico, salicílico además de naringenina y kaempferol. Compuestos citados en la literatura con actividad antimicrobiana.

Investigación Financiada por Proyectos FONDEF DO3I-1054, FUNDACIÓN COPEC-UC TC006 Y CORFO FDI-INNOVA 0612IAD-01 a Gloria Montenegro.

76 DAÑO NEURONAL *IN VITRO* INDUCIDO POR LA INFECCIÓN CON VIRUS HERPES SIMPLEX TIPO 1 (*In vitro* neuronal damage induced by Herpes Simplex Virus type 1 infection).

Salvadores, N.^{1, 2}, Cortés, M.^{1, 2}, Solís, L.^{1, 2}, Zambrano, A.² y Otth, C.¹

¹ Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina.

² Instituto de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. cotth@uach.cl

El Virus Herpes Simplex tipo-1 (HSV-1) se encuentra ampliamente diseminado en la naturaleza y es un patógeno muy común en el hombre, encontrándose en un 90% de la población adulta. HSV-1 invade y establece latencia en el sistema nervioso del huésped, siendo capaz de producir encefalitis, la cual presenta una elevada mortalidad y secuelas neurológicas relacionadas con alteraciones cognitivas, de memoria y personalidad. Sin embargo, no existen estudios acerca de una posible inducción de procesos neurodegenerativos. En este trabajo se analizó el daño causado en cultivos neuronales durante la infección productiva con HSV-1. Nuestros resultados muestran una alteración progresiva en la viabilidad y en los procesos neuronales. Además, se demuestra que HSV-1 induce cambios en la dinámica microtubular en las distintas etapas de la infección, además de una alteración de los filamentos de actina.

Agradecimientos: Fundación Andes C-14060/5, MECESUP AUS0107, y DID-UACH S-2007-62.

77 DISEÑO DE PARTIDORES PARA GENES *COPA*: UNA HERRAMIENTA ÚTIL PARA EL ESTUDIO DE MECANISMOS DE RESISTENCIA A COBRE EN MUESTRAS AMBIENTALES (Primers design for *copA* genes: A useful tool to study mechanisms of copper resistance in environmental samples).

Valenzuela, D.¹, De la Iglesia, R.¹, Correa, J.² y González, B.¹

¹ Departamento Genética Molecular y Microbiología.

² Departamento Ecología and Center for Advanced Studies in Ecology and Biodiversity. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. davalez@puc.cl

El cobre es un metal esencial a nivel celular, ya que funciona como cofactor para diversas enzimas. Sin embargo a elevadas concentraciones provoca graves daños vía estrés oxidativo. Muchas bacterias poseen diversos mecanismos de resistencia para este catión, siendo uno de los más importante y ampliamente distribuido el mecanismo de eflujo realizado por la P-ATPasa CopA. El objetivo de este trabajo fue diseñar partidores universales para genes que codifiquen bombas de eflujo tipo CopA. La eficiencia de los partidores diseñados así como la diversidad de secuencias detectadas en muestras ambientales fue evaluada por secuenciación y T-RFLP. Las secuencias detectadas presentan gran homología a genes descritos para bombas de eflujo CopA. Los patrones de T-RFLP en muestras ambientales muestran diferencias importantes cuando se comparan sitios fuertemente impactados por cobre contra sitios no impactados. En conclusión este es el primer trabajo que describe el uso de partidores universales para el gen *copA*, por lo que proporciona una herramienta de gran utilidad para el estudio de mecanismos de resistencia a cobre en muestras ambientales.

78 CAMBIOS ESTRUCTURALES EN COMUNIDADES BACTERIANAS EPILÍTICAS INDUCIDOS POR COBRE (Direccionalidad y reversión del fenómeno (Copper induced structural changes on bacterial epilithic communities. Directionality and reversion of the phenomena).

De la Iglesia, R.¹, Valenzuela, D.¹, Frayhofer, S.¹, Correa, J.² y González, B.¹

¹ Departamento Genética Molecular y Microbiología.

² Departamento Ecología and Center for Advanced Studies in Ecology and Biodiversity. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. rdelaigl@bio.puc.cl

La contaminación ambiental costera producto de la minería del cobre ha causado grandes alteraciones ecológicas en la Tercera Región de nuestro país. En el área de Chañaral este efecto se ha demostrado tanto para macroorganismos, observándose una fuerte disminución en la riqueza y

diversidad de especies asociadas a las zonas impactadas, como para microorganismos, donde alteraciones en las estructuras comunitarias son los cambios más fuertes detectados en estas comunidades. En este trabajo se ha abordado la respuesta de comunidades bacterianas epilíticas provenientes de sitios costeros no impactados por cobre cuando son expuestas a un pulso rápido y agudo de este metal, utilizando experimentos de microcosmos y técnicas cultivo dependientes e independientes. Nuestros resultados indican que este tipo de comunidades responden rápidamente a la presencia de altos niveles de cobre en el medio, alcanzando estructuras comunitarias similares a las de sitios naturalmente impactados. Además, luego de ser removido el agente perturbador, la estructura de las comunidades tiende a revertirse a su estado original. Estos resultados arrojan nuevas luces acerca de la capacidad de este tipo de sistemas de reponerse frente a perturbaciones ambientales.

79 COMPLEMENTACIÓN DE RUTAS PARA LA DEGRADACIÓN DE DERIVADOS DEL ÁCIDO BENZOICO EN *CUPRIAVIDUS NECATOR* JMP134 (PJP4) (Pathway complementation for benzoic acid derivatives degradation in *Cupriavidus necator* JMP134 (pJP4)).

Trefault, N., Ledger, T. y González, B.

Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. nntrefau@puc.cl

Cupriavidus necator JMP134 (pJP4) es una bacteria modelo para el estudio de la degradación de compuestos cloroaromáticos. Es capaz de crecer a partir de benzoato (BZ) y a partir de su derivado halogenado, 3-clorobenzoato (3-CB), como única fuente de carbono y energía. La transformación inicial de estos compuestos ocurre gracias a la expresión de una benzoato 1,2-dioxigenasa codificada en los genes cromosomales *benABCD*. La degradación de los catecoles formados a partir del BZ y el 3-CB, es llevada a cabo por enzima codificada por los genes *cat*, de origen cromosomal y por los genes *tfd*, ubicados en el plasmidio pJP4. El análisis del genoma de *C. necator* JMP134 permitió la identificación de una posible ruta alternativa para la degradación de estos compuestos, que estaría codificada por los genes *box*. Para evaluar la participación de las rutas codificadas por *ben*, *cat*, *box* y *tfd* en la degradación BZ y 3-CB, se construyeron mutantes en estas rutas. Los resultados indican que existe una complementación funcional de las rutas mencionadas para la degradación de derivados del ácido benzoico en *C. necator* JMP134, dando cuenta de la gran versatilidad catabólica que presenta esta bacteria.

Financiado por FONDECYT 1030493 y EMBA P04/P007-F.

80 EL GEN *BENK* CODIFICA PARA UN TRANSPORTADOR DE 3-CLOROBENZOATO EN *C. NECATOR JMP134* (The *benK* gene encodes a 3-chlorobenzoate transporter in *C. necator JMP134*).

Ledger, T., Flores, F. y González, B.

Departamento Genética Molecular y Microbiología. Facultad Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. tledger@bio.puc.cl

Cupriavidus necator JMP134 (pJP4) es una bacteria modelo para la degradación de compuestos cloroaromáticos. Esta cepa es capaz de crecer a partir de 3-clorobenzoato (3-CB) gracias a la expresión de funciones codificadas por los genes cromosomales *benABCD*, y los genes *tfd* del plasmidio pJP4. Experimentos de incorporación de (¹⁴C)3-CB en células crecidas en este compuesto demostraron que existe un sistema transportador inducible para la incorporación de 3-CB en *C. necator*. Mediante RT-PCR, se demostró que una permeasa codificada por el gen *benK* se induce en presencia de este compuesto. Para determinar la participación del putativo transportador BenK en la incorporación de 3-CB, se inactivó el gen correspondiente en JMP134. La velocidad de incorporación de 3-CB por parte de la cepa mutante JMP134-DbenK se redujo en más de un 80% con respecto a la cepa silvestre. Además, se estudió la expresión de esta permeasa en presencia de distintos aromáticos, demostrándose que *benK* se induce específicamente en respuesta a 3-CB y benzoato. A partir de estos resultados, puede concluirse que BenK es el principal responsable de la incorporación de 3-CB en *C. necator* JMP134, y corresponde al primer transportador caracterizado capaz de producir la incorporación celular de este compuesto.

Financiado por FONDECYT 1030493 y EMBA P04/P007-F.

81 EXPRESIÓN DE LOS GENES DE CAROTENOGÉNESIS DE UNA CEPA SOBREPDUCTORA DE LA LEVADURA *XANTHOPHYLLOMYCES DENDRORHOUS*.

Lozano, C., Sepúlveda, D., Alcaíno, J., Marcoleta, A., Baeza, M. y Cifuentes, V.

Laboratorio de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La astaxantina es un pigmento carotenoide producido por la levadura *X. dendrorhous*, la cual tiene gran importancia biotecnológica como insumo en la coloración de los salmones y truchas criados en cautiverio. Sin embargo, la baja producción del pigmento en las cepas silvestres resulta poco atractivo productivamente. Este hecho ha motivado la búsqueda de cepas que puedan producir un mayor contenido de astaxantina ya sea por manipulación genética o ensayando distintas condiciones de cultivo, de tal manera

que permitan aumentar su rendimiento. De esta forma, en nuestro laboratorio se han obtenido mutantes desreguladas en la síntesis de carotenoides, sobreproduciéndolos. Estas mutantes han mostrado una tasa de crecimiento y producción de biomasa menor que la cepa silvestre, sin embargo, muestran un rendimiento mayor que la cepa silvestre al cultivarlas en fermentador. Debido a lo anterior, la expresión de los genes de carotenogénesis de la mutante atxS1 es diferente, en una fuente de carbono fermentable (glucosa), que la de la cepa silvestre en las mismas condiciones. No obstante, la producción de pigmentos en la cepa atxS1 es constitutiva, similar a la cepa silvestre en una fuente de carbono no fermentable (succinato). Esto no solo demuestra el potencial uso de esta cepa como fuente comercial de astaxantina, sino que el estudio de la misma mediante su manipulación fisiológica nos ayudará a comprender el control genético de la carotenogénesis.

Financiamiento: Fondecyt Proyecto N° 1040450 y Becas CONICYT (C.L. y A.M.) y MECESUP (J.A.).

82 COMPOSICIÓN DE LAS BACTERIAS DENITRIFICADORAS EN EL SUELO DEL MATORRAL ESCLERÓFILO DE CHILE CENTRAL (COMPOSITION OF THE DENITRIFYING BACTERIA FROM THE SCLEROPHYLLOUS MATORRAL OF CENTRAL CHILE).

Orlando, J.¹, Braker, G.² y Carú, M.¹

¹ Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. ² MPI Microbiología Terrestre, Alemania.

El estudio de los grupos bacterianos del ciclo del nitrógeno adquiere relevancia ya que este ciclo está fuertemente perturbado por acción antropogénica. El propósito del trabajo fue determinar la composición de desnitrificadores presentes en suelo del matorral esclerófilo, mediante perfiles de TRFLP y clonación. Los patrones de TRFLP con dos enzimas de restricción para los genes *nirK* y *nirS* mostraron unos pocos TRFs abundantes, siendo más numerosos para *nirS* que para *nirK*. Paralelamente se construyeron librerías génicas para ambos genes. Los clones del gen *nirK* se relacionaron principalmente con clones ambientales no cultivados de diferentes suelos. Ningún clon *nirK* se relacionó directamente con microorganismos aislados, lo que sugiere la presencia de nuevos filotipos en estos suelos. Los clones *nirS* tuvieron una mayor diversidad que los clones *nirK* y se relacionaron directamente a microorganismos identificados. Las curvas de rarefacción indicaron que la librería para el gen *nirK* cubre la mayoría de la diversidad de este gen. Sin embargo, la curva para el gen *nirS*, obtenida con un similar esfuerzo de análisis, sugiere que la riqueza de filotipos fue subestimada. El análisis *in silico* de las secuencias de *nirK* y *nirS*, indica que los TRFs más abundantes se encontraron ampliamente distribuidos entre los clones analizados.

Financiamiento: Proyecto ENL-07/16.

83 CARACTERIZACIÓN DE ENDOSIMBIOTES DE ACACIA CAVEN CRECIDOS A ALTAS CONCENTRACIONES DE COBRE (Characterization of endosymbionts from *Acacia caven* grown at high copper concentrations).

Gazitúa, M.C., Contreras, R., Ginocchio, R. y González, B.

Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. mcgazit@uc.cl

Acacia caven (espino común) es un árbol pequeño de la familia Mimosaceae (Leguminosae) que crece asociado al matorral y el bosque esclerófilo desde la Región de Atacama a la Región del Biobío. Sus raíces presentan nódulos debido a la asociación con bacterias fijadoras de nitrógeno del orden Rhizobiales. Esta simbiosis favorece considerablemente a la planta, ya que le permite colonizar suelos pobres en nitrógeno, incluyendo sustratos de origen artificial como los tranques de relave producidos por la minería del cobre. Esta característica convierte a *Acacia caven* en una especie de gran utilidad para la fitoestabilización y la rehabilitación de suelos. En este trabajo se identificaron los microorganismos presentes en nódulos de raíces de *A. caven* crecido en una mezcla de relave y suelo provenientes de la cuarta región. Esto se realizó mediante RFLP y secuenciación de los genes 16S rRNA y *nifH* que codifica para la nitrogenasa. Finalmente se determinó los niveles de tolerancia a cobre de estos microorganismos, comparándolos con los de aquellos que colonizan espinos en un suelo sin cobre.

Financiado por FONDECYT 1030493 y EMBA P04/P007-F.

BIOQUÍMICA

84 RELACIÓN ENTRE EL CONTENIDO DE ALANTOÍNA EN BABA DE CARACOL Y EL CONSUMO DE UNA DIETA ENRIQUECIDA EN PURINAS (Relation between the allantoin content in snail secretion and a diet enriched in purine).

Ferrer, R. y Valenzuela, M.A.

Departamento Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

La Alantoína es un producto derivado del metabolismo de las purinas, producido específicamente por la oxidación del ácido úrico, y es generada por gastrópodos como el caracol *Helix aspersa* Müller. Existen diversos reportes que le atribuyen a la Alantoína propiedades antioxidantes beneficiosas como regenerativas para la piel y propiedades broncodilatadoras. En este trabajo se determinó si una dieta enriquecida de derivados purínicos aumentaba el contenido de Alantoína y otros derivados purínicos en la baba de caracol.

La Alantoína, Hipoxantina y Xantina se analizaron simultáneamente mediante electroforesis capilar micelar. Se trabajó con tres grupos de muestras: baba de caracoles en ayuno, con dieta sin soya y dieta con soya (enriquecida en derivados purínicos).

En un período de tres semanas se encontró un aumento significativo de Alantoína en el caso de la dieta con soya. El aumento Alantoína fue de 0,4 mg/100 ml baba en la condición de ayuno a 1 mg/100ml en la con soya. En el caso de los otros derivados purínicos, Hipoxantina y Xantina los resultados no fueron tan claros. Solo en el caso de Xantina a las 3 semanas de alimentación se observó un promedio mayor pero no fue significativamente mayor ($p = 0,053$). En conclusión, se puede decir que la Alantoína en la baba de caracol esta directamente relacionada al consumo de purinas en la dieta.

85 ASPERGILLUS NIVEUS: PRODUCCIÓN, PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE XYLANASE (*Aspergillus niveus*: xylanase production, purification and biochemical characterization).

Peixoto-Nogueira, S.C.¹, Michelin, M.², Jorge, J.A.², Terenzi, H.F.² & Polizeli, M.L.T.M.²

¹ Departamento Bioquímica e Imunología - FMRP.

² Departamento Biología - FFCLRP- USP, São Paulo, Brazil. Financial support: FAPESP, CNPq, CAPES.

Xylanases are promising enzymes that can be applied in cellulose pulp biobleaching, animal feed, textile and others. In this work, xylanase was produced from *Aspergillus niveus* cultivated in a first stage in glucose-SR liquid medium. After 72h, the formed mycelium was transferred to 1% xylan-minimum liquid medium, during 96h, at 40°C. The crude filtrate was treated with (20mg/mL) kaolin and sequentially chromatographed in DEAE-cellulose and CM-cellulose equilibrated with 10mM tris-HCl buffer, pH 7.5 or 10mM monobasic potassium phosphate, pH 4.0, respectively. Molecular mass corresponded to 62kDa determined by SDS-PAGE. Optima of temperature and pH corresponded to 60°C and 5.5–6.5, respectively. Thermostability was tested in the range 25–80°C and it was detected 80% activity at 55°C, after 60 min. Besides, xylanase pH stability (2.5–8.0) was 95%, after 60 min, on pH up to 5.5. Analysis on thin-layer chromatography showed only xylose as end product, suggesting that the enzyme character is an endo-xylanase. This xylanase presented 33.8% carbohydrate content in its structure. Metallic ions did not promoted enzyme activation, but 0.25–5mM reducing agents, such as dithiothreitol and 2-mercaptoethanol, increased approximately 80% the endo-xylanase activity. These results are attractive for future biotechnological applications.

86 XYLANASES LIBRES DE CELULASES PRODUCIDAS EN FERMENTACIÓN DE ESTADO SÓLIDO POR ASPERGILLUS NIGER, ASPERGILLUS NIVEUS Y ASPERGILLUS OCHRACEUS Y SU USO PARA BLANQUEAR LA PULPA DE CELULOSA (Cellulases-free xylanases from *Aspergillus niger*, *Aspergillus niveus* and *Aspergillus ochraceus* produced by solid-state fermentation and its application on cellulose pulp bleaching).

Polizeli, M.L.T.M.¹, Betini, J.H.A.¹, Peixoto-Nogueira, S.C.², Michelin, M.¹, Jorge, J.A.¹ y Terenzi, H.F.¹

¹ Departamento Biología - FFCLRP; ² Departamento Bioquímica e Imunología - FMRP - USP, Brazil. Financial support: FAPESP.CNPq.

This study aimed to optimize the culture conditions to improve xylanase production from *Aspergillus niger*, *A. niveus* and *A. ochraceus* using solid-state fermentation constituted by agro-residues (wheat bran, oatmeal, corncob, rice straw, sugar cane bagasse or wood chips) and tap water. The residues were used separately or in different combinations of two carbon sources. Cultures were incubated at 30°C, 70–80% relative humidity, for 96 h. The best production of xylanase for all species occurred when wheat bran and tap water (1:2–w/v) was used. In the kraft procedure, 10 or 35 Units xylanase/g dry cellulose pulp were used, at pH 5.5, for 1 or 2 h, at 55°C (pH and temperature optimal conditions). It was observed a delignification efficiency of around 20% (kappa number) and the brightness was enhanced 2–3 points. The viscosity maintenance proved the absence of cellulases in the crude extracts. These results indicated that xylanase produced by three fungi was used with success for cellulose pulp bleaching, offering good perspective of application in the paper industry.

87 QUINASAS DE PIRIDOXAL E HIDROXIMETILPIRIMIDINA: HISTORIA DE CAMBIOS DE ESPECIFICIDAD DE SUSTRATO (Pyridoxal and hydroxymethylpyrimidine kinases: history of substrate specificity changes).

Ramírez, C., Cabrera, R. y Guixé, V.

Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Fondecyt 1070111.

La etapa final en la biosíntesis de Vitamina B6 y Tiamina involucra fosforilaciones catalizadas por enzimas que pertenecen al grupo más basal en la historia propuesta para la superfamilia de la riboquinasa (SCOP 53614). Las quinasas de piridoxal (Pdx) e hidroximetilpirimidina-P (HMP), fosforilan un grupo hidroximetil en un heterociclo aromático con uno y dos nitrógenos en posición *meta*, respectivamente. Se ha observado actividad sobre Pdx en enzimas que presentan mayor identidad de secuencia con quinasas de HMP y viceversa. En este trabajo se describen los eventos de cambio de especificidad en este grupo de enzimas mediante análisis filogenético y de posiciones conservadas (rvET). En el árbol obtenido, enraizado con quinasas de thiazol como grupo externo, las dos ramas principales segregan quinasas de HMP y Pdx. Sin embargo, dentro de la rama HMP, en el clado más basal (*bootstrap* 89%) se observan secuencias que agrupan con la quinasa de Pdx de *Bacillus subtilis*. En el sitio activo de la rama Pdx, la tirosina que empaca con el sustrato es reemplazada por Metionina en la rama HMP. Además, un residuo polar cercano al nitrógeno que diferencia al anillo HMP del Pdx, es reemplazado por residuos apolares en el clado de la quinasa de Pdx de *Bacillus subtilis*.

88 EVOLUCIÓN DE LA ESPECIFICIDAD DE SUSTRATO EN LAS QUINASAS DEPENDIENTES DE ADP DE LA SUPERFAMILIA RIBOQUINASA (Substrate specificity evolution in the ADP dependent kinases of the ribokinase superfamily).

Merino, F. y Guixé, V.

Facultad de Ciencia. Universidad de Chile. Fondecyt 1070111.

En algunas arqueas del grupo *Euryarchaeota* el flujo glicolítico es llevado a cabo por una versión modificada de la vía de Embden-Meyerhof, donde las actividades fosfofructoquinasa y glucoquinasa son dependientes de ADP. En la arquea *M. Jannaschii* ha sido posible encontrar solo un homólogo para estas enzimas, que es capaz de realizar ambas funciones, por lo que ha sido propuesta como un ancestro para la familia. Estudios filogenéticos de este grupo de enzimas realizados por nuestro laboratorio

muestran que la historia evolutiva de esta familia es compleja. La raíz de la familia se encuentra dentro del grupo de las glucoquinasas demostrando que la enzima bifuncional no es el ancestro. Para comprender los determinantes estructurales de la función se realizó un análisis de traza evolutiva de valor real, modelos por homología de la enzima bifuncional en dos conformaciones y experimentos de docking proteína-sustrato. Los resultados muestran que la enzima de *M. Jannaschii* es una forma ancestral dentro de las fosfofructoquinasas y que los residuos predichos como determinantes de la especificidad se encuentran relacionados con la estabilización del fosfato cuando el ligando es fructosa-6-P, mientras que el cambio de algunas glutaminas/asparraginas por histidinas del sitio activo y la presencia de un glutámico parecen ser importantes para la unión de glucosa.

89 PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE UNA VARIANTE RECOMBINANTE DE SHPI-1, INHIBIDOR DE PROTEASAS MAYORITARIO DE STICHODACTYLA HELIANTHUS (Purification and structural characterization of a recombinant variant of ShPI-1, the major *Stichodactyla helianthus* protease inhibitor).

García, R.¹, Órdenes, A.², Gil, D.¹, Mansur, M.³, González, Y.¹, Pons, T.¹ y Monasterio, O.².

¹ Centro de Estudios de Proteínas, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba. ² Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Departamento de Biología, Universidad de Chile. ³ Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Cuba.

ShPI-1, aislado de la anémone *S. helianthus*, inhibe a proteasas de diferentes clases mecanísticas lo que ha motivado su aplicación biotecnológica. Esta molécula se expresó recientemente en *Pichia pastoris* introduciendo los residuos aminoácidos Glu-Ala-Glu-Ala en su extremo amino, con vistas a aumentar los niveles de expresión. En el presente trabajo se describe la purificación de esta variante activa de ShPI-1 (nombrada rShPI-1a) y su posterior caracterización estructural. La integridad de la molécula se demostró mediante la determinación de su masa molecular y su secuencia aminoacídica parcial. Los experimentos de diroísmo circular indicaron que rShPI-1a es altamente compacta y estable con un contenido mayoritario de láminas- β , típico de la familia BPTI-Kunitz. La adición de Urea (hasta 5.0 mol/L) y cloruro de guanidinium (hasta 6.0 mol/L) prácticamente no afecta la estructura secundaria del inhibidor que se despliega completamente solo con la adición de ditiotreitol y bisulfito de sodio. Teniendo en cuenta la estabilidad conformacional descrita para otros dominios BPTI-Kunitz, nuestros resultados sugieren que los residuos adicionados al extremo amino de ShPI-1 no afectan su estructura secundaria ni su estabilidad conformacional.

90 DETERMINACIÓN DE LA INTERACCIÓN DE FTSA CON FTSZ EN LIPOSOMAS (Determination of the interaction of FtsA with FtsZ in lipid vesicles).

Weinstein, D., Mascayano M.J., Pizarro, M., Saldías, C., Lagos, R. y Monasterio, O.

Laboratorio de Biología Estructural y Molecular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

El divisoma es un complejo proteico que se forma en el septo bacteriano y permite la división celular. En una primera etapa se ensambla el anillo Z, formado por filamentos de FtsZ, que permite la unión y ensamblaje del resto de los componentes del divisoma.

Las primeras proteínas en unirse al anillo Z son FtsA y ZipA. Se ha postulado que su unión estabilizaría al anillo Z, fijándolo a la membrana.

La estructura tridimensional de FtsA de *T. maritima* ha sido resuelta por cristalografía de Rayos X, la estructura de FtsA de *E. coli* se obtuvo por modelaje comparativo. FtsA es homóloga de actina, posee cuatro subdominios, un sitio de unión a ATP, y una hélice anfipática C-terminal que le permite unirse a membrana.

Se expresó y purificó, en forma recombinante, FtsZ silvestre, FtsA-His6, FtsA- Δ 27 y FtsA-D210A. Se ha determinado que FtsA interactúa con FtsZ y liposomas de *E. coli* in vitro, no así FtsA- Δ 27. Ambas proteínas presentan actividad ATPasica

Se ha postulado que la unión de ATP es necesaria para la interacción de FtsA con FtsZ, para estudiar esto se ha utilizado FtsA-D210A, una mutante en el sitio de unión de ATP.

Proyecto FONDECYT 1050677.