

CONFERENCIAS

THE ORIGIN OF EVOLUTION OF ORGANELLE AND EUKARYOTIC GENOMES (Origen de la evolución de los genomas eucariontes y de organelos).

Bogorad, Lawrence. Harvard University, Cambridge, MA USA.

Eukaryotic cells are characterized by the presence of two or more compartmentalized genomes. A cell of a green plant contains a set of genes in its nucleus, in its mitochondria and in its plastids. Detailed analyses of plastid genes have revealed some strong resemblances to genes of prokaryotes but these are mixed with features characteristic of eukaryotic nuclear genes.

Two principal ways in which the multiple genomes of modern eukaryotic cells might have originated are: endogenously, *i.e.* by subdivision and compartmentalization of the single genome of an akaryotic cell, or exogenously, *i.e.* by the addition of a new genome (as that of an endosymbiont) to a nucleated cell.

Genes for components of organelles are dispersed in the nuclear and organelle genomes of modern eukaryotic cells. For example, the rRNAs of plastid ribosomes are located in the plastid chromosome together with the genes for some, but not all, ribosomal proteins. Genes for other plastid ribosomal proteins are located in the nuclear genome. There are a number of other examples of the dispersal among nuclear and organelle genomes of genes for multimeric components of organelles. Possible mechanisms for redistribution of genes from their initial locations include gene transfer and protein-gene substitution. Eventually mechanisms for stabilization of gene distribution among genomes must have come into play; possible mechanisms for such stabilization will be discussed.

CODIFICACION NEURAL. (Neural coding).

García Austt, Elio. Instituto Ramón y Cajal, España.

El Sistema Nervioso recibe, distribuye, almacena, procesa y emite información. En la recepción, distribución y emisión, la información se transmite. Para la transmisión es preciso que la información se codifique en mensajes. El Sistema Nervioso utiliza 2 tipos de códigos: el de líneas independientes y los temporales. Estos son múltiples. Nos referiremos, particularmente, a aquellos códigos que llevan una información rítmica, enmarcada por lo que, aparentemente, podría ser ruido irrelevante. El elemento que decodifica es capaz de detectar entre las aferencias aquello que resulta irrelevante. Este "interés" del elemento post-sináptico en determinada información está establecido por su propia actividad.

MECHANISMS FOR THE DISTRIBUTION OF PROTEINS IN EUKARYOTIC CELLS (Mecanismos de distribución de proteínas en células eucariontes).

Sabatini, David D. Department of Cell Biology, New York University Medical Center, 550 First Avenue, New York, NY 10016, USA.

From a biogenetic perspective cellular proteins destined to membranes and organelles fall into two broad categories. One consists of those organellar proteins which are incorporated into or transferred across membranes during their synthesis in ribosomes bound to endoplasmic reticulum (ER) membranes. The second includes polypeptides which, when released into the aqueous environment of the cell cytoplasm, spontaneously fold into a conformation that allow their specific recognition by the limiting membranes of the organelle in which they are to be incorporated.

The insertion of polypeptides of the first class into the hydrophobic interior of a membrane is initiated by a specific segment of the nascent chain, in the early stages of chain elongation and therefore before the polypeptide is fully folded. Upon completion of their synthesis polypeptides released from bound ribosomes may be either discharged into the ER lumen for ultimate secretion or segregation into lysosomes, or become integral components of the membranes. These in turn can either be retained in the ER or transferred to other compartments, by processes which may involve a combination of lateral diffusion in the plane of membranes and transport via carrier vesicles that bud from one membrane system and fuse with another. The ultimate localization of any specific protein initially incorporated in to the ER must be determined by mechanism which either direct its active movement within the cell or ensure its retention within a specific compartment.

The existence of a mechanism for the cotranslational transfer of polypeptides across the ER membrane was first recognized in studies concerned with the biosynthesis of secretory proteins in pancreatic acinar cells and hepatocytes where the cellular apparatus effecting the cotranslational transfer is most extensive. In these and other cells specialized in protein secretion most of the ribosomes are bound to ER membranes and a major fraction of the polypeptides produced are transported from the rough ER to the Golgi apparatus for packaging into secretory granules, the content of which is eventually discharged from the cell by exocytosis.

Polypeptides belonging to the second class are synthesized in free polysomes and become associated with, or are transferred across membranes posttranslationally. This class includes integral proteins exposed only on the cytoplasmic face of membranes, such as cytochrome b_5 and NADH cytochrome b_5 reductase in the ER, as well as most mitochondrial and chloroplast polypeptides encoded by nuclear DNA, and polypeptides contained in peroxisomes or glyoxysomes.

The posttranslation transfer of many polypeptides across mitochondrial and chloroplast membranes appears to be dependent on a transmembrane potential and to require the expenditure of energy. In the cases the primary products of translation must be recognized by receptors present in the outer organellar membranes. In addition, the active translocation of the polypeptides and their sequestration within the organelles are usually accompanied by significant structural changes, such as proteolytic modification or the covalent attachment of a prosthetic group, that may render the incorporation irreversible. Because a limited number of different receptors may be found in the surface of an organelle and many more different polypeptides must in some cases be incorporated posttranslationally, it is clear that at least some of these polypeptides must share structural properties that allow them to utilize a single type of receptor.

BASES MOLECULARES DE LA ACCION SELECTIVA Y ESPECIFICA DE LOS ANTIBIOTICOS. (Molecular basis of the selective and specific action of antibiotics).

Vásquez, David. Centro de Biología Molecular del CSIC. Universidad Autónoma de Madrid, Canto Blanco. Madrid, España.

En general los antibióticos de mayor interés en Biología y en Medicina son muy específicos en su acción inhibidora, pues a bajas concentraciones interaccionan solamente con un componente celular. Considerados muy ampliamente, estos antibióticos pueden ser clasificados de acuerdo con su especificidad de acción primordial y de una manera simplificada dentro de alguno de los grupos siguientes: a) Inhibidores de la síntesis de la pared celular; b) Inhibidores que afectan las funciones de permeabilidad selectiva de la membrana celular; c) Inhibidores de la síntesis de los ácidos nucleicos; d) Inhibidores de la síntesis de las proteínas.

Por otra parte, la selectividad de los antibióticos, considerada de una manera amplia, está basada generalmente en diferencias es-

estructurales y en algunas particularidades funcionales de los distintos tipos de células. En el pasado se han considerado esencialmente dos amplios grupos de células, procarióticas y eucarióticas, que comprenderían prácticamente todas las conocidas hasta ahora. Sin embargo, recientemente se ha descrito un nuevo grupo de microorganismos, que erróneamente se incluyeron durante algún tiempo dentro de las bacterias, aunque en muchos aspectos están más próximas a las células eucarióticas y se agrupan con el nombre de arqueobacterias. Precisamente hay importantes diferencias entre células procarióticas, arqueobacterias y células eucarióticas dentro de las características de los grupos de especificidad de acción *a*, *b*, *c* y *d* anteriormente indicados, que son las que determinan las bases de la acción selectiva de los antibióticos. Así, dentro del grupo *a* son de resaltar los inhibidores de la biosíntesis del peptidoglicano, pues por estar presente este componente solamente en la pared celular de bacterias y algas azules, son numerosos los inhibidores de biosíntesis de peptidoglicano que actúan selectivamente en bacterias y algas azules. Las estructuras afectadas por los grupos *b*, *c* y *d* de inhibidores están presentes tanto en células procarióticas como eucarióticas y arqueobacterias, pero hay ciertas diferencias entre las estructuras equivalentes de estos tres tipos de células que permiten una acción selectiva de numerosos inhibidores (1, 2).

En el caso de las células eucarióticas la acción selectiva inhibidora es preferencialmente complicada, puesto que todas ellas tienen en su citoplasma organelos de tipo procariótico como son las mitocondrias (y en las plantas verdes los cloroplastos), que, sin embargo, carecen de pared celular y por tanto de peptidoglicano. De ahí la enorme importancia de los antibióticos inhibidores de la síntesis del peptidoglicano en su acción selectiva y específica, siendo de destacar por su mayor interés dentro de este grupo los antibióticos β -lactámicos.

Los antibióticos β -lactámicos (penicilinas y cefalosporinas) bloquean selectivamente el crecimiento de bacterias y algas azules por inhibir principalmente la reacción de transpeptidación de su interacción de manera covalente (rompiendo su anillo β -lactámico) con unas proteínas específicas de la membrana de dichos microorganismos que catalizan diversas reacciones en la síntesis del peptidoglicano y que se denominan genéricamente con el nombre de PBPs ("penicillin binding proteins"). Sin embargo, no todos los β -lactámicos interaccionan con las mismas PBPs como veremos en esta exposición.

REFERENCIAS

- 1) VASQUEZ, D. (1979). Inhibitors of protein biosynthesis. Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg-New York.
- 2) VASQUEZ, D. (1981). Inhibidores de biosíntesis de proteínas. En "Investigación y Ciencia" N° 62, pp. 130-144.

Simposio

ANÁLISIS GENÉTICO DE LA ORGANIZACIÓN SUBCELULAR

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE ACCESSORY FIBRILLAR STRUCTURES IN MAMMALIAN SPERM CELL. (Análisis comparado de las estructuras fibrilares accesorias en células espermáticas de mamíferos).

Burzio, Luis O. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

The development of the haploid cell spermatid into the mature sperm, referred to as

spermiogenesis, is one of the most complex process of cell differentiation. One aspect of major interest in our laboratory within this fascinating cascade of morphogenic events in mammals, is the synthesis and assembly of the accessory fibrillar elements: the outer dense fibers (ODF) and the fibrous sheath (FS). They represent the most prominent structural components of the sperm tail.

We have developed simple procedures to isolate the ODF and the FS from sperm of different species. With the purified structures we have carried out comparative studies in regard to the characteristics and complexity of the polypeptides of the fibrillar structures. The ODF have been isolated from rat, mouse, hamster, guinea pig, bull and human sperm. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis studies of the isolated fibers revealed marked differences in polypeptide composition among the species analyzed. The rat sperm ODF contains five major polypeptides with M.W. of 87,000; 26,000; 18,400; 13,000 and 11,500. Of them, the component of 26,000 daltons can be resolved as two polypeptides (M.W. 30,400 and 26,000). However, the close similarity in amino acid composition, the presence of the same amino acid at the NH₂-terminal and the generation of identical peptide map, suggest that we are dealing with one single polypeptide. We propose that the different mobility in SDS-gel is due to extensive phosphorylation of the 26,000 daltons polypeptide generating the 30,400 daltons component. The polypeptide composition of the ODF isolated from other species, showed large difference in complexity when compared with the rat sperm ODF.

FS isolated from rat sperm showed three major polypeptides with M.W. of 80,000; 25,700 and 11,600, together with other minor components with M.W. of 66,000 and 29,600. In contrast with the difference observed in polypeptide composition of the ODF, the FS isolated from hamster sperm showed the same polypeptides composition of the rat FS.

Finally, we will discuss the *in vitro* reconstitution of these fibrillar structures as another approach for comparative studies. (Supported by Grant DI.UACH, RS-82-01).

CHROMOSOMAL DETERMINATION OF THE NUCLEAR ARCHITECTURE. (Determinación cromosómica de la arquitectura nuclear).

Fernández-Donoso, R. Unidad de Citogenética, Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Casilla 6556, Santiago 7, Chile.

"For every chromosome that enters into a nucleus there persists in the resting-stage some kind of unit, which determines that from this nucleus come forth again exactly the same number of chromosomes that entered it, showing the same size relations as before and often also the same grouping". (Th. Boveri, 1907) (1).

Nucleus and chromosomes are transitional stages of the hereditary material organization in eukaryotic cells. The *persisting unit* conceived by Boveri 90 years ago, is the structural pattern of chromosomal organization and morphogenesis which is carried over unchanged from cell to cell generations and often from remote ancestors. Not only transcribable genetic information is inherited through chromosomes. The form and mode of chromatin fiber folding and the manner in which this fiber unfolds and organizes itself during interphase, are also inherited. Features of this structural pattern can be visualized by means of chromosomal banding techniques. Comparative studies of banded karyotype of phylogenetically related species reveal that each karyotype is composed of three chromosomal groups according to changes in their structural patterns: I. those which have been conservative or stable and showing no structural modifications, II. those which have been variable but maintain intact large chromosomal domains, and III. those unique or proper to each species, presenting new structural patterns. These groups of chromosomes are representative of different qualitative responses of the nucleus to selective pressures.

Chromosomal changes imply modifications in interphasic chromosomal relationships. C. Rabl reported in 1885 that *"traces of the chromosomes -branching out and anastomosing- could still be distinguished in the configuration of the nuclear framework during the resting-stage, the nucleus having a "pole" toward which the apices of the V-shaped chromosomes converge and an "antipole" at the opposite point"* (2).

In order to ascertain nuclear interrelations of centromeres, telomeres, heterochromatic domains and nucleolus organizer regions, whole nuclei were studied by cytochemical methods, *in situ* hybridization and AgNOR

chromosome techniques. Three dimensional reconstructions from L.M. series were also made. These studies have been carried out in nuclei from both gametes and meiocytes as well as from somatic cells in nine mammalian species, including man. In this way, the organization of specific nuclear spaces proper to each cell lineage from each species have been substantiated.

The *Rabl configuration of the nucleus* is a consequence of the persistence during interphase of anaphasic chromosome polarization. This polarization fixes an order in the spacial disposition of chromosomes over which chromatin fibers unfold, loosely following the structural pattern of chromosome organization. Interchromosomal associations between particular chromosomal domains might occur with regularity. From this process emerges the interphasic framework of the nucleus.

The existence of a nuclear architecture, inherited as a plan or code of interchromosomal association, may have complex biological consequences. The reiterated clustering of heterologous chromosomal domains, organizing specific nuclear territories or compartments and the regulation or canalization of Robertsonian rearrangements, should be considered among others. Proyecto N° 517-8355 D.D.I., Universidad de Chile.

REFERENCIAS

- (1 - 2) Cited by E.B. Wilson, in *The Cell in Heredity and Development*, pp. 828-829. The Macmillan Co. 1940.

BIOSYNTHESIS OF GLYCOPROTEINS IN MEMBRANES: BIOCHEMICAL AND GENETIC APPROACHES. (Biosíntesis de glicoproteínas en membranas: abordajes bioquímico y genético).

Hirschberg, Carlos B. St. Louis University.

Our laboratory is studying the biogenesis, structure and function of animal cell membranes with particular emphasis on glycoproteins and glycolipids. Specific major problems that are being addressed include

(I) the intracellular site(s) and topography of glycosylation reactions. We are determining the side of the endoplasmic reticulum membrane where glycosylation reactions occur involving mannose, glucose and N-acetylglucosamine; we are also continuing to define Golgi apparatus subcompartments containing different glycosylating enzymes (1). (II) Another major problem being explored deals with the mechanism by which sugar nucleotides are transported from their site(s) of synthesis within the cell to the site(s) of glycosylation. A particular intriguing problem is how CMP-sialic acid, which is synthesized in the nucleus, is translocated into the lumen of the Golgi apparatus where sialylation occurs. We have purified the CMP-sialic acid synthetase, a nucleoplasmic enzyme, 12,000 fold and are attempting to understand how this protein gets into the nucleus (2). We have recently obtained evidence *in vitro* strongly suggesting the existence of a group of nucleotide-derivative carrier proteins in the Golgi apparatus membrane. These proteins presumably catalyze the translocation from an external into a luminal compartment of CMP-sialic acid, GDP-fucose, UDP-N-acetylglucosamine and Adenosine-3' phosphate 5' phosphosulfate (PAPS) (3, 4). Translocation of this latter compound was selectively inhibited by atractylosides, suggesting structural similarities between the PAPS translocator in the Golgi membrane and the ATP/ADP translocator of mitochondria (5). Photoaffinity labeled sugar nucleotides and inhibitors of translocation are being used to identify and isolate the putative Golgi translocator proteins. (III) A third major question that is being addressed is the *in vivo* significance of the above glycosylation reactions described *in vitro*. For this purpose, mammalian mutant cells with greatly reduced amounts of sialic acid and fucose are being isolated and examined. A combination of (a) cytotoxic lectins and (b) radiation suicide with radioactive fucose and sialic acid followed by screening with replica plating fluorography is being used (5). Preliminary results suggest that on particular mutant may be defective in the translocation of CMP-sialic acid across Golgi membranes.

REFERENCIAS

1. DEUTSCHER, S.L.; CREEK, K.E.; MERION, M. and HIRSCHBERG, C.B. (1983). Subfractionation of rat liver golgi apparatus: separation of enzyme activities involved in the biosynthesis of the phosphomannosyl recognition marker in lysosomal enzymes. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 80, 3938-3942.
2. PEREZ, M.; VANNIER, A. and HIRSCHBERG, C.B. (1982). Purification and characterization of CMP-sialic acid synthetase, a nucleoplasmic enzyme. *Fed. Proc.* 41, 662 (abstract).
3. SOMMERS, L.W. and HIRSCHBERG, C.B. (1982). Transport of sugar nucleotides into rat liver Golgi. *J. Biol. Chem.* 257, 10811-10817.
4. CAPASSO, J.; SCHWARZ, J. and HIRSCHBERG, C.B. (1983). Translocation of nucleotide sugars and nucleotide sulfate across the Golgi membrane. *J. Cell Biology*, in press (abstract).
5. HIRSCHBERG, C.B.; PEREZ, M.; SNIDER, M.; HANNEMAN, W.L.; ESKO, J. and RAETZ, C.R.H. (1982). Autoradiographic detection and characterization of a Chinese hamster ovary cell mutant deficient in fucoproteins. *J. Cell Phys.* 111, 255-263.

GENETIC ANALYSIS OF ENDOCYTOSIS AND CELLULAR COMPARTMENTALIZATION.
(Análisis genético de endocitosis y compartimentalización celular).

Robbins, April R. Genetics and Biochemistry Branch, National Inst. of Arthritis, Diabetes, Digestive and Kidney Diseases Bethesda, Maryland, 20205, USA.

A variety of macromolecular ligands bind to specific receptors on the cell surface and are then internalized by endocytosis. Using modified ligands that are toxic to the cells, we and others have isolated mutants defective in the initial step of receptor-mediated endocytosis, i.e., ligand binding. Morphological studies suggest that the various ligands follow a common pathway subsequent to binding their receptors. To obtain cells altered in this common pathway, we isolated mutants defective in the endocytosis of two unrelated ligands: Chinese hamster ovary cells were incubated first with diphtheria toxin, then the surviving cells were screened to identify mutants with decreased uptake of lysosomal hydrolases via the mannose 6-phosphate receptor.

The mutants obtained mimic normal cells which have been treated with inhibitors that block organelle acidification: They are resistant to Sindbis and vesicular stomatitis viruses; many are also resistant to Pseudomonas toxin and modeccin. All of

the mutants secrete endogenously synthesized acid hydrolases, rather than compartmentalize those enzymes into lysosomes. The inability to dissociate iron from internalized ferric transferrin has also been observed.

Two of the mutants, DTF 1-5-1 and DTG 1-5-4, have been shown to be defective in ATP-dependent acidification of endosomes, the pre-lysosomal compartment into which receptor-bound ligands enter shortly (1-3 min) after internalization. Both mutants appear capable of ATP-dependent acidification of lysosomes. Cell hybridization has shown that the mutations in DTF 1-5-1 and DTG 1-5-4 are in different genes.

We have observed altered processing of some glycoproteins in DTF 1-5-1 and DTG 1-5-4. Assuming that the defect in endosome acidification is the primary lesion in those mutants, we suggest that the same mechanism functions to acidify the late Golgi/secretory vesicle apparatus, and that some glycoproteins require an acidic milieu in order to be terminally glycosylated.

EXPRESSION AND MUTAGENESIS OF CLONED cDNAs ENCODING VIRAL MEMBRANE PROTEINS. (Expresión y mutagénesis de cDNAs clonados que codifican proteínas virales de membrana).

Rose, J. The Salk Institute. San Diego, California, USA.

Proteins which are synthesized on the membrane bound ribosomes of the rough endoplasmic reticulum (ER) can be transported to various compartments within the cell such as the ER, Golgi apparatus, and lysosomes, or they can be selected for secretion from the cell. The mechanisms which direct this protein traffic are not well understood. The functions of individual protein domains in this sorting process can now be studied by making specific modifications in the genes encoding the proteins, expressing the modified genes in eucaryotic cells, and following the fate of the modified gene products. We have used this approach to examine the role of the hydrophobic membrane "anchor" sequence and the highly charged cytoplasmic domain of the vesicular stomatitis virus (VSV) gly-

coprotein (G) in its transport from the ER to the plasma membrane. The systems used for expression and *in vitro* mutagenesis of cDNA clones encoding the VSV G protein and other viral proteins will be discussed.

The VSV G protein has been studied extensively as a model integral plasma membrane protein. G protein forms the glycoprotein spikes which protrude from the membrane of this enveloped RNA virus. During translation the G protein is inserted into the ER and two "high mannose" oligosaccharides are added to the nascent chain at amino acid residues 178 and 335. Both ends of the molecule play critical roles in the insertion process. Like most secreted or membrane proteins the nascent G polypeptide has a short hydrophobic NH₂-terminal signal peptide which presumably initiates association of the nascent polypeptide-mRNA-ribosome complex with the membrane. After more than 95% of the polypeptide has been inserted, it becomes anchored in the membrane by a hydrophobic domain of 20 amino acids which spans the lipid bilayer. Only a short, highly charged COOH-terminal domain of 29 amino acids remains on the cytoplasmic side of the membrane. G protein is then transported to the Golgi apparatus where the "high mannose" oligosaccharides are converted to the "complex" type. Finally the G protein is transported to the plasma membrane where it is incorporated into the membrane of budding virus particles.

We have achieved expression of the VSV G protein from cloned cDNA in eucaryotic cells. The vectors used in these studies contain portions of SV40 virus DNA which direct transcription and replication of the cloned cDNA. We find that the G protein expressed from DNA is transported normally to the plasma membrane. The G protein therefore contains all of the signals necessary to specify its transport, and provides an ideal model system for studying the signals which direct membrane proteins to their appropriate locations in eucaryotic cells. We find that a deletion mutant which removes DNA sequences encoding the transmembrane and cytoplasmic domains encodes a truncated G protein which is no longer anchored and is secreted slowly

from the cells. We have also altered the structure of the cytoplasmic domain in G protein by *in vitro* mutagenesis of the DNA encoding this domain. We find that these alterations have dramatic effects on the rate at which the mutant proteins are transported. In general the transport of these altered proteins beyond the ER appears to be retarded or blocked. These results indicate that the cytoplasmic domain of a transmembrane protein may play a critical role as a signal in its transport.

REFERENCES

- ROSE, J.K. and GALLIONE, C. (1981). Nucleotide sequences of the mRNAs encoding the VSV G and M proteins as determined from cDNA clones containing the entire coding regions. *J. Virol.* 39, 519-528.
- ROSE, J.K. and BERGMANN, J.E. (1982). Expression from cloned cDNA of cell surface and secreted forms of the VSV glycoprotein in eucaryotic cells. *Cell* 30, 753-762.
- ROSE, J.K. and BERGMANN, J.E. (1983). Altered cytoplasmic domains affect intracellular transport of the VSV glycoprotein. *Cell*, Sept. issue.
- FLORKIEWICZ, R.; SMITH, A.; BERGMANN, J. and ROSE, J.K. (1983). Isolation of stable mouse cell lines encoding cell surface and secreted forms of the VSV glycoprotein. *J. Cell Biol.*, Nov. issue.

STUDIES ON THE BIOSYNTHESIS OF PLASMA MEMBRANE PROTEINS.

Sabatini, David D. Department of Cell Biology, New York University Medical Center, 550 First Avenue, New York, NY 10016, USA.

There is considerable interest in understanding biogenetic mechanisms which ensure that newly synthesized polypeptides are incorporated into cellular membranes with the specificity of distribution and disposition with respect to the phospholipid bilayer necessary for their function. The biogenesis of plasma membranes is of particular interest in this regard, because plasma membrane proteins play an important role in regulating the interactions of cells with their environment and mediate the integration of specific cells into tissues and organs. In many cell types the plasma membrane represents a complex organelle that exhibits differentiated structures such as microvilli and junctional complexes and in which specific polypeptides are brought to the cell surface, and in which distinct

functional domains may be frequently recognized. It is clear that a full understanding of plasma membrane biogenesis will ultimately require and elucidation not only of the mechanisms by which specific polypeptides are brought to the cell surface, but also of the process by which they are segregated in distinct surface domains. To investigate directly mechanisms for the biosynthesis of plasma membrane proteins, we have chosen three plasma membrane systems, the myelin sheath in the central nervous system, and the distinct apical and basolateral plasma membrane domains of cells in transporting epithelia.

In the central nervous system the myelin sheath is generated by the wrapping of the cytoplasmic processes of an oligodendrocyte around and an axon. The major integral membrane protein of myelin is proteolipid protein (PLP, 23KD), and an approximately equal amount of protein is represented by a family of peripheral proteins, the myelin basic proteins (MBPs, 14KD-21KD). The distribution of newly synthesized PLP and MBPs was determined in microsomal and myelin fractions prepared from brainstems of 10-30 day old rats sacrificed at different times after an intracranial injection of ^{35}S -methionine. Labelled MBPs were found in the myelin fraction 2 min after the injection, whereas the PLP appeared first in the rough microsomal fraction and only after a lag of 30 minutes in the myelin fraction. Cell-free translation experiments using purified RNAs demonstrated that PLP and MBPs are synthesized in bound and free polysomes, respectively. A mechanism involving the cotranslational insertion into the ER membrane and subsequent passage of the polypeptides through the Golgi apparatus is consistent with the lag observed in the appearance of the *in vivo* labelled PLP in the myelin membrane. Newly synthesized PLP and MBPs are not proteolytically processed since the primary translation products synthesized *in vitro* had the same electrophoretic mobility and amino terminal sequence as the mature PLP and MBP polypeptides. It was found that crude myelin fractions are highly enriched

in mRNAs coding for the MBPs but not in mRNA coding for PLP. This suggests that whereas the bound polysomes synthesizing PLP are largely confined to the cell body, free polysomes synthesizing MBPs are concentrated in oligodendrocyte processes involved in myelination, which explains the immediate incorporation of MBPs into the developing myelinating sheath.

A hallmark of polarized epithelial cells is the presence of two distinct plasma membrane domains with different protein compositions, responsible for the characteristic enzymatic and transport activity of each membrane surface. The polarity of the kidney-derived epithelial cell line MDCK is manifested after infection with enveloped viruses by the asymmetric assembly of virions on the two surfaces. Thus, some viruses such as influenza and simian virus 5 (SV5) bud exclusively from the apical plasma membrane of the cells, while others such as vesicular stomatitis (VSV) emerge only from the basolateral surfaces. This provides a useful system for studying the sorting mechanisms by which plasma membrane polypeptides are addressed to different surface domains. We observed that MDCK cells can sustain double infection with viruses of opposite budding polarity, and that in such cells the envelope glycoproteins of the two viruses are synthesized simultaneously and assembled into virions at their characteristic sites. Immunoelectron microscopic examination of doubly infected MDCK cells showed that the influenza HA and the VSV G glycoproteins traverse the same Golgi apparatus and even the same Golgi cisternae. This indicates that the pathways of the two proteins towards the plasma membrane do not diverge before passage through the Golgi apparatus and therefore that critical sorting steps must take place during or after passage of the glycoproteins through this organelle. Following its passage through the Golgi, the HA accumulated primarily at the apical membrane, where influenza virions assembly occurred. A small fraction of HA did, however, appear on the lateral surface and was incorporated into the envelope of budding VSV virions. The segregation of G protein was even less

strict and significant amounts of it were observed on the apical plasma membrane well before disruption of the tight junctions was detectable. Nevertheless, assembly of VSV virions was restricted to the basolateral domain and in doubly infected cells the G protein was only infrequently incorporated into the envelope of budding influenza virions. These observations indicate that the site of VSV budding is not determined exclusively by the presence of G polypeptides. Therefore, it is likely that, at least for VSV, other cellular or viral components are responsible for the selection of the appropriate budding domain.

The Na,K-ATPase of eukaryotic cells is an enzyme complex that functions as a pump, located in the basolateral domain of the cell surface. This restricted localization is critical in the establishment of functional polarity of ion-transporting epithelial cells. The membrane disposition of the catalytic (α , 100 K) and glycoprotein (β , 55-60 K) subunits of the Na,K-ATPase of the plasma membrane was examined by their susceptibility to digestion with exogenous proteases added to membrane fractions containing microsomes or to intact MDCK cells. Polypeptides present in microsomes were labelled with ^{35}S -methionine during a short *in vivo* pulse (5-10 min) and those in the plasma membrane by a pulse followed by a 60 min chase. The α subunit contained in microsomal membranes was extensively cleaved by trypsin or proteinase K to non-immunoprecipitable fragments, whereas these proteases or papain did not digest the α subunit in the cell surface of intact cells. The microsomal form (45 K) of the β subunit was largely resistant to digestion, as was the unglycosylated polypeptide (38 K) present in tunicamycin (TM) treated cells. In the plasma membrane of intact cells the β subunit was only slightly susceptible to papain or proteinase K, but the nonglycosylated form in TM treated cells was cleaved by either protease, which generated a 22 K cell-associated immunoprecipitable peptide fragment. Trypsin had no effect on the mature or unglycosylated form of the β subunit found in the plasma membrane. Assuming that the orientation of the poly-

peptides present in the ER is maintained during their transfer to the plasma membrane, these results are consistent with the notion that, whereas a large portion of the α subunit is exposed on the cytoplasmic side of the membrane, only a short segment (.5-1 K) of the β subunit is accessible on this side. Although a major segment of the β subunit is exposed extracellularly, the polypeptide is probably protected from proteases by its carbohydrate coat. A major portion of the polypeptide backbone (20-21 K) of the β subunit appears to be embedded in the bilayer and is always inaccessible to proteases from both sides of the membrane.

MOLECULAR GENETICS OF THE SECRETORY PROCESS IN YEAST.

Valenzuela, Pablo. Chiron Research Laboratories Chiron Corporation, Emeryville, CA USA.

Yeast cells secrete proteins by a pathway similar to that of other eukaryotic cells. A series of membrane-bounded structures mediate the transfer of exported proteins from their site of synthesis at the rough endoplasmic reticulum (ER) to their site of discharge at the plasma membrane. Using temperature sensitive mutants that affect the secretory apparatus, Schekman and collaborators have defined the order of events in the yeast secretory pathway. Secretory proteins enter the ER, where the initial steps of glycosylation occurs. Two or more gene products and energy are required to package nearly full glycosylated proteins into the bud, where they fuse into the plasma membrane in a process which requires at least additional ten gene products and energy.

One of the most efficiently secreted yeast proteins is the pheromone α -factor. This is a protein of 13 amino acids secreted by α -cells which acts only on cells of the opposite mating type (a cells). This pheromone elicits in the target cells, biochemical changes which are required for mating including cell surface agglutination and specific arrest of the cell division cycle at the G_1 phase. Results from Herskowitz

and collaborators and Thorner and collaborators indicate that the α -factor is produced by proteolytic cleavage of a larger precursor of 165 amino acids. The precursor begins with a hydrophobic segment that presumably acts as signal for secretion. The next segment of 60 amino acids contains three potential glycosylation sites. The carboxy-terminal half of the precursor contain four tandem copies of mature α -factor each preceded by spacer peptides which appears to contain proteolytic processing signals.

In order to investigate the molecular requirements necessary to allow efficient processing and secretion in yeast cells we have constructed plasmids in which the genes

coding for foreign proteins have been fused to yeast α -factor gene and expressed under the control of the α -factor promoter. Several different constructions have been made in which the DNA sequences of the spacer region, which may encode some of the processing recognition site, have been altered in order to study their role in the maturation process. Yeast cells transformed with these plasmids efficiently synthesize, process and secrete into the medium the mature, biologically active foreign proteins. The expression, processing and secretion of human epidermal growth factor from a chemically synthesized gene using the yeast α -factor expression system will be described.

Simposio

CARACTERIZACION DE RECEPTORES FARMACOLOGICOS

METODOLOGIA DE RADIOLIGANDOS Y SU UTILIZACION PARA PESQUISAR Y CARACTERIZAR RECEPTORES FARMACOLOGICOS EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL. (Radioligand methodology and its use for the search and characterization of pharmacological receptors in the central nervous system).

Bustos, Gonzalo. Laboratorio de Farmacología Bioquímica, Departamento de Biología Celular, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago.

La aparición durante la última década de ligandos de radiactividad específica alta, ha permitido que ellos sean utilizados para detectar y caracterizar receptores de neurotransmisores y/o drogas presentes en membranas sinápticas del S.N.C. Por definición, los radioligandos sólo se unen al "sitio de reconocimiento" o "sitio de unión" del receptor. Los receptores ocupan un área muy pequeña de la membrana y los neurotransmisores y/o drogas se unen a ellos con constantes de disociación relativamente bajas (Kd entre 10^{-11} a 10^{-7} M). De tal forma, que si ligandos radiactivos se utilizan para detectar y caracterizar receptores centrales, deben tener una radiactividad específica lo suficientemente alta para que se unan al

receptor en forma medible y dentro de un rango de concentraciones muy bajas y en todo caso menores a la Kd del complejo ligando-receptor. Tal radiactividad específica ha sido posible obtenerla incorporando [125 I] a compuestos que contienen residuos de tirosina (a.e. ~ 2.000 Ci/mmol) o intercambiando tritio con átomos de hidrógeno a una gran cantidad de otros posibles ligandos (a.e. mayores de 30 Ci/mmol).

Lo más atractivo de la técnica de radioligandos para pesquisar receptores es su relativa simplicidad y el hecho de que tanta información pueda obtenerse al incubar preparaciones crudas de membranas sinápticas en presencia de concentraciones variables de ligando radiactivo. Sin embargo, cada una de las etapas involucradas en estos estudios está sujeta a artefactos; artefactos que pueden provenir tanto del ligando, del tejido, del blanco utilizado, de factores como tiempo, temperatura, pH y iones y muy importante del tipo de metodología usada para separar el complejo ligando-receptor del ligando no unido a membranas.

Finalmente, si problemas ya sea metodológicos o derivados de posibles artefactos han sido controlados, persisten aquellos re-

lacionados con el análisis e interpretación de los datos obtenidos y el responder a la pregunta más importante: si el sitio de unión detectado, con los radioligandos, representa el sitio de unión correspondiente a un receptor fisiológico o farmacológico. Tal pregunta ha sido respondida utilizando tres criterios: el de saturabilidad, el de distribución cerebral (regional, celular y subcelular) y el criterio farmacológico. La respuesta adecuada de estas tres preguntas sugeriría al investigador que el sitio detectado, a través de estudios de unión de radioligandos, corresponde muy posiblemente a un receptor fisiológico y/o farmacológico.

CARACTERIZACION DE RECEPTORES COMPROMETIDOS EN RESPUESTAS RELAJANTES A AGONISTAS ADRENERGICOS EN CONDUCTO DEFERENTE DE RATA. (Classification of rat vas deferens receptors involved in relaxant responses to adrenergic receptors).

Díaz, A.; Jurkiewicz, A. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción, Departamento de Farmacología, Escola Paulista de Medicina, Sao Paulo, Brasil.

Fue estudiado en conducto deferente de rata, contraído por estímulo de campo y por cloruro de bario, el efecto relajante de una serie de agonistas adrenérgicos en ausencia y presencia de bloqueadores beta-adrenérgicos "selectivos" y "no-selectivos", con el fin de determinar la potencia relativa de los agonistas y pA_2 de los antagonistas, frente a cada uno de los agentes relajantes, con el objeto de caracterizar los receptores comprometidos en este tipo de respuesta.

Los resultados obtenidos con estas experiencias, así como los de un modelo teórico, que consideró la interacción de los agentes adrenérgicos con dos sistemas receptores simultáneamente, nos permitió concluir que en el conducto deferente de rata existirían receptores beta-adrenérgicos cuyas características corresponden a las descritas para el subtipo β_2 , y que en este órgano, contraído por el estímulo eléctrico, la acción de las catecolaminas se manifestaría a tra-

vés de la interacción con dos sistemas receptores, siendo uno de ellos el subtipo β_2 y el otro de naturaleza desconocida. (FINEP, FAPESP, CNPq.)

CARACTERISTICAS DE RECEPTORES DOPAMINERGICOS CENTRALES: CORRELACION CON PATOLOGIA NEUROLOGICA Y SIQUIATRICA. (Characteristics of central dopaminergic receptors: correlations with neurological and psychiatric pathologies).

Gómez Galera, Ariel. Universidad de Chile.

Bioquímicamente se han descrito principalmente 2 receptores para dopamina: D1 y D2. El receptor D1 debe ser considerado un sitio para dopamina y está asociado a una adenilato ciclasa sensible a DA. El receptor D2 no está asociado a una enzima sensible a DA. Esta clasificación es insuficiente porque la existencia de adenilato ciclasa sensible a DA en algunos tejidos es controvertida, no existe una metodología bioquímica práctica para separar los receptores asociados a enzima de los no asociados y no se ha podido correlacionar la potencia biológica de antagonistas y agonistas en cuanto a sus efectos conductuales con su capacidad de activar o inhibir la enzima.

La clasificación farmacológica, hecha en base a la sensibilidad de los sitios o receptores analizados con respecto a dopamina y neurolépticos, ha permitido separar sitios de receptores propiamente tales y además establecer las correlaciones con efectos conductuales de agonistas y antagonistas. En este trabajo se revisan las clasificaciones de Seeman, y de Creese y cols., que siendo principalmente farmacológicas incorporan criterios bioquímicos, de ubicación topográfica anatómica y probables funciones fisiológicas mediadas por ellos.

Seeman establece 4 sitios para DA: D1 (unido a adenilciclasa sensible a DA), sensible a concentraciones micromolares tanto de dopamina como neurolépticos; D2 (independiente de adenilciclasa sensible a DA), sensible a concentraciones micromolares de DA y concentraciones nanomolares de neurolépticos; D3, sensible a concentraciones nanomolares de DA y concentraciones micromolares de neurolépticos, y D4, sensible

a concentraciones nanomolares tanto de DA como neurolépticos. Sólo el sitio D2 cumple los criterios para ser considerado un receptor propiamente tal.

Creese y cols. definen sólo 3 sitios para DA: D1, D2 y D3, que corresponden básicamente a los establecidos por Seeman, pero omiten el D4 de Seeman por considerar que éste sería una forma o estado del receptor D2 al cual asignan la posibilidad de existir en 2 estados: muy sensible a DA (nanomolar) o relativamente insensible a DA (micromolar).

Actualmente las disfunciones de vías y/o receptores dopaminérgicos en SNC proveen el sustrato fisiopatológico para patologías como esquizofrenia, enfermedad de Parkinson, algunas formas de distonía, disquinesias agudas, disquinesia tardía, etc.

Los receptores dopaminérgicos pueden cambiar sus parámetros cinéticos (K_D y B_{max}) en respuesta a lesiones en las vías dopaminérgicas (Parkinson, algunas formas de distonías), a control genético alterado (aumento de receptores D2 en sistema límbico de esquizofrénicos) o como respuesta a la administración prolongada de agonistas o antagonistas DA (hipersensibilidad por aumento de B_{max} de receptores D2 estriales en enfermos sicóticos tratados con neurolépticos originando disquinesias tardías).

En nuestro laboratorio hemos establecido un modelo de disquinesia tardía en animales (ratas) a través de la administración crónica de neurolépticos en dosis estrictamente ajustadas a las usadas en clínica. La hipersensibilidad de receptores dopaminérgicos estriales fue demostrada por estudios conductuales, evocando estereotipia con dosis subumbrales de apomorfina. Paralelamente se estudiaron los parámetros cinéticos de receptores dopaminérgicos en el neostriado a través de la metódica de unión droga-receptor (binding) a membranas de estriado. Los resultados obtenidos nos permiten afirmar: a) el tratamiento con neurolépticos originó un aumento significativo de la densidad (B_{max}) de receptores D2 en el estriado; b) la correlación del curso temporal del cuadro de disquinesia experimental con los cambios en B_{max} de receptores D2 estriales fue significativa.

CARACTERIZACION DE UN RECEPTOR PARA EL L-GLUTAMATO EN EL CUERPO ESTRIADO DE RATA. (Characterization of a L-Glutamate receptor in rat corpus striatum).

Rudolph, M.I.; Bustos, G. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción; Laboratorio de Farma-Bioq. I.CC.BB., Universidad Católica de Chile.

Se investigó la presencia de receptores para L-Glutamato (L-GLU) en el cuerpo estriado (CE), midiendo la unión específica de L-GLU- 3H a una preparación de membranas estriales. El sitio caracterizado posee esteoespecificidad y es saturado al aumentar la concentración del ligando radiactivo. Además, presenta cooperatividad positiva y sensibilidad frente a cambios de la actividad de la célula nerviosa, observándose un aumento en el número máximo de sitios de unión en condiciones de despolarización neuronal. La unión específica es reversible y compite con el ácido quisquálico (AQ) y con el dietilester del ácido glutámico (DEEAG).

Es probable que, a través de este receptor, el L-GLU esté ejerciendo una función neuromoduladora sobre la liberación de dopamina (DA) estriatal. Dicho efecto se encontró a través de un sistema que permite la superfusión de cortes de CE, donde el L-GLU estimuló la liberación de DA- 3H dependiente de Ca y evocada por despolarización neuronal. De los análogos estructurales del L-GLU sólo el AQ fue capaz de reproducir la acción del L-GLU. El efecto de ambos agonistas fue antagonizado a su vez por el DEEAG.

El cuerpo estriado recibe una importante aferencia neuronal de tipo excitatorio proveniente de la corteza cerebral. La evidencia experimental permite sugerir que esta vía pudiera ser de naturaleza glutamatérgica, por lo que se consideró la necesidad de caracterizar los posibles receptores para el L-GLU en el CE. Los resultados experimentales apoyan la hipótesis anterior, por lo que se plantea que el L-GLU podría estar jugando un rol importante sobre la actividad del Neostriado al interactuar funcionalmente con la vía dopaminérgica nigroestriatal.

LOS RECEPTORES COMO INSTRUMENTOS EN INVESTIGACION NEUROBIOLÓGICA. (Receptors as tools in neurobiological research). Orrego, F.; Valdés, F.; Riveros, N. y Lagos N. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Además del estudio de las características propias de los receptores sinápticos, tales como los parámetros cinéticos del sitio receptor, y la activación del mecanismo efector (canal iónico, enzima, etc.), es posible usar los receptores sinápticos, aislados o no, como instrumentos que tienen una alta sensibilidad y especificidad.

El uso más frecuente que se les ha dado es el de detectores de ligandos endógenos. Así, por ejemplo, con receptores en sistemas celulares intactos, cuya respuesta fisiológica se mide, es decir, con bioensayos, se llegó a la detección, purificación y caracterización de la mayor parte de las hormonas, neurotransmisores, factores de liberación y principios bioactivos endógenos. Cuando se cuenta con receptores sinápticos aislados, que muestran suficiente estabilidad, y para los cuales se cuenta con un ligando radiactivo apropiado, se puede montar un sistema de detección simple y sensible para las moléculas que se ligan a ellos.

Con este enfoque, hemos usado extensamente el receptor de GABA para detectar las pequeñas cantidades de sustancias

GABA-símiles liberadas por estimulación eléctrica de rebanadas de corteza cerebral de rata *in vitro*, y visto por primera vez la dependencia de calcio de este proceso. Con el mismo receptor hemos también buscado en vesículas sinápticas y en membranas plasmáticas de diversas regiones del cerebro de rata la presencia de posibles ligandos endógenos que no sean GABA para este receptor. Tal búsqueda de ligandos endógenos fue enteramente negativa, ya que sólo pudo detectarse GABA.

Hemos también usado el receptor para el ácido káínico, un ligando que no existe normalmente en cerebro, para estudiar cuál sería el o los ligandos endógenos para este receptor. Dicho ligando se supone tendría una acción excitatoria endógena. Con este método hemos logrado ver que en vesículas sinápticas de corteza cerebral y otras regiones el único ligando para este receptor es el ácido glutámico, y que cada vesícula sináptica tiene unas 22.000 moléculas de él.

Finalmente, estamos usando el receptor para estricnina de médula espinal de rata, el cual es un receptor para un neurotransmisor inhibitorio poco definido. Resultados preliminares indican que sinaptosomas de médula espinal de rata tienen, aparte de glicina, otro ligando que no es ni beta alanina ni taurina. (Apoyado por proyectos B 1590 DDI, Universidad de Chile, y 093 del Fondo Nacional de Ciencias).

Simposio

VARIANZAS E INVARIANZAS EN BIOLOGIA

EL QUEHACER DE LOS NATURALISTAS. (Naturalist's doings).

Fuentes, E.R. Laboratorio de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La presentación estará basada en el artículo de E. Fuentes y P. Sánchez. "¿Qué hacen los naturalistas? Carta abierta a Luco". *Arch. Biol. Med. Exp.* 15: 491-499 (1982). Inicialmente se describirá con brevedad el tipo de preguntas que se hacen hoy en día los

naturalistas; las escalas espacio-temporales en que se juegan los fenómenos de su interés y la importancia de la componente histórica en ellos. Luego se describirá el cómo los naturalistas descartan hipótesis, dando especial énfasis al problema del método experimental y de los modelos tanto matemáticos como de laboratorio.

Tanto esta presentación como el artículo antes mencionado no pretenden ser ni originales ni recopilaciones eruditas de lo mucho

que se ha escrito al respecto, sino meras invitaciones a que conversemos sobre lo que creemos que estamos haciendo en nuestra investigación.

INVARIANZA DE LA FORMA CILINDRICA EN BIOLOGIA Y ANISOTROPIA DEL ESPACIO.
(*Invariance of the cylindrical shape in Biology and the anisotropy of space*).

Günther, B. Departamento de Ciencias Fisiológicas. Universidad de Concepción.

La forma cilíndrica es una invariante morfo-funcional en todos los seres vivos, tanto desde un punto de vista macroscópico (sistemas: músculo-esquelético, respiratorio, circulatorio, digestivo, urogenital y nervioso) como microscópico (código genético; microtúbulos y microfilamentos).

En toda estructura cilíndrica hay que distinguir entre el eje longitudinal (L) y el diámetro (D), de manera que el espacio biológico ($V = \text{volumen}$) no es euclidiano ($V = L^3$) sino que cuadrimensional ($V = L^4$) y al mismo tiempo es anisotrópico ($L \neq D$).

Las consecuencias de esta anisotropía espacial son las siguientes:

A) en las *estructuras cilíndricas compactas* (huesos y músculos):

- 1) la relación entre el largo (L) y el diámetro (D) es $L = D^{2/3}$ cuando el cilindro (hueso) está sujeto a "compresión". (*Rashevsky, 1960; McMahon, 1973*);
- 2) cuando dichas estructuras (músculo, tendón) están sujetas a "tensión" (fuerza/área), el "esfuerzo" (stress) es inversamente proporcional a la sección transversal (D^{-2}).

B) En los *conductos de forma cilíndrica* de los grandes sistemas:

- 1) la "tensión" de la pared (ley de *Laplace*) es proporcional al diámetro (D);
- 2) la "resistencia" al flujo (ley de *Poiseuille*) es proporcional a D^{-4} ;
- 3) que el "flujo" sea laminar o turbulento depende directamente del diámetro (D), de acuerdo al número adimensional de *Reynolds*;
- 4) la "superficie de intercambio" por unidad de largo (calor, agua, solutos) es proporcional al diámetro (D);

5) la "disipación de potencia" por unidad de largo es proporcional a D^2 , según *Rosen* (1967);

6) el "radio hidráulico", o sea, la razón entre el área de sección (D^2) y el perímetro (D), es proporcional a $D/4$.

La anisotropía espacial se puede cuantificar de acuerdo a la teoría de las similitudes biológicas (*Günther y Morgado, 1982*), por cuanto los largos (L) son proporcionales a la potencia 1/4 del peso corporal (W), en tanto que los diámetros (D) varían según la potencia 3/8 del peso corporal (W).

Para interpretar la invarianza de la forma cilíndrica en la estructuración de los seres vivos se pueden aducir los siguientes principios:

- 1) la Naturaleza realiza lo mejor entre lo que es posible (*Aristóteles, 384-322 A.C.*);
- 2) de la máxima economía y el menor tiempo (*Fermat, 1662*);
- 3) del esfuerzo mínimo (*Leibniz, 1646-1716*);
- 4) de la acción mínima (*Maupertuis, 1747*);
- 5) del valor extremo (*Hamilton, 1832*);
- 6) de los sistemas optimizados (*Cohn, 1954*);
- 7) del diseño óptimo (*Rashevsky, 1960*); y
- 8) de la optimización biológica (*Rosen, 1967*).

De estos principios generales se desprende que la prevalencia de conformaciones cilíndricas en los seres vivos significa una economía de espacio, de material y de consumo de energía, así como una optimización de las funciones que deben cumplir estas estructuras en el ámbito macroscópico y microscópico.

LA VARIACION DE LA FORMA. (Variation in the form).

Spotorno, Angel E. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, U. de Chile; Casilla 6556, Santiago 7, Chile.

Una forma biológica es el producto de una serie temporal de interacciones de materia, energía y particularmente información. Puede ser adecuadamente descrita y parcialmente explicada en términos filogenéticos

(*sensu* Darwin): una forma biológica es una unidad replicada, de partes y relaciones interdependientes y jerarquizadas (principios de Riedl). Las consecuencias de esto último han sido tradicionalmente ignoradas por los enfoques exageradamente reduccionistas, como cuando la evolución aparentemente discordante de caracteres en diversos niveles es interpretada como "evolución independiente". Esto puede sólo significar que la regla que regula un cambio de estado es aplicable directamente a ese nivel jerárquico y que las consecuencias del cambio involucran a otros niveles, pero distorsionadas por la operación de las reglas de niveles intermedios, además de las leyes generales físicas y químicas. La jerarquía también implica restricciones al cambio posible, cuando a una unidad replicada (homólogo primario) se superponen homologías secundarias (filogenética u ontogenéticamente): homólogos primarios (*i.e.* órganos internos) se comportan así como más invariantes que homólogos secundarios (*i.e.* órganos periféricos). Las nuevas variantes deben ser compatibles con la homología primaria, por lo menos en la ontogenia (la similitud en el paralelismo y en la convergencia no se mantiene al examen detallado).

En la variación craneana de roedores filotinos y akodontinos, análisis de componentes principales detectan un primer eje de mayor variación que está altamente correlacionado con variables ligadas al tamaño corporal y edad (71 y 50% del total de varianza). En el segundo eje en importancia, ortogonal al primero, se separan los géneros (9,7 y 14,7% de total). Sólo en el tercer eje se separan las especies dentro de un género (6,3 y 6%). Otros ejemplos de distribución de variación confirman la generalidad de esta gradación de variación, producto de la jerarquía natural históricamente producida. (Proyecto B-517-8355, DDI, Universidad de Chile).

VARIABILIDAD EN LA ADAPTACION. (Variability of adaptation).

Valenzuela, Carlos Y. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El término adaptación es principalmente

utilizado en dos sentidos: Adaptación fisiológica, que es la propiedad de los seres vivos de reaccionar frente a cambios del medio ambiente de tal forma de mantener su organización en los límites compatibles con la vida; Adaptación evolutiva, que es la propiedad de las poblaciones de reaccionar frente a cambios del medio ambiente variando su estructura genética (en sentido amplio) de tal forma de mantenerse a lo largo de las generaciones. Estas precisiones hacen resaltar los elementos cambiantes del medio ambiente, la capacidad de captación de los seres vivos de esos cambios y de reaccionar frente a ellos. En el caso de la adaptación evolutiva debe existir una variabilidad en la respuesta de origen genético entre los individuos, es decir, un polimorfismo adaptativo. La adaptación fisiológica puede considerarse, entonces, como un monomorfismo de respuesta de la especie o grupo. Consideradas como respuestas "todo o nada", ambas adaptaciones son invariantes: el individuo o la especie subsisten modificándose o desaparecen. La variabilidad en la adaptación aparece al considerar los mecanismos por los cuales se consigue. La adaptación evolutiva se produce, en gran parte, por el proceso de selección natural, que es concebido aquí, como de reproductibilidad diferencial. Se plantea inmediatamente la enorme variabilidad en la adecuación biológica individual, en cuyo estudio interfieren problemas epistemológicos como el sentido de la unidad de selección, la validez de la supervivencia del más "fuerte" y de la optimización en la adecuación biológica y problemas metodológicos como es la estimación correcta de los coeficientes de selección de un genotipo determinado, la demostración de lejanía del equilibrio panmítico y el sesgo de pesquisa de suponer que un variante genético es adaptativo porque se encuentra en un ambiente extremo. El proceso de adaptación es un proceso histórico, las especies guardan esta historia de adaptaciones dado que la inercia genética es mayor que la ambiental; es más válido considerar que ellas se están adaptando a que están adaptadas. La adaptación como respuesta todo o nada parece más bien un modelo ideal, que puede conducir a respuestas estereotipadas frente a dilemas evolutivos.

LA ADAPTACION COMO INVARIANTE. (Adaptation as an invariant).

Varela, Francisco J. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Tradicionalmente se entiende a la adaptación biológica como una variable que se optimiza (en algún sentido) a lo largo de la filogenia. Esta visión de la adaptación como variable se funda en que hay ciertas dimensiones de la articulación entre especie y nicho que pueden ser medidas como variables de un proceso de optimización.

En esta presentación se contraponen otra perspectiva, que parte del fracaso relativo de la aproximación tradicional fundada en

la búsqueda de optimización de variables separadas. Desde esta crítica se hace evidente que el proceso evolutivo no requiere de una optimización global, sino más bien descripciones límites dentro de las cuales pueden darse múltiples caminos de viabilidad. Esto equivale a invertir los términos explicativos y tratar a la adaptación como una constante: condición necesaria para la continuidad del linaje, pero desposeída de toda capacidad explicativa de las transformaciones filogenéticas. La alternativa es centrar la explicación evolutiva en los modos de transformación y autoorganización según las coherencias internas de cada grupo animal, determinantes de los modos viable de acoplamiento con el medio.

Simposio

EL POBLAMIENTO TEMPRANO DE SUDAMERICA: RELACIONES DE PARENTESCO Y RUTAS MIGRACIONALES

UN MODELO BIOLÓGICO PARA EL ESTUDIO DEL POBLAMIENTO PREHISPÁNICO DEL TERRITORIO ARGENTINO. CORRELACION FENÉTICA-ESPACIAL. (A biological model for the study of pre-hispanic settlement of Argentinian territory. Phenetic-spatial correlation).
Cocilovo, J.A. y Di Rienzo, J.A. Departamento de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto y Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Córdoba.

La reconstrucción de la historia biológica de las poblaciones extinguidas que habitaron en una determinada región puede ser aproximada mediante el estudio de la variación geográfica y cronológica experimentada por los distintos grupos. Sus relaciones y afinidades biológicas, y su constitución y origen, pueden ser inferidos a partir del análisis de matrices de distancias basadas en un conjunto de variables métricas que suman la información fenotípica disponible. Dichas matrices pueden ser explicadas por su correlación con arreglos cronológicos y geográficos, y también a partir de ellas es posible experimentar con modelos de estructura de poblaciones para la identifica-

ción de los factores microevolutivos que operaron en el pasado.

Cuando la amplitud cronológica entre las muestras obtenidas es despreciable, la asociación entre fenotipo y espacio nos permite establecer las relaciones de parentesco y las rutas migratorias más probables que explican el poblamiento de una región. Con tal objetivo en mente fueron preparadas las experiencias que se relatan en esta oportunidad.

El material empleado está representado por 19 muestras de poblaciones prehistóricas que habitaron en el intervalo geográfico de las latitudes 23° y 55°, de las longitudes 60° y 73° y de las altitudes desde 7 a 3.200 m.s.n.m.

Contando con los valores medios de nueve variables craneométricas para cada grupo y una matriz de varianzas y covarianzas común, calculada independientemente, se obtuvo una matriz de distancias biológicas entre pares basada en la D2 de Mahalanobis. Se estimaron luego los valores de cronología, altitud, longitud y latitud para cada muestra, y se estudió la correlación entre ellos y las distancias fenéticas.

Se incorporaron técnicas de análisis de conglomerados (cluster analysis) para el estudio comparado de los modelos fenético y geográfico. Se discute la validez de su correlación a escala macro y microespacial. La aplicación de procedimientos basados en el concepto de árboles mínimos (minimal tree) permitió postular un modelo de poblamiento del territorio al posibilitar la identificación de posibles centros de dispersión biológica y de corrientes de migración consistentes con la estructura cronológica actualmente disponible.

Los resultados del presente trabajo incluyen también la propuesta de conglomerados biológicos de integración regional originados como productos de una historia biológica común.

TEORIAS SOBRE EL ORIGEN DEL HOMBRE AMERICANO. (Theories on the origin of early americans).

Munizaga, Juan R. Universidad de Chile.

El origen del hombre americano es un tema que ha dado lugar a múltiples teorías cuyo problema principal consiste en explicar su variabilidad biológica. Frente a ella caben dos posibilidades: proviene de fuera del continente (teorías sobre el origen múltiple), o bien, se ha desarrollado en América debido a la acción de fuerzas evolutivas (teorías de origen único). Para formular estas teorías se han utilizado diversos caracteres biológicos. En esta oportunidad discutiremos este problema sobre la base de la forma del cráneo tratando de establecer la magnitud y la velocidad de su cambio morfológico y sus causas. La magnitud se tratará de estimar de acuerdo con indicadores que reflejen los cambios que se observan en dos procesos aparentemente unidireccionales que se están dando en la especie *H. sapiens*, cuales son los procesos de braquicefalización y el del incremento de la altura de la bóveda craneana. La velocidad se tratará de detectar analizando la variación que ha experimentado la forma del cráneo en los individuos de las poblaciones que han vivido en los últimos 10.000 años en este continente. Para ello se elegirán secuencias de poblaciones que provengan de áreas que,

por sus contrastes, permitan analizar variables de cambio tales como clima, cultura y migraciones. Estos factores han servido de base para explicar la variabilidad biológica del indígena americano en las teorías a que nos hemos referido.

HIPOTESIS SOBRE MOVIMIENTOS POBLACIONALES PREHISTORICOS EN EL AREA ANDINA DE AMERICA DEL SUR (A hypothesis on prehistoric migration settlements in the Andean area of South America).

Núñez A., Lautaro. Departamento de Arqueología, Universidad del Norte, Antofagasta, Chile.

Se reconoce la naturaleza ecológica contrastada durante los episodios pleistocénicos, holocénicos y recientes del área andina americana desde su extremo septentrional, central, centro-sur, meridional y extremo sur. Se discute el tránsito de las poblaciones primigenias de naturaleza paleoindio, correspondientes a tempranos eventos cazadores recolectores asociados a fauna extinta. Se plantea un flujo migratorio diversificado cultural y tecnológicamente, en rápidos desplazamientos que configuran un fondo de saco austral por los 11.000 años AP. Las rutas más viables son evaluadas a la luz de los datos arqueológicos documentados con control radiocarbónico y se llama la atención sobre el déficit de información biológica con documentación confiable.

Hay un especial tratamiento del problema vinculado con el surgimiento autóctono de poblaciones arcaicas tempranas postpaleoindias, a través de distintos *focus* independientes no necesariamente vinculados con espacios tradicionalmente reconocidos como *locus* civilizatorios. La diseminación interáreas de estas ocupaciones y su dinámica multiecológica entre los 10.000 a 0 años AP es analizada bajo la perspectiva de detectar patrones migratorios en el sentido longitudinal y transversal. Se amplifican análisis de casos con mejor documentación en el transecto Andes-costa y en el eje costa septentrional a meridional a lo largo de las áreas Andes Centrales y Centro-Sur. La fijación de las poblaciones arcaicas en los ecosistemas de Costa Fértil y Desértica, Va-

lles-Quebradas, Precordillera y Andes, es revisada como un segmento terminal de un proceso previo de alta movilidad interambiental.

Dentro de un contexto de mayor estabilidad ocupacional se plantea la dirección del proceso de domesticación de plantas y animales y los efectos repercutidos en términos de adaptación humana en los territorios donde ocurrió el episodio. Esta evaluación se discute fuera del marco tradicional que atribuía este proceso a ciertos espacios privilegiados ecológicamente en los Andes Centrales. Esta vez se propone el desarrollo de distintos *locus* de domesticación en distintas áreas andinas, ampliando considerablemente el rango del surgimiento y desarrollo de poblaciones arcaicas en puntos nucleares y periféricos en los Andes *in toto*. Como una derivación del proceso anterior se revisa la emergencia de distintas sociedades formativas en los Andes Septentrional y Central como puntos de divergencia de grupos responsables de la diseminación de los principales cambios civilizatorios. El movimiento de estas poblaciones matrices es observado en los actuales territorios del Ecuador, Perú-Boliviano y sus repercusiones en Chile, en términos de reordenación demográfica y flujos de poblaciones a nivel interáreas y subáreas.

Un análisis más detenido se amplifica en el cono sur de América a lo largo de la secuencia Paleolítico, Arcaico, Formativo y poblaciones avanzadas pre-inca, a través de un rango de tiempo del orden de los 12-14 mil años de desarrollo. Se puntualiza la naturaleza de los flujos poblacionales detectados a nivel de costa, tierras altas andinas y pasos trascordilleranos con imbricaciones a las poblaciones de la vertiente oriental.

Un leve tratamiento al movimiento Ika se resume para documentar mejor un caso más reciente con mejor documentación en términos de rutas y constataciones concretas.

Se finiquita la presentación con un balance crítico a raíz de la escasa información debidamente documentada y la necesidad de estimular plantamientos multidisciplinarios en donde las partes sean integradas en un todo obviamente holístico.

UNA HIPOTESIS SOBRE EL POBLAMIENTO DE CHILE CONTINENTAL. (An hypothesis on human settlement of continental Chile).

Rothhammer, F. Departamento de Biología y Genética. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Si bien es cierto que han sido postulados en forma más o menos explícita varios patrones migracionales en un intento de reconstruir el poblamiento temprano de Chile, la base empírica que sustenta estos modelos es frágil. Hemos intentado subsanar este inconveniente analizando la variación craneométrica exhibida por un conjunto de doce colecciones osteológicas prehistóricas e históricas que comprenden un total de 624 cráneos y que cubren gran parte del cono sur de Sudamérica. Nueve mediciones craneofaciales fueron sometidas a un análisis estadístico multivariado que culminó con el cálculo de distancias biológicas. La matriz de distancias craneométricas, sirvió de base para postular un modelo de poblamiento que es congruente con las afinidades genéticas que exhiben en el presente las poblaciones aborígenes que sobrevivieron la invasión española.

O POVOAMENTO DAS AMERICAS. UMA PERSPECTIVA BRASILEIRA. (Settlement in the Americas. A brazilian perspective).

Salzano, Francisco M. Departamento de Genética, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 90000 Porto Alegre, RS, Brasil.

Existe acordo geral de que a rota principal de entrada dos ancestrais dos índios americanos no continente foi através do estreito do Bering. Isto não exclui, no entanto, a possibilidade de outras migrações, de menor porte, que teriam ocorrido por outras vias. As hipóteses feitas neste sentido no passado basearam-se, no que se refere à antropologia física, no conceito já ultrapassado de "tipos raciais". É tempo, portanto, de reavaliar-se essas propostas com os dados agora existentes da genética de populações humanas, que revelaram um grau de variabilidade protéica muito acima do que era considerado provável há 30 anos atrás.

Informações arqueológicas sugerem que, no que se refere à América do Sul, pelo menos três rotas principais foram tomadas pelos grupos que cruzaram o istmo do Panamá. Uma dirigiu-se para o sul, pela costa do Pacífico, e das outras duas, uma rumou para o nordeste brasileiro e a outra para a parte norte da região amazônica. As datações mais antigas para o nordeste brasileiro situam-se em cerca de 17.000 anos antes da época atual (AC). Daí, populações diversas teriam se irradiado para outras áreas do Brasil Central e do Sul. Outro centro de migrações internas parece ter existido cerca do rio São Francisco. No sul, datações de 11 a 8.000 anos AC parecem estar claramente estabelecidas, em populações dos sambaquis, no litoral, e de duas outras tradições do interior (Humaitá e Umbu). Os instrumentos, aqui, indicam influências pampeanas e patagônicas, sugerindo migrações no sentido sul-norte.

Os estudos em populações atuais relativos a marcadores genéticos, antropometria e dermatóglifos, no entanto, não fornecem quaisquer indicações quanto a essas migrações do passado. Não se observam gradientes nítidos. A comparação de determinadas

populações indígenas da América do Sul com grupos asiáticos e polinésicos através do método de distâncias genéticas, por outro lado, não revela uma diferença significativamente menor no contraste América do Sul: Ásia, como relação ao América do Sul: Polinésia.

Há, também, um conflito nas datações arqueológicas e paleoantropológicas da América do Sul e do Norte, se a única origem dos ameríndios fosse asiática. Os resultados obtidos no noroeste da América do Norte não fornecem datas mais antigas do que 11.000 anos AC, havendo restos da mesma ou maior antiguidade na América do Sul. Alguns destes restos, portanto, podem pertencer a grupos originalmente proto-polinésicos. Os dados genéticos certamente não eliminam esta possibilidade. Mas é necessária uma quantidade muito maior de informação quanto a locos grandemente polimórficos, com polimorfismos privados ou idiomórficos, em populações indígenas da América do Sul, da Sibéria e de grupos do Pacífico para que, após avaliações estatísticas apropriadas, possa-se chegar a uma conclusão mais definitiva.

Simposio

SISTEMA NERVIOSO AUTONOMO EN LA REGULACION CIRCULATORIA

REGULACION DEL FLUJO CORONARIO. (Regulation of coronary flow).

Domenech, Raúl J. Departamento de Ciencias Preclínicas. División de Ciencias Médicas Oriente. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Existen evidencias experimentales que sugieren que el flujo coronario (FC) es un flujo "en cascada". Según este concepto el flujo es función de la presión de perfusión coronaria (PP), la presión que tiende a ocluir los vasos coronarios o presión de cierre (PC) y la resistencia vascular coronaria (R), de acuerdo a la ecuación $FC = (PP - PC)/R$. A su vez PC depende en forma directa de la tensión activa (TA) de los vasos y de la presión tisular intramiocárdica

(PIM). Para una determinada PP el flujo coronario varía en forma inversa con PC y R. A través de las variables PC y R se expresan no sólo la regulación del flujo coronario sino que también los mecanismos de insuficiencia coronaria. Hay 3 tipos de factores que influyen las variables PC y R. a) Factores metabólicos. El aumento del metabolismo cardíaco induce disminución de TA y por lo tanto de PC y R con el consecuente aumento de flujo coronario (autorregulación metabólica). Esta capacidad de TA de disminuir es la Reserva Coronaria. b) Factores mecánicos. Se refieren fundamentalmente al efecto de la contracción cardíaca sobre PIM (y por lo tanto PC) y sobre R. c) Factores neurohumorales. Principalmente la

acción del simpático y catecolaminas, a través de receptores α_1 , y B_2 de los vasos coronarios, modificando TA y R.

Uno de nuestros objetivos ha sido analizar la influencia de los factores mecánicos de la contracción cardíaca sobre el flujo coronario y su distribución en la pared ventricular del perro usando la técnica de microesferas radiactivas. Para descartar la acción de la autorregulación metabólica del simpático y catecolaminas se abolió la Reserva Coronaria induciendo vasodilatación máxima de las coronarias con dipiridamol y se bloquearon los receptores beta con propranolol. Estos resultados demostraron que: 1) El aumento de la presión ventricular sistólica o de la presión ventricular diastólica produce una mayor disminución del flujo coronario en el subendocardio (Endo) que en el subepicardio (Epi) de la pared ventricular izquierda. Tal efecto sugiere que la hipertensión ventricular produce un mayor incremento de PIM en Endo (1, 2). 2) El aumento de la frecuencia cardíaca también induce una mayor disminución de flujo en Endo que en Epi (3). 3) La disminución de la contractilidad del miocardio aumenta PIM y por lo tanto PC con mayor impedimento al flujo (4). Dado que estas tres condiciones, hipertensión ventricular, taquicardia y disminución de la contractilidad del miocardio, coexisten en la insuficiencia coronaria, se desprende que ellas tienden a acentuar la isquemia y a extender una zona infartada, especialmente en el subendocardio de la pared ventricular. Aún más, es probable que estos factores, asociados a una disminución de la presión de perfusión coronaria, PP, induzcan isquemia subendocárdica en ausencia de estenosis orgánica de las arterias coronarias.

REFERENCIAS

1. DOMENECH, R.J. y DE LA PRIDA, J.M. (1975). Mechanical effects of heart contraction on coronary flow. *Cardiovascular Res.* 9: 509-514.
2. DOMENECH, R.J. (1978). Regional diastolic coronary blood flow during diastolic ventricular hypertension. *Cardiovascular Res.* 12: 639-645.
3. DOMENECH, R.J. y GOICH, J. (1976). Effect of heart rate on regional coronary blood flow. *Cardiovascular Res.* 10: 224-231.
4. CARTES, M.F.; DONOSO, R.; CABEZAS, M.P. y DOMENECH, R.J. (1981). Efecto de los cambios de la contractilidad del miocardio sobre la presión intramiocárdica diastólica. *Rev. Méd. Chile.*

ROL DEL SISTEMA NERVIOSO AUTONOMO EN LA REGULACION CARDIOVASCULAR EN CONDICIONES DE NORMOXIA E HIPOXIA FETAL. (Role of the autonomic nervous system in the fetal cardiovascular regulation under normoxic and hypoxic conditions).

Llanos, Jorge Aníbal. Departamento de Preclínicas, División de Ciencias Médicas Oriente. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La inervación del corazón por fibras del sistema nervioso simpático comienza en la mitad de la gestación en fetos de oveja (1). Sin embargo, la información existente sobre el rol del sistema nervioso autónomo en la regulación cardiovascular durante la vida fetal es más bien escasa. En condiciones de normoxia fetal se observa una maduración progresiva de la actividad parasimpática y alfa-adrenérgica, y una mantención de la actividad beta-adrenérgica en el último tercio de la gestación. El aumento de la actividad parasimpática se manifiesta tanto en fetos de oveja (2) como de cerdo (3) por el aumento progresivo de la frecuencia cardíaca a través de la gestación después del bloqueo parasimpático con atropina. El aumento de la actividad alfa-adrenérgica se observa tanto en fetos de oveja (4) como de cerdo (3) por un mayor descenso de la presión arterial sistémica con la edad gestacional luego del bloqueo alfa-adrenérgico con fenoxibenzamina o fentolamina. En contraste, la disminución de la frecuencia cardíaca que ocurre al bloquear el sistema beta-adrenérgico con propranolol o practolol no cambia con la edad gestacional ni en fetos de oveja (2) ni en cerdos (3).

Durante condiciones de hipoxemia o asfixia fetal aguda se produce bradicardia, hipertensión y redistribución de flujos sanguíneos a los diferentes órganos. Se observa un aumento del flujo sanguíneo al corazón, cerebro y adrenales y una disminución a carcaza, intestino, riñones y pulmones. El gasto cardíaco se mantiene o cae en hipoxemia muy extrema, con mantención del flujo sanguíneo umbilical (5, 6). La bradicardia que acompaña la hipoxemia o asfixia fetal es el resultado de un incremento de la actividad vagal (7). La abolición de esta actividad vagal no cambia ni el flujo umbilical ni la oxigenación fetal (7). En la hipoxe-

mia fetal crónica la frecuencia cardíaca basal no disminuye. Sin embargo, se observa tanto una taquicardia como una bradicardia más marcada al usar bloqueadores parasimpáticos y beta-adrenérgicos, respectivamente (2). Además ambos sistemas presentan una mayor actividad en etapas más tempranas a la gestación en fetos con hipoxemia crónica (2).

La hipertensión observada durante la hipoxemia aguda es revertida con bloqueadores alfa-adrenérgicos (8). Además, el bloqueo alfa-adrenérgico revierte la vasoconstricción observada en intestino, bazo, hígado y pulmones, produciéndose un descenso de la resistencia vascular periférica (8). Sin embargo, no hay cambio de la vasoconstricción observada en la carcasa (8). Con el bloqueo beta-adrenérgico durante la hipoxemia fetal aguda se exagera la bradicardia y disminuye el flujo sanguíneo umbilical (9). En resumen, el sistema nervioso autónomo participa importantemente en la regulación circulatoria en condiciones de normoxia e hipoxemia durante la vida intrauterina.

REFERENCIAS

- LEBOWITZ, E.A.; NOVICK, J.S.; RUDOLPH, A.M. (1972). Development of myocardial sympathetic innervation in the fetal lamb. *Pediat. Res.* 6: 887.
- LLANOS, A.; GREEN, J.; CREAM, R.K.; RUDOLPH, A.M. (1980). Increased heart rate response to parasympathetic and beta adrenergic blockade in growth-retarded fetal lamb. *Am. J. Obst. Gynecol.* 136: 808.
- MACDONALD, A.A.; LLANOS, A.; HEYMANN, M.A.; RUDOLPH, A.M. (1981). Cardiovascular responsiveness of the pig fetal to autonomic blockade. *Pflugers Arch.* 390: 262.
- VAPAUVOURI, E.K.; SHINEBOURNE, F.A.; WILLIAMS, L.R.; HEYMANN, M.A.; RUDOLPH, A.M. (1978). Development of cardiovascular responses to autonomic blockade in intact fetal and neonatal lambs. *Biol. Neon.* 22: 177.
- COHN, H.E.; SACKS, E.J.; HEYMANN, M.A.; RUDOLPH, A.M. (1974). Cardiovascular responses hypoxemia and acidemia in fetal lambs. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 120: 817.
- YAFFE, H.; PARER, J.T.; LLANOS, A.; BLOCK, B.S. (1982). Fetal hemodynamic responses to graded reductions of uterine blood flow in sheep. Society for Gynecologic Investigation, Resumen N° 197, Dallas, Texas, EE.UU.
- PARER, J.T. (1977). Effect of atropine on heart rate and oxygen consumption of the hypoxic fetus. *Gynecol. Invest.* 8: 50.
- REUSS, L.M.; PARER, J.T.; HARRIS, J.L.; KRUEGER, T.R. (1982). Hemodynamic effects of alpha adrenergic blockade during hypoxia in fetal sheep. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 142: 410.
- COURT, D.J.; BLOCK, B.S.; LLANOS, A.J.; PARER, J.T. (1983). The effects of propranolol on blood flow redistribution in hypoxemic fetal sheep. Society for Gynecologic Investigation, Resumen N° 230, Washington, D.C., EE.UU.

INFLUENCIA DE RECEPTORES ALFA-ADRENÉRGICOS EN FLUJO CORONARIO TOTAL Y REGIONAL EN MIOCARDIO NORMAL E ISQUEMICO. (Influence of alpha adrenergic receptors on total and regional coronary blood flow in the normal and ischemic myocardium). Macho, P. Departamento de Ciencias Preclínicas, Facultad de Medicina, División Oriente, Universidad de Chile.

Existe escasa correlación entre las lesiones orgánicas estenóticas de las coronarias y sus manifestaciones clínicas. Aún más, existe insuficiencia coronaria en pacientes con coronarias indemnes. Es probable que el espasmo coronario medie en la patogenia del síndrome de insuficiencia coronaria y explique esta falta de correlación. El espasmo podría ser producido por factores neurohormonales que actuarían a través de los receptores coronarios. Los vasos coronarios poseen receptores alfa y beta. La activación de los receptores beta produce aumento de flujo coronario pero su significado fisiológico no está claro. Es posible que en presencia de bloqueo de receptores beta los efectos de activación alfa producidos por noradrenalina se acentúen. Los receptores alfa modulan el tono coronario compitiendo con la vasodilatación metabólica. Nosotros estudiamos el rol de receptores alfa en la regulación del flujo coronario. En perros anestesiados investigamos los efectos de la activación de receptores alfa producida con fenilefrina sobre el flujo coronario total y regional, medido con microesferas radiactivas. Se mantuvieron constantes los factores hemodinámicos que pudieran interferir con los efectos directos de la droga. En dichas condiciones, fenilefrina disminuyó el flujo coronario total en forma creciente desde el subepicardio al subendocardio. Debido a que el subendocardio como consecuencia de su menor reserva coronaria es más susceptible que el subepicardio a ser afectado por reducciones de flujo, repetimos estos experimentos en el corazón que late vacío, preparación en la que el subendocardio no

es afectado por la compresión ejercida por la contracción cardíaca. En estas condiciones, el flujo coronario se redujo más en el subepicardio que en el subendocardio. Estos resultados demostraron que la activación alfa produce vasoconstricción coronaria de mayor magnitud en el subepicardio que en el subendocardio. En otro grupo de animales estudiamos el rol del tono alfa adrenérgico en la regulación del flujo coronario bloqueando estos receptores con Trimazosina. Manteniendo la presión arterial, frecuencia cardíaca y presión ventricular constantes, esta droga produjo un aumento del flujo coronario en toda la pared ventricular con un incremento relativamente mayor en el subepicardio. Finalmente, estudiamos el rol del tono alfa-adrenérgico en la regulación del flujo coronario del miocardio isquémico. Con este fin, un grupo de perros anestesiados fue sometido a una disminución de flujo en la arteria coronaria de alrededor de 40% de flujo control. Se mantuvieron constantes la frecuencia cardíaca, la presión arterial y la presión ventricular. El bloqueo alfa-adrenérgico produjo un aumento del flujo en el subepicardio y disminuyó el flujo en el subendocardio de la región isquémica. Así nuestros resultados demuestran que existe un tono coronario mediado por receptores alfa no sólo en el miocardio indemne sino que también en el miocardio isquémico, compitiendo con la intensa vasodilatación metabólica producida por la isquemia. Nuestros resultados, además, son consistentes en sugerir que los receptores alfa tienen una densidad creciente desde los vasos del subendocardio hacia los del subepicardio. (Proyecto B-1452-8324, D.D.I. Universidad de Chile).

REFLEJOS CARDIORRESPIRATORIOS PROVOCADOS POR ETANOL Y OTROS FARMACOS. (Cardiorespiratory reflexes induced by ethanol and other drugs).

Penna M., Mario. Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Los efectos reflejos que el etanol provoca sobre el sistema circulatorio han sido escasamente estudiados. En el curso de experimentos orientados a investigar el efecto del

etanol sobre la conducción aurículoventricular observamos que la administración endovenosa de un bolo de etanol (40 mg/100 g) en la rata provoca, después de una latencia de alrededor de un minuto, bradicardia, hipotensión y apnea. El efecto del etanol sobre la frecuencia ventricular demostró ser dosis dependiente (10 a 40 mg/100 g) ($r = -0,78$).

Con vagotomía cervical previa, el etanol (40 mg/100 g) produjo bradicardia significativamente menor ($P < 0,001$) que en los testigos, sin cambios en el efecto hipotensor y apnea en todos los casos, pero con una latencia significativamente mayor ($p < 0,005$). La atropina previa produjo efectos sobre la frecuencia similares a la vagotomía, pero no modificó la latencia del fenómeno, y la apnea se observó sólo en el 50% de los casos.

La administración previa de hexametonio (0,75 mg/100 g) redujo significativamente la bradicardia provocada por etanol con respecto al grupo testigo ($p < 0,001$). Con dosis mayores de hexametonio (1,5 mg/100 g), el etanol provoca un paro respiratorio irreversible con persistencia de la actividad cardíaca.

En ratas reserpinizadas previamente (0,5 mg/100 g), el etanol produjo bradicardia mayor que en el grupo testigo ($p < 0,01$) sin cambios significativos de la hipotensión y disminución de la incidencia de apnea (3/7 casos). En cambio en ratas reserpinizadas y con vagotomía bilateral, el etanol no produjo cambios de la frecuencia cardíaca ni apnea (0/6) ($p = 0,006$) con respecto al grupo testigo.

Se comparó los efectos de la inyección directa al ventrículo izquierdo (20 mg/100 g) con la misma dosis administrada por vía venosa. La bradicardia fue significativamente mayor por la vía i.v. que por la intraventricular ($p < 0,001$) y la apnea con esta dosis fue inconstante, no observándose por la vía intraventricular. El reflejo provocado por etanol parece iniciarse en circulación pulmonar. En la bradicardia participan simultáneamente un aumento del tono vagal y una disminución de la actividad simpática. La hipotensión se debe en parte a la bradicardia y la apnea es debida no sólo a un mecanismo reflejo.

El acetaldehído es el metabolito mayor del etanol y también se forma a partir de éste en homogeneizados de corazón de rata (Soffia y Penna). Como es una sustancia muy reactiva estudiamos el efecto de la administración intravenosa de pequeñas dosis. Se observó que el acetaldehído provoca también un reflejo semejante, caracterizado por bradicardia, hipotensión y apnea. Sin embargo, a diferencia del etanol la vagotomía suprime las 3 respuestas y más aún el acetaldehído después de vagotomía puede provocar estimulación de la respiración, efecto que parece depender de quimiorreceptores carotídeos. Se analizarán las vías de estos reflejos, los neuroreceptores involucrados y las interferencias farmacológicas. (Proyecto de Investigación N° M-1642-8314, Servicio de Desarrollo de la Investigación. Universidad de Chile).

CONTROL CARDIOVASCULAR REFLEJO DESDE QUIMIORRECEPTORES ARTERIALES.

(Reflex cardiovascular control from arterial chemoreceptors).

Zapata, Patricio. Laboratorio de Neurobiología, Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

Se ha concedido tal importancia al papel de los barorreceptores arteriales en el control reflejo de la circulación, que las adaptaciones cardiovasculares en que participan los quimiorreceptores arteriales han merecido escasa atención. Sin embargo, varios procedimientos experimentales diseñados para estimular o suprimir la actividad de los barorreceptores modifican substancial y simultáneamente la actividad de los quimiorreceptores. Recién se está prestando atención a la influencia de los quimiorreceptores arteriales en el control de las actividades simpáticas destinadas a los territorios vasculares, cardíaco y renal, así como a su posible participación en la hipertensión esencial.

El efecto inhibitorio selectivo de la dopamina (DA) sobre quimiorreceptores arteriales nos ha permitido estudiar los efectos reflejos de una suspensión súbita y transitoria de la actividad de los quimiorreceptores carotídeos y aórticos. La actividad quimiosensorial puede silenciarse por inyección de

dosis bajas de DA, que no provocan efectos cardiovasculares ni respiratorios en animales sometidos a sección previa de los cuatro nervios "buffer". Si en un gato normóxico y eucápnico con sus nervios "buffer" intactos se silencian brevemente las descargas quimiosensoriales, se observa una inmediata depresión ventilatoria, sin cambios de la presión arterial sistémica (P_a), ni de la frecuencia cardíaca (f_H), lo que indica que el régimen respiratorio se encuentra bajo un comando tónico quimiosensorial, el que no se ejerce sobre el régimen cardiovascular.

También hemos estudiado las consecuencias reflejas de la excitación súbita, breve y graduada de la actividad quimiosensorial periférica, por hipoxia provocada por inyecciones de NaCN o inhalación de N_2 en gatos bajo anestesia barbitúrica. La comparación de las dosis efectivas mínimas para evocar cambios reflejos reveló diferencias significativas, siendo la respuesta hiperpneica la más sensible a la excitación quimiosensorial, seguida de la respuesta hipertensora, mientras la respuesta taquicárdica requería la excitación quimiosensorial más intensa. Los cambios reflejos de P_a y f_H persistían después de la vagotomía bilateral que respetaba los nervios aórticos. La sección aguda de nervios carotídeos y aórticos en diferentes secuencias redujo las respuestas reflejas cardíacas y vasculares. El registro simultáneo de descargas quimiosensoriales carotídeas mostró incrementos dosis-dependientes de su frecuencia, con los que se correlacionaban las alzas tanto de P_a como de f_H . Después de seccionar los cuatro nervios buffer, la hipoxia provocó hipotensión y bradicardia. Lo anterior permite concluir que la excitación de quimiorreceptores arteriales en el gato bajo respiración espontánea provoca hipertensión y taquicardia reflejas, que no pueden atribuirse a reflejos vagales desencadenados por la hiperpnea concomitante. Por otra parte, la hipoxia provoca hipotensión y bradicardia en los animales privados de sus aferencias quimiosensoriales.

También observamos hiperventilación y cambios reflejos cardiovasculares en respuesta a la hipoxia citotóxica e hipoxémica en ratas bajo anestesia barbitúrica. Estos reflejos se desencadenaban no sólo desde qui-

miorreceptores carotídeos, como se sostiene por otros autores, sino también desde quimiorreceptores torácicos y abdominales. La participación tónica de receptores extracarotídeos en el comando cardiovascular se demuestra por los descensos de f_H en respuesta a la hipoxia (inhalaación de O_2 100%) en ratas con neurotomía carotídea bilateral.

En resumen, las aferencias quimiosensoriales desde cuerpos carotídeos y aórticos

no parecen ejercer un comando reflejo cardiovascular en condiciones eupneicas. Sin embargo, estas aferencias participan substancialmente en la adaptación cardiovascular a la hipoxia. Dado que los quimiorreceptores arteriales también se excitan por alzas térmicas, reducciones de flujo sanguíneo y cambios de osmolaridad plasmática, es razonable suponer que también podrían participar en los ajustes cardiovasculares frente a estas condiciones del organismo.

Simposio

BIOLOGIA MOLECULAR VEGETAL

MAPPING OF TRANSFER RNA GENES ON THE CHLOROPLAST GENOME ON ZEA MAYS AND NICOTIANA TABACUM. (Localización de genes de RNA de transferencia en el genoma de cloroplasto de *Zea mays* y *Nicotiana tabacum*).

Bergmann, P.; Burkard, G.; Crouse, E.; Guillemaut, P.; Kuntz, M.; Mubumbila, M.; Seyer, P.; Steinmetz, A. and Weil, J.H. Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Université Louis Pasteur, 15 rue Descartes, 67084 Strasbourg, France.
Selden, R.; McIntosh, L. and Bogorad, L. The Biological Laboratories, Harvard University, 16 Divinity Avenue, Cambridge, MA, 02138, USA.

The localization of tRNA genes on the chloroplast DNA of *Zea mays* (maize) and of *Nicotiana tabacum* (tobacco) has been studied by tRNA-DNA hybridization.

Total chloroplast tRNA was extracted from isolated maize (or tobacco) chloroplasts and fractionated by two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis into individual tRNAs, which were re-extracted from the gel, identified by aminoacylation and labeled at their 3' end using $^{32}P\alpha$ -ATP and tRNA nucleotidyl transferase. Each labeled tRNA was hybridized to maize (or tobacco) chloroplast DNA fragments generated by action of restriction endonucleases, fractionated by agarose gel electrophoresis and transferred to nitrocellulose strips. As the position of these fragments

on the map of chloroplast DNA had been previously determined, this approach allowed the localization of the tRNA genes.

In maize and tobacco chloroplast DNA, tRNA genes are located mainly in the large single copy region and in the inverted repeats, while only one tRNA gene has been so far localized in the small single copy region.

The chloroplast tRNA gene maps of maize and tobacco have been compared to those i) of other higher plants (which have either one rDNA unit or two units located on inverted repeats), ii) of *Euglena gracilis* (which has three rDNA units located on tandem repeats), iii) of the cyanelles of *Cyanophora paradoxa* (which can be considered as intermediates between cyanobacteria and chloroplasts). These comparisons have revealed some differences, but also some common features, such as the presence of a tRNA^{Ala} gene and a tRNA^{Ile} gene in the spacer between the 16S and the 23S rRNA genes.

The nucleotide sequence of maize chloroplast tRNA^{Ile} has been determined and found to be identical to that predicted by Koch et al. who sequenced the corresponding gene, which is located in the ribosomal spacer and is interrupted by a 949 base-pair intron. The nature and the position of the modified nucleotides could be determined, as well as the site of excision of the intron (after the second base following the anti-

codon). The fact that tRNA^{IIe} hybridizes only to the ribosomal spacer region shows that its gene, which is over one thousand base-pair long, is correctly transcribed and processed in the chloroplasts to yield a mature functional tRNA.

ORGANIZATION AND EXPRESSION OF MAIZE CHLOROPLAST GENES (Organización y expresión de genes de cloroplastos de maíz).

Bogorad, Lawrence. Harvard University, Cambridge, MA USA.

The maize chloroplast genome is a 140,000 base pair circle. A prominent feature, which has turned out to be common to many but not all plastid chromosomes, is a pair of large inverted repeats; in maize, these are each 22,000 base pairs in length. The inverted repeated segments carry genes for rRNAs, a number of tRNAs and some unidentified polypeptides.

A number of maize plastid genes have been sequenced and been found to have some features of eukaryotic nuclear genes and other features reminiscent of prokaryotic genes. A number of the characteristics of maize plastid genes will be illustrated by examples.

Differential expression of maize plastid genes in bundle sheath and mesophyll cells of maize leaves is regulated at the level of transcription. Other plastid genes are expressed little if at all in dark-grown seedlings but the level of their transcripts is greatly increased upon illumination of these seedlings. Some examples of such "photogenes" will be presented.

METHYLATION PATTERN RADISH NUCLEAR RIBOSOMAL RNA GENES (Metilación de genes nucleares de RNA ribosomal de rábano).

Delseny, Michel; Laroche, Monique and Penon, Paul. Laboratoire de Physiologie Végétale, ERA N° 226 du CNRS, Université de Perpignan, France.

Radish nuclear DNA contains about 6500 copies of the rRNA-coding genes. These units are heterogeneous at the sequence level, as demonstrated by restriction mapping and molecular cloning. We have now

analyzed the methylation pattern of CCGG (*Hpa* II and *Msp* I) and GCGC (*Hha* I) sites. The main results are the following. Most of the rDNA is heavily methylated at *Hpa* II and *Hha* I sites indicating ^mCG methylation. Some of the *Msp* I sites are not available for digestion suggesting ^mCCG methylation. However for all three enzymes, specific sites are not methylated. Several of the hypomethylated *Hha* I sites have been localized in the promoter region and in a sequence overlapping transcribed spacer and 25S rRNA. In this region different patterns coexist: some of the units have a single site, others two or more non-methylated sites. The heterogeneity of the *Eco* RI pattern allowed us to demonstrate that the different types of units are not hypomethylated at random but that some types are preferentially hypomethylated. Finally we analyzed the *Hha* I pattern in different tissues with different transcriptional activity and found some tissue specificity.

SYNTHESIS AND ORGANIZATION OF DNA IN NORMAL AND MALE STERILE WHEAT MITOCHONDRIA. (Síntesis y organización del DNA en mitocondrias de trigo normal y estéril).

Litvak, Simón; Echeverría, Manuel; Ricard, Berenice and Martin, Marie Therese. Institut de Biochimie Cellulaire et Neurochimie, CNRS. 1 rue Camille Saint Saëns. 33077 Bordeaux cedex. France.

Plant mitochondrial DNA (mt DNA) is apparently the largest of all mt DNAs described up to now with an estimated genome size of 330-2400 kbp. It is as yet unclear whether the plant mt genome is composed of one or several molecules or whether it is circular or linear. Although very little is known of the molecular mechanism of mt DNA replication, it is clear that most of the enzymes involved in the replication, transcription and translation of the mt genome are coded in the nuclear genome, synthesized in the cytoplasm and transported into the organelle.

In our laboratory we have found only one DNA polymerase activity in wheat embryo mitochondria. This enzyme has

been extensively purified and characterized. It is resistant to aphidicolin and strongly inhibited by ddTTP and ethidium bromide. Wheat mt DNA polymerase does not recognize poly rA-oligo dT which is the best template of the animal mt DNA polymerase. Whole mitochondria from wheat embryos incorporate efficiently TTP into DNA. The effect of inhibitors is identical in whole mitochondria and with highly purified DNA polymerase. Long stretches of the mt genome are synthesized with whole mitochondria as shown by CsCl equilibrium centrifugation and autoradiography of the labeled product after restriction endonuclease digestion and electrophoresis. A mitochondrial lysate has been obtained after DEAE-cellulose chromatography. This extract when assayed for DNA synthesis, is completely dependant on the addition of exogenous DNA. We have obtained DNA synthesis with the following natural DNAs: SV40, M₁₃, mt DNA, and pBR322.

Cytoplasmic male sterility is a well characterized mutation maternally inherited which prevents the production of functional pollen but does not affect female fertility. Several lines of evidence strongly suggest that the genetic determinants res-

ponsible for this trait are carried by mt DNA. The restriction pattern of normal and male sterile wheat mt DNA is clearly different. We have found that this modified mt DNA is synthesized *in organello* in the case of male sterile plants. While in the case of corn male sterile mitochondria the presence of plasmid-like has been demonstrated, no extramitochondrial DNA were observed in wheat organelles. We have not found differences between the DNA polymerase activities from normal and male sterile wheat mitochondria. After Sal I digestion of wheat mt DNA we have separated several fragments by agarose electrophoresis and eluted these fragments from the gel. After labeling these fragments by nick translation we have hybridized these probes with normal and male sterile Sal I digested mt DNAs fixed onto nitrocellulose. We have found an important degree of rearrangement in the organisation of the mutant mt genome. Ribosomal RNA genes are organized differently in mt DNA from normal or mutant wheat seeds. These results as those concerning the comparison of the transcription and translation products of both types of organelle genomes will be discussed.

RESUMENES
DE
COMUNICACIONES

XXVI REUNION ANUAL
SOCIEDAD DE BIOLOGIA
DE CHILE

INCORPORACION Y LIBERACION DE ACIDO D-ASPARTICO EN CORTES DE SUBSTANTIA NIGRA DE CEREBRO DE RATA. (D-Aspartic acid uptake and release from slices of rat substantia nigra). Abarca, J. y Bustos, G. Laboratorio de Farmacología-Bioquímica, Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Se investigó la posible existencia de terminales nerviosos que almacenan y liberan aminoácidos excitatorios a nivel de la substantia nigra (SN), y que parte de ellos pudieran corresponder a una presunta vía neuronal cortico nigral (Afifi y cols., J. Anat. 118: 469-476, 1974). Para ello, se utilizó el ác. D-aspartico (D-ASP) tritulado, como marcador de terminales glutamatérgicos y/o aspartérgicos. Básicamente, se comparó la captación y liberación de D-ASP- H^3 en cortes de SN de ratas sham y con lesiones corticales del tipo fronto-parietal.

Cortes de SN se incubaron con D-ASP- H^3 y se superfundieron con solución Krebs Ringer Fosfato. La liberación se evocó con K^+ (40 mM) o veratridina (25 μ M) durante 1 min. El curso temporal de la liberación evocada por veratridina es diferente a la con K^+ , la mayor parte del D-ASP liberado ocurre luego del período de estimulación, además depende de Ca^{2+} extracelular y es inhibido por TTX (10^{-8} M). La acumulación de D-ASP- H^3 se redujo marcadamente (60%) en ratas con lesión cortical. Paralelamente, se observó una disminución de similar orden de magnitud en la liberación evocada del D-ASP- H^3 .

Concluimos que el D-ASP puede ser acumulado y liberado desde terminales nerviosos localizados en la SN en respuesta a la despolarización. Sugerimos que estos terminales corresponden a neuronas excitatorias del tipo glutamatérgico y/o aspartérgico y que también podrían pertenecer a una vía neuronal cortico-nigral.

TOLERANCIA A LAS TEMPERATURAS EXTREMAS EN ESPECIES VEGETALES DE LA REGION VALDIVIANA/CHILE. (Extreme temperature tolerance of plants species from the valdivian region of Chile). Alberdi, M., Wenzel, H. Instituto de Botánica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

La región valdiviana está constituida por formaciones vegetales cuyas especies se establecen en biotopos termicamente diferentes, algunos de los cuales pueden ser extremos, y a los que ellas deben adaptarse morfo y fisiológicamente. En este último aspecto es de interés la tolerancia a las temperaturas extremas de sus órganos, propiedad de la que se informa en el presente trabajo.

Se estudiaron especies frecuentes en la región mencionada, distribuidas en la parte inferior de la Cordillera de la Costa, Valle Central y los Andes. En ellas se determinó la resistencia al frío y al calor de yemas, hojas y tallos, utilizando metodología tradicional.

Los órganos más tolerantes al frío, hasta -22° C, fueron las yemas y tallos y los menos, las hojas (máx. -10° C). Estas últimas toleraron un impacto calórico de hasta 49° C. El gradiente altitudinal se correspondió con un gradiente de resistencia a las bajas temperaturas, siempre que los hábitos de que provienen las especies, fuesen climática y edáficamente adversos (nadis, escoria volcánica y pantanos turbosos). Estas diferencias no se apreciaron con respecto a la resistencia al calor. Las especies de mayor distribución latitudinal fueron más resistentes al frío.

DIUACH, Proyecto RS-80-27

EFECTO DE LA DIOSGENINA EN LA BIOSINTESIS DE COLESTEROL, COLESTEROL ESTER, SALES BILIARES Y FOSFOLIPIDOS. (effect of diosgenine on the synthesis of cholesterol, cholesterol ester, phospholipids and bile acids). Alallón, W., Morales, M.N., Bronfman, M., Nervi, F.O., Laboratorios de Citología Bioquímica y Gastroenterología, Departamentos de Biología Celular y de Gastroenterología, Pontificia Universidad Católica de Chile.

En estudios "in vivo" en hígado de rata se ha demostrado que la diosgenina produce una hipersecreción biliar de colesterol sin modificar la secreción de sales biliares. Este efecto ha sido interpretado como una acción del esteroide sobre los mecanismos que regulan la distribución del colesterol libre hepatocitario.

En el presente trabajo se estudió, simultáneamente, la biosíntesis de colesterol, colesterol ester, sales biliares y fosfolípidos aislados de ratas tratadas con diosgenina con el fin de valorar su interrelación y aporte al aumento de la disponibilidad hepática de colesterol.

Con este objetivo se determinó la incorporación de acetato- $2-C^{14}$ a colesterol y sales biliares y de oleato- $1-C^{14}$ a fosfolípidos y colesterol ester en hepatocitos aislados de ratas controles y tratadas con diosgenina.

Se encontró un aumento en la incorporación de marca a colesterol y una disminución de la incorporación a sales biliares inducido por la diosgenina. La incorporación de oleato- $1-C^{14}$ a fosfolípidos se encontró aumentada mientras que, disminuyó la incorporación a colesterol ester.

Estos resultados permiten postular que, la diosgenina aumenta la disponibilidad de colesterol libre para la secreción biliar de colesterol como consecuencia de sus efectos inhibitorios sobre la esterificación hepática de colesterol y sobre la síntesis de ácidos biliares, además de su capacidad de aumentar la colesterogénesis hepática

(Financiado por proyectos DIUC 76/82 y 94/82.)

ACTIVIDAD CARBOXILESTERASICA-AMIDASICA EN TRYPANOSOMATIDAE. (Carboxylesterase-amidase activity in Trypanosomatidae). Aldunate, J., Letelier, M.E., Repetto, Y., Morello, A. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La familia Trypanosomatidae son Protozoos-Parásitos que causan algunas enfermedades muy importantes en el hombre, por ej. en Chile, el Trypanosoma cruzi, es el agente causal de la enfermedad de Chagas, que afecta aproximadamente a 200.000 personas en nuestro país.

En trabajos previos hemos demostrado una actividad esterásica-amidásica al ensayar T. cruzi, cepa Tulahuén en su forma epimastigotes con el sustrato p-nitrofenil acetato, cuantificando la velocidad de producción del producto p-nitrofenol, en un espectrofotómetro de doble haz a 420 nm y pH 7.5.

Al caracterizar tal actividad in vivo, hemos podido establecer parámetros cinéticos Km: aparente = 1.60 mM y Vmax: aparente = 66.5 nmoles x minuto $^{-1}$ x mg proteína $^{-1}$ siendo tal actividad inhibida por paraoxón 10^{-6} M y N-etil maleimida 10^{-3} M, en forma independiente compatible con la existencia de carboxilesterasas A y B respectivamente.

Al efectuar microscopía electrónica de epimastigotes intactos hemos podido establecer que, la actividad se ubica unida a membranas del retículo endoplásmico al utilizar como sustrato α naftilacetato.

Al realizar fraccionamiento subcelular hemos podido establecer que, existe actividad carboxilesterásica tanto en microsomas y fracción soluble con parámetros cinéticos y comportamiento frente a inhibidores similares al descrito in vivo.

Financiado por CONICYT-Chile, UNDP/WB/WHO/TDR., D.G.A. Depto. Desarrollo de la Investigación, Universidad de Chile.

ANALISIS CINETICO DE LA PROLIFERACION EN CELULAS ACINARES DE PAROTIDA DE RATON ESTIMULADAS POR ISOPROTERENOL (Kinetic analysis of proliferation in mouse parotid acinar cells stimulated by Isoproterenol). Alliende, C. y Sans, J. Depto. Biología celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Las células acinares de parótida de ratón adulto normalmente se encuentran en reposo proliferativo. Al administrar una dosis de Isoproterenol (IPR), catecolamina beta adrenérgica, un 60-70% de la población celular entra al ciclo proliferativo. Estudios previos han establecido que en parótidas no estimuladas existen células diploides y tetraploides. En este trabajo se realizó un análisis cinético de la actividad proliferativa de ambas poblaciones celulares en glándulas estimuladas a proliferar por IPR mediante el uso combinado de la reacción de Feulgen y la técnica autorradiográfica. Con la estimulación tanto las células acinares con un contenido de DNA 2C como 4C entran en S en forma simultánea y en proporciones similares a las de su frecuencia en la glándula control. El período S es más largo en las células con un contenido DNA 4C y el retorno a las frecuencias características de células 2C y 4C de las glándulas controles ocurre al cabo de 40 horas. Se concluye que la respuesta de las poblaciones celulares 2C y 4C al ser estimuladas a salir del reposo proliferativo mediante IPR, es idéntica.

Proyectos DDIB 1651-8313 y 1/82 PNUD/UNESCO RLA 78-024.

DETERMINACION DE LAS CONSTANTES CINÉTICAS DE CIERRE Y APERTURA DE CANALES IONICOS EN MEMBRANAS CON POCOS CANALES. (Determination of gating rate constants of ionic channels in membranes having a small number of channels). Alvarez, O. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Las constantes cinéticas de cierre y apertura de canales iónicos de dos estados se pueden medir con facilidad en membranas con muchos canales (mas de mil) y en membranas con un solo canal. En membranas con muchos canales se miden haciendo experimentos de cambios bruscos del potencial eléctrico y observando la relajación de la corriente. En membranas con un solo canal se miden del promedio de los tiempos de permanencia en el estado abierto y en el estado cerrado. En membranas con pocos canales el problema es mas complejo. Propongo un método simple de cálculo aplicable a membranas que contengan de 2 a 5 canales.

Sean α y β las constantes cinéticas de cierre y apertura de los canales, N el número de canales en la membrana, S el número de canales abiertos, T(S) el tiempo de permanencia para cada valor de S y R(S) la razón entre el número de transiciones desde el estado S al S+1 y el número de transiciones desde el estado S al S-1. Las constantes cinéticas se calculan usando las siguientes ecuaciones:

$$T(S) = ((N - S) \alpha + S \beta)^{-1}$$

$$R(S) = (N - S) \alpha / S \beta$$

Se puede calcular α para $S=0$ y β para $S=N$,

y α y β para $1 \leq S < N$.

Universidad de Chile, Proyecto B 1224 8333.

Fondo Nacional de Investigación, Proyecto 308/82.

METILACION DE PROTEINAS RIBOSOMALES EN MICROORGANISMOS. (Methylation of ribosomal proteins from microorganisms). Amaro, A.M., Sanhueza, S. y Jerez, C.A. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La metilación de las proteínas ribosomales ha sido descrito en Escherichia coli. Aunque el significado biológico de esta metilación no se ha establecido, existen evidencias que indican que estas modificaciones pueden ser importantes para el ensamblaje del ribosoma. Si estas modificaciones tienen un papel funcional o estructural, deberían estar presentes en todos los organismos.

Estudiamos las proteínas ribosomales que sufren metilación en los siguientes procariotes (eubacterias): E. coli, Bacillus subtilis, Bacillus stearothermophilus, y Alteromonas espejiana. Halobacterium cutirubrum como una arqueobacteria y Euglena gracilis fue analizado en sus ribosomas citoplasmáticos y cloroplásticos. Se crecieron los organismos en presencia de metil-³H-metionina y/o l-¹⁴C-metionina. Las proteínas ribosomales se separaron por electroforesis bidimensional en poliacrilamida. La metilación se determinó por la razón ³H/¹⁴C de cada proteína.

Encontramos que todas las eubacterias tenían un patrón característico de metilación y que proteínas homologas estructural y funcionalmente son metiladas. La metilación del cloroplasto se asemeja al de las eubacterias, apoyando la idea de un origen endosimbótico para este organelo. Los ribosomas de H. cutirubrum mostraron una metilación diferente a la de eubacterias y eucariotes, en favor del postulado que establece a las arqueobacterias como una nueva línea de descendencia.

Financiado pro Universidad de Chile: Proyecto B/1065/8344.

PURIFICACION Y CARACTERIZACION DE ALBUMINA DE CARPA. (Purification and characterization of carp albumin). Amthauer, R. y Krauskopf, M. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Resultados obtenidos en nuestro laboratorio demuestran que durante el proceso de aclimatación del pez Cyprinus carpio, ocurren profundos cambios adaptativos que comprometen la expresión génica tanto a nivel de transcripción como de traducción.

En hepatocitos aislados de C. carpio, no sólo la cantidad sino que también el tipo de proteínas que se sintetiza, varía estacionalmente (Amthauer, R. y Krauskopf, M. (1982) Arch. Biol. Med. Exper. 15, R 108). En invierno, la proteinemia de la carpa decrece de 3,7-3,8 a 2,7-2,8 gr%, concomitantemente la albúmina disminuye de 0,86 gr% a 0,42 gr% (Sorvachev, K.F. (1957) Biokhimiya 22, 822-827). Como la mayoría de las proteínas séricas son sintetizadas en hígado, los hallazgos respecto a la variación de albúmina sérica durante aclimatación, podrían indicar un cambio en la expresión del gen o genes correspondientes.

Para estudiar este aspecto hemos purificado albúmina a partir de suero de carpa, utilizando fraccionamiento con sulfato de amonio y posterior filtración en Sephadex G-100. La purificación final se obtuvo con fraccionamiento en Sephadex G-200 o geles de poliacrilamida preparativos, ambos en condiciones denaturantes. La proteína así aislada muestra las propiedades descritas para seroalbúmina: soluble en 50% saturación sulfato de amonio, es una proteína abundante y la más anódica; une colorantes como ácido 8-anilino 1, naftaleno sulfónico (ANSA). Sin embargo, es notorio su bajo peso molecular. Determinado en geles de poliacrilamida-SDS resulta ser de 25.700 daltons. El comportamiento en filtración en Sephadex G-100 sugiere que la proteína nativa se encuentra como un dímero.

Financiado por Dirección de Investigación, Universidad Austral de Chile.

EFFECTO DE LA LUZ EN LA GERMINACION DE DOS CACTACEAS CHILENAS (The effect of light in the germination of two Chilean cactaceae). Antivilo, L. y Palma, B. Laboratorio de Fisiología Vegetal, Sección Botánica, Instituto de Biología, Universidad Católica de Valparaíso. (Patrocinio: O. Balboa).

Conocida es la propiedad fotoblástica positiva de las semillas de algunas cactáceas, como es el caso de Neoporteria subgibbosa (Haw) Br y R (T) y Trichocereus litoralis (Johow) Looser, (Balboa, 1983).

De allí que se planteó el presente trabajo en dos especies de la zona central, Trichocereus chilensis (COLLA) Br y R y Pyrrhocactus curvispinus (Bert) Backbg. Los objetivos llevan a determinar el porcentaje de germinación de las semillas sometidas a diferentes tiempos de exposición a la luz día y a establecer el tiempo mínimo de exposición que las unidades dispersantes requieren para reanudar su fase activa. Así como también analizar la posible participación del sistema del fitocromo.

Se utilizó la cosecha de semillas 1981. Para cada ensayo se usaron tres réplicas de 50 semillas cada una. Los tratamientos fueron: iluminación constante con luz blanca y períodos de 3,6,12,24,48 y 72 horas además de luz roja y rojo lejano (24 horas) y oscuridad completa. La fuente luminosa fue proporcionada por dos tubos fluorescentes de 40 W. A los 15 días se controla la germinación y los resultados se someten a un test de Anova y de Tuckey. Estos informan que existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con luz blanca y que el tiempo mínimo de exposición para T. chilensis es de 24 horas con 90% de germinación, no así para P. curvispinus que es de 72 horas con un 36% de germinación. Con relación al tratamiento con luz roja y rojo lejano no se observaron diferencias significativas, por lo tanto, es discutible la participación del fitocromo en la germinación de estas semillas.

PREDICCIÓN DEL GASTO DE ENERGÍA EN ACTIVIDADES FÍSICAS PESADAS A PARTIR DE SEGUIMIENTO TELEMÉTRICO DE LA FRECUENCIA CARDÍACA. (Energy cost of heavy work through fC obtained by telemetry). Apud, E., Chiang, M.T. y Guzmán, E. Laboratorio de Ergonomía, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas y Recursos Naturales. Universidad de Concepción.

Habitualmente, la estimación del gasto energético en faenas pesadas se realiza midiendo el consumo de oxígeno (VO_2) por métodos tradicionales de circuito abierto. Si bien, la utilidad de estas técnicas ha sido ampliamente demostrada, su uso está limitado por el rechazo que muchos sujetos tienen frente al empleo de máscaras respiratorias o piezas bucales. Por esta razón, en numerosas circunstancias se hace necesario emplear métodos alternativos que permitan cuantificar indirectamente esta variable.

En el presente trabajo se discute la validez de la estimación de gasto de energía a partir de mediciones telemétricas de fC en faenas forestales manuales, ya que se sabe, existe una relación lineal entre la frecuencia cardíaca y el consumo de oxígeno.

El estudio se realizó en 57 sujetos, estableciéndose en cada uno de ellos, la línea de regresión entre fC v VO_2 , durante tres o cuatro ejercicios de intensidad creciente ejecutados en un cicloergómetro.

Posteriormente, se realizaron determinaciones simultáneas de fC v VO_2 en trabajos forestales de distinta naturaleza. Los valores de fC obtenidos teleméricamente se convirtieron en VO_2 utilizando la ecuación de regresión de cada sujeto.

Los resultados revelan que para este tipo de faenas no existe diferencia significativa entre el VO_2 medido v el estimado a partir de la fC.

Trabajo financiado por Prov.D.I. 2.09.69 U.de Concepción

ESTUDIOS SOBRE AMINOACIL-tRNA SINTETASAS EN OVARIO DE Xenopus laevis. (Studies in aminoacyl-tRNA synthetases from X. laevis.) Arancibia, F., Benítez, R. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, División Ciencias Médicas Norte, Universidad de Chile. (Patrocinio: M. Gatica).

Las aminoacil-tRNA sintetisas purificadas de diversas especies y tejidos han demostrado tener pesos moleculares que varían entre 50.000 y 250.000 daltons.

Mediante purificaciones recientes realizadas en levadura y en tejidos de eucariotes (1) se han logrado purificaciones parciales de algunas sintetisas en complejos de pesos moleculares superiores a 500.000 daltons. En algunos de estos complejos estas enzimas se encuentran asociadas a otras enzimas, a otras sintetisas e incluso a un ácido nucleico no individualizado.

En el presente trabajo se muestra el aislamiento desde ovario de Xenopus laevis de un complejo de peso molecular mayor que $1 \cdot 10^6$ daltons que presentó actividad para varias aminoacil-tRNA sintetisas que se ensayaron (phe, lys, ile, leu). La obtención de estos complejos requirió el uso de inhibidores de proteasas y el pasaje a través de una columna de sepharose -4B. Se establece un estudio comparativo entre las aminoacil-tRNA sintetisas obtenidas en forma libre con las enzimas separadas en forma de complejo.

(1) Chi V. Dang, Deborah L. Johnson, and David C.H. Yang. High molecular mass aminoacyl-tRNA synthetase complexes in eukaryotes. FEBS Letters 142(1), June 1982.

ORGANIZACIÓN DEL GENOMA MITOCONDRIAL DEL PEZ Cyprinus carpio. (Genome organization in mitochondria from Cyprinus carpio.) Araya, A. y León, G. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

En mamíferos, el mtDNA presenta una organización notable. Una de las hebras (hebra H) contiene casi todos los genes. Los tRNA se encuentran entre los genes para proteínas mitocondriales y rRNA. Prácticamente no existen regiones no-codificantes excepto el D-loop, que se postula como una región esencial en la replicación y transcripción del genoma mitocondrial.

En nuestro laboratorio se ha demostrado morfológicamente que durante la aclimatación del pez C. carpio se produce un cambio importante en el número y tamaño de las mitocondrias, lo cual lo hace un modelo interesante para el estudio de la expresión de genes mitocondriales.

Con este objeto se estableció un mapa físico del mtDNA. La localización de genes se realizó mediante: 1) Secuencia de los extremos Bam HI de los fragmentos de mtDNA clonados en pBR325. Los datos obtenidos se procesaron por computación para la búsqueda de homología con el mtDNA humano. Se localizaron así cuatro genes: Subunidad I de citocromo oxidasa; apocitocromo b; URF 4 y tRNA Glu. 2) Hibridación de fragmentos de restricción de mtDNA de C. carpio fijados en nitrocelulosa. Se utilizó como sondas heterólogas fragmentos de mtDNA de hígado de rata marcado con ^{32}P por "nick translation", lo que nos permitió la localización de los genes de RNA ribosomales 16S y 12S. Se estableció además, un mapa fino del gen de apocitocromo b y los tRNA adyacentes para el estudio de su secuencia.

La disposición de los genes en el mtDNA de Cyprinus carpio permite concluir que existe una gran conservación de la estructura del genoma mitocondrial en vertebrados.

Financiado por Proyecto RS-82-21, DI-UACH.

PURIFICACION Y CARACTERIZACION DE LA PROTAMINA DE SARDINOPS SAGAX MUSICA (Purification and characterization of the protamine from Sardinops Sagax Musica) Arellano A., Peña H. Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Concepción.

Las proteínas nucleares básicas extraídas con ácido de espermatozoides secos de Sardinops Sagax Musica, muestran una banda de alta movilidad electroforética en geles de poliacrilamida urea-ácido acético al 20%. Esta proteína de alta movilidad se separa del resto por cromatografía en Sephadex G-75 y, liofilizada, se guarda para su posterior caracterización. Análisis de amino-ácidos revelan un alto contenido en arginina (63%) y en base a este análisis se determina que el peso molecular es 4300.

La protamina posee prolina en su extremo N-terminal y estudios sobre la identificación del amino-ácido C-terminal, así como sobre la posible microheterogeneidad de esta proteína están en curso.

(Proyecto N°20.13.11 de la Dirección de Investigación de la Universidad de Concepción)

EL GENERO STRATIODRILUS HASWELL (ANELIDA; POLYCHAETA; HISTRIODPELLIDAE) EN CHILE. (Genus Stratiodrillus Haswell (Anelida; Polychaeta; Histriodpellidae) in Chile. Arenas, J.N. Instituto de Zoología, Universidad Austral de Chile.

La fauna dulceacuífola del cono sur sudamericano es marcadamente endémica y relacionada filogenéticamente con elementos circumpolares más que con Paleárticos o Neárticos.

La fauna carcinológica esta compuesta solo por Aeglidae y Parastacidae. Los primeros endémicos y los segundos en territorios de origen Gondwánico. A estos crustáceos se asocian los pequeños anelidos del género Stratiodrillus.

Desde el establecimiento del género, se han descrito cuatro especies de las cuales una es sudamericana, S. platensis (Uruguay). Sin embargo, no se ha registrado ésta ni otras especies en Chile. La gran diversificación de Aeglidos y Parastacidos a ambos lados de los Andes, hacen presumir que muestreos más intensos podrían revelar mayor diversidad de Stratiodrillus. Al igual que ocurre con los salmoniformes Galaxias y Aplochiton y las lampreas Geotria, cabría esperar que los Stratiodrillus sudamericanos más relacionados con los australianos se encuentren en Chile. Los resultados obtenidos de una prospección de Stratiodrillus sobre Aeglidos y Parastacidos sudamericanos, permiten reconocer cinco taxa de rango especie presentes en Chile, dos de ellos en Argentina y uno de estos dos también en Uruguay y Brasil. Tres especies se asocian a Parastacus, una a Samastacus y una a Aegla. Las especies asociadas a Parastacus son también las más relacionadas con los Stratiodrillus extra sudamericanos.

Proyecto RS-80-33, Dirección de Investigación y Desarrollo, Universidad Austral de Chile.

ASPECTOS COMPARATIVOS DE DOS ESPECIES DE SILURIFORMES CHILENOS DE AGUA DULCE (PISCES: TRICHOMYCTERIDAE). (Comparative Aspects of two Species of Freshwater Chilean Siluriformes (Pisces: Trichomycteridae). Arellano, M., Huaquín, L. y Manríquez, A. Depto. Silvicultura y Manejo, Facultad de Ciencias Agrarias, Veterinarias y Forestales, Universidad de Chile. (Patrocinio: T. Torres)

Las condiciones geográficas y ecológicas de ríos y esteros chilenos mantienen una fauna íctica restringida caracterizada por su primitividad. Entre esta fauna, el género considerado dominante en número como por su distribución geográfica es Trichomycterus, mientras, Nematogenys, cuya única especie, N. inermis tiene una distribución restringida y considerada en extinción. Ambos géneros pertenecen a la familia Trichomycteridae. Se comparan aspectos ecológicos y biológicos que permitan explicar esta divergencia.

Se trabajó con especímenes colectados periódicamente, 492 de T. areolatus en el estero Angostura (1979-1981) y 220 N. inermis en el Estero Grande de Copequén (1974-1983). Se determinaron dimensiones corporales, contenido estomacal, sexo, estado gonadal. Se realizó recuento de ovocitos, se estableció índice gonadosomático (IGS) y de condición (K) para ambas especies.

Ambas especies presentaban distribución geográfica semejante, actualmente N. inermis está restringida y considerada en extinción. Son bentónicas, comparten su hábitat en el estado juvenil, siendo diferente en el estado adulto. Hábitos alimentarios carnívoros. La distribución por talla de la población es diferente para ambas especies, caracterizándose la de N. inermis por la presencia de juveniles de LT menor de 60 mm., durante gran parte del año, indicando un lento crecimiento. Según la clasificación de Marza (1938), N. inermis tendría un desove sincrónico parcial, siendo T. areolatus una especie de desove asincrónico.

Proyecto B 1551-8323 del D.D.I. Universidad de Chile.

ESTUDIOS ESTRUCTURALES COMPARATIVOS DEL SITIO DE RECONOCIMIENTO EN NOTEXIN Y OTRAS FOSFOLIPASAS A₂ CON ACCION TOXICA. (Comparative structural studies of recognition site in notexin and other toxic phospholipases). Arriagada, E. Depto. Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

Las fosfolipasas A₂ (PA₂) obtenidas de veneno de serpiente, hasta hoy caracterizadas presentan similitudes estructurales, sin embargo, sus actividades son diversas: neurotoxicidad, miotoxicidad, cardiotoxicidad, actividad anticoagulante y otras. Su letalidad es muy variable y las PA₂ básicas son generalmente mucho más letales que las neutras o ácidas.

Notexin es una proteína básica obtenida de veneno de Notechis scutatus scutatus y presenta una gran actividad fosfolipásica sobre fosfolípidos (PL) sintéticos y unidos a membranas. Además tiene una marcada acción neurotóxica y miotóxica.

El objetivo de estos estudios fue determinar las relaciones entre esas diversas actividades de notexin y conectarlas a aspectos estructurales particulares de ella, como así mismo para las otras moléculas estudiadas. Para tal fin se efectuó la predicción de sus estructuras secundarias por el método de los perfiles de hidrofobicidad, junto con un estudio comparativo con otras PA₂ de diferente origen.

Los resultados obtenidos indican que además de la similitud estructural en las PA₂, existen zonas de estructuras que sólo se repiten en PA₂ monocatenarias neuro y miotóxicas, y muestran un predominio de residuos básicos y de estructura β.

De acuerdo a lo anterior, se propone que una región con predominio de residuos básicos tendría afinidad por ciertos PL o alguna proteína de membrana del terminal nervioso, constituyendo un sitio de reconocimiento, presente sólo en PA₂ tóxicas.

Proyecto N° 20.33.16 de la Dirección de Investigación Universidad de Concepción.

EFFECTO DEL IMPLANTE DE ADENOHIPOFISIS BAJO LA CAPSULA RENAL EN EL INICIO DE LA PUBERTAD EN LA HEMBRA DE RATA Y DEGU. (Effect of a renal hypophysis allograft on the onset of puberty in female rat and degu). Arriagada, R. y Unda, C.- Academia Superior de Ciencias Pedagógicas y Departamento Morfología Experimental, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se ha descrito que un implante de adenohipófisis bajo la cápsula renal adelanta la apertura vaginal (A.V.).

Con el fin de establecer una posible acción de hormonas secretadas por el implante, sobre la A.V., peso húmedo de los órganos involucrados y su efecto sobre el ovario, se utilizaron hembras de rata y degú impúberes, de 22 y 33 días respectivamente. Los animales del grupo control fueron implantados con corteza cerebral.

Se observó un adelanto significativo en la edad de A.V. en ambos grupos experimentales (P 0.05 en degú; P 0.005 en rata). Las hembras degú experimentales mostraron un aumento significativo de peso corporal y adrenal; no se registraron variaciones en el resto de los órganos estudiados. En la rata el peso uterino y vaginal aumentó significativamente. En degú, se observó un aumento en el número de Cuerpos Lúteos, los que estarían en correlación con el recuento ovular. Los ovarios de rata presentaron cambios similares.

El implante de adenohipófisis induce un adelanto de la edad de A.V., en ambas especies. El incremento del peso adrenal, en degú, y uterino-vaginal en rata, sugiere un posible rol del implante sobre la liberación de Esteroides de origen ovárico y/o adrenal, lo que modificaría los parámetros antes mencionados.

Financiado por Proyecto B-1497 - 8322 de la SCCCACI.

ACAROS DEL POLVO DE LAS HABITACIONES EN CHILE (ACARI). (House Dust Mites From Chile (Acari). Artigas, J. N. y Casanueva M. E.. Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Biológicas y Recursos Naturales, Universidad de Concepción. (Patrocinio J. N. Artigas)

Se estudia la fauna de ácaros que viven en el polvo de las habitaciones en Chile. Un total de 261 muestras, procedentes de 42 localidades diferentes de Chile, fueron examinadas. Se reconocieron 19 especies pertenecientes a 15 géneros: *Acarus siro* Linné, *Blattisocius tarsalis* (Berlese), *Blomia kulagini* Zankvatkin, *Blomia tjiibodas* (Oudemans), *Cheletomorpha lepidopterorum* (Shaw), *Cheyletus eruditus* (Schrank), *Chortoglyphus arcuatus* (Troupeau), *Ctenoglyphus palmifer* (Fumouze y Robin), *Dermatophagoides farinae* (Hughes), *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart), *Eugamasus* sp., *EuCheyletia hardyi* (Baker), *Glycyphagus destructor* (Schrank), *Glycyphagus domesticus* (De Geer), *Glycyphagus ornatus* (Kramer), *Gohieria fusca* (Oudemans), *Rhizoglyphus callae* (Oudemans), *Spinibdella* sp. y *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank). Para cada especie se indican sus sinónimos más conocidos, figuras de machos y hembras adultos, una diagnosis morfológica y consideraciones relativas a su distribución geográfica y el porcentaje relativo que ocupa en las poblaciones de ácaros del polvo. Se incluye una clave para determinar las especies. Las especies mencionadas, excepto *Glycyphagus domesticus* (De Geer) y *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart) constituyen primer registro para Chile.

ACTIVACION DE CANALES IONICOS POR LUZ EN UN FOTORECEPTOR DE CRUSTACEO. (Activation of ionic channels by light in a crustacean photoreceptor). Bacigalupo J., Lisman J.E. Dept. of Biology, Brandeis University, Waltham, MA EEUU.

Iluminación del fotoreceptor del ojo ventral de *Limulus polyphemus* produce un aumento en la conductancia de la membrana a Na^+ (conductancia activada por luz, G_L). Mediante la técnica de "patch clamp" estudiamos G_L a nivel de canales iónicos individuales. Las células gliales fueron removidas mediante una pipeta de succión (Stern y col., J Gen Phys 80: 825; 1982), dejando la membrana del fotoreceptor expuesta e intacta. Un microelectrodo intracelular fue utilizado para medir el potencial de membrana (V_m). Al estimular la célula con luz, se observan saltos discretos de corriente que revelan la fluctuación de canales individuales entre los estados abierto y cerrado. Esta actividad de los canales depende directamente de la intensidad de la luz. La activación del canal no es mediada por la depolarización que la luz induce en el fotoreceptor, pues si la membrana es depolarizada en la oscuridad el canal no es activado. Fotoreceptores inyectados con EGTA, para prevenir el aumento de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ libre normalmente inducido por la luz, muestran un incremento en la activación del canal por luz, sugiriendo que el Ca^{2+} no media en este proceso de activación. El potencial de inversión de la corriente por canales únicos, ~ 10 mV, es similar a aquel descrito para la corriente macroscópica activada por luz. El canal tiene una conductancia de 43 pS y un tiempo abierto promedio de ~ 3 msec. Nuestros datos indican que la luz aumenta la conductancia a Na^+ dependiente de la luz a través de la activación de canales iónicos en la membrana del fotoreceptor de *Limulus*.

DIFERENCIAS DE FASE EN LA ACTIVIDAD MITOTICA DE LA POBLACION EPITELIAL DE LA PARS DISTALIS Y DE LA PARS INTERMEDIA DEL RATON DE 28 DIAS DE EDAD. (Mitotic activity in epithelial population of the pars distalis and pars intermedia of the 28 days old mouse. Phase differences. Badran, A.F. y Surur, J.M. Instituto de Embriología, Biología e Histología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

La población epitelial de la pars distalis del ratón adulto muestra escasa renovación celular. En el ratón joven de 28 días, presenta una baja actividad mitótica, con una neta variación circadiana con un máximo al mediodía y un mínimo a la medianoche en fase con la mayoría de los resultados observados en los diversos tejidos del ratón.

La pars intermedia, del mismo origen embriológico que la pars distalis pero diferente en organización estructural, en sus relaciones con las células de los núcleos hipotalámicos y en sus funciones, demostró también una variación en la actividad mitótica pero con un máximo durante la actividad del animal (medianoche) y un mínimo durante el reposo.

En los experimentos se utilizaron ratones machos C3Hs de 28 días, estandarizados para análisis de periodicidad, y sacrificados en grupos cada 4 horas tras recibir colchicina I.P. 4 horas antes. La actividad mitótica se expresa como índice de metafases colchicínicas por mil núcleos. Las significación de las diferencias entre las medias de los grupos comparados se determinó con la prueba de t.

Los resultados demuestran que existe una diferencia de fase de 12 horas entre los picos mitóticos de la pars distalis y pars intermedia, hallazgo similar al observado entre la corteza adrenal y la mayoría de los restantes tejidos.

FIJACION DE NITROGENO EN RHAMNACEAE. (Nitrogen fixation in Rhamnaceae). Balboa, O¹, Martínez, J² y Silvester, W.B.³

¹Laboratorio de Botánica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica, ²Academia Superior de Ciencias Pedagógicas, Santiago y ³Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de Waikato, Hamilton, Nueva Zelanda.

Se han encontrado nódulos en raíces de cinco especies de Rhamnaceae en el matorral de Chile Central. Estos hallazgos confirman previos informes para *Colletia spinosissima* y *Trevoa trinervis* y a la vez dan cuenta por primera vez de la presencia de nódulos en *Retanilla stricta*, *R. ephedra* y *Talguenea quinquenervia*. Los nódulos son similares en apariencia y típicos de aquellos nódulos originados por infección de actinomicetes. Generalmente los nódulos se ubican próximos a las raíces principales y concentrados en la parte norte de la planta.

La actividad de la nitrogenasa medida por la reducción del C₂H₄ a C₂H₆ se mantiene por al menos cuatro horas después de haberlos separado de la raíz y con promedios de 30 nmoles de C₂H₄ mg⁻¹ h⁻¹ (peso seco) a 20°C y de 10 nmoles de C₂H₄ mg⁻¹ h⁻¹ a 10°C (temperatura promedio en el momento del muestreo). La biomasa de los nódulos de una planta de *T. quinquenervia* fue estimada en 1.75 g peso seco.

Los resultados demuestran que los nódulos de las cinco especies de Rhamnaceae están activamente fijando nitrógeno atmosférico.

Apoyo financiero para esta investigación fue proveído por la U.S. AID a través de la U.S. National Academy of Sciences/NRC. Proyecto FGT-CL-1-83-31.

EFFECTOS DE LA DEFICIENCIA DE LIPIDOS Y PROTEINAS DE MEMBRANA EN LOS CAMBIOS DE FORMA INDUCIDOS POR CLOROTETRACICLINA (CTC) EN ERITROCITOS HUMANOS. (Effects of membrane lipid and protein deficiency on shape changes induced by chlorotetracycline in human erythrocytes). Behn, C., Vera, L., y Morales, A. Departamento de Fisiología Normal y Patológica, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso y Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Los cambios de forma Ca-dependientes inducidos por CTC en eritrocitos humanos son atribuidos a expansiones diferenciales de monocapas lipídicas en la membrana celular (Riquelme, G. et al. Biochim. Biophys. Acta 689:219, 1982). Se investiga ahora el efecto de CTC en presencia de un esqueleto proteico de membrana defectuoso (eritrocitos esferocíticos) y en eritrocitos desprovistos de lípidos por acción del detergente Triton X-100.

Eritrocitos obtenidos de donantes normales y de pacientes con esferocitosis hereditaria (esplenectomizados) se disponen para la observación microscópica en una cámara perfundida con solución salina pH 7,4 y pCa 9. La perfusión con solución salina da lugar a formas crenadas (equinocitos) que en presencia de 1 mmol.l⁻¹ CTC se transforman en estomatocitos con un período de latencia de 5 min en eritrocitos normales y 10 min en esferocitos. Una transformación equino-estomatocítica similar a la inducida por CTC se obtiene al exponer las células a bajas concentraciones (0,3 % v/v) de Triton X-100. En los esqueletos discocíticos que quedan después de perfusión prolongada con el detergente, CTC no tiene efecto.

Se concluye que en los cambios de forma celular inducidos por CTC, el esqueleto proteico de la membrana se adapta pasivamente a las distorsiones ocasionadas por el antibiótico en la bicapa lipídica.

Financia: SDCAI (Universidad de Chile).

CULTIVO "IN VITRO" DE YEMAS DE *Gomortega keule* (MOL.) JOHNST. GOMORTEGACEAE. ("In vitro" culture of buds from *Gomortega keule* (Mol.) Johnst. Gomortegaceae). Barrales, H.L.*, Longeri, L.** y Mancinelli, P.* y Moroni, M. Departamento de Agronomía** y Departamento de Botánica*, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales y Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

G. keule (Queule), es una especie endémica y monotípica de Chile que se encuentra en peligro de extinción. Aunque su área de distribución se extiende desde el río Maule por el norte hasta la provincia de Concepción por el sur, se le encuentra en lugares aislados y protegidos. Su propagación por medio de semillas es muy demorada (2-4 años) y exige tratamientos previos.

La micropropagación por cultivo "in vitro" de sus yemas puede constituir una vía diferente y más rápida de multiplicación e independiente de los períodos de fructificación.

Yemas axilares de *G. keule*, recolectadas en mayo, se disecaron asépticamente y se colocaron en tubos con medio de cultivo de Anderson o de Gresshoff y Doy, aplicando 6 tratamientos hormonales con tres reguladores de crecimiento a la concentración de 0.1 mg.l⁻¹ de cada uno; combinando una giberelina, una auxina y una kinetina en cada tratamiento. Se usó ácido giberélico (GA₃), pero se variaron las auxinas á. indolacético (AIA), á. indolbutírico (IBA) y á. naftaleacético (ANA), como así también las cinetinas benzilaminopurina (BAP) y furfurilaminopurina (Kinetina). Los cultivos se mantuvieron bajo 16 hr luz (55 uE. cm⁻².seg⁻¹) y a una temperatura de 24°C.

Las yemas reiniciaron su crecimiento en los medios de cultivo y la respuesta depende de la combinación de reguladores del tratamiento.

MORFOLOGIA Y ULTRAESTRUCTURA DEL NECTARIO FLORAL DE *ECCREMOCARPUS SCABER* R. ET P. (BIGNONIACEAE). (Morphology and ultrastructure of the floral nectary of *Eccremocarpus scaber* R. et P. (Bignoniaceae). Belmonte, E. y Arroyo, Mary T. Kalin, Depto. de Ciencias Ecológicas, Fac. Ciencias Básicas y Farmacéuticas, U. de Chile, Santiago.

Dado el alto requerimiento energético del polinizador principal (*Patagona gigas gigas* Vieillot) de *Eccremocarpus scaber* R. et P. en Chile, esta especie proporciona una situación interesante para estudiar la estructura y organización del tejido secretor.

Se estudió la superficie del nectario con el microscopio de barrido utilizando flores fijadas en FAA. El material observado con el microscopio de transmisión fue fijado en glutaraldehído con post-fijación en tetróxido de osmio y tinción con acetato de uranilo y citrato de plomo. Adicionalmente se realizaron cortes del nectario maduro fijado en FAA, teñidos con safranina/fast green y azul de bromofenol.

La superficie del nectario de *E. scaber* es liso, con estomas localizados en el lado externo que limita con la corola. Anatómicamente se distinguen tres tejidos: epidermis monoestratificada, parénquima externo secretor y un tejido fundamental atravesado por haces vasculares. Las células de la zona secretora, al inicio del período de secreción son metabólicamente muy activas, destacando especialmente la abundancia de amiloplastos y grandes espacios intercelulares. Al concluir la etapa de secreción se distinguen conglomerados de oroañelos en el citoplasma y amiloplastos degradados en el compartamiento vacuolar.

Los resultados sugieren que inicialmente los azúcares transportados del floema son almacenados como almidón, con posterior conversión del almidón a azúcares en el momento de la secreción. Es posible que los estomas estén involucrados en la secreción del néctar. (Colaboradores: Liliana Cardemil, G. Montenegro). N-1755/8215 (M.T.K); PNUD/UNESCO RLA 78/024; 4-81.

ESTRUCTURA Y CAMBIOS CONFORMACIONALES DE CROTAMINA. (Structure and conformational changes in crotamine) ¹ Beltran, J.R., Cid, H., Craievich, A.F., Laure, C.J., y Mascarenhas, Y.P. Universidad de Sao Paulo, Brazil y ² Depto. Cs. Fisiológicas, Fac. Cs. Biológicas, U. de Concepción.

Crotamina es una neurotoxina proveniente de la serpiente brasilera *Crotalus terrificus*. Tiene 42 residuos de aminoácidos, un peso molecular de 4870 Dalton y presenta 3 puentes disulfuro. Constituye pues una toxina diferente a las neurotoxinas del grupo de la erabutoxina ya conocidas.

Se ha hecho la predicción de la estructura secundaria de la crotamina, mediante el uso simultáneo de los métodos de Chou y Fasman y el de los perfiles de hidrofobicidad, obteniéndose una estructura que presenta un 19% de hélice y un 45% de estructura Beta. Ambos porcentajes confirman medidas de ORD y espectroscopía de rayos láser publicados para esta toxina. La estructura secundaria predicha permite proponer un modelo estructural que permite la formación de los 3 puentes disulfuro en la ubicación correcta y da lugar a una molécula muy compacta y de forma elipsoidal alargada.

Estudios de difracción de rayos X a ángulo pequeño en soluciones de crotamina a diferentes concentraciones permitieron determinar el radio de giro, el volumen y el área superficial de la molécula. Para un pH de 4.5, estos parámetros corresponden a un elipsoide prolado de semiejes a y 2.3a, lo que también confirma la estructura propuesta a partir de la predicción de la estructura secundaria.

Al variar el pH, se observa que a medida que éste se aproxima a 9.0, la forma elipsoidal se aproxima a una esfera. Para valores del pH entre 9.0 y 12.5, hay indicios que ocurre agregación de las moléculas.

Proyecto de Investigación 20.33.16. de la Universidad de Concepción.

DETERMINACION DE CININAS EN PLASMA DE RATA (Kinin determination in rat plasma). Berthoud, V. y Gorthorn, J. Laboratorio de Fisiología, Facultad Ciencias Biológicas. P. Universidad Católica de Chile.

Las cininas, bradícina y lysil-bradícina, son péptidos producidos por las calicreínas. Como éstos poseen propiedades vasodilatadoras y natriuréticas el sistema calicreína-cininas podría estar involucrado en el desarrollo de la hipertensión; participa -ción que ha sido estudiada principalmente a través de la excreción urinaria de calicreína.

Los valores de cininas encontrados en el plasma muestran grandes variaciones lo que sugiere problemas metodológicos en su determinación. Presentamos la validación de un método para determinar cininas en sangre de rata, con el fin de estudiar los niveles de cininas plasmáticas en ratas hipertensas renales.

La sangre fue colectada desde la arteria carótida de ratas Sprague-Dawley anestesiadas con Nembutal en tubos plásticos que contenían Polybrene 500 ug, PMSF 80 ug y EDTA 1,25 mg por ml de sangre. Centrifugada a 4800 g x 5 min. y el plasma (1ml) aplicado a una columna de Sephadex G-25. Las cininas fueron eluidas con Buffer TRIS-HCl 0,1 M, NaCl 0,15M, EDTA 1mM, Polybrene 1g/l, NaN₃ 0,02%. El contenido de cininas fue cuantificado por radioinmunoensayo para cininas. La sensibilidad del RIA fue de 10 pg/tubo.

Los valores de cininas fluctúan entre 95 y 156pg BK eq/ml de plasma de sangre arterial. No se detectaron variaciones en los niveles de cininas plasmáticas en plasma mantenido a 4°C y a -20°C durante 24 horas con respecto a los niveles encontrados en plasma fresco, con lo cual se comprobó que la mezcla de inhibidores usada impidió la generación espontánea de cininas y su degradación durante la extracción de la sangre y su procesamiento. La presencia de Polybrene y EDTA no afectó la unión antígeno-anticuerpo observándose un paralelismo con la curva

EVALUACION ELECTROFISIOLÓGICA DE LA AFASIA INFANTIL POR MEDIO DE LAS RESPUESTAS AUDITIVAS DEL TRONCO CEREBRAL. (Electrophysiological evaluation of infantile aphasia using the auditory brainstem responses). Benítez, J., Pérez, M. y Roncagliolo, M. Depto. de Audición y Lenguaje Hosp. C. Van Buren y Depto. Fisiología Normal y Patológica, Fac. Medicina, U. de Valparaíso.

La afasia infantil, trastorno en la organización y desarrollo del lenguaje, es un síndrome sin una etiopatogenia precisada y que podría tener sustratos anatómicos diversos: cortical, subcortical y tronco. En un grupo de 50 niños afásicos, con audición normal, seleccionados por criterios psicológicos, neurológicos, foniátricos y audiométricos, hemos estudiado las Respuestas Auditivas del Tronco, con el propósito de correlacionar el funcionamiento de la vía auditiva con el cuadro clínico.

Las respuestas fueron obtenidas por estimulación monoaural a 70 y 90 dB HL, siguiendo la metodología ampliamente descrita por nosotros (Rev. Otorrinolaringol. 42: 48-54, 1982).

La morfología de las ondas mostraron una gran variabilidad, siendo notable la aparición de una onda extra aberrante, entre las ondas III y IV, en un 55% de los casos. Las latencias absolutas de las ondas tienden a ser menores que las normales, y la disminución de ellas en función del aumento de la intensidad del estímulo, fue más marcado para la Onda I que para la V, lo que determina que el Tiempo de Transmisión Central (TTC) (intervalo I-V) aumenta significativamente entre los 70 y 90 dB HL. Estos resultados plantean interrogantes, no sólo acerca de las bases fisiológicas o anatómicas de estas respuestas anormales, sino también su repercusión en la percepción auditiva y en el desarrollo del lenguaje.

ASLAMIENTO Y SECUENCIACION PARCIAL DE UN PEPTIDO DEL SITIO ACTIVO DE QUINASA PIRUVICA DE MUSCULO DE CONEJO. (Isolation and partial sequencing of a peptide from the active site of rabbit muscle pyruvate kinase). Bezares, G., Byzaquirre, J. y Bezares, S. Laboratorio de Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Trabajos previos han demostrado que el ADP oxidado con peróxido (oADP) es un buen marcador de afinidad de la quinasa pirúvica (PK) de músculo de conejo. Se utilizó el ¹⁴C-oADP con el objeto de marcar y aislar un péptido del sitio activo de la enzima.

Se incubó la PK con ¹⁴C-oADP en condiciones que favorecieran la marcación selectiva del sitio activo. La enzima unió 1,2 moles de ¹⁴C-oADP/subunidad. Luego fue reducida, carboximetilada y sometida a digestión con tripsina. El digerido triptico se sometió a cromatografía en Sephadex G-25 con NH₄HCO₃ al 0,5%, pH 8,0. Se aisló un péptido que presentó el máximo de la radiactividad y cuya pureza se estableció en placas de gel de sílice del material dansilado y por electroforesis en gradiente de poliacrilamida-urea 7 M. Su peso molecular resultó ser 5.900 y su residuo amino terminal se identificó como alanina. Al secuenciar el péptido se lograron 26 ciclos de secuencia, siendo la posición 25 la del residuo modificado.

La secuencia parcial del péptido corresponde exactamente a la de un segmento de la PK de músculo de pollo entre los residuos 341 a 367. También corresponde a la secuencia parcial de un péptido obtenido por digestión triptica de la PK de músculo de bovino marcada con trinitrobenzenosulfonato en un residuo de lisina. Se concluye que el péptido obtenido marcado con ¹⁴C-oADP contiene el residuo de lisina que participa en la unión de nucleótidos. Su estructura muestra que ella es altamente conservada en tres diferentes PK como podría esperarse de una región esencial para la catálisis.

Proyecto DIUC 215/82.

LAS REACCIONES DE PEROXIDACION NO ESTAN ASOCIADAS AL BLOQUEO DE LA POLIESPERMIA EN HAMSTER DORADO. (The zona reaction of golden hamster eggs is not mediated by peroxidative reactions). Isabel Bize y Pilar Cabello, Laboratorio Embriología, P. Universidad Católica de Chile.

Los huevos de ratón activados por espermios o por ionóforo de Ca exhiben un cambio en la zona pelúcida demostrable por el aumento de la concentración de proteasas necesaria para digerirla. Los inhibidores de peroxidación evitan este endurecimiento. Métodos citoquímicos han detectado peroxidación en los gránulos corticales de estos huevos (Schmell et al, 1979, Cell Biol 83: 302a).

En nuestros estudios con hamster dorado hemos encontrado que los huevos pretratados por 30 minutos con 10 ug/ml de peroxidasa y 1 mM H₂O₂ pueden ser penetrados por espermios capacitados in vitro y el uso de 50 ug/ml de catalasa en el medio de fecundación no aumenta el número de penetraciones por huevo. No existe diferencia en el % de huevos fecundados entre los inseminados en la presencia de 100 uM H₂O₂ y los controles.

Podemos concluir que las reacciones de peroxidación no alteran la zona pelúcida de huevos de hamster evitando la penetración por espermios capacitados in vitro y que el H₂O₂ no es un espermicida potente. Esto indica que el bloqueo de la poliespermia en equinodermos y en mamíferos ocurre a través de mecanismos diferentes.

Financiado por Grant Diuc 85/83

ANCLAJE DE LA ACETILCOLINESTERASA A LA LÁMINA BASAL SINÁPTICA (Anchorage of the acetylcholinesterase to the synaptic basal lamina). Brandan, E., Maldonado, M., Torres, J.C. e Inestrosa, N.C., Laboratorio de Neurofisiología, Depto. Biología Celular, P. Universidad Católica de Chile.

Nuestro interés es estudiar el mecanismo por el cual la acetilcolinesterasa (AChE) se asocia a la lámina basal sináptica. AChE, la enzima encargada de hidrolizar el neurotransmisor acetilcolina ocupa el 0.09% del área total de la lámina basal lo que indica un alto grado de especificidad en su distribución.

Heparina, un glicosaminoglicán sulfatado solubiliza específicamente AChE sináptica tanto de regiones de placas motoras provenientes de músculo diafragma de rata como de fracciones enriquecidas en lámina basal de Torpedo. De las distintas formas moleculares presentes en la región sináptica, sólo las formas asimétricas son solubilizadas por heparina, formando complejos solubles en baja fuerza iónica que presentan en gradientes de sacarosa un coeficiente de sedimentación de 30-40S. La interacción de la AChE con heparina se estudió también por medio de cromatografía de afinidad. Las formas asimétricas de la enzima se unen a columnas de heparina-agarosa y esta unión es específica por cuanto requiere el tallo colagenoso de dichas formas.

Nuestros resultados permiten postular que proteoglicanos del tipo heparin-sulfato estarían involucrados en el anclaje de la AChE asimétrica a la lámina basal de la unión neuromuscular.

Este trabajo fue financiado por el DIUC (Proyecto 59/82), Fondo Nacional de Ciencias (Proyecto 645/82) y la Fundación Gildemeister.

CONEXIONES VISUALES CALLOSAS EN RATAS GRISES. ESTUDIO EXPERIMENTAL MEDIANTE TRANSPORTE ANTEROGRADO Y RETROGRADO DE HRP. (Callosal Visual Connections in Gray Rats. Experimental Study by Means of Anterograde and Retrograde Transport of HRP). Bravo, H.; Torrealba, F. Depto. de Anatomía, Facultad de Medicina y Depto. de Fisiología Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El concepto de que las proyecciones callosas visuales conectan solamente las áreas que representan el meridiano vertical, se ha modificado últimamente, pues hay evidencias que indican que áreas alejadas de la representación de dicho meridiano también están conectadas con el hemisferio contralateral. En este estudio se presentan más evidencias de la complejidad en la organización de las conexiones callosas.

Mediante transporte anterógrado y retrógrado de HRP y técnicas histoquímicas se ha estudiado en ratas grises AxC el patrón visual calloso, utilizando secciones tangenciales horizontales de la corteza, la cual previamente ha sido ligeramente aplastada (Welker y col., 1974); este procedimiento permite localizar todas las áreas visuales simultáneamente.

El análisis microscópico en campo oscuro y campo claro permite visualizar que las conexiones callosas se establecen en una banda ancha que compromete el área 17 en su región lateral, el área 18a en su región medial y en varios islotes que corresponden a la múltiple representación del campo visual (focos ántero-lateral, lateral-medial, posterior y póstero-lateral; Montero y col. 1973). El área 18b también recibe proyecciones callosas. Esta última área representa el campo visual periférico, lo cual es otra evidencia anatómica de que regiones alejadas del meridiano vertical también están conectadas a través del cuerpo calloso.

Financiado parcialmente por Proyecto DIUC 102/81.

MORFODIFERENCIACION DE LA VESICULA AUDITIVA EN EMBRIONES DE Bos taurus. (Morphodifferentiation of the otic vesicle in Bos taurus embryos). Bretos, M., Risopatrón C., Molina E. Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco.

La morfogénesis embrionaria del oído interno de la vaca no ha sido aún estudiada. Se ha pretendido en este trabajo describir y analizar su morfogénesis en embriones de tres a seis semanas. Los embriones se obtuvieron mediante disección de úteros de vacas recién sacrificadas en Mataderos. Se determinó la longitud total de los embriones y su peso fresco. Se fijaron, se incluyeron en parafina y se confeccionaron cortes histológicos de ellos, los cuales se tiñeron con hematoxilina-eosina-azul de alcian, Unna-Erchet y P.A.S.-diastasa. Se estimó su edad aproximada utilizando principalmente la tabla de desarrollo embrionario del bovino de Estay (1982). Los embriones analizados midieron entre 4 y 21 mm de longitud y sus edades estimadas fluctuaban entre 24 y 40 días aproximadamente. En ellos se observó la formación sucesiva del conducto endolinfático, crestas semicirculares verticales y horizontal, pliegue vestibulo-sacular, conducto coclear y conductos semicirculares con su zona ampular. Se detectaron características citológicas del epitelio otocístico en estos estados, los sitios de necrosis normales y el desarrollo de las zonas sensoriales epiteliales. Proyecto 35310411-E31-2 Dirección de Investigaciones, Universidad de La Frontera

INDUCCION DE FEROMONAS POR ESTIMULACION BETA ADRENERGICA EN RATA. (Pheromone's induction by beta adrenergic stimulation in rats). Bruzzone, M.F., Zipper, J., Trujillo V. y León A. Laboratorio de Reproducción, Depto. de Fisiología y Biofísica, Fac. de Medicina Norte, Universidad de Chile.

Se estudió el efecto de epinefrina y de un estimulante beta adrenérgico sobre el comportamiento reproductivo y sobre la producción de sustancias con acción ferohormonal secretadas en la orina de rata.

Tanto la inyección subcutánea de epinefrina como la ingestión de bromhidrato de fenoterol, en ratas hembras en proestro, incrementa el porcentaje de coitos fértiles con respecto a los grupos controles no tratados, de 19,2% a 70% y de 15% a 45% respectivamente ($p < 0,005$). Además produce una distribución más uniforme de las implantaciones en los cuernos uterinos.

La orina obtenida de las ratas tratadas con epinefrina y fenoterol se utilizó como fuente de ferohormonas y endo los controles: suero fisiológico y orina de ratas en diestro y proestro. Este material con potenciales propiedades ferohormonales se colocó en el surco oronasal de ratas machos y ratas hembras. Las orinas obtenidas de los animales tratados, al igual que la orina obtenida en proestro, tienen un claro efecto estimulante en la actividad sexual de la rata macho al compararla con la orina obtenida en diestro y el suero fisiológico.

El efecto de la epinefrina y el fenoterol, al ser aplicada la orina de los animales tratados, en el surco oronasal de ratas hembras en proestro, fué aumentar notablemente el número de apareamientos fértiles (85% y 66,6% respectivamente) en comparación con el efecto de orina obtenida en proestro y suero fisiológico (37,5% y 20,8% respectivamente). ($p < 0,005$).

CELULAS DE ESTROMA DE MEDULA OSEA DE PACIENTES EN REMISION DE LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA (Bone Marrow Stromal cells in ALL patients) Bruzzone, M. y Minguell, J.J. División de Cs. Básicas. INTA. Universidad de Chile.

En la leucemia linfoblástica aguda (LLA) la rápida proliferación de células troncales malignas, produce invasión de la médula ósea y una hematopoyesis ineficiente. Fibroblastos de médula ósea de pacientes con LLA tienen un crecimiento y una respuesta a hormonas diferente a los normales. Estas células junto a otras y la matriz extracelular forman un microambiente que favorece la proliferación y diferenciación de las células pluripotentes. En LLA no se han encontrado marcadores de apoyo a la terapia o con valor pronóstico; por lo que hemos estudiado como eventuales marcadores algunas características de las células del estroma en base a resultados previos (1). Médula ósea de niños con LLA en remisión luego de la terapia de inducción, durante la terapia de mantención, y en remisión continua sin tratamiento (RCST) se cultivó en medio líquido con 10% de suero fetal. Las células adherentes obtenidas son subcultivadas tres veces obteniéndose los cultivos de fibroblastos utilizados en los estudios. Fibroblastos en crecimiento logarítmico sincronizado por privación de suero, se usan para medir síntesis de DNA por incorporación de ^3H Timidina, en presencia de glucocorticoides (GC). Receptores específicos de GC se estudian en cultivos semiconfluentes, en presencia de Hidrocortisona o Dexametazona trititada. De 15 pacientes estudiados, los resultados señalan una correlación entre el tiempo en terapia, el efecto de GC en la síntesis de DNA y la aparición de los receptores específicos de GC. En algunos pacientes en RCST esta correlación no se observó. Se concluye que en LLA el estroma hematopoyético está alterado y puede ser revertido con la terapia. El valor pronóstico de esto se analiza.

(1). J.J. Minguell, J. Martínez. Exp. Hematology, Vol 11 pag. 522 (1983).

INDUCCION CROMATICA: UN FENOMENO UNIVERSAL (Chromatic induction: a universal phenomenon) induction in the pigeon) Budnik, V. y Vucelja, F. Fac. Cs. Básicas y Farmacéuticas; U. de Chile, Santiago.

La discriminación cromática no depende sólo de parámetros físicos de la luz. Por ejemplo, una mancha gris sobre fondo verde, es tratada como púrpura. La experiencia muestra que, para cualquier color, la tonalidad del área central presenta un corrimiento hacia el color complementario del área circundante. Este fenómeno se conoce como inducción cromática y en las especies en que se ha estudiado, presenta gran constancia en cuanto a las características cromáticas y geométricas de las circunstancias en que se genera.

Este trabajo muestra, por métodos conductuales, la existencia de inducción cromática en la paloma. Palomas condicionadas a responder a un determinado color entre una serie de colores distintos, tratan como equivalente a una sombra de ese color. Se estudia además, la efectividad de la inducción en función de parámetros geométricos. Se encuentra que existe una relación mínima entre área inductora y área test bajo la cual desaparece la respuesta de la paloma a una sombra de color. Así, se encuentra que no es necesaria una contigüidad estricta entre ambas áreas para que el fenómeno se dé en las palomas. Sin embargo, cuando esta separación es muy grande, el efecto se suprime. Las curvas obtenidas en estos experimentos presentan gran similitud con las descritas en humanos y abejas.

Se discute la existencia y universalidad de la inducción cromática en especies con un sistema visual tan distinto, planteándose que surge como consecuencia de un fenómeno más general: la adaptación de los animales a la luz.

CANALES DE HEMOCIANINA. CONDUCTANCIA DEPENDIENTE DEL POTENCIAL ELECTROQUIMICO DEL POTASIO. (Hemocyanin channels. Potassium electrochemical potential-dependent conductance). Bull, R. Departamento de Fisiología y Biofísica. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La excitabilidad de una membrana está basada en la existencia de canales iónicos cuya conductancia varía frente a un estímulo. Las membranas bimoleculares de lípidos tratadas con hemocianina son un modelo de membrana excitable ya que su conductancia cambia en función del potencial eléctrico. El mecanismo de cambio de la conductancia consiste en el cierre y apertura de canales, que son selectivos a cationes.

En este trabajo presento experimentos que demuestran que la conductancia de las membranas varía más rápido cuanto menor es la concentración iónica. En membranas que tienen hemocianina por un solo lado (cis) los canales sólo se cierran cuando los iones se mueven hacia el lado cis. La magnitud de los cambios de conductancia depende del potencial eléctrico y de la diferencia de concentración de cationes, de una manera tal que se puede concluir que los canales son sensibles a los cambios de potencial electroquímico del catión.

Esta propiedad de los canales de hemocianina, puede explicarse suponiendo que la probabilidad de que el canal se cierre es mayor si el canal está desocupado.

Este trabajo fue financiado por los proyectos de la Universidad de Chile B 1224 8333 y B 912 8345.

ESTUDIO DE LA ESTRUCTURA SECUNDARIA DE CUATRO β -LACTAMASAS. (Studies on the secondary structure of four β -lactamases). Bunster, M., Cid, H. Depto. Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas y Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

Se realizó la predicción de la estructura secundaria de cuatro β -lactamasas provenientes de *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, y *Staphylococcus aureus*. Para ello se utilizó el método de los perfiles de hidrofobicidad, el método de Chou y Fasman y toda la información disponible acerca del sitio activo.

El análisis de la estructura secundaria reveló un 53% de constancia estructural aunque la invariancia en estructura primaria es de sólo un 20%.

En base a la predicción conjunta y a la información química disponible acerca del sitio activo, se construyó un modelo tridimensional para la β -lactamasa de *Staphylococcus aureus*. Este modelo muestra claramente la existencia de dos dominios, separados por una región flexible; estos resultados concuerdan con estudios cristalográficos a baja resolución realizados para una β -lactamasa de *E. coli*.

Los antecedentes reunidos indican que el sitio activo de la enzima estaría ubicado en el dominio I que contiene a la serina 70. Tanto el dominio I como el dominio II configuran una estructura tipo barril de estructuras estabilizadas por estructuras helicoidales.

Esta constancia estructural permitiría explicar la existencia de una función común para enzimas que presenten diferente composición y secuencia.

Proyecto Dirección de Investigación de la Universidad de Concepción N° 20.33.16.

RELACION VASOS SANGUINEOS-EPITELIO EN LAS PAPILAS RUMINALES DEL CAPRINO. DESCRIPCIÓN PRELIMINAR. (Rumen papillae blood vessels-epithelium relationship in the goat. Preliminary description). Cabrera, R., Vial, E. y Villarroel, P. Laboratorio de Fisiología Digestiva Animal, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile.

El epitelio ruminal es el principal sitio de absorción de los ácidos grasos volátiles (AGV), productos finales de la fermentación microbiana del rumen. Siendo este un epitelio pluriestratificado cornificado es fundamental en el contexto del proceso absorbente, la localización de los vasos sanguíneos en relación al epitelio, así como el número de células interpuestas entre el lumen y la membrana basal epitelial.

Se obtuvieron papilas ruminales mediante biopsia de caprinos fistulados crónicamente en el rumen, se fijaron en Bouin alcohólico y se incluyeron en parafina. En cortes transversales seriados teñidos con Hematoxilina-Eosina y Cromótropo 2R se determinó en cada nivel, mediante microscopía óptica, número y tipo de vasos sanguíneos, distancia vaso sanguíneo-membrana basal y número de células epiteliales comprendidas entre el lumen y membrana basal.

Se observa a lo largo de toda la papila la presencia de 3 o 4 arteriolas, vénulas y una amplia red capilar asociada íntimamente a los procesos papilares. El número promedio de células epiteliales entre la superficie luminal y la membrana basal varía entre 4 y 12 células. Se concluye que la disposición de la red capilar pareciera ser óptima para un eficiente proceso absorbente.

UNA ARGINASA DE BAJO PESO MOLECULAR EN *CONCHOLEPAS CONCHOLEPAS*. (A low molecular weight arginase from *Concholepas concholepas*).

Bustamante, M.; Hinrichsen, P. y Torres, A. Depto. Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

La mayoría de las arginasas se caracterizan por presentar un peso molecular elevado y están formadas por varias subunidades. Una excepción la constituye la enzima de la lombriz de tierra, con un peso molecular igual a 27.000.

En este trabajo hemos estudiado la distribución de la arginasa en diferentes órganos de *Concholepas concholepas*, encontrándola restringida a los ctenidios del molusco. La enzima se purificó y se estudiaron algunas de sus propiedades. La características más sobresalientes de la arginasa de *Concholepas concholepas* lo constituye su bajo peso molecular (27.500). Además, la enzima presenta un pH óptimo de 9,5 una cinética Michaeliana, es inhibida en forma competitiva por el producto ornitina y por la lisina, y en forma no competitiva por los aminoácidos ramificados, su actividad no es afectada por reacción con p-hidroximercuribenzoato. Al igual que otras arginasas, su actividad depende en forma absoluta de la presencia de iones metálicos bivalentes, especialmente Mn^{2+} .

PROPIEDAD HEMOLITICA DE PORINAS DE *SALMONELLA TYPHI* Ty 2 (Hemolytic property of *S. typhi* Ty 2 porins).

Calderón, I., Lobos, S.* y Mora, G. Laboratorio de Microbiología e Inmunología, Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

* Egresado de la Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Ha sido demostrado que las porinas, proteínas de la membrana más externa de bacterias gram-negativas, forman poros de permeabilidad inespecífica para moléculas de hasta 600-700 daltons. Esta misma proteína, son capaces de formar canales transmembranosos en bicapas lipídicas sintéticas. Esta última característica, es análoga a la de los antibióticos peptídicos tales como alamethicin, suzukacilin y trichotoxin. Los antibióticos peptídicos como resultado de esta actividad disruptora de membrana son capaces de lisar glóbulos rojos y leucocitos.

Nosotros hemos estudiado la posible actividad hemolítica de porinas de *S. typhi* Ty 2.

Las porinas han sido obtenidas de *S. typhi* utilizando técnicas de centrifugación diferencial para la obtención de pared celular. Estos últimos han sido tratados con Triton x-100 y SDS. Finalmente, las proteínas se obtienen puras desde una columna de Sephadex G 100-150. La pureza de las preparaciones es confirmada con geles de poliacrilamida-SDS.

Hemos observado lisis de glóbulos rojos y leucocitos aún con concentraciones nanomolares de porinas. Esta lisis tiene una gran dependencia de la temperatura a la cual se incuban los eritrocitos.

Pensamos que este efecto lítico de porinas podría explicar aspectos de la patogenicidad de algunas bacterias.

CULTIVO EXPERIMENTAL DE BRIOZOOS: UNA HERRAMIENTA PARA EVALUAR TEORIAS DE HISTORIA DE VIDA EN ANIMALES COLONIALES. (Experimental rearing of bryozoans: a tool to test applicability of life-history theory to colonial animals). Cancino, J. Unidad de Ecología Marina, Departamento de Biología Ambiental y de Poblaciones, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Los briozoos marinos son coloniales: numerosas especies son hermafroditas y polimórficas con zooides o módulos especializados para funciones de captura de alimento, de reproducción sexual o de defensa. A través del conteo de módulos de las distintas categorías es posible obtener una idea aproximada de la forma en que las colonias invierten energía en las diferentes funciones, permitiendo evaluar la aplicabilidad de teorías de historia de vida a animales coloniales (ej. inversión en soma v/s reproducción sexual, y en machos v/s hembras).

Larvas de *Celleporella hyalina* fueron obtenidas en el laboratorio, inducidas a asentarse en discos Petri y cultivadas en el terreno en Gales del Norte, U.K. La circulación de agua fue reducida experimentalmente alrededor de algunas colonias mientras que otras fueron mantenidas como control. Las colonias experimentales alcanzaron un tamaño menor y produjeron proporcionalmente menos zooides sexuales y una mayor proporción de machos que colonias control. Crecimiento colonial y reproducción sexual ocurrieron simultáneamente. Algunos de estos resultados eran esperables mientras que otros no son explicables por teorías existentes.

Una combinación de cultivo experimental en el terreno con obtención de larvas, asentamiento y observación en el laboratorio, como la utilizada en el presente estudio, podría ser aplicada a otras especies contribuyendo al conocimiento de la historia de vida de animales coloniales.

HACIA LA IDENTIFICACION DE LA PROTEINA ESTRUCTURAL CODIFICADA POR EL CISTRON I DEL BACTERIOFAGO PM2. (Identifying the structural protein coded by cistron I of the bacteriophage PM2). Canelo E. y Rojas C. Depto. de Biología, Fac. de Ciencias Básicas y Farmacéuticas y Depto. de Bioquímica, Fac. de Medicina D.C.M.N., U. de Chile.

Dos tipos de experimentos realizados en nuestro laboratorio con mutantes termosensibles (ts) del bacteriófago PM2, permiten relacionar el cistron I con las proteínas de la estructura de la partícula viral.

Debido a que una mutación ts involucra el cambio de un aminoácido en el producto del gen mutado y a que se ha demostrado en varios casos que esto puede llevar a un cambio de carga neta de la proteína, nos propusimos analizar las proteínas de 6 mutantes ts del cistron I en condiciones electroforéticas que permiten la separación por carga.

Las proteínas del fago silvestre sempurificado se solubilizan con SDS al 1% y se someten a electroforesis en gel de poliacrilamida al 7.5% en presencia de 8.9 M urea y de 2% de NP-40. Mediante tinción con Azul de Coomassie se observan 2 bandas de proteína que, en electroforesis en segunda dimensión en presencia de SDS, se identifican como las proteínas I y II (P.M. 43.000 y 27.000 respectivamente). Si el análisis electroforético de las proteínas de los 6 mutantes muestra diferencias en la movilidad de alguna de ellas, quedaría identificada la proteína codificada por el cistron I.

Proyecto financiado por el D.D.I., U. de Chile

EFFECTO DE cGMP SOBRE LA ACTIVIDAD RNA POLIMERASA DE NUCLEOS DE HIGADO FETAL Y EN PREPARACIONES PURIFICADAS DE LA ENZIMA (Effect of cGMP on RNA polymerase II activities in fetal calf liver nuclei and in purified enzyme preparations). Cañas P. y Congote L.F. McGill University Royal Victoria Hospital, Department of Medicine, and INTA, Universidad de Chile. División Ciencias Básicas.

Durante un estudio realizado sobre el rol de nucleótidos cíclicos sobre las actividades RNA polimerasa de núcleos de hígado fetal de ternero se observó que cGMP aumentaba la actividad de las polimerasas a baja fuerza iónica en la presencia de Mg^{++} , condiciones que son apropiadas para la medida de la polimerasa I y III. Sin embargo, un análisis más exhaustivo de las condiciones de trabajo indicó que la estimulación dependiente de cGMP fue sensible a bajas concentraciones de α -amanitina, indicando un efecto sobre la actividad RNA polimerasa II.

El efecto de este nucleótido fue observado en condiciones de baja fuerza iónica a concentraciones de 1 a 10 nm. Para realizar este estudio los núcleos fueron aislados por el método de TRITON X-100 y luego fueron incubados 10 minutos con nucleótidos cíclicos. Posteriormente fue agregada una mezcla de nucleótidos trifosforados con 3H UTP y la radioactividad incorporada fue medida luego de precipitación con TCA y lavados posteriores con este ácido. Los resultados indican la posible existencia de una actividad RNA polimerasa dependiente de nucleótidos cíclicos en los núcleos de hígado fetal que no ha sido descrita en otros sistemas. El mecanismo íntimo de esta reacción es difícil de definir pero estudios realizados con preparaciones de enzimas purificadas provenientes de otros tejidos de ternero indicaron una pequeña pero significativa estimulación de una actividad proteína quinasa asociada con las preparaciones de enzima purificada. Estos resultados podrían indicar que cGMP actúa sobre una actividad quinasa asociada a la polimerasa en estos tejidos.

EFFECTO EOSINOPENICO DE LAS CATECOLAMINAS. (Eosinopenic Effect of Catecholamines) Cartes-Witto, R. Depto. Morfología Experimental, Facultad de Medicina, U. de Chile. (Patrocinio: A.N. Tchernitchin).

Investigaciones anteriores ponen en evidencia una disminución de eosinófilos circulantes después de administración de adrenalina; responsables de esto serían los receptores B adrenérgicos.

La Bibliografía reciente muestra que los eosinófilos poseen receptores de catecolaminas, lo cual sugiere la posibilidad que ellas pueden inducir eosinopenia en forma directa e independiente de los glucocorticoides.

Para probar esta posibilidad se utilizaron dos grupos de ratas: normales y adrenalectomizadas en las cuales se controló el N° de eosinófilos sin inyectar suero: con suero y con Epinefrina (0.1 ml); a la hora, 6 horas y 24 horas.

Los resultados estadísticos fueron los siguientes:

- La eosinopenia inducida en animales normales y adrenalectomizados es significativa estadísticamente a las 6 horas y también a las 24 horas.
- No hay diferencia estadísticamente significativa entre los efectos del suero entre normales y adrenalectomizados.
- Entre normales y operados, ambos con Epinefrina no hay diferencia estadísticamente significativa.

Proyecto B-14938435 U de Chile

ESTUDIOS CINÉTICOS DE LA PIRUVATO QUINASA DE MUSCULO DE CONCHOLEPAS CONCHOLEPAS ACTIVADA POR FRUCTOSA DIFOSFATO. (Kinetic studies of fructose diphosphate activated pyruvate kinase from muscle of Concholepas concholepas). Carvajal, N.; González, R. y Morán, A. Depto. Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales. Universidad de Concepción.

La piruvato quinasa del músculo de Concholepas concholepas (Loco de Mar) presenta una cooperatividad positiva para el fosfoenolpiruvato y es activada por la fructosa difosfato (FDP). En presencia del activador, la enzima muestra una cinética hiperbólica del tipo Michaelis-Menten y su actividad no es afectada por la fenilalanina o la alanina, que son potentes inhibidores de la enzima no activada.

En este trabajo hemos estudiado las características cinéticas de la enzima activada por la FDP. Los resultados obtenidos concuerdan con un mecanismo secuencial al azar y en el se destacan la formación de complejos "sin salida" E-ADP-ADP E-ATP-ATP, EADP-ATP y E-PEP-ATP.

PRODUCCION CHALONICA Y POBLACIONES GERMINALES.

(Chalone production and germinal populations). Castellón, E., Arenas, C. y Bustos-Obregón, E. Departamento de Biología Celular y Genética. Facultad de Medicina, División Ciencias Médicas Norte, Universidad de Chile.

Trabajos previos en nuestro laboratorio, permitieron establecer una correlación entre la producción de chalona espermatogonial G1, la edad y la aparición de células más diferenciadas, tales como los espermatocitos, en el testículo de rata prepuber.

En el presente trabajo se ensayó la actividad inhibitoria "in vitro" de distintas fracciones celulares, aisladas de testículo de rata adulta, sobre túbulos seminíferos de rata irradiada. Para aislar las distintas fracciones celulares se utilizó una digestión combinada con colagenasa y tripsina y una posterior filtración en mallas de distinto tamaño de poro.

Se obtuvieron tres fracciones: la primera, rica en células de Sertoli, no presentó actividad, confirmando el origen netamente germinal de la chalona. Una segunda fracción, rica en espermatogonias y espermatocitos, presentó una fracción de inhibición (FI) de 49%, y una tercera fracción, rica en espermátidas redondas, presentó una FI de 46%. Esto indica que la producción de este inhibidor se mantiene a lo largo de la espermatogénesis, por lo menos hasta este último tipo celular.

(Financiado por D.D.I. Proyecto B1464/8325).

RADIOAUTOGRAFIA DE DEXAMETASONA EN BAZO Y GANGLIO LINFÁTICO DE CONEJO (Radioautography of dexamethasone in rabbit spleen and lymph nodes). Castrillón, M.A., Rodríguez, A. y Tchernitchin, A.N. Lab. Endocrinol. Exp. Depto Morfología, Facultad de Medicina, U. de Chile.

Trabajos bioquímicos han demostrado la existencia de receptores de glucocorticoides en tejido linfático, pero no existe información sobre cuales son los tipos celulares que contienen dichos receptores.

El presente trabajo describe las localizaciones de ³H-Dexametasona (administrada en vivo) en ganglio y bazo de conejo con técnica radioautográfica seca para isotopo difusible.

Radioautogramas de ganglio y bazo de animales tratados, mostraron una intensa concentración nuclear del isotopo en las siguientes células: fibroblastos, células reticulares, plasmocitos, endotelio y musculatura lisa de las arteriolas trabecular y central en bazo. Células endoteliales de los senos venosos de la pulpa roja. Las siguientes células presentaban escasa concentración nuclear: linfocitos, macrófagos, linfoblastos, plasmoblastos, endotelio y musculatura lisa de arteriolas medulares en ganglio, células endoteliales de vénulas postcapilares de la corteza profunda en ganglio, y endotelio de los senos linfáticos. En eosinófilos se observa moderada radioactividad en citoplasma y ocasionalmente en la superficie nuclear.

Nuestros resultados mostraron la mayor concentración de radioactividad en células reticulares y en plasmocitos, sugiriendo la acción directa de la hormona en estos tipos celulares y no en linfocitos. Es probable que la acción de los glucocorticoides sobre linfocitos pueda ser indirecta, vía receptor citosólico-nuclear de otros tipos celulares.

Proyecto B-1493 - 8325 U. de Chile.

RECONSTITUCION EN BICAPAS PLANAS DE FOSFOLIPIDOS, DE UN CANAL DE K⁺, DEPENDIENTE DE Ca²⁺, DE SARCOLEMA DE MUSCULO LISO DE INTESTINO DE CONEJO. (Reconstitution in planar phospholipid bilayers of a Ca²⁺ dependent K⁺ channel from rabbit intestinal smooth muscle sarcolemma). CECCHI, X. y WOLFF, D. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

La fusión de vesículas de sarcolema de músculo liso de conejo con bicapas planas de fosfolípidos induce la aparición de canales iónicos.

La conductancia de cada canal fluctúa entre dos estados (cerrado ↔ abierto) y la fracción del tiempo que el canal está en alguno de estos estados es función de la diferencia de potencial eléctrico a través de la bicapa y de la concentración de Ca²⁺ en el medio salino.

Cuando la concentración de Ca²⁺ es 1 mM y la diferencia de potencial se mantiene fija en -10 mV (voltaje referido al lado en que se agregan las vesículas, cis), la fracción del tiempo que el canal permanece abierto (f(V)) es cercana a 1. Al disminuir la concentración de Ca²⁺ la curva f(V) vs voltaje se desplaza hacia los potenciales más positivos. Este efecto se revierte al aumentar la concentración de Ca²⁺.

El canal es fuertemente selectivo al K⁺ e impermeable al Cl⁻. La conductancia del canal abierto es de 292 pS en KCl 100 mM. La adición de TEA 3 mM al lado trans produce la completa abolición de la conductancia, independiente del potencial. El ión Cs⁺ agregado al lado trans inhibe la conductancia de manera dependiente del potencial.

Un canal con características semejantes a éstas ha sido recientemente encontrado en una preparación de células aisladas de músculo liso de estómago de rana y probablemente está relacionado con la actividad repetitiva de este tipo de músculo.

Proyecto 308 F.N.I., Proyecto B 1224-8333 D.D.I., Universidad de Chile.

FLUIDEZ LIPÍDICA EN MEMBRANAS DE ERITROCITOS HUMANOS ESFEROCÍTICOS. (Lipid fluidity in membranes of human spherocytic erythrocytes.).

Celedón, G., Herrera, V., Sotomayor, C.P. Departamento de Fisiología Normal y Patológica, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso, Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile e Instituto de Química, Universidad Católica de Valparaíso. (Patrocinio: C. Behn).

El esqueleto proteico del eritrocito humano controla la movilidad de los componentes de la membrana celular. En eritrocitos esféricos, con esqueleto proteico defectuoso, la velocidad de difusión lateral de proteínas intrínsecas es 50 veces mayor que en glóbulos rojos normales (Sheetz, M.P. et al. Nature 285:510, 1980). En el presente trabajo se mide la relación de intensidades de fluorescencia excímero/monómero (I' / I) del pireno como expresión directa de la fluidez lipídica (Fornet, A. et al. Arch. Biol. Med. Exp. 15: R-124, 1982).

En glóbulos rojos obtenidos de pacientes con esferocitosis hereditaria (n=4) y de controles (n=6) se aíslan membranas por lisis osmótica que se incuban en presencia de $10 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ pireno por 15 hrs. a 4°C . Microagregados del indicador en la fase acuosa son separados en células de sedimentación acelerada por flujo osmótico. En membranas de glóbulos rojos normales, I' / I tiene un valor promedio de 0,36 - 0,05. En membranas de células esféricas el valor correspondiente alcanza 0,49 \pm 0,11.

Los resultados indican que en la membrana celular del eritrocito humano normal, el esqueleto proteico, aparte de controlar la movilidad de proteínas intrínsecas, restringe la difusión lateral de lípidos.

Financian: SDCAI (U. de Chile) y DGI (U.C.V.).

ALCOHOLISMO CRÓNICO EN RATAS. ASPECTOS MORFOLÓGICOS Y FUNCIONALES DEL TESTÍCULO (Chronic alcoholism in rats. Morphological and functional aspects of the testis).

Céllis, R. Departamentos de Biología Celular y Genética, y de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, División de Ciencias Médicas Norte e INIA, Universidad de Chile.

Existen evidencias del efecto tóxico gonadal en la ingesta aguda de alcohol, no así en el consumo filial y crónico. Este trabajo presenta las modificaciones morfológicas en el testículo y alteraciones en la productividad espermática y de testosterona en ratas sometidas a ingesta permanente y filial de alcohol (EtOH).

Cuatro grupos de 7 ratas machos cada una, sexualmente maduras. Normal (bebedoras de agua) AG-12 (Bebedoras de EtOH 12%v/v (77 gen). AG-25 (bebedoras de EtOH 25% V/V (7 gen) y AG-H2O (bebieron EtOH por 48 generaciones y luego H2O) por 28 generaciones) se sacrificaron por de capitación. Testículo derecho se somete a técnica de rutina para M.O. y M.E. En el contralateral se realiza recuento espermático por flotación y medición de producción basal de testosterona y bajo estímulo de HCG, por método RIA, en células de Leydig purificadas por método de colagenasa. Los animales habitan en condiciones similares y son alimentadas en forma equivalente con dieta isocalórica.

En ratas AG-12 y AG-H2O no se observan modificaciones de significancia estadística. En ratas AG-25 se evidencia acentuado retardo pondoestatural, modificación del índice gonado somático y del recuento espermático en forma significativa. Se evidencian alteraciones a M.O., consistentes en desorganización celular, vacuolización de las células de Sertoli y disminución de la altura epitelial. La producción basal de testosterona está disminuida en forma significativa, aunque la respuesta a gonadotropina no muestra variaciones. Los resultados evidencian una menor productividad espermática, probablemente secundaria a variaciones en testosterona y acción local del EtOH. (DDI # B1464-8325)

CARACTERIZACIÓN DE UNA PROTEASA ACIDICA GASTRICA DE SALMON O. KETA EN ESTADO JUVENIL. (Characterization of an acidic gastric protease from juvenile salmon O. keta). Cisternas, E.; Morgado, A. y Ponce, O. Depto. Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales. Universidad de Concepción.

Se ha informado previamente que la mucosa gástrica de Alevín, primer estado de desarrollo que ocurre en medio dulce acuícola, de la especie anadrómica *Onchorhynchus keta*, presenta una actividad proteolítica ácida a pH óptimo 3,0 que no es activada por halógenos mono y bivalentes. Un estado más avanzado de esta especie, el juvenil, se desarrolla en un medio dulce acuícola con mayor contenido salino. El propósito del presente estudio es informar de la caracterización de una enzima presente en este estado e investigar el efecto de halógenos mono y bivalentes.

La actividad enzimática fue determinada por el método de Anson y la proteína por el método de Lowry. La purificación se realizó por fraccionamiento salino, cromatografía de intercambio iónico y cromatografía de filtración en gel.

La purificación de la enzima, 160 veces, fue controlada por electroforesis por gel de poliacrilamida. Presenta un pH óptimo de 2,9, la hemoglobina se presenta como su mejor sustrato. No es activa frente al sustrato sintético para pepsina APDT, es inhibida por pepstatín y no es activada por halógenos mono y bivalentes.

En conclusión, en el estado juvenil de esta especie, la mucosa gástrica presenta una sola enzima proteolítica ácida con características de gastricina. La pepsina, otra enzima proteolítica gástrica presente en otras especies marinas está ausente en este estado de desarrollo.

CARACTERIZACIÓN GENÉTICA Y MOLECULAR DEL PLASMIDO DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN *Salmonella typhi*. (Genetic and molecular characterization of drug resistance plasmid in *Salmonella typhi*). Cofré, G., Riquelme, C. y Rodríguez, M. Lab. Microbiología, Depto. Biología Celular, Fac. Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Salmonella typhi ha sido estudiado en el último tiempo, en relación al problema de resistencia a antibióticos, a partir del descubrimiento de cepas resistentes al cloranfenicol, droga de elección en el tratamiento de la fiebre tifoidea. En un total de 10.000 cepas aisladas en varios años, procedentes del Hospital de Enfermedades Infecciosas, se demostró que el porcentaje de cepas multiresistentes es bajo, del orden del 0,5 - 0,7%, de éstas se seleccionaron 6 para el estudio de sus características moleculares y genéticas que motivan esta presentación. Ellas fueron investigadas en relación al patrón de resistencia a antibióticos y a sales de mercurio. Se comprobó que las cepas poseían resistencia simultánea a dos o más antibióticos, siendo ésta de 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ o superior. La resistencia al cloranfenicol especialmente se pierde fácilmente después del tratamiento con agentes de curación (anaranjado de acridina y bromuro de etidio) o por protoplastización. La totalidad de los marcadores de resistencia fueron transferidos por conjugación (frecuencia de transconjugantes 10^{-6}). Se obtuvo transconjugantes ya a los 30 min. de iniciada la conjugación, alcanzándose una frecuencia de transconjugantes de 10^{-5} , a las 18 hrs. Este valor se mantuvo cuando se realizaron experimentos a 22°C y 37°C y cuando se emplearon diferentes cepas receptoras. El contenido G-C del plasmidio 711 es 60%, con un peso molecular de 72 md; con 1-3 copias y pertenece al grupo de compatibilidad FII y posee característica fi-.

RELACION ENTRE LA BASE DEBIL CLOROQUINA Y LISOSOMAS HEPATICOS. (Affinity of chloroquine for hepatic lysosomes). Colombo, M.I. y Bertini, F. Inst. Histología y Embriología, Fac. de Ciencias Médicas, U.N.C., Mendoza, Argentina.

Se conoce que la cloroquina (CQ) se acumula en lisosomas, inhibe la digestión lisosomal y "estabiliza" la membrana de esos orgánulos.

En este trabajo tratamos de establecer la naturaleza de la afinidad de esta base con los lisosomas. La droga fue medida por fluorometría. Se inyectó en ratones albinos (70 µg/g peso) que fueron sacrificados 10 o 30 min luego de la inyección. Las partículas de 27.000 g x 10 min separadas de homogeneizados de hígado contuvieron el 60% de la CQ del órgano y el 75% de actividad arilsulfatasa y se utilizaron de rutina para este estudio.

Incubando las ML a 37°C, 45% de CQ difundió al medio alcanzándose un equilibrio en 1 hr. La velocidad de difusión disminuyó grandemente a 0°C. La CQ de las ML fue liberada al medio solo en un 30-35% por el shock osmótico, la sonicación y la digitonina 0,1%, mientras que el KCl 0,55 M el buffer bicarbonato-carbonato (pH 11,4), el buffer de acetato (pH 5,0) y el Tritón X-100 al 0,1% liberaron del 65 al 90%.

El análisis de las ML en un gradiente de sacarosa demostró que la CQ se distribuye principalmente a $\rho = 1,16$ al igual que la arilsulfatasa, que marca la presencia de lisosomas.

Los resultados indican 1) La CQ no es liberada de los lisosomas por simple alteración de la permeabilidad de la membrana sino que requiere la destrucción de la misma, elevada fuerza iónica o cambios de pH. 2) La CQ provocaría alteraciones a la membrana lisosomal que afectarían la densidad de equilibrio de esos orgánulos llevandola de un valor normal de 1,21 a 1,16.

ACTIVIDAD POLI(ADP-RIBOSA) SINTETASA EN LA FRACCION CITOPASMATICA DE TESTICULO DE RATA. (Cytoplasmic poly(ADP-ribose) synthetase in rat testis). Concha, I.I. y Concha, M.I.- Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Poli(ADP-ribose) sintetasa es una enzima que se encuentra habitualmente en el núcleo de una gran variedad de células animales y vegetales. En testículo de rata y de otras especies, hemos encontrado una cantidad apreciable de esta actividad enzimática (1.600 pmoles ADP-ribose/mg proteína) asociada a la fracción microsomal-ribosomal (M-R). La enzima sintetiza oligómeros de ADP-ribose de alrededor de 5 residuos y es fuertemente inhibida por nicotinamida, teofilina, timidina y 3-aminobenzamida. El Km aparente de la enzima para el NAD es de 105 µM, diferente al valor de la enzima asociada al núcleo (220 µM). La actividad de esta enzima en la misma fracción celular de hígado, riñón y cerebro es muy baja.

Una característica fundamental de esta enzima aislada de distintos tejidos es su requerimiento de DNA. Contrario a esto, la enzima asociada a la fracción M-R de testículo es activa sin la adición de DNA al ensayo. Sin embargo, la incorporación de NAD es estimulada 2-4 veces por la adición de DNA exógeno.

Estudios en geles de poliacrilamida en presencia de SDS han revelado un aceptor proteico de alto peso molecular, sugiriendo la posibilidad de que la enzima se automodifique.

(Financiado por Proyecto RS-82-1, Dirección de Investigación, UACH).

STRESS E INGESTION DE ALCOHOL EN TRES LINAJES DE RATAS. (Stress and alcohol ingestion in three lineages of rats). Coneján, R. Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: F. Nervi).

La prueba de tolerancia a la glucosa (PTG) mostró una disminución que fue mas evidente en el linaje Wistar "bebedor" de alcohol "UCh-B", que en el "abstemio", "UCh-A" (Quintanilla et al 1982). Esto planteó: a) si el linaje Sprague-Dawley hiperreactor al stress (Variedad K-V), también con PTG disminuida sería "bebedor" y b) si el linaje UCh tendría disminución de PTG unida al carácter hiperreactor al stress. En el linaje K-V se estudiaron dos sublíneas, con y sin malformación ocular. El consumo voluntario de alcohol se determinó según método de Mardones. El stress fue por contención durante 60 min. y la PTG por vía oral con 200 mg/100 g. a diferencia de Quintanilla que empleó vía i.p. más inmovilización durante la prueba y 100 mg/100 g. Se encontró que en comparación con los controles: el linaje K-V resultó "bebedor", no siendo influenciada su respuesta al stress o a la PTG por tratamiento con alcohol (excepción de rata K-V con malformación ocular, donde aumentó la hiperglucemia del stress, $p < 0.05$). Tanto el linaje UCh-B como el A resultó hiperreactor al stress ($p < 0.02$) y con respecto a PTG, estuvo disminuida en linaje A ($p < 0.005$) pero no en el B.

La relación linaje, PTG alterada e hiperreacción al stress, no es dependiente de la tendencia a consumir alcohol, puesto que estuvo presente en el linaje UCh-A.

INCORPORACION DE AMINOACIDOS EN FIBRAS MIELINICAS DE GATO. (Aminoacid incorporation in axons of the cat). Contreras G., Carrasco O. y Alvarez J. Laboratorio de Neurocitología. Departamento de Biología Celular, Universidad Católica de Chile.

La síntesis de proteínas en axoplasma es controvertida porque allí no se ha observado ribosomas. Sin embargo, el régimen estacionario de la neurona tampoco puede explicarse asumiendo que el soma es su única fuente de proteínas. En el pez dorado observamos incorporación de aminoácidos en el axoplasma de la fibra de Mauthner; este estudio extiende las observaciones a axones de gato.

Se inyectó localmente en el ciático y en el cordón posterior de la médula espinal 100 µCi de leucina, lisina y prolina. Una hora después o al día siguiente se procesó el tejido para estudio radioautográfico de alta resolución. En todos los casos pudo observarse una reacción radioautográfica en el axoplasma que tenía una gran latitud. La intensidad de la respuesta en el axoplasma era con mucha frecuencia mayor que la observada sobre la mielina y llegaba a ser hasta el 56% de la observada sobre el citoplasma glial. Las mitocondrias daban cuenta de una pequeña proporción (4.7%) de la incorporación en el axoplasma.

Estas observaciones sugieren que en mamíferos, al igual que en peces, el axoplasma participa en la síntesis proteica neuronal.

OBTENCION DE ETANOL A PARTIR DE COSETA DE REMOLACHA MEDIANTE CELULASAS DE HONGOS NATIVOS y *Saccharomyces cerevisiae*. (Ethanol fermentation of enzymatically hydrolyzed Teached beet cosette using fungal cellulases and *S. cerevisiae*). Contreras, I., Steiner, J., Musalem, M. y Aguirre, A. Departamento de Bioquímica, Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. (Patrocinio: C. González P.)

Se estudió la producción de etanol mediante la fermentación de los azúcares liberados en la hidrólisis enzimática de coseta agotada de remolacha (24% celulosa, 18% hemicelulosa).

Se aislaron y caracterizaron hongos capaces de crecer en celulosa como única fuente de carbono. Se determinaron sus actividades celulolíticas: endo y exoglucanasas, β -glucosidasa y actividad hemicelulolítica en filtrados de cultivos crecidos en medio de sales con papel filtro. *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* mostraron las mayores actividades celulolíticas. Filtrados de cultivos de estas cepas se concentraron por ultrafiltración y precipitación con sulfato de amonio. Al utilizar estas enzimas para hidrolizar coseta de remolacha se obtuvo una sacarificación de 50,6% del material hidrolizable liberado como glucosa.

Se cultivó *Saccharomyces cerevisiae* en los azúcares producidos en la hidrólisis de 40 g/l de coseta, obteniéndose 2,9 g/l de etanol a las 144 horas de fermentación. Al realizar la sacarificación y fermentación en forma simultánea se mejoró el rendimiento, obteniéndose 3,7 g/l de etanol, lo que corresponde a un 88% de conversión de la glucosa producida en etanol.

Los datos presentados indican que, usando células de hongos nativos y *S. cerevisiae*, se obtiene etanol a partir de coseta de remolacha.

Financiado por Departamento de Desarrollo de la Investigación. Universidad de Chile. Proyecto B-1242-8333.

PROPIEDADES ELECTROFISIOLÓGICAS DEL AXÓN GIGANTE DE *Diopatra chiliensis* QUATREFAGES, 1865 (POLYCHAETA, ANNELIDA). (Electrophysiological properties of the giant axon of *Diopatra chiliensis* Quatrefages, 1865 (Polychaeta, Annelida). Cortez, I. y Quevedo, L.* Departamento de Biología y Tecnología del Mar, Sede Talcahuano, Pontificia Universidad Católica de Chile. * Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias y Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

Se utilizó para el presente trabajo la cuerda nerviosa de *Diopatra chiliensis*. Este animal fue obtenido mediante buceo autónomo a una profundidad de 4 a 6 metros, en dos estaciones ubicadas a los 36°43'S., 73°06'W. y 36°41'15"S., 73°03'30"W enterrados en cieno anóxico.

El axón gigante, ubicado en la cuerda nerviosa, presentó la siguiente caracterización fisiológica:

Potencial de membrana	= -60 Milivoltios
Reobase	= $0.395 \pm DS 0.188$ Volts
Cronaxia	= $0.153 \pm DS 0.025$ Milisegundos
Velocidad de conducción	= $5.55 \pm DS 0.05$ metros/segundo

Las curvas de acomodación, muestran linealidad al graficar en las ordenadas los índices de acomodación y en las abscisas las constantes de tiempo de las corrientes de ascenso exponencial.

El estudio de la acción de neurofármacos sobre el axón gigante, nos mostró que la Tetrodotoxina 10^{-6} M, la procaina 5% y el reemplazo de NaCl por cloruro de colina en una solución Ringer, bloquea la conducción del axón. La 4-aminopiridina 100 mM produce un aumento en la duración del potencial de acción.

Se concluye que las propiedades electrofisiológicas del axón gigante de *Diopatra chiliensis* son similares a las de otros axones de invertebrados y que la génesis de la fase de ascenso y descenso del potencial de acción, son dependientes de Na^+ y K^+ .

El trabajo presenta un modelo biológico adecuado para estudios neurofisiológicos, por su gran estabilidad, abundancia y fácil manejo experimental.

ATPasas DNA-dependientes de *Alteromonas espejiana* BAL-31. (DNA-dependent ATPases from *Alteromonas espejiana* BAL-31) Cotorás, M., Vicuña, R. y Yudelevich, A. Laboratorio de Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La hidrólisis enzimática de ATP, dependiente de la presencia de DNA, es un fenómeno asociado a numerosas reacciones enzimáticas en las que participa el DNA, tales como replicación y recombinación. Hemos detectado la presencia de este tipo de proteínas en la bacteria marina *Alteromonas espejiana* BAL-31. Hemos aislado cuatro ATPasas DNA-dependientes, las que han sido denominadas I, II, III y IV. Estas formas enzimáticas pueden separarse entre ellas y de otras ATPasas que no requieren DNA como cofactor, por cromatografía en DEAE celulosa, DNA celulosa y fosfocelulosa.

Estas enzimas muestran algunas similitudes: 1) DNA de una hebra es preferido con respecto a DNA de doble hebra, sea éste lineal o sobre enrollado; 2) dATP es hidrolizado con una eficiencia semejante a ATP, no así los demás XTPs, los que son hidrolizados a una velocidad mucho menor; 3) Todas son inhibidas por N-etilmaleimida (20 mM) y ninguna es afectada por novobiocina (hasta 100 μ g/ml); 4) Ninguna tiene asociada actividad nucleásica ATP-dependiente.

Las cuatro enzimas exhiben también propiedades que permiten diferenciarlas: 1) A una concentración de NaCl igual a 100 mM, las formas II y III se activan un 30% y 20% respectivamente, mientras que la forma I sólo retiene un 45% de la actividad original. A su vez, IV no es afectada por NaCl a esta concentración; 2) las concentraciones óptimas de Mg^{2+} en los ensayos de I, II, III y IV, son 2, 20, 5 y 2-10 mM, respectivamente; otros metales bivalentes pueden reemplazar al Mg^{2+} , especialmente Mn^{2+} .

Financiado por proyectos DIUC.

ODONTOBLASTO HUMANO: ORGANIZACION MORFOLOGICA EN EL ESTADO SECRETOR. (Human Odontoblast: Morphologic Organization in the recognized Secretary Stage). COUVE, E., RUIZ, M.E. y VARGAS, F.. Departamento de Biología, Cátedra de Biología Celular, Universidad de Valparaíso.

En la XXV Reunión Anual de Sociedad Biología de Chile, se entregó el avance alcanzado en el conocimiento de la organización Morfológica del Odontoblasto (OD) humano adulto, estado referido a ODS de región coronaria de premolares.

El presente trabajo resume los estudios biocelulares realizados en OD humano en actividad secretora, presente en la región radicular de premolares de pacientes jóvenes (9 - 12 años).

El estado secretor de OD humano se muestra como una célula columnar altamente polarizada y de mayor volumen que el OD en estado adulto.

La localización de organelos celulares permite determinar 5 regiones a nivel del cuerpo celular; desde la porción distal encontramos:

- Región Infranuclear: Muy reducida, de escasos organelos.
- Región Nuclear: Núcleo de cromatina laxa, y nucleolos prominentes de marcada actividad;
- Región de R.E.R. Supranuclear: Reticulo endoplásmico rugoso abundante y mitocondrias.
- Región Golgiana: Localiza al Sistema de Golgi (dictio somas de aprox. 5 cisternas paralelas). Cara trans (madura) mirando al centro de la célula.
- Región de R.E.R. Apical: Reticulo endoplásmico y abundantes mitocondrias.

La diferenciación de OD humano compromete cambios citomorfológicos, por lo que se estudian componentes lisosomales (citoquímica), posibles de relacionar con reordenamientos de la organización citoplasmática.

LOCALIZACION INMUNOCITOQUIMICA DE MIOSINA EN CELULAS SECRETORAS DE HCL. (Immunocytochemical localization of myosin in HCl secretory cells).

M. Dabiké y cols. Dpto. Biología, Fac. Ciencias Básicas y Farm., U. de Chile - Dpto. Biología Celular, P. Universidad Católica de Chile.

Las células secretoras de HCl poseen un sistema de proteínas citoesqueléticas al cual se le ha atribuido un rol en la reorganización de membranas que ocurre durante el ciclo secretor. Este sistema incluye microfilamentos de actina, filamentos intermedios, filamina y miosina. Se ha demostrado la presencia de microfilamentos en relación con el polo apical de células oxínticas los que se redistribuyen durante el proceso de secreción. La filamina se ha ubicado, inmunocitoquímicamente, también en la región del polo secretor, hecho relevante ya que actina y filamina constituyen geles que regulan las interacciones actina-miosina responsables de la motilidad celular. Para establecer la participación de actomiosina y proteínas asociadas en los cambios de forma del polo secretor, se requiere conocer la localización precisa de la miosina y sus interrelaciones con los otros elementos del gel cortical.

Se describe la obtención y caracterización de un anticuerpo antimiosina y su aplicación en la localización de miosina en células oxínticas de anfibio usando técnicas inmunocitoquímicas.

Se demuestra la presencia de miosina en el borde apical de la célula asociada a la cara citoplásmica de la membrana plasmática luminal. La asociación de actina, filamina y miosina en esta región particular de la célula, apoya la idea que la translocación de membranas que acompaña al ciclo secretor de las células oxínticas, estaría mediada por un complejo actomiosina anclado en el casquete de filamentos intermedios que rodea la zona de la célula sujeta a cambios cíclicos de forma.

ACCION DE LH-RH A NIVEL OVARICO EN LA RATA HIPOFISECTOMIZADA. (LH-RH actions upon the ovary in hypophysectomized rats). De la Lastra, M.- Laboratorio de Endocrinología, Departamento Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La presente investigación tiene por objeto estudiar efectos agudos de LH-RH sobre la ovulación inducida con Hormona Luteinizante (LH) en la rata hipofisectomizada en el proestro.

Ratas adultas con ciclos regulares de 4 días fueron hipofisectomizadas por vía parafaríngea en la mañana del proestro. Entre las 14:00-15:00 h fueron inyectadas por vía endovenosa, bajo anestesia etérea, con LH-RH sintético (50-100 ó 300ng/rata) o solución salina seguida 2-3 minutos después por una dosis de LH (NIH-bovino) de 0,5 ó 1,0 ug/100g. 20-24 horas después se autopsió a los animales y se ejecutó en ellos los siguientes procedimientos: 1) Verificación de la hipofisectomía por inspección directa de la silla turca, excluyendo los animales que mostraban restos de hipofisis. 2) Comprobación del frotis vaginal para excluir las ratas que no presentaban aspecto típico de estro. 3) Recolección de sangre aórtica para medir por RIA concentraciones de Estradiol (E₂), Progesterona (P) y Prolactina (PRL) en suero. 4) Diseción y perfusión de oviductos para recuento de ovocitos.

En otras ratas hipofisectomizadas en la mañana del proestro e inyectadas a las 14:00 h con 300ng LH-RH, seguida de 1,0ug de LH/100g, se canuló la vena ovárica, previa heparinización, y se recolectó sangre por espacio de 30 min a las 16:00 ó 18:00 h para medir concentración de E₂ y P. Una muestra de sangre aórtica se usó para medir PRL.

Se observó una significativa inhibición de la ovulación en las ratas que recibieron 100 ó 300ng de LH-RH.

Investigación financiada por DIUC Proyecto 69/82 y Fundación Rockefeller Proyecto RF 83016.

MECANISMO DE ACCION DEL ASCORBATO EN LA REDUCCION DEL NBT.

(Ascorbate action mechanism on NBT reduction) De Gregori, I. y O'Reilly, S. Laboratorio de Bioquímica, Instituto de Química, Facultad de Ciencias Básicas y Matemáticas, Universidad Católica de Valparaíso. (Patrocina: R. González)

El azul de nitrotetrazolio (NBT) es un compuesto que se utiliza en la detección y cuantificación de algunas enzimas de óxido-reducción. El ascorbato, reductor ampliamente distribuido en sistemas vivos, se ha descrito como interfiere en reacciones que utilizan el NBT. Para esclarecer esta acción se ha estudiado el mecanismo de reducción del ascorbato sobre el NBT. La cinética de la reducción y la acción de quelantes indicarían que se trata de una reacción a través de intermediarios. Se estudian tres posibles mecanismos de reducción: vía radical superóxido, vía radical semidehidroascórbico y por iones, los cuales al ser reducidos por el ascorbato reducirían a su vez el NBT.

Los resultados obtenidos eliminan las dos primeras posibilidades. Para estudiar el tercer mecanismo, se utiliza Fe²⁺ y Fe³⁺, ya que ambos aumentan independientemente, en un medio aeróbico, la reducción del NBT por ascorbato. En ausencia de oxígeno se observa que tanto ascorbato como Fe²⁺ reducen al NBT, en forma dependiente de sus concentraciones. La presencia de quelante disminuye este efecto. La reducción del NBT por Fe²⁺ presenta una cinética lineal, a diferencia de la reducción por ascorbato que no lo es.

De acuerdo a estos resultados y a un análisis de los potenciales de óxido-reducción se confirma el mecanismo propuesto.

SIGNIFICADO DE LAS CONSTANTES DE AFINIDAD OBTENIDAS EN ESTUDIOS DE TRANSPORTE. (Affinity constants measured in transport experiments). Devés, R. y Krupka, R.M. Depto. de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, U. de Chile y Agriculture Research Institute, Canada.

La elucidación de mecanismos de transporte requiere estudiar, entre otras cosas, las características del proceso de asociación y disociación entre el soluto y el transportador en ambas superficies de la membrana.

Debido a que las constantes de afinidad obtenidas de la medición de flujos no representan constantes de equilibrio, sino que son función además de la velocidad de translocación, se ha sugerido que sólo la determinación directa del ligamen entregaría información confiable sobre la afinidad.

En este trabajo se demuestra mediante un estudio teórico del "transportador clásico" que: (1) la constante de afinidad obtenida de experimentos de ligamen no es una constante de disociación simple; (2) las constantes de afinidad obtenidas de la medición de flujos o ligamen son idénticas si se mantiene la misma distribución de solutos; (3) experimentos de ligamen en el equilibrio no pueden revelar asimetría cuando el transportador existe en 2 conformaciones diferentes (externa e interna) y (4) las discrepancias encontradas entre las afinidades determinadas por ambos métodos deben explicarse en términos de modificaciones producidas en la estructura del transportador o del ambiente en que se encuentra, y no sobre la base de una contribución diferencial de las velocidades de translocación en cada caso.

Financiado por Proyecto B 1540-8325 DDI (U. de Chile).

DETERMINACION DE COMPLEJOS INMUNES CIRCULANTES (CIC) PRECIPITADOS POR PEG Y SU CORRELACION CON NIVELES SERICOS DE N-ACETIL- β -DE-GLUCOSAMINIDASA (NAG). Correlation Between PEG Precipitation of Serum Immune Complex and Serum NAG.

Díaz, H.¹; Chahuan, M.²; Corradi, L.²; Ramírez, J.²; Andreis, M.¹.- Laboratorio de Inmunología. Facultad de Medicina. División Sur. U. de Chile.¹ Servicio de Medicina Hospital Paula Jaraquemada.²

- Elevadas tasas de CIC han sido responsabilizadas de la génesis de una variedad de patologías. La presencia de estos Complejos solubles inducen modificaciones en la biología del Polimorfonuclear, las cuales se traducen, entre otras, en la liberación de enzimas lisosomales durante su fagocitosis. La determinación de ellos puede constituir una medida indirecta de la presencia de CIC. Basados en lo anterior, hemos medido los niveles séricos de CIC precipitados por PEG y de NAG en individuos normales, en pacientes portadores de patologías autoinmunes: LES, AR y CMT y en pacientes con TBC como enfermedad infecciosa, susceptibles de diagnóstico y terapéutica controlable. En este último grupo, se consideraron muestras consecutivas correspondientes al momento del diagnóstico, durante el tratamiento y luego de finalizar éste. Los resultados revelan una elevación significativa ($p < 0.001$ para CIC y $p < 0.001$ para NAG) en los valores de los grupos de pacientes comparados con los normales. El estudio longitudinal de los pacientes con TBC muestran una disminución de significación estadística de los valores de PEG y una menor proporción para NAG. La comparación entre NAG y PEG y su relación con el diagnóstico y evolución de las patologías consideradas permite concluir que ambos parámetros se correlacionan con la situación clínica y ofrecen diferencias entre sí. Estas diferencias estarían relacionadas con la medición de aspectos distintos o diferente sensibilidad.

INDUCCION DE FLUJOS ESPECIFICOS DE SODIO EN CLONOS DE S.N.C. DE PATA ADULTA. (Specific sodium influx induction in adult rat CNS clonal lines). Díaz, M. A., Dr. Caviedes, R. Laboratorio de Cultivo de Tejidos, Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se presentarán los resultados obtenidos en la detección de canales de sodio de activación rápida, mediante Sodio -22, estimulados por veratridina e inhibidos por tetrodotoxina (TTX), en un clono derivado de corteza cerebelosa de rata Fisher 344 adulta. El método utilizado es modificación del descrito por Catterall y Cols. (P.N.A.S.-70,3756-63, 1973). Consiste en incubar las células en presencia de ^{22}Na y Ouabaina (control), Ouab.-Vera (activación de un flujo específico), y Ouab.-Vera - TTX (inhibición específica). Los experimentos se realizaron en triplicado. Las células diferenciadas en 2% DMSO durante 10 días muestran una estimulación del flujo específico de 2.5 veces, la cual es inhibida a niveles basales con TTX, las no diferenciadas no muestran una estimulación significativa del flujo específico. La cinética del flujo activado por Veratridina muestra un efecto máximo a tiempos cortos. Clonos tiroideos en iguales condiciones experimentales no evidencian flujo específico. La curva dosis-respuesta para TTX muestra un 50% de inhibición alrededor de 10^{-8} M, lo que concuerda con valores obtenidos en otras preparaciones experimentales para $K_{1/2}$.

En conclusión, clonos cerebelosos de rata adulta mantienen características propias de células excitables, en propagación continuada, y las manifiestan sólo si han experimentado un proceso de diferenciación inducido en cultivo.

NEUA Población de CUPRIGUANUS (REPTILIA:IGUANIDAE) DE LA REGION CENTRO CHILENA. (A new population of Cupriganus (Reptilia:Iguanidae) from Central Chile. Díaz, N.F. y Lambrot, M. Departamento de Ciencias Ecológicas. Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

Cupriganus, género restringido a Argentina y Chile, tiene en nuestro país 3 especies alopatricas, 2 de ellas en áreas geográficas reducidas en la Cordillera de la Costa entre 33 y 34° L.Sur. Recientemente hemos colectado en el Cajón del Maipo (El Volcán: 33°50' L.Sur; altitud 1550 m), ejemplares de Cupriganus con rasgos fenotípicos distintos a los de las especies conocidas. Se planteó la necesidad de caracterizar la población y decidir su estatus taxonómico.

Se trabajó con 9 adultos y 2 juveniles. Se analizaron 25 caracteres cualitativos y 25 morfométricos y se comparó esta población con otras, de C.torquatus de Ramadilla y C.achalensis de Pampa de Achala.

Un análisis factorial de correspondencias y una estimación de distancia morfológica indican que los individuos de El Volcán constituyen un grupo independiente que difiere significativamente de las dos especies con que se comparó. El cariotipo de la población de El Volcán, obtenido por el método corriente de goteo y tinción Giemsa, presenta un $2n=36$, con 12 macrocromosomas, metacéntricos o submetacéntricos y 24 microcromosomas. Difiere del cariotipo de C.torquatus ($2n=34$) en un par de microcromosomas y del de C.achalensis ($2n=36$) que tiene el primer par de microcromosomas más grande y heteromórfico. En los tres casos los cromosomas del par 2 tienen una constricción secundaria en el brazo largo. Se concluye que la población de El Volcán es una especie distinta de C.torquatus y C.achalensis. Falta determinar su relación con C.valeriae y C.alvaroi, especies de las que se desconocen los cariotipos y de las que se espera redescubrir el escaso material conocido.

Financiado por: Proyectos B 955 8344 y N 922 8345, Dpto. Desarrollo de la Investigación, U.de Chile.

RESPUESTA DE UNA COMUNIDAD FITOPLANCTONICA A UNA NUEVA CONDICION AMBIENTAL. (Phytoplanktonic community changes to a new environmental conditions). Domínguez, P. (1), Carvajal, A. (2), y Parra, O. (3). Secciones de Ecología (1) y Botánica (2), U. Católica de Valparaíso y Depto. de Botánica (3) U. de Concepción.

A lo largo de una columna de agua se ofrecen variadas condiciones ambientales a la comunidad fitoplanctónica que van desde una zona iluminada, con alto contenido de oxígeno a una deficiente de luz y oxígeno. Bajo condiciones adversas, el fitoplancton puede presentar o no una actividad potencial que le permitiría ocupar el espacio ecológico, cuando las condiciones ambientales sean favorables.

El presente trabajo tiene como objetivo valorar la respuesta de la comunidad de fitoplancton frente a una nueva condición ambiental.

Las muestras provienen de la Laguna Redonda (Concepción), con 18 m de profundidad y déficit de oxígeno hipolimnético (Mayo, 1983). Réplicas de las muestras de terreno fueron incubadas en laboratorio, bajo agua, con luz natural y aireación permanente. Como estimadores de la actividad fueron consideradas las variaciones de estructura comunitaria, de biomasa, de niveles de clorofila "a" y grado de producción de oxígeno.

En terreno se establecieron tres patrones de estructura comunitaria; Peridinium willei Huitf.- Kass concentra el 90% de la biomasa; los niveles de clorofila "a" son bajos y la actividad fotosintética refleja una gradiente descendente de superficie a fondo. En laboratorio se detecta una respuesta positiva de la comunidad (incremento de densidad y biomasa) cambios de estructura comunitaria y P. willei se esboza como un retedor de energía con un rol equivalente al del zooplankton.

VARIACION CIRCADIANA DE LA CONCENTRACION Y CONTENIDO DE ADN DEL HIGADO DEL RATON ADULTO INTACTO (Circadian variation in the concentration and content of DNA in the liver of intact adult rat). Echave Llanos, J.M. y Epele, M.E. Inst. de Embriología, Biología e Histología, Fac. Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata.

Se determina el contenido y la concentración de ADN en el hígado del ratón adulto intacto arribándose a las siguientes conclusiones: 1) El ADN del hígado no es constante. Se observa una variación circadiana de su concentración (mg/g) y de su contenido (mg/100g). En consecuencia el ADN (concentración o contenido) no puede utilizarse como línea de base para referir la concentración de otros compuestos, tal cual se lo hace con frecuencia desde que fue propuesto por Glick. 2) La variación de concentración es regular, apareciendo el pico alrededor de las 20:00 horas, alrededor del comienzo del período de actividad (oscuridad) de los animales. (Fig.1). 3) La variación de contenido es irregular en cuanto a la posición del pico y amplitud se refiere. El pico puede aparecer al comienzo, en el medio o al final del período de actividad, mas raramente en el período de reposo en animales estandarizados. 4) La variación de concentración es producida por dos componentes: a) Una variación inversa de la concentración de glucógeno (Fig. 4). b) La coincidencia, no constante del aumento de los valores absolutos de ADN. 5) Desde 1948 se conoce que las células de Kupfer pueden inmigrar y emigrar del hígado en forma de microcitos (Wilson). Este fenómeno (Fig. 6) puede ser la base de la variación absoluta del ADN hepático. Cuando coinciden en el tiempo la variación de contenido y la de concentración esta última es amplia (Figs. 2 y 3). Cuando están separadas en el tiempo (Fig. 5) la amplitud de la variación de concentración es menor. En consecuencia el ADN del hígado determinando bioquímicamente no es un parámetro adecuado para valorar su crecimiento.

"TRANSPORTE MITOCONDRIAL EN SNC DE RATAS IRRADIADAS; SITIO III. (Mitochondrial transport on irradiated rat CNS, III Site). Egaña, E., Ramírez, M.T. & Acoria, M. Instituto de Medicina Experimental, Laboratorio de Neuroquímica - Facultad de Medicina - Universidad de Chile. (*)

En trabajos anteriores hemos comprobado que la irradiación gamma (^{60}Co) cuerpo total, 1,000 R, produce disminución de ciertos parámetros del transporte mitocondrial de SNC, correspondientes a sitios I & II de la cadena respiratoria. Estos índices fueron menos afectados cuando el estudio se efectuó en ratas de generación alcohólica ("A.G. rats"). Como continuación de estos trabajos nos interesó conocer como se afecta el sitio III en iguales condiciones experimentales.

Ratas adultas ♂ y ♀. Normal, "A.G./12", "A.G./25" y "A.G./H₂O" irradiadas cuerpo total (^{60}Co) 1,000 R y sacrificadas próximas a su muerte espontánea (examen clínico). 1-1.5 mg de proteína mitocondrial de tres áreas de SNC: corteza cerebral, hipotálamo y cerebelo. Substratos: ferriocianuro de potasio 5mM/Ascorbato 2mM, Tetrametil-p-fenilendiamina 0.5mM/Ascorbato 2mM, Rotenona 2mM, Antimicina-A 30uM, 90nmoles ADP, 200nmoles de CaCl₂ & 200nmoles de HCl.

Los resultados no demostraron gran diferencia entre los grupos "A.G." y Normal. Además no hubo efecto notable de la irradiación comparando cada grupo con su respectivo control no irradiado. Estos hallazgos hacen presumir que sitios I y II son más sensibles a la ingestión permanente & filial de EtOH y a la irradiación gamma-cuerpo total que sitio III.

(*) Grant Dirección General Académica - Departamento de Desarrollo de la Investigación Proyecto B 1050-8345 Grant-Comodato Comisión Chilena de Energía Nuclear 1979-1983.

EFFECTO DE LA IONTOFORESIS DE KANAMICINA SOBRE EL POTENCIAL MICROFONICO COCLEAR DE LA RATA. (Effect of the iontophoresis of kanamycin upon the cochlear microphonic potential of the rat). Echeverría, E., González, L. Depto. Ramos Básicos, Fac. Med., Div. Oriente, Univ. de Chile. (Patrocinio: P. Macho).

Para estudiar la acción tóxica de los aminoglicósidos deben analizarse etapas tempranas de la toxicidad. Con el objeto de analizar la acción aguda de kanamicina (KM) sobre la cóclea se estudió el efecto de la iontoforesis en escala media (EM) sobre los potenciales microfónicos (PMC) de la rata.

Un preamplificador de corriente continua descrito por Atwater, I. (J Physiol:314,195,81) modificado para corriente constante fue usado para iontoforesis. La liberación de KM desde micropipetas fue medida in vitro con radioinmunoensayo de KM. Con las corrientes usadas in vivo (60 nA por 10 min.) la concentración de KM en EM fue estimada en 3 ug/ml. Ratas Sprague Dawley fueron anestesiadas y mantenidas a 37°C. Se registró la amplitud de los PMC detectados por un electrodos de plata en ventana redonda en respuesta a tonos puros de 1 kHz a 13 kHz y 0 a 36 dB de atenuación (0dB corresponden a 800 mV max a mir). La micropipeta de iontoforesis se avanzaba a EM de la vuelta basal de la cóclea a través de estría vascular. La aparición de potencial endococlear (PE) indicaba pipeta en EM. La KM produce una disminución progresiva irreversible en la amplitud del PMC que es de 10 a 20 dB para microfónicos generados por estímulos de 8 a 13 kHz y de 6 a 10 dB para PMC de 1 kHz a 5 kHz. El PE no se afecta o disminuye muy ligeramente. En conclusión, KM produce disminución irreversible de la amplitud del PMC, mayor mientras más cercano esté el sitio de generación del PMC al lugar de la inyección, y este efecto no se acompaña de alteraciones del PE. (Proyecto B-1588821, Depto. de Desarrollo de la Investigación, Universidad de Chile).

ULTRAESTRUCTURA DEL ESPERMATOZOIDE DE Spalacopus cyanus CON REFERENCIA A ALGUNAS ANORMALIDADES. (Ultrastructure of Spalacopus cyanus spermatozoon with reference to some abnormalities. Feito, R. Laboratorio Embriología, P. Universidad Católica de Chile.

El estudio comparativo de la morfología espermática constituye, en los mamíferos, una herramienta útil para obtener mejores evidencias acerca de la filogenia de diversos grupos y proporciona bases importantes para determinar el papel de los componentes que regularmente existen en los espermatozoides. Con el objeto de obtener una mejor perspectiva de sus relaciones filogenéticas y por las particulares características que exhiben los espermios de algunos roedores octodóntidos, fue nuestro interés analizar la morfología y ultraestructura del espermio de *S. cyanus*.

Protis de espermios extraídos de la cola del epidídimo fueron observados en un microscopio con contraste de fases o bien fijados y teñidos para su observación posterior. Para el estudio de la ultraestructura, testículos y epidídimos fueron fijados en glutaraldehído, post-fijados en tetróxido de Osmio e incluidos en Spurr. Cortes finos fueron examinados en un microscopio electrónico Zeiss EM 109.

La cabeza del espermio de *S. cyanus* es lanceolada y aplastada dorsoventralmente. La cola se inserta centralmente en la parte posterior de la cabeza. El acrosoma que cubre las caras planas es delgado; en la región apical constituye un abultamiento. En algunos espermios se observaron anomalías que comprometen principalmente al acrosoma, núcleo y cola. Se discute el significado filogenético del espermatozoide de *S. cyanus*.

Parcialmente financiado por Proyecto DIUC 68/82.

ROL DE ALGUNAS SUSTANCIAS DEL PERICARPIO EN LA GERMINACION DEL *ATRIPLEX REPANDA* (Role of some pericarpic substances on *Atriplex repanda* germination). Fernández, C.; Johnston, M. y Olivares, A. Facultad de Ciencias Agrarias, Veterinarias y Forestales, Universidad de Chile.

En el género *Atriplex* se señala que una de las causas de la baja germinación, sería la presencia de sustancias hidrosolubles ubicadas en las brácteas de los frutos.

En frutos de *A. repanda* se cuantificó el contenido de saponinas y de NaCl. Para determinar sus efectos en la germinación se realizaron tests con semillas a 25°C y oscuridad, usando extractos de frutos, soluciones de saponinas, manitol y NaCl en las concentraciones determinadas previamente en los frutos. Para analizar el efecto de la oxigenación a diferentes temperaturas, se realizaron test de germinación con semillas con testa intacta y pinchada. El efecto del lavado de frutos en agua se determinó midiendo respiración y capacidad germinativa.

La cuantificación de saponinas y de NaCl, revela un contenido promedio de 10% de saponinas y de 1% de NaCl. El lavado de frutos mejora la germinación en proporción al tiempo de lavado y está directamente relacionado a la intensidad respiratoria. La germinación en los diferentes sustratos muestra diversos grados de reducción. En los test de germinación a diferentes temperaturas las semillas con testa intacta presentan una inhibición sobre 15% lo que no ocurría en semillas con testa pinchada. Se discute el problema de oxigenación y el rol de las sustancias detectadas.

EXCRECION BILIAR DE GLUTATION Y PEROXIDOS ORGANICOS EN RATAS HIPERTIROIDEAS. (Biliar excretion of glutathione and organic peroxides in hypertyroid rats). Fernández, V., Unidad de Bioquímica, Fac. Med. Div. Occ., U. de Chile.

La administración de Tiroxina (T_4) y Triiodotironina (T_3) a ratas, produce una caída en los niveles hepáticos de Glutación reducido (GSE) y oxidado (GSSG), junto con un aumento en la Lipoperoxidación (LP). En estas condiciones experimentales, hemos encontrado además un aumento importante en la velocidad de generación de Superóxidos (O_2^-) microsomales hepáticos. Debido a que estas especies radicalarias pro-oxidantes podrían inducir una mayor conversión de GSE a GSSG, junto con una mayor excreción biliar de este último, se estudió el efecto que tendría el estado hipertiroideo en ratas, inducido por la administración de T_3 , sobre la excreción biliar de GSE, GSSG y Malondialdehído (MDA), índice de LP hepática.

Ratas Wistar macho (250-350 g) recibieron 0,1 mg/Kg de T_3 en NaOH 0,1 N i.p. por 3 días. El grupo control recibió dosis isovolumétrica de NaOH 0,1 N. Los animales tratados presentaron hipertermia y fueron sacrificados 24 h. después de la última inyección. Las determinaciones de GSE y GSSG (método enzimático) y LP (MDA), se efectuaron en muestras de bilis obtenidas por canulación del conducto biliar.

Se observó una disminución en la excreción biliar del GSE y GSSG, y un aumento en la excreción de MDA y flujo biliar, en los animales hipertiroideos.

Se concluye que la caída de GSE y GSSG intrahepática, inducida por T_3 no sería sólo consecuencia del aumento en la generación de O_2^- sino que además podría haber desaparición de ambos por otros mecanismos. (Financiado por D. D. I. B-1162-833-3, Universidad de Chile).

CAMBIOS EN LOS NIVELES DE GLUTATION REDUCIDO (GSH), OXIDADO (GSSG) Y DE PARAMETROS HEMATOLOGICOS EN ERITROCITOS (E) DE RATAS TRATADAS CON FENILHIDRAZINA (F). (Changes in the content of reduced and oxidized glutathione and hematologic parameters in rat erythrocytes following phenylhydrazine treatment). Fernández, N. y Videla, L. A.: Unidad de Bioquímica, Fac. Med. Div. Occ., U. de Chile.

Los E fisiológicamente expuestos a oxidantes como radical superóxido (O_2^-) y H_2O_2 , mantienen su integridad con mecanismos de defensa antioxidantes, especialmente GSH. La administración de F causa oxidación de hemoglobina (Hb) peroxidación de ácidos grasos de membrana y hemólisis de E. Debido a que la acción hemolítica de F involucraría un componente lipoperoxidativo (LP) vía radicales libres, se estudia el efecto de F sobre los niveles de GSH y GSSG, LP medido como Malondialdehído (MDA) y parámetros hematológicos como hematocrito (Hto), recuento de glóbulos rojos (R) y metahemoglobina (Met-Hb).

Ratas macho Wistar (150-250 g) recibieron dosis diarias de 25 mg/kg de F en buffer fosfato salino pH 7,4 s.c. por 1 a 4 ds, los controles recibieron buffer fosfato salino. Las mediciones de GSH y GSSG (método enzimático) y MDA se hicieron en E obtenidos por punción cardíaca.

Se observa que la administración de F de 1 a 4 ds provoca una disminución de R y Hto. A las 24 h de administrar F hay una disminución tanto de GSH como GSSG y un aumento en los niveles de MDA y Met-Hb. Luego, de 2 a 4 ds de F, los cambios en MDA, Hto y Met-Hb se reducen, con comitantes con una recuperación del GSH.

Se postula, que la depleción de GSE en E inducida inicialmente por F, se debería a una utilización de él en mecanismos de defensa contra especies radicalarias y en metabolismo de peróxidos, estimulados al interactuar F con Hb. (Financiado D.D.I., B-1162-833-3, U. de Chile).

ANALISIS AUTORADIOGRAFICO DE LA MIGRACION DE NEUROBLASTOS EN LA PLACA NEOCORTICAL ADYACENTE A LA FISURA RIMAL (Autoradiography analysis of the neuroblast migration in the neocortical plate adjacent to the rhinal fissure). Fernández, V. y Kuljis, P. O. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y State University of New York at Stony Brook, U. S. A.

Se analizan en este trabajo los efectos biomecánicos que toman lugar durante la migración y depósito de los neuroblastos de la neocorteza ventral (área por la cual los tractos tálamo-corticales penetran al telencéfalo).

Cuarenta y dos embriones de conejos New Zealand Black fueron sometidos a radioautografía de H^3 -timidina (5mCi/kg) y estudiadas más tarde bajo cámara lúcida para determinar el eje de las células tanto en la zona intermedia como en la placa neocortical.

Los resultados demuestran que los neuroblastos migran en esta zona de acuerdo a una gradiente medio-lateral y dorso-ventral determinando a este nivel un fuerte impulso para el crecimiento horizontal expansivo de la neocorteza. Se concluye que dicho patrón histogénico es el resultado de las condiciones mecánicas presentes en esta zona de encrucijada fibilar.

Proyecto B.1538-8325 S.D.A.C.I. U. de Chile y Fogarty F05-TW0, 2947, U. S. A.

ESTEQUIOMETRIA DE LA LIBERACION DE H^+ E INCORPORACION DE Ca^{+2} ACOPLADA AL TRANSPORTE DE ELECTRONES EN MITOCONDRIAS DE HIGADO DE RATAS DESNUTRIDAS. (Stoichiometry of H^+ release and Ca^{+2} uptake coupled to electron transport in liver mitochondria from malnourished rats.) Ferreira, J., Gil, L. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina Norte, Universidad de Chile.

La relación estequiométrica entre la liberación de H^+ y el transporte de electrones es tema de gran interés, debido a la importancia fundamental del cociente H^+ /sitio (número de H^+ liberados por par de electrones por sitio conservador de energía) en el análisis del mecanismo de acoplamiento de la energía respiratoria. La entrada de Ca^{+2} a la mitocondria es un proceso dependiente de energía, que utiliza la energía liberada en el transporte de electrones y que funciona con una estequiometría de 2 Ca^{+2} / sitio de acoplamiento.

La estequiometría de la entrada de Ca^{+2} a la mitocondria ha sido estudiada en ratos normales pero no en animales sometidos a un proceso agudo de desnutrición. En estos últimos, hemos podido observar en mitocondrias de hígado que las razones H^+ /sitio son cercanas a 2.0 y las razones Ca^{+2} /sitio se aproximan a 2 cuando la energía proviene de la oxidación de sustratos que entran en los diferentes sitios de acoplamiento de la cadena. Sin embargo, los $V_{máx.}$ de consumo de oxígeno y de liberación de H^+ están disminuidos en un 40%. Se puede concluir que mitocondrias de hígado de ratas desnutridas funcionan con la misma estequiometría que mitocondrias de ratos normales y que la disminución del consumo de oxígeno y de la liberación de H^+ durante la entrada de Ca^{+2} podría deberse a una alteración en los componentes de la cadena respiratoria y no a cambios en su estequiometría.

Financiado : Proyecto B-535-8355, S.D.C.A.Y.C.I., Universidad de Chile.

EFFECTO DE LA AMPLITUD Y DURACION DEL ESTIMULO ESTROGENICO SOBRE LA MAGNITUD DE LA RESPUESTA. (Effect of the amplitude and duration of estrogenic stimulation on the biological response). Forcelledo, M.L., De la Cerda, M.L., Darrigrande, O., Sastías, G. y Croxatto, H.B. Laboratorio de Endocrinología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La administración de estradiol (E2) por vía subcutánea (s.c.) en vehículo oleoso acelera el transporte de embriones en la rata. Administrando por infusión s.c. o endovenosa (i.v.) la misma masa de E2 pero en distintos tiempos se obtuvieron pulsos estrogénicos de distinta amplitud y duración. La mayor respuesta a 0.3 ug de E2 se obtuvo por infusión s.c. en 8 h. Con infusiones más cortas o más largas se obtuvieron respuestas cada vez menores. La administración i.v. de 5 ug de E2 por vena yugular durante 10, 25 ó 50 min. produjo niveles plasmáticos de E2 superiores pero de menor duración que los observados al inyectar s.c. las mismas dosis y no alteró el transporte ovular aunque las mismas dosis administradas s.c. produjeron aceleración. La infusión i.v. de 5 ug de E2 durante 150, 200 ó 300 min. produjo niveles plasmáticos de E2 similares en altura y duración a los observados al inyectar s.c. las mismas dosis y aceleró el transporte de embriones.

Se concluye que la aceleración del transporte de embriones consecutiva a la administración de E2 por vía s.c. o i.v. no guarda relación con la amplitud de la oscilación plasmática de la hormona, sino que más bien con la duración del pulso hormonal en el plasma.

Financiado por Proyecto DIUC N° 61/82 y Fundación Rockefeller RF 83016.

LOCALIZACION IMMUNOCITOQUIMICA Y ULTRAESTRUCTURAL DE CALICREINA EN EL NEFRON DISTAL DE RATA (Immunocytochemical and ultrastructural localization of kallikrein in the distal nephron of the rat). Figueroa C.D., Vío C.P., Caorsi I. Institutos de Histología y Patología y Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.

La contribución del sistema calicreína-cininas a la función renal es aún materia de controversia, en parte porque se desconoce con exactitud su localización intrarrenal.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la localización celular y distribución subcelular de calicreína usando inmunocitoquímica (P.A.P.).

Los riñones se fijaron en 4 mezclas diferentes, para evaluar su efecto sobre la preservación e inmunoreactividad. Los cortes se procesaron según el siguiente esquema: (a) suero anti-calicreína (1:10.000-1:40.000); (b) suero anti-IgG de conejo (1:50); (c) PAP (1:75); (d) diamino benzidina- H_2O_2 ; (e) O_3O_4 o metenamina de plata; (f) inclusión en Epon.

La microscopía electrónica reveló una intensa tinción en algunas células del tubo de conexión (células conectadoras, CC), mientras que otras eran negativas (células intercaladas). La inmunoreactividad se localizaba en la porción apical de las CC (en polirribosomas libres y del RER), en el Golgi y en la zona de los pliegues basales. Además se observó reacción en porciones de la membrana basal y luminal de las CC.

El hallazgo de calicreína en organelos relacionados con la síntesis y procesamiento de proteínas, sugieren que calicreína no solo está presente en las CC sino que además, es sintetizada en este tipo celular. Además su presencia en membranas basales y lumbales es compatible con su secreción a la orina y/o a la circulación renal. Proyecto S-82-32 (Direc. Invest. y Desarrollo, UACH).

ESTUDIOS SOBRE RESPUESTA CELULAR DEPENDIENTE DE CALCIO MEDIANTE TECNICA DE PERFUSION. (Studies in calcium dependent cellular response with superfusion technique). FOSTER, R., HURTADO, E., NOVOA, E. y CELEDON, G. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Comparamos cuatro sistemas celulares cuya respuesta es dependiente de calcio: hepatocitos de rata, células de glomerulosa adrenal de bovino, glóbulos rojos y plaquetas humanas. Hepatocitos, obtenidos por perfusión del hígado con colagenasa en KRCG, son incubados en K^{+} 1.25 mM Ca y ^{45}Ca (10 uCi/ml) por 60'. Desaturados, usando un sistema de perfusión dinámico muestran un rápido y transiente aumento en la salida de calcio radioactivo en presencia de Angiotensina II 0.1 uM. A23187 no tiene efecto, sin embargo, AII en presencia de él produce aumento en la salida de radio calcio. Células de glomerulosa adrenal tratadas del mismo modo muestran el mismo efecto en presencia de AII 0.1 uM, este, antecede el aumento en la producción de aldosterona. 12 mM K no modifica el perfil de salida de calcio radioactivo. A23187 aumentó dramáticamente la salida de ^{86}Rb (Efecto Gardos) de glóbulos rojos perfundidos en 1.25 mM Ca. Bajando la concentración de calcio el efecto fue menor, pero manifiesto.

A23187 1 uM precedido de adrenalina 1 uM produjo un aumento marcado en la salida de calcio de plaquetas tratadas en igual forma. Se compara la capacidad de transporte de calcio de fragmentos de membranas de células hepáticas y de glomerulosa adrenal.

Nuestros resultados sugieren la existencia de más de un mecanismo de transducción de información en el proceso de estímulo-respuesta dependiente de calcio. Proyecto 325/82 Fondo Nacional de Desarrollo Científico.

EFFECTO DE LA PROGESTERONA (P) SOBRE LA ACELERACION DEL TRANSPORTE OVULAR INDUCIDA POR ESTRADIOL (E2) EN LA RATA PRENADA. (Progesterone effect on the E2-induced acceleration of egg transport in pregnant rat). Fuentealba, B., Nieto, M. y Garrido, B.- Laboratorio de Endocrinología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La administración de E2 a ratas en día 1 de preñez, induce aceleración del transporte de los huevos por el oviducto; los que empiezan a llegar al útero 12 hrs después de la inyección. Este fenómeno dura aproximadamente 12 hrs. Es conocida la acción antagonista que la P ejerce sobre la acción estrogénica en diferentes tejidos efectoros y se ha descrito, la inhibición de la síntesis del receptor citoplasmático de E2, como uno de los mecanismos por los cuales la P ejercería su antagonismo.

Para determinar si la P antagoniza la acción aceleradora de los estrógenos exógenos sobre el transporte ovular y si esto se refleja en la dinámica de los receptores esteroidales del oviducto, se usó ratas Sprague-Dawley las que en el día 1 de la preñez fueron inyectadas con 1ug de E2; 1ug E2 y 5mg P o sólo con el vehículo. La autopsia en los tres grupos se realizó a diferentes tiempos después de la inyección y se determinó el número y ubicación de los huevos en el tracto genital, así como la concentración de receptores de E2 y P en el oviducto, usando la técnica de intercambio con 3H-estradiol o 3H-R5020.

Se observó que la administración simultánea de 1ug de E2 y 5mg P, posterga el inicio de la salida de los huevos del oviducto en 20 hrs, respecto del grupo tratado sólo con E2. Los niveles de RnE en los grupos tratados son mayores que en el grupo control, observándose una retención de los complejos en el núcleo en el grupo tratado con E2 y P. Se concluye que la P es capaz de modular la acción de los estrógenos sobre el transporte ovular, pero no de inhibirla a la dosis usada. Se discuten los cambios observados en la dinámica de los receptores esteroidales durante el período del transporte.

EFFECTO DE NIFEDIPINA EN TRANSPORTE EN PIEL AISLADA DE SAPO* (Effect of nifedipine on transport across isolated toad skin). Fuentes, O.F. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales. U. de Concepción.**

Los efectos farmacológicos de nifedipina han sido estudiados en varias estructuras. Se ha demostrado que es un bloqueador de la entrada de Calcio en el músculo cardíaco y liso vascular y es usado como un vasodilatador coronario y sistémico. Por no poseer información acerca de su acción sobre epitelios especializados en transporte, se estudió su efecto en el circuito eléctrico equivalente de la piel de sapo *Pleurodema thaul*, bañada en Ringer y burbujada con aire comprimido. Se midió la diferencia de potencial (DP), corriente de corto-circuito (CCC), y conductancia (G) de acuerdo con el método de Ussing y Zerahn.

Se aplicó test de amiloride para estudiar su mecanismo de acción.

La curva de dosis efecto mostró una caída progresiva de DP y CCC con un máximo de 34% y 31% respectivamente. El efecto de nifedipina no se modificó en presencia de sulfato ni en ausencia de calcio. El test de amiloride reveló disminución de E_{Na} y aumento de R_{Sh} (30% y 23% respectivamente).

Se concluye que la nifedipina actuaría a diferentes niveles. Por un lado disminuye el potencial de Na (E_{Na}) y por otra parte aumenta la resistencia para el flujo pasivo (R_{Sh}). Se observó un efecto variable sobre R_{Na} ; en cambio la disminución de E_{Na} y R_{Sh} se presentó en todos los experimentos.

* Proyectos 2.09.68 y 20.33.10, D.I. U. de Concepción.

** Patrocinio B. Norris.

CARACTERIZACION DE UN ANTICUERPO MURINO MONOCLONAL ESPECIFICO QUE COMPARTE ISOTIPOS CON IgG₁ E IgG_{2b}. (Characterization of a specific monoclonal antibody with antigenic determinants from IgG₁ and IgG_{2b}). Fuentes, M.E. Lab. de Microbiología e Inmunología, Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile) (Patrocinio:A.E. de Ioannes)

La molécula de inmunoglobulina está formada por dos cadenas livianas idénticas y dos cadenas pesadas idénticas, cada una de las cuales puede ser dividida en una región variable y una constante. La primera es responsable del reconocimiento del antígeno y la segunda, de las funciones efectoras de la molécula. Las inmunoglobulinas de ratón se dividen en ocho clases y subclases, dependiendo de los determinantes antigénicos presentes en la región constante de la cadena pesada. Esta región posee tres o cuatro unidades de homología interna o dominios codificados en exones separados.

El producto de secreción del clon GRO-4E10 es una inmunoglobulina que comparte determinantes antigénicos con IgG₁ e IgG_{2b}, característica que se conserva después de reclonación. Se intentó separar ambas especificidades por cromatografía de afinidad en proteína A-sefaraosa 4B, encontrándose en las fracciones eluidas reacción cruzada con los sueros específicos anti-IgG₁ e IgG_{2b}. El peso molecular de la inmunoglobulina completa y de los polipéptidos que la componen son similares a la de una IgG normal. Además, muestra por inmunodifusión reacción de identidad para ambos isotipos.

Estos resultados indican que la inmunoglobulina es monomérica, que no posee dominios extra y sugiere que los determinantes de subclase estarían sobre la misma molécula. Posiblemente este carácter se deba a una intercalación de dominios en la región constante de la cadena pesada, lo cual podría explicarse por una procesamiento atípico del RNA o de un reordenamiento génico poco frecuente a nivel del DNA.

(Financiado por proyecto DIUC 76/81)

INHIBICION DE CATALASA HEPATICA POR 3-AMINO-1,2,4-TRIAZOL AUMENTA EL NIVEL DE COLESTEROL PLASMATICO. (Liver catalase inhibition by 3-amino-1,2,4-triazole increases serum cholesterol level). Fuentes O.R., Departamento de Ciencias Básicas, División Oriente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Estudios anteriores muestran aumento de la actividad de catalasa hepática en ratas alimentadas con Colesteramina, droga no absorbible que estimula el catabolismo de colesterol. Con el objeto de investigar la participación de catalasa y peroxisomas en el catabolismo de colesterol se decidió estudiar el efecto de 3-amino-1,2,4-triazol (AT), inhibidor de catalasa, sobre los niveles de colesterol (COL) y triglicéridos (TG) plasmático y hepático en ratas.

Ratas macho Sprague-Dawley fueron inyectadas i.p. cada 12 horas con 1g/k p.c. de AT en solución salina durante 6 días. Un grupo control fue inyectado con solución salina. Ambos grupos recibieron alimento y bebida ad libitum. Los animales se sacrificaron y se determinó actividad de catalasa hepática y nivel de COL y TG plasmático y hepático.

Los resultados indican que AT produce:

- 85% de inhibición de catalasa hepática
- aumento del nivel de COL plasmático ($P < 0,02$)
- disminución de los niveles de COL y TG hepáticos y TG plasmáticos.

Se discute el papel de peroxisomas hepáticos en el catabolismo de colesterol.

ANCIOTENSINA II ENDOGENA, ACCION CARDIOVASCULAR Y RENAL EN LA PANA CHILENA, CALYPTOCEPHALELLA CAUDIVERBERA (Endogenous Aniotensin II cardiovascular and renal actions in the Chilean toad, Calyptocephalella caudiverbera.) Gallig, S.M., Peves, C.M. v Suarez, A.J. Depto. de Fisiología y Biofísica, Fac. de Medicina, U. de Chile.

En vertebrados mamíferos y el hombre el rol fisiológico de AII se ha relacionado con la mantención de la presión arterial (Pa) y homeostasis del LEC. En anfibios, la participación funcional de esta hormona en la mantención de la Pa y función renal no ha sido establecida.

Nuestros estudios en la Pana chilena están relacionados con las modificaciones que se producen en Pa y parámetros renales al bajar los niveles endógenos de AII mediante un inhibidor de la enzima convertidora (E.C.) Cantonril (SQ 14,115), el que se administra en forma aguda y crónica. La inhibición de la E.C. se verifica mediante el bloqueo total de la respuesta presora a AI. Infusiones agudas de SQ de $0.8 \mu\text{g Kg}^{-1} \text{min}^{-1}$ durante 40 minutos provocan un descenso de 18.5% en Pa vs. basales. Paralelamente la VFG y FSP no se modifican. La excreción de sodio ($\text{U}_{\text{Na}}^{\text{V}}$) aumenta en forma significativa de $17.6 \pm 50.7 \mu\text{Eq} \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{hr}$ a $24.4 \pm 71.6 \mu\text{Eq} \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{hr}$. La inhibición crónica de la E.C. mediante infusiones de SQ de $5 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{día}$ en sacos linfáticos seguida de infusiones constantes durante 150 minutos, bajar la Pa en un 18.2% . $\text{U}_{\text{Na}}^{\text{V}}$ y la fracción absoluta de sodio excretada aumentan significativamente, sin variaciones hemodinámicas renales. En riñones y extremidades perfundidas in situ, dosis similares de Cantonril no modifican $\text{U}_{\text{Na}}^{\text{V}}$ ni el eflujo en ml/min, respectivamente.

Los resultados sugieren que la disminución endógena de AII en la Pana chilena podría contribuir al descenso de la Pa observado, ya que Cantonril en esta especie no produce efecto vasodilatador per se. La falta de AII endógena podría afectar la reabsorción tubular de sodio, produciendo la natriuresis observada.

Financiado por proyecto B 1730-8314 Universidad de Chile.

DESARROLLO DE UN METODO PARA MEDIR SINTESIS DE CALICREINA EN CORTES DE TEJIDO RENAL. (Improvement of a method to determine synthesis of kallikrein by rat kidney slices). García, M.P. y Masferrer, J. Laboratorio de Fisiología. Pontificia Universidad Católica de Chile.

Nustad y col. en 1975 purificaron y caracterizaron calicreína sintetizada in vitro en cortes de tejido renal. En esta comunicación presentamos un método para medir síntesis de calicreína renal que presenta la ventaja de ser más sensible y específico.

Cortes sagitales de tejido renal (9g-1 mm espesor) se incubaron en 5 ml/gr de tejido de un medio EAGLE completo carente de L-Leucina al que se adicionó (^3H)-L-Leu-3, 4, 5 (6 $\mu\text{Ci/ml}$ de medio) en una atmósfera de $5\% \text{CO}_2$ y $95\% \text{O}_2$ pH=7.4 durante 12 h. a 37°C . La viabilidad celular del tejido durante el período de incubación se detectó por el consumo de glucosa, siendo este lineal hasta las 14 h. en que fue medido. Los cortes fueron homogeneizados (ULTRA-TURRAX) tratados con 0.5% P/V deoxicolato de sodio, 0.5 M PMSF (inhibidor de proteasas) y centrifugados a 20.000 g durante 2 h. El sobrenadante se inmuta precipitó con 200 μl de anticuerpo anticalicreína urinaria de rata (1.56 mg/ml, fracción IgG unida a Sefarosa de alto título). El precipitado obtenido por centrifugación al igual que una muestra de calicreína-anticuerpo específico usada como estándar fueron sometidos a electroforesis en geles de poliacrilamida.

Del total de Leu (^3H) detectada en el inmunoprecipitado (5370 cpm) un 35% de las cuentas se encontraron en la zona de migración electroforética de la calicreína. En el inmunoprecipitado control, sólo un 4% de la marca incorporada aparece en dicha zona. La incorporación de Leu (^3H) a la enzima durante las 12 h de síntesis fue de 0.34 p moles/gr de tejido renal.

El método descrito permite detectar síntesis de calicreína en cortes de tejido renal en un ambiente controlado de O_2 y CO_2 .

TINCIÓN DEL COLÁGENO SOLUBLE Y EN PARTICULAS DE LA SINOVIA, MEDIANTE UNA REACCIÓN ESPECÍFICA. (Staining of soluble and particulate collagen of the synovia with a specific reaction). Garcés, H., Silva, N. y Adames, H. Departamento de Ciencias Clínicas Pecuarias y Departamento de Patología Veterinaria; Fac. de Cs. Agrarias, Veterinarias y Forestales; Universidad de Chile.

El MBTH (N-Metil-benzotiazolidon-hidrazona) es una sustancia que reacciona específicamente con los grupos aldehídicos del colágeno obteniéndose una variedad de colores relacionados en parte con los tipos genéticos del mismo.

A través de esta reacción se estudia la presencia de colágeno soluble en el líquido sinovial previamente liofilizado, así como la tinción de partículas sinoviales y su relación con componentes articulares.

Se ha detectado colágeno en el líquido sinovial de individuos normales presentando un espectro de absorción característico cuando reacciona con MBTH. En estos casos se encuentran pequeñas partículas de cartílago articular provenientes del desgaste o roce natural. En individuos con procesos patológicos articulares la reacción del líquido sinovial se altera al mismo tiempo que aparecen partículas sinoviales de mayor tamaño que demuestran distintos grados de compromiso de los componentes de la articulación.

Se presenta como una técnica simple para estudios de líquido sinovial sin necesidad de una biopsia.

METODO RAPIDO DE SEPARACION DE NUCLEOS CELULARES DE ALTA PUREZA PARA EL ESTUDIO DEL METABOLISMO DEL RNA. (A quick method to isolate pure cell nuclei for the study of RNA metabolism). Garrido, F., Ortiz de Zarate, B., Garrido, A., Perretta, M. División Ciencias Básicas. INTA. Universidad de Chile.

Se describe un método para una separación rápida y cualitativa de núcleos limpios, tanto en médula ósea como en células nucleadas de la sangre. Las células nucleadas se rompen por presión osmótica con buffer hipertónico y luego son centrifugadas en rotor horizontal a 32.500 g por 30 minutos. Para médula ósea se utiliza una gradiente discontinua de sacarosa con una concentración final 2 M, lo que permite obtener varias sub-fracciones celulares, quedando en el fondo del tubo el 60 a 70% de los núcleos relativamente limpios con una sola centrifugación a esa velocidad. Las células nucleadas de sangre se obtienen centrifugando la sangre sobre una solución de Ficoll-Paque, luego son tratadas con el Buffer hipertónico que se centrifugan sobre una solución 2 M de sacarosa en las mismas condiciones que Médula Ósea. Esta separación se realiza en un tiempo de 80 min, con una recuperación de alrededor de un 90%.

Las ventajas de este método son a) no utiliza medios mecánicos para el rompimiento celular; b) no es necesario una ultracentrifugación y c) disminuye notablemente el tiempo de separación, lo que significa obtener una mayor cantidad de núcleos viables.

La utilización de núcleos puros en la medición de la actividad de RNA polimerasa y de RNA nucleares, permite disponer de una metodología de avance en esta clase de estudios, en especial, pretender establecer un método que pueda ser aplicado en investigación clínica, utilizando núcleos de células sanguíneas, en las cuales se pueda medir la actividad de RNA polimerasas, como índice del estado metabólico de un individuo.

Financiado por DDI (Proyecto N° 1241-B 8333)

UNA APROXIMACION AL SISTEMA DEPREDADOR-PRESA-PARASITO : PINTARROJA *Schroederichthys chilensis* - JAIBAS *Cancer coronatus* y *C. setosus* - NEMATODO *Proleptus acutus*. (An approach to the predator - prey - parasite system: catshark *Schroederichthys chilensis* - crabs *Cancer coronatus* and *C. setosus* - nematode *Proleptus acutus*). George-Nascimento, M., Carmona, R. y Quiroga G. Departamento de Biología y Tecnología del Mar, Pontificia Universidad Católica de Chile, Sede Regional Talcahuano.

Es común que algunas especies parásitas dependan de una relación depredador presa para ser transmitidas desde su huésped intermediario al huésped definitivo. Por tanto, dependen de la conducta de alimentación del depredador para su sobrevivencia. A veces los parásitos facilitan la labor al depredador haciendo a la presa más susceptible de ser depredada.

Nosotros mediante muestreo de pintarrojas en terreno, estimamos su dieta y la prevalencia e intensidad de sus infecciones estomacales por el nematodo *P. acutus*. También muestreamos aquellas especies de jaibas que resultaron ser las más frecuentes en la dieta de la pintarroja, y las examinamos en cuanto a la presencia de parásitos. Por otra parte, mantuvimos en acuario a pintarrojas y estimamos la sobrevivencia de los parásitos en su estómago, así como también su estacionalidad de oviposición, a través del análisis cuantitativo de larvas y huevos del nematodo en las fecas del depredador.

Nuestros resultados muestran que la pintarroja depre da de noche, casi exclusivamente sobre crustáceos en ecdisis, que viven en fondos arenosos, los que transmiten el parásito. Por otra parte, nuestras observaciones sugieren que las infecciones de pintarrojas y jaibas tienen un máximo estacional, sincronizado con el máximo de frecuencia de jaibas en estado de ecdisis en el ambiente, es decir en el período primavera-verano.

Financiado por Proyecto DIUC 185/82.

NEUMONITIS EXPERIMENTAL : INDUCCION MEDIANTE TRANSFERENCIA DE CELULAS ESPLENICAS Y SUEROS DE DADORES INMUNIZADOS. (Experimental Neumonitis : Induction by transference of spleen cells and sera from immunized donors). GILIEL, S.; MIRANDA, D.; LAS HERAS, J.; QUEZADA, A. y CERDA, L.C.- Laboratorio de Inmunología. Departamento de Medicina Experimental y Ciencias Básicas. Facultad de Medicina Sur. Universidad de Chile.-

El estudio de las lesiones que caracterizan la Neumonitis Experimental por Hipersensibilidad en ratas sugiere la participación de fenómenos de inmunidad celular.

Con el objeto de diseccionar los mecanismos inmunológicos involucrados en la producción de las lesiones en un modelo experimental que se asemeja a las alveolitis alérgicas humanas, se procedió a hacer estudios de transferencia. Ratas isogénicas normales recibieron células esplénicas o sueros hiperinmunes de ratas inmunizadas. Los animales receptores de células esplénicas o sueros hiperinmunes fueron provocados por vía intratraqueal con el antígeno (BSA) realizándose estudio morfométrico de las lesiones pulmonares. Como controles se utilizaron receptores de células esplénicas inmunes o sueros hiperinmunes sin provocación antigénica así como receptores de células esplénicas normales o sueros normales con provocación antigénica.

La transferencia de células esplénicas inmunes determinó en los animales provocados antigénicamente lesiones comparables con el modelo original y estadísticamente diferentes de los controles correspondientes. Los animales receptores de sueros normales o hiperinmunes con o sin provocación, no mostraron diferencias en sus grados lesionales. Las lesiones producidas por la transferencia de sueros, parecen obedecer a mecanismos diferentes de los postulados en el modelo original.

MEDICION CONTINUA DEL CONSUMO DE OXIGENO EN FETOS DE OVEJA CATETERIZADOS CRONICAMENTE (Continuous measurement of fetal oxygen consumption in chronically catheterized fetal sheep).

Germain, A., Block, B., Parer, J.T., Court, D., y Llanos, J.A. Department of Obstetrics Gynecology and Reproductive Sciences, CVRI, University of California San Francisco, USA y Departamento de Preclínicas, División Ciencias Médicas Oriente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El consumo de oxígeno ($\dot{V}O_2$) de fetos de oveja ha sido determinado en forma intermitente, midiendo la saturación de la hemoglobina por el oxígeno y la concentración de hemoglobina en vena y arteria umbilical. "in vitro", y el flujo sanguíneo umbilical. Como este sistema no permite examinar los cambios en el $\dot{V}O_2$ que ocurren en forma rápida, así como seguir el $\dot{V}O_2$ a largo plazo, presentamos una preparación experimental que permite la medición continua del $\dot{V}O_2$ fetal. A 4 ovejas entre 0.8 y 0.9 de su gestación se les insertó catéteres de fibras ópticas (Oximatrix) en la aorta descendente y vena umbilical fetal. Oximatrix mide continuamente la saturación de la hemoglobina por el oxígeno. Además se ubicó un transductor electromagnético de flujo en la arteria umbilical común, para medir flujo sanguíneo umbilical. La concentración de hemoglobina fue medida intermitentemente "in vitro" mediante un hemoxímetro.

Para validar las mediciones de saturación de la hemoglobina por el oxígeno de vena umbilical y aorta descendente leídas "in vivo" con el sistema Oximatrix, se comparó éstas con valores de saturación de la hemoglobina por el oxígeno determinadas "in vitro" mediante un hemoxímetro de muestras de vena umbilical y aorta descendente extraídas en el momento de la lectura del Oximatrix. 87 muestras de vena umbilical y aorta descendente fueron comparadas con la lectura Oximatrix a diferentes niveles de oxigenación (fracción inspirada de O_2 materna entre 0.1 y 1). Los resultados muestran una correlación significativa entre aquellos valores de saturación de la hemoglobina por el oxígeno "in vivo" vs "in vitro" ($r = 0.9$; $p < 0.001$). Nuestros resultados indican que: 1) esta preparación experimental que utiliza los catéteres Oximatrix permite la medición continua del $\dot{V}O_2$ fetal en excelente concordancia con mediciones intermitentes; 2) este sistema puede ser de utilidad para las mediciones de $\dot{V}O_2$ fetal en estados transientes sin producir variaciones de volumen sanguíneo fetal; 3) esta preparación facilita el estudio de $\dot{V}O_2$ fetal en forma crónica.

(Grant NIH HD 13764; DDI, U. Ch. N. 904-83-44).

COMPOSICION Y DISTRIBUCION DE LA FLORA PTERIDOLOGICA EN CHILE. (Distribution and composition of the pteridological flora in Chile). Godoy, R. y Parra, B. Instituto de Botánica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

El presente estudio realiza un catastro actualizado de la flora pteridológica en Chile continental e insular, con el objeto de conocer su composición, distribución geográfica y espectro biológico.

La composición florística es de 196 taxa (116 específicos y 75 infraespecíficos) repartidos en 49 géneros y 22 familias, la cual es comparativamente pobre con respecto a países vecinos, aunque muy significativa por su alto índice de endemismo y conexiones extracontinentales.

Los patrones de distribución geográfica de cada uno de los taxa fueron sometidos a análisis estadístico multivariado. Los resultados indican la presencia de 6 grupos o áreas de concentración. Las Islas de Pascua, Juan Fernández y Mocha presentaron grupos independientes, de baja similitud florística, que al ser comparados con los continentales, evidencian una vez más, el fuerte aislamiento geográfico a que han estado sometidas dichas entidades. El análisis de correspondencia confirmó las unidades establecidas.

El espectro biológico de cada área, muestra una estrecha relación con las condiciones climáticas. La forma de vida hemicriptofítica es dominante, mientras que los epífitos y fanerofitos caracterizan zonas de mayor pluviosidad y densidad vegetal.

DIUACH, Proyecto S-82-16

PRESENCIA DE ENTEROBACTERIAS EN EL CONTENIDO INTESTINAL DE *CANCER* SP. (Enterobacteriaceae in the intestinal contents of *Cancer* sp.) Godoy, V., Joyas, A. y García-Tello, P. Instituto de Biología, Universidad Católica de Valparaíso.

Las poblaciones bacterianas en el ambiente marino costero están sujetas a interacciones con microorganismos autóctonos que pueden ingresar al habitat por diversas vías de contaminación. Sin embargo, la alta tasa de dilución de las poblaciones bacterianas contaminantes del medio marino hace suponer que las interacciones que puedan darse entre bacterias autóctonas y autóctonas serían más factibles en lugares donde la densidad de las poblaciones microbianas es más alta, como el tracto digestivo de animales marinos bentónicos. Usando como modelo la jaiba limón (*Cancer* sp.) se decidió estudiar su microflora intestinal a fin de: (i) detectar bacterias autóctonas al medio marino y (ii) estimar la factibilidad de interacción de estas bacterias con aquellas propias del habitat examinado. Por medio de cultivos de enriquecimiento se pudieron detectar en el contenido intestinal varios géneros de enterobacterias entre ellos *Proteus* y *Klebsiella*. Usando la técnica para detección de bacteriocinas se pudo constatar que por lo general no se dan interacciones antagonicas entre las enterobacterias y las bacterias marinas propias del contenido intestinal. De acuerdo con esta observación se pudo apreciar que las bacterias marinas examinadas pueden ser receptores de información genética extracromosomal. Estos resultados sugieren que el intestino de animales marinos es un habitat propicio para la interacción entre poblaciones microbianas de distintos orígenes.

ENTRENAMIENTO: VARIABLE CRUCIAL EN EL ESTUDIO DE LA PERCEPCION. (Training: a crucial variable in the study of perception). Golowasch, J.; Maturana, H. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Se han descrito diferentes sistemas de entrenamiento que, en apariencia, pueden utilizarse indistintamente para probar capacidades perceptuales y discriminativas dadas en diferentes especies animales. A pesar de que poco o nada se dice respecto a los criterios usados en la elección del método, ya sea el experimentador (conciente o inconcientemente) o el animal (a través de su conducta) los especifican.

Este trabajo muestra cómo la manifestación de una capacidad perceptual (discriminación de frecuencias de estimulación acústica) depende crucialmente del método de entrenamiento usado. Interpretamos esta dependencia en términos de que toda percepción corresponde, al ser descrita por un observador, a una correlación entre las superficies sensorial y motora, y que toda correlación sensoriomotora se establece en la ontogenia del individuo y, por lo tanto, depende de los modos de vida particulares de cada individuo de una cierta especie. Así, una determinada capacidad perceptual se revelará sólo bajo ciertas condiciones específicas en las que se desenvuelva el animal durante el entrenamiento. Esto incluye las respuestas motoras que el experimentador selecciona como adecuadas, las clases de refuerzo utilizadas, su distribución espacio-temporal y las condiciones emocionales del sujeto.

Además de lo anterior, nuestros datos muestran que la especificidad de condiciones impuestas sobre el método a elegir está determinado por la capacidad atencional que el sujeto es capaz de desplegar y mantener. Por lo tanto, la elección de un método debe, necesariamente, considerar lo anterior. Estos resultados evidencian, por último, la importancia del estudio de los mecanismos subyacentes a la Atención.

FLUCTUACIONES EN LA DENSIDAD Y ESTACION REPRODUCTIVA EN TRES POBLACIONES DE ROEDORES CRICETIDOS CHILENOS. (Density fluctuations and breeding season of three Chilean cricetid populations). González, L.A., Murúa, R. y Jofré, C. Instituto de Ecología y Evolución, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Cambios en las características reproductivas de las poblaciones, como longitud del período reproductivo, peso de los animales a la madurez sexual son determinantes en el crecimiento poblacional e influyen en las fluctuaciones estacionales y cíclicas de sus números.

Se intenta relacionar el período reproductivo con las variaciones de la densidad en *Akodon longipilis*, *Akodon olivaceus* y *Oryzomys longicaudatus*, cricetidos que coexisten en el bosque valdiviano.

Se utilizaron dos retículos permanentes de captura (12x12 trampas Sherman) en dos habitat contrastantes cubriendo 1.2 has. Se muestreó con el método C.M.R. Los animales fueron pesados y determinada su condición reproductiva. La densidad se estimó por enumeración de la población.

Las tres especies presentan un período reproductivo limitado desde Octubre a Abril con diferencias en la extensión del período de apareamiento que varía de 3 a 7 meses en los distintos años considerados. *A. olivaceus* y *O. longicaudatus* nacidos al inicio de la estación lo gran reproducirse en la estación con una alta tasa de incremento de peso. *A. longipilis* no alcanza la madurez sexual dentro de la estación reproductiva, alcanzando el peso de la madurez sexual más adelante, reproduciéndose en la próxima estación reproductiva.

(Financiado por D.I., U.A.CH. Proyecto S-81-17 y RS-81-17).

MONOSACARIDOS EN SUPERFICIE BASAL EN CELULAS ACINARES. EFECTO DE ISOPROTERENOL Y FILOCARPINA. (Monosaccharides on the basal surface of acinar cells. Effect of isoproterenol and pilocarpine). González, M.J. y Galanti, N. Depto. Biol. Cel. y Genética, Fac. de Medicina, Univ. de Chile.

Se estudió la localización de algunos monosacáridos en la superficie basal de células acinares de parótida de ratón estimuladas sólo a secretar, o además a entrar en ciclo proliferativo.

Parótidas de ratones no tratados, o inyectados con isoproterenol (IPR) 1.5 nmoles/g de peso o 0.15 umoles/g de peso o con pilocarpina (0.27 umoles/g de peso) se disociaron en acinos por digestión enzimática y disgregación mecánica. Los monosacáridos expuestos se detectaron por incubación de los acinos sin fijar con WGA-ferritina o con ConA-ferritina.

Se concluye que el ácido siálico se localiza en sectores de la superficie basal y en las digitaciones. La manosa se distribuye sobre toda la superficie, excepto en las digitaciones. Manosa desaparece de células estimuladas sólo a secretar. Parte importante siálico se retira de la superficie basal de células inducidas a secretar y entrar en proliferación, exponiendo nuevos residuos de manosa.

(Proyectos 1/82-83 PNUD/UNESCO, B1245/8321 U. de Chile y Convenio CSIC-España/U. de Chile).

DETECCION DE ERRORES METODOLOGICOS EN EXPERIMENTOS CON DIETAS HIPERLIPIDICAS. (Methodological errors found in experiments with high fat diets). González, O., Aguayo, M. y Grumberg, J. Vivero Central, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia U. Católica de Chile; INTA y Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, U. de Chile.

En 1978, la National Academy of Sciences, Institute of Laboratory Animal Resources, publicó recomendaciones para la correcta formulación de dietas en las cuales se cambia la densidad energética. Se sabe que, en general, la rata -el animal más usado en investigación nutricional- adapta su ingesta a sus requerimientos energéticos. Pese a lo establecido, un error frecuentemente encontrado en publicaciones en que se ha experimentado con dietas hiperlipídicas está en la preparación de dichas dietas: se sustituye H. de C. por igual cantidad de gramos de lípidos.

Experimentalmente, con dietas de diferente contenido de grasa, hemos comprobado la relación inversa entre densidad energética e ingesta. El aumento de densidad produce disminución de la cantidad de alimento consumido disminuyendo proporcionalmente la cantidad de nutrientes. Así, aumentando de 5 a 25% el contenido lipídico de una dieta, sin efectuar la corrección, se produjo una disminución entre el 20 y 22% de la ingesta de proteínas, vitaminas y minerales.

La mantención de un P% (porcentaje de calorías aportadas como proteínas) es imprescindible para obtener resultados comparables. Pese a que la corrección es sencilla (eliminar 2,2 g de H. de C. por cada g de lípido incluido), han continuado apareciendo publicaciones cuyas conclusiones pueden ser erróneas.

DISCRIMINACION POR AUTORADIOGRAFIA DE LA FIJACION DE CARBONO EN POBLACIONES FITOPLANTONICAS NATURALES (Autoradiographic discrimination of carbon fixation in natural phytoplankton populations). Graf, M. E*; Montecino, V** y Cabrera, S*. Depto. Biol. Cel. y Genética, Fac. Medicina * y Depto. Ciencias Ecológicas, Fac. Ciencias Básicas y Farmacéuticas**, U. de Chile.

Se ha observado que distintos grupos de algas estimuladas con radiación fotosintética activa (R.F.A.) a igual densidad de flujo de fotones presentan diferentes tasas de fotosíntesis. Utilizando radioautografía es posible discriminar fijación de C^{14} por cuantificación de marca a nivel de cada taxa.

Este método fué utilizado en experimentos realizados con incubaciones *in situ* en 5 niveles fóticos en el embalse Rapel (Marzo) y en la laguna de Aculeo (Junio). Se midió también productividad primaria clorofila *a* y abundancia del fitoplancton.

En Rapel la diatomea *Melosira granulata* (Ehr) Ralfs estuvo presente en toda la zona fótica con abundancias sobre 90% cuantificándose marca en un rango entre 10 y $600 \mu E m^{-2} s^{-1}$ con un máximo a $200 \mu E m^{-2} s^{-1}$. En Aculeo se estudió la cloroficea *Scenedesmus* sp, a pesar de no ser la especie dominante. Esta alga presentó marca entre 50 y $280 \mu E m^{-2} s^{-1}$ observándose un máximo a $80 \mu E m^{-2} s^{-1}$.

Estos datos en poblaciones naturales se comparan con estudios realizados en cultivos puros por otros autores.

Financiado por: Proyecto N-1577-8324, Universidad de Chile y Programa MAB-5 UNESCO.

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE POSIBLES PARTICULAS TIPO C ASOCIADAS CON ADENOCARCINOMA GÁSTRICO HUMANO. (Biological activity of putative type C particles associated to gastric human cancer).

Grisolfa, F., González P., R., y Colaboradores. Laboratorios de Genética y Biología Celular, Instituto de Biología, Universidad Católica de Valparaíso.

Aunque no se ha demostrado la relación etiológica entre virus tipo C y adenocarcinoma gástrico humano (ACGH), tenemos evidencias previas, tanto bioquímicas como morfológicas, de la presencia de partículas tipo C en muestras obtenidas de resecciones quirúrgicas de ACGH.

La actividad biológica de estas partículas fue ensayada de la siguiente manera: hembras de ratones CF-1, de 5 meses de edad, fueron inoculadas, vía intraperitoneal, con fracciones microsomas de ACGH. Las fracciones microsomas de las crías de estas hembras fueron analizadas por los siguientes métodos: gradientes isopícnicos de sacarosa; electroforesis en poliacrilamida-SDS uni y bidimensional; microscopía electrónica de transmisión; actividad de proteína-quinasa endógena mediante incubación con ATP- P^{32} -gamma.

La evidencia conjunta de estas observaciones, sumada a alteraciones morfológicas de las hembras inoculadas, sugieren que las partículas presentes en fracciones microsomas de ACGH poseen actividad biológica.

Además, el patrón de fosforilación endógena de proteínas de las fracciones microsomas de las crías analizadas difiere del encontrado en crías de hembras no inoculadas.

EFFECTOS DE DOS METODOS DE ENTRENAMIENTO EN LA READQUISICION DE UNA DISCRIMINACION DE CONFIGURACIONES VISUALES EN RATAS CON LESION SERIADA DE LA CORTEZA VISUAL.-

Guerra, A., Pavez, W. Departamento Fisiología y Biofísica, Fac. Medicina, U. de Chile.

La evidencia previa indica que ratas sin corteza visual no reaprenden una tarea de discriminación de pattern (estímulos diferenciados únicamente por su configuración espacial) (Lavond et al., 1978). Guíe et al., 1982 emplean una discriminanda de estrias horizontales vs. verticales logran que ratas sin corteza visual reaprendan la tarea siempre que la lesión sea "seriada" y el método de "entrenamiento gradual". La objeción que podía plantearse es que el animal puede resolver la tarea en base a fluctuaciones del flujo luminoso al efectuar un barrido horizontal de los estímulos. En este trabajo se emplea una discriminanda con estrias oblicuas que no pueden discriminarse sino en base a la configuración espacial.

Se utilizaron 12 ratas grises Long Evans. Se empleó la caja de discriminación de doble elección descrita por Thompson y Bryant (1955). Se entrenaron dos grupos: el experimental (N=6), en forma graduada y el control (N=6), en forma abrupta.

Después del entrenamiento (día 11) los sujetos eran sometidos a una lesión unilateral de la corteza visual (áreas 17, 18 y 18a) y después del reentrenamiento (día 36) se les extirpó la corteza visual del otro hemisferio. El reentrenamiento se mantuvo hasta alcanzar criterio o completar 2.300 ensayos.

Los resultados obtenidos mostraron una clara facilitación del reaprendizaje de la discriminación en el grupo experimental, ya que 5 de los 6 sujetos adquirieron la tarea antes de completar 2.300 ensayos. En el grupo control, uno aprendió. Se concluye que el entrenamiento gradual fue crítico para permitir la discriminación de pattern en ratas sin corteza visual.

ALMENTO DEL CONTENIDO DE COLÁGENO PULMONAR EN FETOS DE CONEJOS EXPUESTOS "IN ÚTERO" A BETAMETASONA O INDOMETA CINA (Increase of lung collagen in fetal rabbits exposed to Betametasone or Indomethacin "in útero"). Guerra, F.A., Hoppe, I., Campos, G.A. Instituto de Fisiología, Universidad Austral de Chile. (Patrocinio: Dr. S.G. Espinoza.)

El efecto de inhibidores de la síntesis de prostaglandinas (PGs) sobre el contenido de colágeno pulmonar fetal fue estudiado en conejas preñadas e inyectadas (IM) con betametasona (0.25 mg/Kg/día) o indometacina (10mg/Kg/día) a las 48 y 24 hrs ó 72, 48 y 24 hrs previas a la extracción fetal respectivamente. Un tercer grupo inyectado con placebo permaneció como control. Los fetos fueron extraídos a los 28 días de gestación y en ellos se determinó la cantidad de hidroxiprolina y pro teínas pulmonares por métodos colorimétricos. El conte nido de colágeno fue calculado multiplicando la canti dad de hidroxiprolina por 7.2. El colágeno pulmonar ($\bar{X} \pm ES$) en los fetos expuestos "in útero" a betameta sona (n=22) o indometacina (n=24) fue mayor (p / 0.05) a lo observado en el grupo control (n=32) (17.40 \pm 0.78, 16.67 \pm 0.87 vs 10.67 \pm 0.39 ug/mg tejido seco). El con tenido de proteínas pulmonares (mg/mg tejido seco) del grupo control (0.38 \pm 0.02) no fue diferente del trata do con indometacina (0.35 \pm 0.02) pero sí mayor (p / 0.05) que en el grupo con betametasona (0.27 \pm 0.03).

Nuestros datos sugieren que el aumento selectivo del contenido de colágeno pudiera ser atribuido a una inhi bición de la síntesis de PGs a nivel pulmonar fetal por los fármacos estudiados. Se podría especular que las PGs podrían estar involucradas en la regulación del contenido de colágeno pulmonar fetal hacia el final de la gestación.

Financiado: Colegio Médico de Chile, Reg. Valdivia.

ISLA DE PASCUA Y ARCHIPIÉLAGO JUAN FERNANDEZ EN PERSPEC TIVA BIOCLIMÁTICA (Easter Island and Juan Fernández Archipelago in Bioclimatic perspective)* Hajek, E.R. y G.A. Espinoza. Departamento de Biología Ambiental, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago.

De las islas oceánicas chilenas, las más conspicuas son Isla de Pascua y el Archipiélago Juan Fernández. Sus características se proyectan como un campo atracti vo de estudio bioclimático para diversos fines básicos y aplicados.

El presente trabajo tiene como objetivo hacer una ca racterización y discusión comparativa de las islas men cionadas, en una perspectiva bioclimática humana.

Para el estudio se recopiló información climatológi ca de la Dirección Meteorológica de Chile. Se utiliza ron diversos índices de evaluación de la sensación bio climática, entre ellos el enfriamiento, 'energía de respiración', temperatura efectiva y entalpía del aire.

La Isla de Pascua se caracteriza por un régimen ocea nico ecuatorial, sin vinculaciones con sectores de Chi le continental o insular a diferencia de Juan Fernández que muestra un régimen oceánico relacionado con los bio climas del continente, a latitudes más elevadas. La es ca la de sensación bioclimática incluye las categorías de 'bienestar máximo' hasta las de 'fresco suave' en I. de Pascua, y las de 'fresco' y 'frío moderado' para J. Fer nández.

Las combinaciones de factores térmicos, higrícos y de movimiento del aire dan diversas sensaciones bioclimáti cas. El papel del viento como condicionante del bie nestar es notable en I. de Pascua, no así en J. Fernán dez. Se discute, en perspectiva humana, el significado de los resultados en términos de sus cursos temporales, de su aprovechamiento y de medidas protectivas.

* Financiado por Fundación Tinker (U.S.A.).

LA METRICA DE ESPACIO Y TIEMPO EN BIOLOGIA. (Metrics of space and time in biology). B. Günther, Departamento de Ciencias Fisiológicas. Universidad de Concepción.

En vez del espacio (L^3) y del tiempo (T) "absolutos" de la Física de Newton, en los se res vivos la métrica espacio-temporal debería ser "relacional" (Leibniz). Ambas variables (L,T) se expresan en función de la masa (M) o del peso corporal ($W=M \cdot g$), siendo g la acele ración de gravedad.

En el interior del organismo (similitud biológica) el espacio es cuatridimensional ($V=L^4$) y el tiempo (T) es proporcional a $W^{1/4}$ como sucede con las frecuencias cardíaca y respiratoria, con la duración del crecimiento y de la vida.

En cuanto a la relación entre organismo y medio ambiente (locomoción), ésta se rige por la similitud "mecánica", en la que el espacio es euclideo ($V=L^3$) y el tiempo (T), así como la velocidad (v), son proporcionales a $W^{0.165}$, siendo la aceleración (a) invariante ($W^{0.0}$).

Con el fin de pasar de reposo a movimiento, la musculatura esquelética debe desarrollar una fuerza (F) para acelerar la masa corporal ($F=M \cdot a$), y una vez en movimiento prevalece el "momentum" ($m_0=M \cdot v$), que es proporcional a $W^{1.16}$.

Los organismos no son capaces de medir longi tudes (L) ni tiempos (T), sólo distinguen: 1) estado de reposo (estática); 2) aceleración y deceleración (dinámica); y 3) velocidades "re lativas" (cinemática) entre los organismos (predador vs presa).

CARACTERIZACION FLORISTICA DEL PARQUE NACIONAL CERRO NIELOL (IX REGION, CHILE). (Floristic characterization of the Cerro Nielol National Park, IX Región, Chile). Eauenstein, E. y Latsague, M. Depto. CC.NN., P. Univ. Católica de Chile, Sede Temuco. (Patrocinio: R. Godoy).

A pesar de las múltiples investigaciones realiza das en los Parques Nacionales de Chile, el Parque Nacional Cerro Nielol carece de mayores estudios al respecto. Dicho lugar se ubica en los $38^{\circ}43'S-72^{\circ}35'W$, posee una superficie de 80.6 has y una altura de 330 m s.m.

El presente trabajo entrega un catálogo de la flóru la vascular allí existente, se determina el espectro biológico y se compara el número de especies nativas e introducidas.

Las recolecciones se efectuaron en visitas periódicas al sector durante los años 1980-1982, empleándose para tal efecto los métodos de colecta intensiva y de parcelas para inventarios fitosociológicos.

Se determinaron 218 especies, distribuidas en 87 fa milias y 176 géneros. De éstas, 21 corresponden a Pteridophyta, 8 a Gymnospermae y 189 a Angiospermae. Di cho número, aunque similar al de otros Parques Naciona les chilenos (Tolhuaca, Vicente Pérez Rosales), es com parativamente mayor debido a la reducida superficie del lugar de estudio. Los resultados indican también una fuerte intervención antropogénica, ya que el porcentaje de especies aloctonas alcanza a un 44%, hecho que ayu daría a explicar el alto N° de especies. Otro aspecto importante de destacar es que en dicho lugar confluyen elementos típicos de la zona Mesomórfica, como el Sol dío y Peumo, y otros típicos de la zona Megomórfica, como el Coigüe y Ulmo. Por otra parte, el espectro bio lógico muestra una estrecha relación con el clima des crito para la región, puesto que hay un claro predomi nio de Fanerófitos y Hemicriptófitos.

Financiado por Proyecto DIUC 197-82.

ESTUDIO COMPARATIVO INMUNOCITOQUÍMICO DEL ÓRGANO SUBCOMISURAL DE DIFERENTES ESPECIES. (Comparative immunocytochemical study of the subcommissural organ). Hein, S., Rodríguez, E.M., Oksche, A. Instituto de Histología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile e Institut für Anatomie und Zytobiologie, Universität de Giessen.

La inmunoreactividad del órgano subcomisural (OS) de varias especies fue estudiada utilizando anticuerpos contra uno de sus productos de secreción vertidos hacia el líquido cefalorraquídeo (LCR), la Fibra de Reissner. Se utilizó el procedimiento de inmunoperoxidasa.

Se estudiaron veinticinco especies correspondientes a anfibios, reptiles, aves y mamíferos. Las principales conclusiones de este estudio son:

1. Solamente el OS del hombre, chimpanzee y orangután no reaccionaron con los anticuerpos utilizados.
2. El OS de todos los primates estudiados carece de células hipendimarias inmunoreactivas. Todas las otras especies mostraron una capa hipendimaria muy bien desarrollada.
3. A juzgar por la distribución del material inmunoreactivo, se pueden postular tres sitios de liberación: LCR ventricular, LCR subaracnoideo y sangre. La ruta subaracnoidea es muy prominente en vertebrados inferiores y está virtualmente ausente en primates. Las rutas venricular y vascular están presentes en todas las especies estudiadas, aunque el grado de desarrollo de los contactos epéndimo-vascular, varía entre las especies.
4. El material secretorio inmunoreactivo es estable a través de la evolución de los vertebrados.

Financiado por Proyecto RS-82-18, Dirección de Investigación, Universidad Austral de Chile y Grant N° I/38 259, Stiftung Volkswagenwerk.

ACTIVACION CORTICAL INDUCIDA POR MORFINA TÓPICA: EFECTO SOBRE LA ACTIVIDAD BIOELÉCTRICA DE LA SUSTANCIA GRIS PERIAQUEDUCTAL (Topical morphine-induced cortical activation: Effect on the bioelectrical activity of the periaqueductal gray matter) Hernández, A., Neira, S. y Soto-Moyano, R. Laboratorio de Neurofisiología y Biofísica. INTA, Universidad de Chile.

La excitación de áreas somestésicas corticales inducidas por aplicación tópica de morfina provoca un significativo aumento del umbral de reacción de la rata tanto al dolor fásico como al dolor tónico. El mecanismo por el cual la activación cortical farmacológica produce analgesia podría deberse a una acción a nivel de la corteza misma o a impulsos corticofugos capaces de controlar la información nociceptiva a niveles subcorticales. En el presente trabajo se estudió el efecto de la activación del área SI de la corteza cerebral sobre las respuestas somestésicas evocadas en la sustancia gris periaqueductal (SGP).

Se utilizó 20 ratas Wistar anestesiadas con 100 mg/kg de α -clorolosa i.p. Los registros a nivel cortical y de la SGP fueron realizados mediante técnicas electrofisiológicas convencionales. La activación cortical se obtuvo mediante la aplicación tópica de morfina 1%. En todos los casos se administró posteriormente 1 mg/kg de naloxona i.v.

Los resultados muestran que la excitación del área SI por morfina tópica induce un significativo aumento de la amplitud de las respuestas evocadas en la SGP, las que mostraron un estrecho paralelismo con los cambios observados en las respuestas corticales. Naloxona no antagonizó estos efectos.

Se sugiere que la modulación de la actividad bioeléctrica de la SGP por influjos corticofugos puede estar involucrada en los mecanismos farmacológicos de control del dolor.

Proyecto B-1768 - 8313. Universidad de Chile.

LACTACIDEMIA EN JOVENES SOMETIDOS A ENTRENAMIENTO FÍSICO (Blood lactate in young boys submitted to physical training). Hernández, D.; Sandoval, I.; Guajardo, J. y Figueroa, H. Laboratorio de Fisiología, Sede del Maule, Pontificia Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: J. Maulén).

Durante ejercicios intensos, los niveles de ácido láctico sanguíneo se elevan en forma considerable como consecuencia del aumento de este metabolito a nivel muscular y se ha descrito que en pruebas supremas, atletas de élite son capaces de acumular mayor cantidad de ácido láctico en el torrente sanguíneo. El objetivo de este trabajo, fue establecer si este cambio es posible de observar en adolescentes no deportistas, sometidos a entrenamiento físico. A 44 jóvenes de 14 a 18 años de edad, sanos, se les dividió en dos grupos: entrenados (GE)(n=21) y control (GC)(n=23). El GE ingresó a un programa de entrenamiento físico predominantemente aeróbico, de 5 sesiones semanales, de 60 mins. cada una, durante 10 meses. El GE sólo realizó las actividades físicas propias de la edad. Posteriormente en ambos grupos se determinó la lactacidemia post-ejercicio supremo, realizado en treadmill. El GE alcanzó un valor promedio de $17,8 \pm 3,4$ mMol/lit y el GC $15,3 \pm 2,7$ mMol/lit ($p < 0,01$). Por otra parte, el GE alcanzó este valor a una velocidad significativamente más alta ($p < 0,01$) que el GC, con valores de $316,7 \pm 28,9$ mts/min y $302,3 \pm 30,4$ mts/min respectivamente. Esto nos permite concluir que es posible obtener una mayor tolerancia al ácido láctico sanguíneo, en jóvenes sanos sometidos a entrenamiento físico en las condiciones señaladas.

INCORPORACION IN VITRO DE PRECURSORES DE MATRIZ EXTRACELULAR EN LA REGION DE DRENAJE DE HUMOR ACUOSO DEL OJO HUMANO. EFECTO DE GLUCOCORTICOIDES. (In vitro incorporation of labelled precursor of extra cellular matrix by cells of the outflow pathway region in the human eye. Effect of glucocorticoids) M. Rosario Hernández, C*, Carlos Reyes, C**, Eugenio Maul de la P** Luis Strozzi, V**. Depto. Morfología Experimental*, Fac. Medicina, Div. Norte y Depto de Ciencias Biológicas**, Unidad de Bioestructura, Fac. de Medicina, Div. Occidente, U. de Chile.

Se postula que la eliminación de humor acuoso en el ojo depende de la composición y/o distribución de matriz extracelular en la región de drenaje. Se ha demostrado en ojo de conejo que células de la región de drenaje incorporan in vitro precursores de colágeno y glicosaminoglicanos. Esta incorporación es modificada por glucocorticoides, hormonas que alzan la presión intraocular. Cortes meridionales de segmento anterior de ojos humanos frescos obtenidos de autopsias fueron incubados en medio de cultivo adecuado a 37°C por 24 horas, con o sin 10⁻⁸M Dexametasona, conteniendo uno de los siguientes precursores: ³H-Glucosamina, ³H-Prolina y ³⁵S Sulfato, ³H-Leucina y ³H-Triptofano. Los tejidos fueron fijados y procesados para autoradiografía. Los resultados evaluaron cuantitativa y cualitativamente. Se observó que células de trabéculo, endotelio del canal de Schlemm y fibroblastos de la esclerótica adyacente incorporan intensamente ³H-Prolina y ³H-Glucosamina. La adición de Dexametasona modificó significativamente esta incorporación. ³⁵S Sulfato fue incorporado escasamente en la región de drenaje. Los resultados obtenidos indican que las células de la región de drenaje incorporan precursores de colágeno y glicosaminoglicanos. El efecto de la dexametasona sugiere que el alza de la presión intraocular inducida por glucocorticoides se debe a alteraciones en la matriz extracelular que constituyen el obstáculo al drenaje de humor acuoso.

Grant - B 16348312 U. de Chile.

ANÁLISIS ESTACIONAL DEL CICLO SEXUAL EN OVARIO DE FISSURELLA MAXIMA (SOWERBY, 1834. ARCHAEAGASTROPODA : FISSURELLIDAE) EN EL NORTE DE CHILE. (Seasonal analysis of the sexual cycle in ovary of *Fissurella maxima* on the northern of Chile. Herrera, G. Departamento de Ciencias del Mar, Instituto Profesional de Iquique, Chile. (Patrocinio : E. Bustos).

En la zona norte de Chile, *Fissurella maxima* constituye uno de los recursos Fissurellidos más explotados. Sin embargo, son escasos los antecedentes sobre su biología reproductiva.

Secciones de 5 u provenientes de gónadas fijadas en bouin salino se tiñeron con hematoxilina y eritrosina. La caracterización de los estadios gonádicos se realizó en base a los criterios utilizados por Ramorino (1975) y Avilés et al. (1975), modificados. Del análisis de los datos, las más altas frecuencias en vitelogenénesis se registran en enero (80%) y en julio - agosto (66.7%), culminando la población en máxima madurez en marzo (88.9%) y en octubre (44.4%). Los períodos de evacuación de mayor intensidad se expresan en mayo (66.7%) y en noviembre (71.4%), encontrándose la población en franca previtelogenénesis en junio (87.5%) y en diciembre (57.1%).

Durante el período anual, *F. maxima* presenta dos ciclos sexuales de carácter estacional de igual intensidad y extensión. Sus etapas son claras, progresivas y pequeñas, sin períodos de reposo y de recuperación rápida. Aún cuando la evacuación puede ocurrir durante todo el año, se aprecian dos períodos reproductivos de significancia poblacional.

PROPORCIONES DE SEXOS EN GUNNERA MAGELLANICA LAM. (GUNNERACEAE) EN LA ZONA ANDINA, VOLCÁN CASABLANCA, VALLE DE ANTILLANCA, 40°LS. (Sex ratios in *Gunnera magellanica* Lam. (Gunneraceae) in the andean Zona, Volcán Casablanca, Valle de Antillanca, 40°LS). Hidalgo, L. Instituto de Botánica, Universidad Austral de Chile. (Patrocinio: C. Moreno).

Son frecuentes en especies vegetales, especialmente en aquellas de mayor longevidad, desviaciones en la proporción 1:1 entre individuos femeninos y masculinos. La explicación más aceptada para tales desviaciones radica en la mayor inversión de energía en estructuras reproductivas en las plantas femeninas y su consiguiente menor capacidad de competencia frente a las masculinas. Se estudian las proporciones de sexos en la hierba perenne *Gunnera magellanica* Lam, una especie dioica, en un gradiente altitudinal en el Volcán Casablanca, Valle de Antillanca, 40°LS.

Las proporciones de sexos fueron detectadas en cuadratos de 100 m², subdivididos en cuadrados menores de 1 m², a 1000 m, 1050 m, 1150 m, 1200 m y 1300 m de altura, registrando sólo clones de edad reproductiva. Para cada nivel altitudinal se determinó la biomasa (peso seco) de ambos sexos, conjuntamente con los contenidos energéticos (valores calóricos) de las hojas.

En el nivel altitudinal inferior se detectó un exceso significativo de plantas femeninas; en contraste en dos de los niveles intermedios se detectaron desviaciones significativas en la dirección de masculinidad. No se encontraron plantas masculinas a los 1300 m. Existe una correlación positiva entre la proporción de plantas masculinas y su biomasa, relativa a la de las femeninas. Considerando todos los niveles altitudinales, no hay diferencias significativas en las proporciones, biomasa, y contenido energético de los dos sexos.

DIUACH Proyecto RS-82-27 (Colaborador: M. Riveros G.)

TRANSPORTE DE CALCIO EN TUBULOS TRANSVERSALES AISLADOS DE MUSCULO ESQUELETICO DE CONEJO. (Calcium transport in transverse tubules isolated from rabbit skeletal muscle). Hidalgo, C. y Gonzalez, M.E. Department of Muscle Research, Boston Biomedical Research Institute y Department of Neurology, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, Estados Unidos. (Patrocinio E. Jaimovich.).

La fracción microsomal aislada de músculo esquelético de conejo se puede separar en dos poblaciones; la mayor parte corresponde a vesículas del retículo sarcoplásmico (90-95%) y el resto (5-10%) corresponde a vesículas de tubulos transversales, que son invaginaciones intracelulares de la membrana plasmática del músculo. Mediante sedimentación en gradiente de sacarosa es posible separar los dos tipos de vesículas y obtener una fracción de tubulos transversales libre de contaminación con vesículas de retículo sarcoplásmico. Las vesículas de tubulos transversales tienen la capacidad de transportar calcio con alta afinidad. El transporte de calcio en tubulos transversales difiere en varios aspectos del transporte de calcio en retículo sarcoplásmico. La velocidad de transporte en tubulos transversales es dos órdenes de magnitud menor que la del retículo sarcoplásmico, la dependencia de temperatura es diferente, y el transporte de calcio en tubulos transversales, al contrario del retículo sarcoplásmico, no es estimulado por aniones tales como oxalato y fosfato. Es probable que el transporte de calcio en tubulos transversales tenga un papel fisiológico en mantener baja la concentración intracelular de calcio durante el estado de reposo.

TINCIÓN DE COLAGENO EN CORTES DE TEJIDO MEDIANTE UNA REACCION ESPECIFICA. (Staining of collagen in tissue slices with a specific reaction). Horvath, A., González, E. y Fariñas, G. Departamento Ciencias Clínicas Pecuarias; Facultad de Ciencias Agrarias, Veterinarias y Forestales. Universidad de Chile.

El colágeno, proteína de gran abundancia en los tejidos animales, presenta grupos aldehídos en su estructura los cuales se encuentran libres o formando parte de entrelazos moleculares. El reactivo MBTH (N-Metil-benzotiazolidon-hidrazona) reacciona específicamente con grupos aldehídos formando compuestos coloreados característicos.

Se hicieron cortes por congelación de diversos tejidos, los que se sometieron a la reacción con MBTH.

Se obtiene una tinción que permite reconocer, con diferentes colores, los diversos tipos de colágeno, sobre todo cuando coexisten en un mismo tejido. También es posible observar que en un tejido hay gradaciones de un mismo color. Observando los diferentes tejidos, se encuentra que algunos tipos de colágeno, calificados bioquímicamente igual, como por ejemplo el colágeno tipo II, pueden presentar diferente coloración según el origen del tejido donde se encuentra; son entonces diferentes el color del cartilago del pabellón auricular que el cartilago de la tráquea.

Esta tinción, usada en varios cortes de diversos tejidos, tanto normales como patológicos, permite visualizar la presencia de los diferentes tipos de colágeno en un mismo tejido, así como alteraciones de los mismos, relacionadas principalmente con su estructura.

DISTRIBUCION ESPACIAL Y TEMPORAL DE LA RADIA-
CION SOLAR EN UN BOSQUE DE PINUS RADIATA.
(Spatial and temporal distribution of solar ra-
diation within a Pinus radiata forest). Huber,
A.W., Oyarzún, C.E. Instituto de Geociencias,
Fac. de Ciencias, Universidad Austral de Chile

Los regímenes de radiación en los bosques
son altamente variables debido a las interac-
ciones de una variedad de factores externos e
internos. La redistribución de la radiación
solar está regulada por los cambios estaciona-
les en la geometría tierra-sol, condiciones at-
mosféricas y características estructurales y
ópticas de la cubierta vegetal.

El objetivo de este trabajo es estudiar
la redistribución espacial y temporal de la ra-
diación solar que llega a un bosque adulto de
Pinus radiata, en los meses de verano de 1983,
en la zona de Valdivia. Para ello se utiliza-
ron radiómetros instalados en una torre metáli-
ca, en tres niveles de altura: sobre el bosque
(38 m), inicio de copas (15 m) y a nivel de
suelo (2 m).

Se observó que del total de radiación que
llega a nivel del dosel del bosque, el 70% es
retenida por las copas, el 1% por los troncos
y el 7% es absorbida por el suelo. El porcen-
taje de penetración de la radiación hasta el
nivel del suelo es del 11%, siendo mayor duran-
te días nublados que en días despejados. El
albedo promedio del bosque es de 21%, exhibien-
do un rango de variación diurna entre un 16%
al mediodía y 25-29% en la mañana y tarde, lo
que demuestra una fuerte dependencia de la ele-
vación solar. El albedo del suelo es de un
35% de la radiación solar incidente sobre él,
presentando variaciones según la relación ra-
diación directa-radiación difusa.

Proyecto RS-80-18, financiado por DIUACH.

INDUCCION OCULAR HETEROLOGA EMBRIONARIA (*Ga-
llus gallus* y *Coturnix coturnix japónica*).
(Heterologous ocular induction from embryonic
eye cells in quail-chick chimaeric aggregates)
Illanes, J.; Fuenzalida, M.; Coloma, I.; Brito, R. y Le-
mus, D. Depto. Morf. Exp. Lab. Embr. Exp. Fac.
Medicina, Universidad de Chile.

En la morfogénesis del globo ocular inter-
vienen tejidos de distinto origen, estructu-
ras que se integran armónicamente. El compor-
tamiento "in vitro" e "in situ" son compara-
bles. En este trabajo se analiza la conducta
de reagregados oculares heterólogos in vitro.

Se emplearon embriones de pollo y codorniz.
Extraídos los embriones, se procedió a micro-
disecar y fragmentar los esbozos oculares,
los que se incubaron en tripsina-pancreatina
al 1% a 37°C por 20 min. La disociación se
completó con agitación mecánica por 1 min. Se
sembró una microgota de la suspensión celular
en medio Eagle por 24 hrs. Las colonias obteni-
das se implantaron mediante filtro millipore
sobre alantocorion por 6-7 días.

Los reasociados se fijaron en Zenker para
la reacción de Feulgen. Estos mostraron la
formación de un esbozo ocular heterólogo
(cristalino-vesícula óptica).

Los reasociados fueron capaces de originar
un esbozo ocular quimérico. Posiblemente du-
rante la diferenciación actuarían morfógenos
no especie-específicos, capaces de inducir
células heterólogas. Estos serían los respon-
sables de la formación y regulación del desa-
rrollo del cristalino. Otros autores han ob-
servado también inducción embrionaria entre
tejidos de diferentes especies.

Grant : B-1401-8325 D.D.I. U. de Chile

PROYECCION DEL PULVINAR-LATERAL POSTERIOR (P-LP) SOBRE
EL GIRUS SUPRASILVIANO Y SU RELACION CON LOS MOVIMIENTOS
OCULARES. (Pulvinar-Lateral Posterior (P-LP) projection
upon suprasylvian gyrus and its relationship with eye
movements). Infante, C., Leiva, J., Palestini, M. y
Paredes, M. Departamento de Preclínicas, División de
Ciencias Médicas Oriente, Facultad de Medicina, Univer-
sidad de Chile.

Las proyecciones del P-LP sobre áreas corticales re-
lacionadas con movimientos oculares, hacen posible pen-
sar en alguna forma de interacción oculomotora entre am-
bas estructuras.

En 12 gatos adultos (encéfalo aislado) mantenidos
con respiración artificial, se implantó electrodos este-
reotáxicamente en ambos P-LP, a través de ellos se esti-
muló con pulsos eléctricos de intensidad y frecuencia
variables. Los registros de las respuestas unitarias
se realizaron con microelectrodos de Tg desde la región
del girus suprasilviano medio, mientras que la activi-
dad oculomotora se registró mediante electrodos de AgCl.

De un total de 94 unidades registradas en la corteza
cerebral (girus suprasilviano), 37 unidades (39%) fue-
ron manejadas por estimulación eléctrica del P-LP. Só-
lo en 14 unidades se analizó su comportamiento frente a
movimientos oculares, 7 unidades no estaban relacionadas
con movimientos oculares ni respondieron a estimulación
eléctrica del P-LP, 4 unidades sólo respondieron a esti-
mulación eléctrica del P-LP y 3 unidades relacionadas
con movimientos oculares fueron manejadas por estimula-
ción repetitiva del P-LP.

Estos resultados confirman proyecciones importantes
del P-LP sobre el girus suprasilviano, sin embargo, la
proyección sobre células asociadas a movimientos ocula-
res es escasa.

IDENTIFICACION DE LAS NEURONAS QUE ACTIVAN LA MEMBRANA
NICITANTE DE AVES. (Identification of the Activating
Neurons of the Nictitating Membrane of Birds). Inzunza,
O.; Bravo, H. Departamento de Anatomía, Facultad de Me-
dicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El movimiento de la membrana nictitante en las aves
está controlado por los músculos piramidalis y quadratus.
La ubicación de las neuronas que inervan a dichos múscu-
los es controvertida, no existiendo evidencias experimen-
tales directas al respecto.

Mediante transporte retrógrado de peroxidasa (HRP),
consecutiva a microinyección de ella en los músculos pi-
ramidalis y quadratus, se procedió a localizar las neuro-
nas marcadas utilizando la técnica histoquímica descrita
por Mesulam (1976).

El estudio microscópico de las secciones obtenidas
muestra que las neuronas motoras de los músculos piramida-
lis y quadratus se ubican en el complejo oculomotor. La
marcación en dicho núcleo es bilateral, siendo mayor el
número de neuronas ubicadas en el lado ipsilateral; esta
marcación ipsilateral si bien se concentra en uno de los
cuatro subnúcleos, compromete en menor medida a alguno
de los otros. Así, las neuronas motoras del músculo pi-
ramidalis se ubican principalmente en el subnúcleo dorso
lateral y en menor medida en los subnúcleos dorso medial
y ventro medial; las neuronas motoras del músculo qua-
dratus se ubican masivamente en el subnúcleo dorso medial
y en menor medida en el subnúcleo dorso lateral. La mar-
cación contralateral después de inyectar los músculos
quadratus y piramidalis se concentra en ambos casos en
los subnúcleos ventro medial y ventro lateral. En todos
los experimentos se observó una marcación consistente de
las neuronas sensitivas del ganglio semilunar y sólo en
un caso se observó además marcación en el núcleo mesence-
fálico del trigémino.

Parcialmente financiado por Proyecto DIUC 102/81.

MICROTUBULOS AXONALES EN RATAS DIABÉTICAS. (Axonal microtubules in diabetic rats). Iturriaga, R. Laboratorio de Neurocitología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: J. Alvarez).

En animales con diabetes experimental se ha encontrado reducción de la síntesis proteica y del transporte axónico. En estas condiciones se podría esperar reducción de la densidad de los microtúbulos axonales, organelos que sustentan el transporte. Ratas Sprague-Dawley machos (180-200 g) fueron inyectados con Aloxana (50 mg/Kg i.v.). Se consideraron diabéticas sólo aquellas ratas que presentaron glicemia superior a 2.5 g/l a las 24 horas y la mantuvieron hasta su sacrificio. Se estudió los calibres y la densidad microtubular en axones mielínicos de 3 μ de diámetro del nervio sural, a los 15, 30 y 60 días después de inducir diabetes. Se usó controles pareados en edad. La densidad de los microtúbulos permaneció constante en las ratas normales de diferentes edades (23-24 Microtúbulos/ μ^2). En los grupos de ratas diabéticas la densidad microtubular no fue significativamente diferente con respecto a sus controles. A los 60 días el promedio del diámetro de los axones de las ratas diabéticas fue menor (-10%, $p < 0.01$) que en los controles (4.07 μ). Estos resultados permiten proponer que la neurona de la rata diabética sigue regulando el contenido microtubular en sus valores normales con respecto al calibre axonal y sugieren que la reducción en el transporte se debe a mecanismos ajenos al contenido microtubular o a alguna alteración del calibre de los axones.

Este trabajo fue financiado por el proyecto DIUC 86-83.

DEGRADACION DE PROTEINAS MITOCONDRIALES EN LEVADURA CULTIVADA EN MEDIO LSM* (Degradation of mitochondrial proteins in yeast grown in LSM* medium). Jacob, G., Téllez, R. y George-Nascimento, C. Depto. Ramos Básicos, División Oriente, Facultad de Medicina Universidad de Chile y Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Puerto Rico. (Patrocinio: P. Donoso).

Trabajos anteriores de nuestro grupo han demostrado que en mitocondrias de levaduras crecidas en REM* existe proteólisis estimulada por ATP de las proteínas sintetizadas in vitro por mitocondria aislada. Con ATP 4 mM la estimulación es de 4-5 veces.

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos con mitocondrias de levaduras cultivadas en LSM*, medio ampliamente usado para sintetizar proteínas in vivo, utilizando como precursor $^{35}\text{SO}_4$.

- 1.- Las proteínas mitocondriales totales sintetizadas in vivo se degradan lentamente y la proteólisis no es estimulada por ATP, en concentraciones hasta 20 mM.
- 2.- La incorporación de ^{35}S -metionina en mitocondrias aisladas es significativamente menor que en el caso de las células crecidas en REM*.
- 3.- Al estudiar la degradación de proteínas sintetizadas por mitocondrias aisladas, no se observa la estimulación por ATP, en concentraciones hasta 20 mM.
- 4.- La estimulación por ATP aparece al cambiar las células de LSM* a REM*, al crecer en éste 1/3 de generación, y desaparece al cambiar de REM* a LSM* con un crecimiento en éste de 1/2 generación.

Se discute la posibilidad de inducción de la actividad proteolítica en el medio REM* y otras alternativas.

LSM* = medio completo con 0,3 % de extracto de levadura y 0,007 M en SO_4 . REM* = medio completo con 0,1 % de extracto de levadura y 1,1 M en SO_4 .

TRANSPORTE INTESTINAL EN MAMIFEROS Y AVES: INHIBICION POR METALES PESADOS (Mammalian and avian intestinal transport: inhibition by heavy metals). Iturri, S., Peña, A. y Pino, C. Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Mercurio, cadmio y plomo son considerados metales pesados capaces de inducir una serie de cambios biológicos en órganos y tejidos. Evidencias experimentales demuestran que el epitelio intestinal es uno de los tejidos más sensibles cuando está expuesto a la acción tóxica de compuestos químicos.

El presente trabajo se realizó con el objeto de estudiar el efecto de Hg^{2+} , Cd^{2+} y Pb^{2+} solos y combinados sobre el transporte de azúcares (glucosa) y aminoácidos (tirosina) en epitelio intestinal de rata y paloma.

Sacos de intestino evertido se incubaron a 37° y 41°C en un baño con solución Krebs-Henseleit que contenía D-glucosa (5-10mM) y L-tirosina (2mM). El transporte activo de estos compuestos se evaluó, determinando el aumento de concentración en el interior del saco al cabo de 60 minutos. Los resultados demuestran que Hg^{2+} , Cd^{2+} y Pb^{2+} (10^{-6} - 10^{-5} M) inhiben el transporte activo de glucosa y tirosina, siendo dicha inhibición mayor con el aumento de concentración de estos iones. El efecto inhibitorio es $\text{Hg} > \text{Cd} > \text{Pb}$. Combinación de estos iones (10^{-5} M) tienen un efecto inhibitorio igual o menor que cada uno de los iones considerados individualmente. Se discute la posibilidad que la inhibición del transporte este asociado a una inhibición de la Na^+/K^+ ATPasa.

Financiado por DDI-Universidad de Chile Proyecto # B-1579-821-4.

ANTICUERPO MONOCLONAL RUK-4G2 REQUIERE PARA UNIRSE AL ANTIGENO: BIVALENCIA DEL ANTICUERPO Y AGREGACION DEL ANTIGENO. (Binding of monoclonal antibody RUK 4G2 to the antigen requires bivalency of the antibody and antigen aggregation). Jaureguiberry, B. y De Ioannes, A.E. Laboratorios de Fisiología y Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La respuesta inmune humoral contra la mayoría de los antígenos conduce a una mezcla compuesta por anticuerpos que difieren en afinidad, valencia, avidez y especificidad. Una proporción óptima entre los anticuerpos y el antígeno conduce generalmente a la inmunoprecipitación del complejo. En contraste los anticuerpos monoclonales reconocen un solo determinante antigénico en proteínas monoméricas. Esta condición afecta severamente la avidez y la unión depende fundamentalmente de la constante de afinidad; si esta es baja el complejo tenderá a disociarse.

Una fusión somática entre linfocitos esplénicos provenientes de un ratón inmunizado con calicreína urinaria de rata generó un hibridoma que secreta un anticuerpo de la subclase IgG1, que es específico del antígeno por inmunoensayo enzimático en fase sólida (ELISA). Intentos de demostrar interacción con el antígeno en solución mostraron inhibición sólo a altas concentraciones del antígeno.

Excluyendo la presencia de un contaminante se podría pensar que el anticuerpo estaría dirigido contra un determinante antigénico oculto que es expuesto, al adsorberse el antígeno, a la fase sólida o también que el arreglo del antígeno en la placa (ELISA) conduzca a la "multivalencia", lo que favorecería una unión más estable con el anticuerpo.

Esta última hipótesis es apoyada por la observación que el antígeno polimerizado compete por el anticuerpo. Además el fragmento Fab preparado por degradación con papaína se une pobremente a la fase sólida en comparación con el F(ab)2.

Financiado por Proyecto DIUC 303/81.

SEGUNDO REGISTRO DE Parastacus araucanus FAXON, 1914, (CRUST: DECAP: MACRURA). (Rediscovery of P. araucanus Faxon, 1914, (Crust: Decap: Macrura)).
Jara, C.G. Instituto de Zoología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Cuatro de las cinco especies de camarones dulceacuícolas chilenos son Parastácidos. P. araucanus Faxon, fue descrito sobre la base de un único ejemplar macho colectado en Corral (Prov. de Valdivia) en 1908. Desde su descripción la especie no ha sido registrada de nuevo a pesar del esfuerzo de muestreo desarrollado en el área tipo. La brevedad de la descripción y la carencia de material de referencia han impedido establecer la posición sistemática de la especie y sus posibles relaciones filogenéticas. Se ha supuesto que P. araucanus se asemeja a P. spinifrons (Phil.) y ambos transferidos al género Samastacus Riek. Sin embargo el descriptor lo relacionó con los camarones cavadores P. pugnax (Poeppig) de Concepción y P. nicoleti (Phil.) de Valdivia.

Se comunica aquí el hallazgo de un segundo ejemplar (macho) de P. araucanus y el primero después de casi 70 años de su descripción. El ejemplar fue colectado en el Campus Teja de la Universidad Austral, donde coexiste con P. nicoleti. Difiere de éste por la forma y el tamaño de las quelas y por la coloración.

P. araucanus es morfológicamente afín a P. pugnax pero la estructura de la papila genital, tubular calcificada y muy elongada, lo relaciona con S. spinifrons. P. araucanus no se ajusta plenamente a la diagnosis de Parastacus ni de Samastacus por lo que se discute su ubicación en un nuevo género.

Parcialmente financiado por Proyecto RS-80-33 de Dirección de Investigación y Desarrollo, Universidad Austral de Chile.

DIFFERENCIACION DE CRISTALINO EN EPIBLASTO DE BLASTODERMO DE POLLO CULTIVADO "IN VITRO". (Lens differentiation in the epiblast of chick blastoderm cultured "in vitro"). Jorquera, B., Goicoechea, O. y Molinari, E. Instituto de Embriología. Facultad de Ciencias. Universidad Austral de Chile.

Estudios "in vitro" sobre inducción de cristalino en anfibio, ave y mamífero, proponen un proceso multifásico de influencias directivas y permisivas capaces de diferenciar cristalino aún en ausencia de vesícula óptica. Epiblastos de blastodermo de pollo "in vitro", forman cristalinós por acción de al menos 2 factores: 1) influencia específica del hipoblasto cefálico en estado posterior a línea primitiva, y 2) acción permisiva de mesénquima heterotópica.

Con el objeto de conocer la exacta competencia del epiblasto cefálico frente a estos 2 factores, se realizaron experiencias de disociación y asociación "in vitro" en blastodermos de pollo (Est. 2-5 H.H.). El epiblasto fue cultivado aislado o asociado con hipoblasto cefálico y/o dermis. Estructuras lentoides fueron reconocidas inmunológicamente.

El epiblasto cefálico generó cristalino, en todos los casos. La presencia del dermis no fue significativa y el hipoblasto, si bien aumenta la frecuencia, no es indispensable durante el cultivo.

Estas experiencias descartan la acción del dermis como inductor permisivo y sugieren que la influencia del hipoblasto debería acaecer al menos en el estado 2. Se discute la acción inductora preliminar del hipoblasto cefálico y el tejido neural.

Proyecto: RS-80-19 UACH.

EFEECTO DE PEPSTATIN EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO PRECOZ DE ERIZO NEGRO. (Effect of Pepstatin on early development of sea urchin eggs T. nigerr). Jerez, D.; Enriquez, S. y Sánchez, L. Depto. Biología Molecular. Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales. Universidad de Concepción.

En el huevo de erizo negro no fecundado se han aislado por cromatografía de afinidad dos proteasas ácidas que presentan características de catépsina D. El pepstatín, un pentapeptido de origen microbiano es un inhibidor específico de estas enzimas. En la presente comunicación se informa sobre el efecto in vivo de este inhibidor en la actividad enzimática y su relación con el contenido de proteínas y el desarrollo embrionario precoz.

Los huevos no fecundados fueron preincubados con pepstatín (9.5 ug/ml) por cuatro horas a 18°C en agua de mar filtrada. La penetración del inhibidor se midió por determinación de la actividad enzimática en alícuotas de huevos to madas a diferentes tiempos. Después de este período fueron fecundados y analizados al microscopio de luz hasta tres horas.

La actividad enzimática disminuyó en función del tiempo hasta en un 40% aproximadamente y se observó un aumento de las proteínas endógenas lo que sugiere una disminución de la degradación de proteínas intracelulares.

El efecto del inhibidor sobre el desarrollo embrionario se traduce en cambios morfológicos en la membrana de fecundación y en la aparición de estados anormales de número de células.

Proyecto N° 203101. Financiado por Dirección de Investigación Científica. Universidad de Concepción.

DISTRIBUCION DE $K^+NPPase$ GASTRICA EN RELACION A LA SECRECION DE HCl. ESTUDIO CITOQUIMICO (Distribution of gastric $K^+NPPase$ in relation to hydrochloric acid secretion. Cytochemical study). Dpto. de Biología Celular. Pontif. Universidad Católica de Chile. Cecilia Koenig y Alejandro Munizaga.

La $ATPase (K^+H^+)$ constituye la bomba que intercambia H^+/K^+ , en vesículas aisladas de glándulas gástricas. La secuencia de reacciones de la enzima incluye una fosfoproteína-fosfatasa que se define con $K^+NPPase$ (insensible a ouabaina). Se postula a esta enzima como responsable del transporte activo de H^+ por la membrana secretora de células oxínticas. En la célula en reposo, sin embargo, la membrana del polo secretor aparece como el sistema tubular intracitoplásmico, mientras que en la célula en secreción activa, parece haberse integrado a la membrana que recubre la elaborada superficie luminal.

La localización citoquímica de la $K^+NPPase$ en células oxínticas en estado funcional definido, permitiría ubicar en la membrana a la enzima activa y analizar la transición entre ambos sistemas.

En el presente trabajo se aplica una modificación del método de Mayhara para localizar la enzima en estómago de ave, anfibio y mamífero. El producto de reacción específico se localiza exclusivamente en las células oxínticas. En las células en reposo secretor se distribuye entre los túbulos del sistema intracelular. En las células en secreción se concentra adosado internamente a la membrana celular de las prolongaciones luminales.

Se concluye que la $K^+NPPase$ se encuentra presente como enzima activa en ambas disposiciones de las membranas del polo secretor, siendo una consecuencia del cambio de configuración de la célula, durante la inducción de la secreción de HCl, la exposición y concentración hacia la superficie luminal del sistema enzimático involucrado en la extrusión activa de protones.

RECEPTORES DE NEUROTENSINA EN EL ESTOMAGO DE LA RATA (Neurotensin receptors in the rat fundus). Ku - llak, A. y Huidobro-Toro, J.P. Laboratorio de Farmacología, Departamento de Ciencias Fisiológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Con el fin de conocer si neurotensina (NT) posee receptores propios y si este péptido pudiera ser un mediador del reflejo gastro-cólico, investigamos el efecto de NT sobre contractilidad del estómago de la rata. Segmentos del fundus fueron perfundidos con solución Tyrode burbujeada con O_2/CO_2 en un baño a $37^\circ C$; se registró actividad muscular isométricamente con un transductor de fuerza en un polígrafo. NT, NT 8-13 y xenopsina, un análogo de NT, producen contracciones dosis-dependiente ($0.1-30$ nM) resistentes a tetrodotoxina y a apamina. NT es aproximadamente 15 veces más potente que serotonina, 100 veces más activa que acetilcolina y 10.000 veces más potente que histamina aunque su efecto máximo es menor. NT actúa activando selectivamente un receptor propio y no un sitio inespecífico en la membrana celular. Esta afirmación se basa en los siguientes hallazgos: 1) la afinidad de NT, NT 8-13 y xenopsina es de aproximadamente 1 nM, valor que es 10-1000 veces menor que el de otros péptidos. 2) El fundus se desensibiliza rápidamente al efecto contráctil de NT, reacción que es cruzada a xenopsina y NT 8-13, pero no a la contracción muscular producida por bombesina, substancia P, bradisinina, angiotensina, serotonina, histamina o acetilcolina. La desensibilización no se debe al metabolismo de NT, ni a fatiga muscular. Estos resultados implican la existencia de receptores específicos para NT en la membrana externa de los músculos lisos del fundus, y permiten suponer que la NT endógena podría jugar un rol en el control de la motilidad gastrointestinal. Parcialmente financiado por Proyecto DIUC 200/83.

AISLAMIENTO DE VESICULAS DE ALMACENAMIENTO DE NORADRENALINA MEDIANTE EL USO DE GRADIENTES ISOTONICAS DE PERCOLL (*). (An isolation procedure for noradrenergic storage vesicles by using isotonic Percoll gradients). Lara, H. y Belmar, J. Lab. Farmacología-Bioquímica, P.U. Católica y Fac. Ciencias Básicas y Farmacéuticas. U. de Chile.

El conocimiento de la organización bioquímica de las vesículas de almacenamiento noradrenérgicas ha sido fundamental para entender el rol de estos organelos subcelulares en la neurotransmisión. Habitualmente se han purificado mediante gradientes de sacarosa, sin embargo siendo éstas hipertónicas, pueden afectar la integridad funcional de la partícula. En este trabajo se ha desarrollado un método simple y rápido que hace uso de gradientes autogenerantes de Percoll para aislar vesículas noradrenérgicas de ovario de gato.

Por centrifugación diferencial de los homogeneizados de ovario se aisló la fracción con mayor actividad específica para Noradrenalina (NA), usado como marcador vesicular. Esta fracción fue sometida a centrifugación a 5800 xg, $30'$ en un gradiente de Percoll entre $1,050$ y $1,030$ gr/ml. Se obtuvo una fracción vesicular con una mínima contaminación mitocondrial y de membrana plasmática, comparable a las de nervio esplénico y con un aumento en la actividad específica para NA de 6-7 veces, semejante a la obtenida en gradientes de sacarosa. Esta fracción presenta una densidad modal de equilibrio de $1,042$ gr/ml. La región soluble de la gradiente presentó una muy baja actividad de NA, lo cual asociado a la ubicación de los trazadores en un tramo de menor densidad que en sacarosa, sugiere una muy buena preservación del organelo.

El uso de este método de purificación permitirá la caracterización bioquímica de las vesículas de almacenamiento de NA en este órgano.

(* Financiado por DIUC 84/81 y PNUD/UNESCO CHI-81-001.

BICAPAS DE LIPIDOS EN MICROELECTRODOS: UNA PODEROSA TECNICA PARA LA RECONSTITUCION DE CANALES IONICOS. (Lipid bilayers on microelectrodes: A powerful technique for the reconstitution of ionic channels). Latorre, Ramón y Coronado Roberto. Depto. de Biología, Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas, Santiago, Chile y Dept. of Pharmacology, University of North Carolina, Chapel Hill, EEUU.

Recientemente se ha puesto un gran énfasis en desarrollar técnicas de reconstitución que permitan el estudio de canales iónicos a un nivel molecular. Esto ha sido posible mediante la inserción de fragmentos de membranas en bicapas planas de lípidos. Sin embargo, debido al tamaño de estas (>100 nm de diámetro), la resolución temporal y la resolución de las corrientes iónicas que pasan por los canales se ven severamente limitadas. En este tipo de bicapas podemos resolver 1 pA en 1 ms, o sea, nos limita a canales relativamente lentos y de conductancia grande. Nosotros hemos desarrollado un método en el cual las bicapas de lípidos se forman en la punta de un microelectrodo cuya apertura tiene un diámetro de ~ 1 μ m. Este consiste en sumergir el microelectrodo en una solución de electrolitos y esparcir en ella una monocapa de lípidos en la interfase aire/agua. La bicapa se forma haciendo salir y entrar el microelectrodo en la solución. Hemos caracterizado estas bicapas usando un transportador (nonactina) y un canal iónico (gramicidina) cuyos mecanismos de transporte de iones se han caracterizado en detalle en membranas artificiales. También hemos formado las bicapas usando monocapas que se forman espontáneamente en la interfase aire/agua a partir de vesículas nativas de membranas de músculo cardíaco y membranas de axón. En este tipo de bicapas hemos observado varios canales diferentes, incluyendo uno de potasio involucrado en la repolarización del potencial de acción del nervio. Esta técnica permite el estudio de canales iónicos con una resolución de 1 pA en 0.1 ms, es decir con una resolución un orden de magnitud mayor que la obtenida en bicapas planas convencionales y por lo tanto se podrán detectar canales pequeños y rápidos como lo son aquellos involucrados en la excitabilidad nerviosa y muscular.

LOCALIZACION SUBCELULAR DE POLIAMINA OXIDASA Y ESPERMIDINA N-ACETYLTRANSFERASA EN HIGADO DE RATA. (Subcellular localization of polyamine oxidase and spermidine N-Acetyltransferase in rat liver). Lazo, O., Laboratorio de Citología Bioquímica, Depto. de Biología Celular, Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: M. Bronfman).

Las poliaminas (PAs) están involucradas en varios procesos celulares incluyendo proliferación y diferenciación. Aunque la biosíntesis de las PAs es conocida, sólo en los últimos años se ha avanzado en el conocimiento de su catabolismo. Es así como se han descrito dos enzimas fundamentales en la vía de degradación, ellas son la espermidina N-Acetyltransferasa (EAT) que acetila PAs las que luego sirven de sustrato a la poliamina oxidasa (PAO) la que oxida espermina en espermidina y a ésta última en putrescina.

Se desconoce la localización subcelular de estas enzimas con excepción de antecedentes presentados por Holttta (Biochem. 16:91-100, 1977) que sugieren que la PAO sería una enzima peroxisomal.

Hemos estudiado la localización subcelular de la PAO en hígado de ratas normales y de la EAT después de inducción con CCl_4 , mediante fraccionamiento subcelular por centrifugación diferencial y gradiente isopícnico en Mertrizamida.

La actividad PAO se determinó espectrofotométricamente por la producción de H_2O_2 acoplada al sistema peroxidasa-leucodiolofluoresceína. La actividad EAT se determinó mediante el método radiactivo descrito por Matsui y col. (J. Biol. Chem. 256:2454-2459, 1981).

Hemos confirmado que la PAO es una enzima de localización exclusivamente peroxisomal. La EAT se encuentra localizada en la fracción soluble de hígado de rata tratada con CCl_4 .

Estos resultados confirman la participación de los peroxisomas en el catabolismo de las PAs.

Financiado Proyecto DIUC 58/82
PNUD UNESCO CHI 81/001
DIUC 403-83

ACTIVIDAD ANTAGONISTA A GnRH EN HIPOTALAMO. (Antagonist activity to GnRH in Hypothalamus). Leal, J. - Laboratorio de Endocrinología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. (Patrocinio: M. De la Lastra).

En el hipotálamo se ha descrito la presencia de Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH) y de una actividad inhibitoria de dicha hormona sobre la secreción de LH y ovulación. En la presente investigación se intentó separar el material inhibitor presente en hipotálamos de ratas hembras y en eminencia media (EM) de vaca. Para esto se utilizó una técnica de fraccionamiento subcelular y un método de extracción química para péptidos, seguido de filtración por Sephadex G25.

Las fracciones obtenidas se ensayaron en dos tests biológicos: 1) Ovulación inducida con LH o Gn-RH e/v en ratas cuya ovulación espontánea está bloqueada con clorpromazina inyectada en la mañana del proestro. 2) Secreción de LH y FSH inducida con Gn-RH en ratas machos inmaduros.

La actividad inhibitoria de la ovulación y de la secreción de LH estaba asociada a la fracción nuclear de hipotálamo de rata y a la fracción microsomal de EM de vaca. La filtración por Sephadex G25 de una fracción soluble en ácido acético 0,5M y Metanol, obtenida de hipotálamo de rata dió dos fracciones capaces de inhibir la ovulación (Peaks 1 y 3).

El material de vaca, obtenido con igual tratamiento, dió una fracción (peak 1) que inhibió la ovulación sin afectar la secreción de LH ni de FSH y otra fracción (peak 3) que no afectó la ovulación ni la secreción de FSH, pero inhibió significativamente la de LH. Estos hallazgos sugieren la presencia de uno o más factores inhibitorios de acciones del GnRH, de naturaleza probablemente peptídica.

Investigación financiada por Proyecto DIUC 69/82 y Fundación Rockefeller Proyecto RF 83016.

PURIFICACION Y CARACTERIZACION DE ACROSINA ESPERMATICA HUMANA. (Purification and characterization of human spermatic acrosin). Leyton, L., De Ioannes, A. y Croxatto, H. B. - Departamentos de Biología Celular y Ciencias Fisiológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile.

La acrosina es una serina-proteasa que se supone asociada a la membrana acrosomal interna del espermatozoide de mamíferos. Se le han atribuido numerosas funciones en la fecundación, siendo la penetración del espermatozoide a través de la zona pelúcida la mejor documentada, pero ninguna de ellas ha sido confirmada. Con el fin de obtener anticuerpos específicos que permitan desarrollar técnicas adecuadas para verificar o rechazar las hipótesis sobre función y localización de la acrosina, se purificó y caracterizó acrosina espermática humana.

Muestras de semen humano fresco desechadas por laboratorios diagnósticos después de confirmar espermioграмма normal, se sometieron a un procedimiento de extracción con ácido. Los extractos se concentraron por ultrafiltración y se pasaron por columna de filtración en gel para eliminar inhibidores endógenos. Las fracciones activas se sometieron a cromatografía de afinidad utilizando el inhibidor de tripsina del poroto de soya ligado a sefarosa 4B. La caracterización de la fracción activa indica que la enzima tiene actividad esterásica y proteolítica, que es inhibida por inhibidor de tripsina del poroto de soya, N- α -tosil-L-Lisina clorometilcetona, p-aminobenzamida, benzamida y D-fructosa y es capaz de disolver zona pelúcida de ovocitos humanos y de hamster. La Km y el peso molecular calculado por electroforesis en gel de poliacrilamida coinciden con los señalados en la literatura para otras acrosinas. El análisis de aminoácido N-terminal, mostró un sólo dansil derivado correspondiente a Isoleucina el cual ha sido descrito como un aminoácido conservado en serina-proteasas de eucariotes. Las características señaladas indican que se obtuvo acrosina en un alto grado de pureza.

Financiado por IDRC.

ORGANIZACION DE LA CROMATINA DE ESPERMATOZOIDES NORMALES Y TERATOSPERMICOS. (Chromatin analysis of normal and teratospermic sperms). Leiva, S. y Agar, Ana María. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se ha postulado una estructura anómala de la cromatina de espermatozoides con morfología alterada presente en el semen humano y de toro, la cual evidencia un menor grado de empaquetamiento y estabilidad al compararla con la de normoespermios (Gledhill, 1970; Leiva, 1981; Leiva y Bustos-Obregón, 1982).

En semen humano con alta y baja teratospermia se analizó la reactividad de la cromatina y el grado de asociación del complejo ADN/Proteínas utilizando un colorante catiónico metacromático, con y sin previo tratamiento de hidrólisis ácida y de reductores de S-S.

Los resultados muestran que la interacción entre el colorante y los radicales fosfatos del ADN de células sin tratamiento previo, colorea ortocromáticamente los espermatozoides de forma normal (oval) y un bajo porcentaje de anómalos (6-5%); se observan metacromáticos, los espermatozoides anómalos y un porcentaje de normas presentes en ambos tipos de semen.

Se detectan diferencias al aplicar tratamiento de hidrólisis, modificándose el porcentaje de células metacromáticas en semen con escasa teratospermia y una disminución considerable del porcentaje de células metacromáticas correspondiente a espermatozoides normales y anómalos presentes en el semen con alta teratospermia.

Este comportamiento y las modificaciones observadas en los preparados tratados con reductor de S-S, indicarían que se está induciendo una desorganización de la cromatina, ya sea por depolimerización del ADN y/o pérdida de proteínas que afectaría a los teratospermicos y a un porcentaje de normales, reflejando posibles anomalías físico-químicas y fisiológicas de estos espermatozoides.

MODIFICACIONES DE LA GONADA DE 3 ESPECIES PINGUINOS DURANTE EL PERIODO REPRODUCTIVO EN I. ARDLEY, ANTARTICA CHILENA. (Gonadal modifications in three penguin species during the breeding season in Ardley Island, Chilean Antarctica). Victor Leyton C. y José Valencía Depto Morf. Exp. Fac. de Medicina y Depto de Ciencias Ecológicas, Fac. de Ciencias Básicas y Farmacéuticas. U. de Chile.

Los pingüinos del Género *Pygoscelis* son abundantes en el área de las islas Shetlands del Sur. Existen tres especies de tamaño y peso similares: *P. papua*, *P. adeliae* y *P. antarctica*, que sobrepone su rango de distribución. El difícil acceso al lugar geográfico y la fragmentaria información sobre aspectos básicos de la ecología de estas especies han motivado el estudio del ciclo reproductivo anual.

Del total de 47 ejemplares adultos colectados mensualmente durante una estación reproductiva (Agosto 82-Marzo 83) en la Isla Ardley (62° 13'S), se analizó la morfología macro y microscópica de testículos y ovarios. En cortes histológicos se midió el diámetro de los túbulos seminíferos, grosor de la albugínea y espacio intersticial; en ovarios se observó el grado de desarrollo folicular en relación a las fechas de postura y eclosión de los huevos. Esta información se completó con observaciones de terreno sobre cortejo, construcción de nidos, incubación, etc.

Al inicio de la estación reproductiva hay aumento de los índices de actividad testicular, con descenso rápido luego de la cópula y alcanzando una fase de inactividad completa al término de la incubación de los huevos. La vitelogenénesis en los ovarios es también acelerada y culmina con la postura de 1-2 huevos. Se observó asíncronía en la formación de colonias, actividad de cortejo, incubación de los huevos, aparición de las crías, y fases del ciclo testicular en las tres especies estudiadas. Los resultados se describen en relación a la coexistencia en I. Ardley de las 3 especies de *Pygoscelid*os durante el período reproductivo.

Grant - B -1497-8133 U. de Chile; INACH.

MEMBRANAS AISLADAS DE MUSCULO ESQUELETICO DE ANFIBIO. CARACTERIZACION EN BASE A MARCADORES ESPECIFICOS. (Isolated membranes from amphibian skeletal muscle. Characterization based on specific markers). Liberona, J.L. Parra, C. y Jaimovich, E. Depto. Fisiología y Biofísica, Fac. de Medicina, U. de Chile.

Se utilizaron diversos procedimientos de fraccionamiento subcelular que incluyen centrifugación diferencial, alta fuerza iónica y sedimentación en gradiente de sacarosa para obtener distintas fracciones de vesículas de membrana de músculo esquelético de rana. Se midió en estas preparaciones: a) receptores de ³H-tetrodotoxina como marcador del canal de sodio dependiente de potencial, b) receptores de ³H-Nitrendipina como marcador de canal de calcio dependiente de potencial, c) receptores de ³H-ouabaina como marcadores de la bomba de sodio y d) actividad ATPasa dependiente de cationes mono y divalentes.

Los marcadores se encuentran presentes en proporciones muy diversas en las distintas fracciones. Se destaca la presencia de dos familias de receptores de tetrodotoxina (Kd $3 \cdot 10^{-10}$ y $4 \cdot 10^{-10}$ M) y dos familias de receptores de ouabaina (Kd 10^{-8} y $4 \cdot 10^{-10}$ M). Se encuentra actividad ATPasa dependiente de Na y K, ATPasa dependiente de Ca⁺⁺ y ATPasa dependiente de Ca⁺⁺ y Na⁺.

En base al perfil de marcadores para cada fracción se pretende identificar las vesículas como originadas en membranas de superficie, túbulos transversales y retículo sarcoplásmico.

Proyecto B9128345 DDI U. de Chile.

MODULACION DE LA ACTIVIDAD SIMPATICA POR BRADICININA: PARTICIPACION DE RECEPTORES PRESINAPTICOS (Modulation of sympathetic activity by Bradykinin; participation by presynaptic receptors). Llona, I. y Galleguillos, X. Laboratorio de Farmacología y Farmacología-Bioquímica, P. Universidad Católica de Chile. Fac. de Ciencias Básicas y Farmacéuticas, U. de Chile.

Se ha descrito para la Bradicinin (BC) una potente acción sobre la musculatura lisa, por mecanismos aún no dilucidados. Con el fin de conocer el nivel de acción de este péptido se estudió, su efecto en la sinápsis neuromuscular del conducto deferente de rata. Los órganos se estimularon eléctricamente (70 V, 0.15 Hz, 2 msec) registrándose contracciones isométricas con un transductor de tensión conectado a un polígrafo.

BC produce un aumento, dosis dependiente (EC₅₀ = 10 nM) de la tensión basal (efecto miogénico) y de la sacudida muscular evocada por estimulación eléctrica (efecto neurogénico). Ambas respuestas presentan una desensibilización marcadamente diferentes, siendo mucho más rápida la miogénica. Tetrodotoxina (100 nM) antagoniza el componente neurogénico sin interferir con la acción de BC a nivel de la fibra muscular. Asimismo, guanetidina y clonidina, drogas que interfieren con la liberación de noradrenalina (NA) del terminal nervioso, bloquean selectivamente el efecto neurogénico de BC. Estos resultados sugieren un efecto modulador del péptido que sería mediado por receptores presinápticos de BC. En apoyo a esta hipótesis, se demostró un aumento de la liberación de ³H-NA del conducto deferente, inducida por estimulación eléctrica transmural, en presencia de BC.

La presencia de receptores presinápticos a BC es otra manifestación de la compleja organización neuroquímica de esta sinápsis.

EFFECTO DEL INHIBIDOR DE TRANSMETILACIONES 3-DEAZAADENOSINA, SOBRE LA PRODUCCION DE TESTOSTERONA POR CELULAS INTERSTICIALES DE TESTICULO DE RATA IN VITRO. (The effect of 3-deazaadenosine, a transmethylation inhibitor, on in vitro testosterone production by rat testis interstitial cells). Llanos, M., Ronco, A.M. y Pino, A.M. Departamento de Ciencias Básicas Facultad de Medicina Sur y División de Ciencias Básicas. INTA. Universidad de Chile (Patrocinio: L. E. Valladares.)

La síntesis de testosterona (T) por parte de la célula de Leydig es una respuesta a la estimulación con LH/hCG or cAMP. En este trabajo se da cuenta del efecto de un inhibidor de reacciones de transmetilación, la 3-Deazaadenosina (3-DZA) sobre la capacidad de producción de T por parte de células intersticiales de testículo de rata bajo estimulación con hCG o (Bu)₂cAMP. Células intersticiales fueron incubadas en atmósfera húmeda de 95% O₂/5% CO₂, e inducidas a producir T por estimulación con 10 mIU de hCG, durante 3 hrs. Cuando a dichas incubaciones se agregó 3-DZA (100 μM), la producción de T se inhibió en un 45.3± 7.2%, observándose también efectos inhibitorios menores, a mas bajas concentraciones de la droga. El efecto inhibitorio de la 3-DZA fue potenciado por homocisteína-tiolactona (otro inhibidor de transmetilaciones); en este caso, la producción de T fue inhibida en un 60%. Cuando las células fueron estimuladas con (Bu)₂cAMP (1 mM) en lugar de hCG, el efecto inhibitorio de la 3-DZA fue abolido casi en su totalidad. No hubo efecto de la 3-DZA sobre la K_d del complejo hCG-receptor, como tampoco, en el N° de sitios receptores. Sin embargo, la droga produjo inhibición temprana de la producción de cAMP en aproximadamente 50%. Estos resultados indicarían que presumiblemente la metilación enzimática de fosfolípidos a nivel de la membrana plasmática, estaría implicada en la transducción de la señal hCG-receptor y por consiguiente en la steroidogénesis en células de Leydig.

Proyecto financiado por ODI. Universidad de Chile.

AUMENTO DE LA PERMEABILIDAD A K⁺ DEPENDIENTE DE CALCIO EN CELULAS DE GLOMERULOSA. (Calcium dependent activation of potassium permeability in glomerulosa cells). LORO, M. V. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se estudió en cortes de tejido y en células aisladas de glomerulosa de buey, cambios de permeabilidad a potasio en diferentes condiciones que aumentan el calcio intracelular. El flujo de potasio se midió empleando Rb como marcador de K o por medio de un electrodo sensible a este ión.

El ionoforo de calcio A23187 (10^{-6} M) y el ATP (0.5 mM) estimularon el flujo de K en estas células. Con Rb se demostró que el aumento en la salida de K de la célula fue transiente durando aproximadamente 6 min. Este aumento del flujo fue inhibido por quinina 10^{-4} M o por perfluorido 10^{-5} M.

Paralelamente se midió salida de K en presencia de estímulos fisiológicos de la esteroidogénesis como son Angiotensina y ACTH, hormonas que aumentan la entrada de calcio en estas células. Ambos estimuladores aumentaron el flujo de K⁺; el efecto tuvo el mismo curso temporal que A23187 o ATP.

El aumento del flujo de potasio dependiente de calcio se mantuvo en presencia de ouabaina 10^{-5} M y fue dependiente de la concentración de calcio externo, observándose un flujo mayor cuando la concentración de calcio se disminuyó de 1.25 mM a 0.625 mM.

Estos resultados demuestran la existencia en células de glomerulosa de un canal de K activado por calcio intracelular y su posible participación en la regulación de la producción de aldosterona. (Proyecto 325/82 Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico; Proyecto B/1378/8335, Universidad de Chile).

COMPACTACION EXPERIMENTAL DE MORULAS DE MAMIFERO. (Experimental compaction of mammalian morulae). Lois, P., Sepúlveda, S., Becker, M.I., Doggenweiler, C. e Izquierdo, L. Departamento de Biología, Universidad de Chile.

Hemos informado que durante la compactación de la mórula de ratón desaparecen las microvellosidades de las superficies celulares en contacto y que lo mismo ocurre en la superficie de contacto entre mórulas agregadas experimentalmente. Para distinguir entre la emisión y la recepción de la señal de compactación experimental, se han fijado mórulas en OsO_4 o en formaldehído o glutaraldehído y luego apareado con mórulas vivas. En estas condiciones, desaparecen las microvellosidades de la mórula viva en un lapso semejante al observado en pares de mórulas vivas (30-60 min), pero la proporción de pares que se agregan disminuye aproximadamente de 70% a 40%. En esta preparación se compara el efecto sobre la agregación de 3 sueros: de rata no inmune (A), de rata inmunizada con bazo de ratón (B), de rata inmunizada con mórulas de ratón de 8 células en compactación (C). El suero A no afecta la agregación, el B la facilita (50%) y el C la facilita notablemente (90-100%). Probando los distintos sueros por inmunofluorescencia indirecta en embriones preimplantacionales de ratón se observa: resultado negativo con A, positivo en todos los estados con B y positivo hasta el blastocisto inicial para atenuarse abruptamente hacia el blastocisto avanzado, con C. Se concluye que el suero C, que correspondería a antígenos de embrión en segmentación, no interfiere con la señal de compactación y promueve eficazmente la agregación.

INDUCCION DE SINTESIS DE PROTEINAS ESPECIFICAS POR ISOPROTERENOL Y ANALOGOS ESTRUCTURALES EN GLANDULA PAROTIDA DE RATON. (Induction of specific protein synthesis by isoproterenol and structural analogs in mouse parotid gland). López Solís, R.O y Miranda, D. Facultad de Medicina, U. de Chile

El isoproterenol es una catecolamina beta adrenergica que administrada via i.p. a ratones, puede inducir secreción, síntesis de DNA e hipertrofia en las células acinares de las glándulas parótidas. De estas respuestas, al menos la inducción de síntesis de DNA parece no depender de la mediación del receptor beta. Sin embargo, ninguna vía de acción alternativa ha sido definitivamente establecida.

Mediante análisis electroforético en poliacrilamida-SDS hemos determinado que el isoproterenol induce la síntesis de novo de algunos polipéptidos que normalmente no son sintetizados por estas células. Bloqueadores beta, como el propranolol, no inducen la síntesis de estos polipéptidos y no impiden que el isoproterenol los induzca. Teofilina, inhibidor de fosfodiesterasas de nucleótidos cíclicos, tampoco induce la síntesis de estos polipéptidos. Finalmente, algunos análogos estructurales del isoproterenol imitan la capacidad de éste de inducir la síntesis de estos polipéptidos, independientemente del efecto que ejercen sobre los niveles de cAMP o la síntesis de DNA en las glándulas estimuladas.

Estos resultados sugieren que el isoproterenol induce la síntesis de estos polipéptidos por una vía distinta a la mediada por el receptor beta adrenergico.

Proyecto B 1651-8313 del Departamento de Desarrollo de la Investigación, Universidad de Chile y Proyecto 1/82 PNUD-UNESCO RLA 78-024.

EFFECTO DE IONES METALICOS E INHIBIDORES METABOLICOS EN EL TRANSPORTE DE SACAROSA POR COTILEDONES DE ARAUCARIA ARAUCANA (MOL.) KOCH. (Metal ions and metabolic inhibitors on sucrose transport by cotyledons of *A. araucana* (Mol.) Koch). Lozada, R. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Los cotiledones de plántulas de *Araucaria araucana* (Mol.) Koch absorben sacarosa a través de un proceso de transporte bifásico con una primera fase metabólico-dependiente y una segunda fase dirigida posiblemente por difusión.

La absorción de sacarosa es notablemente incrementada por la adición en el medio de incubación de 20 mM de Ca^{++} , Mg^{++} o Mn^{++} . Presencia de EDTA 2mM inhibe la absorción en un 50%. La presencia de Ca^{++} y Mg^{++} no modifica las características de la absorción de sacarosa que sigue siendo bifásica, con una primera fase saturable con una $K_{0.5}$ del orden de 100 μ M y que es inhibida por venenos respiratorios tales como DNP, Azida de sodio y FCCP. pClomercuribenceno sulfonato (pCMBSS) también inhibe la absorción de sacarosa en un 80%.

Estos resultados permiten postular que el proceso de absorción de sacarosa por los cotiledones de *A. araucaria* es mediado por un sistema transportador de la membrana plasmática cuyo funcionamiento es dependiente de la presencia de iones bivalentes, como Ca^{++} .

Colaboradora L. Cardemil; Proyecto B-1580/8325, U. de Chile.

FORMACION DE LA ENVOLTURA VITELINA EN EL OVOCITO DE BUFO ARENARUM. (Formation of vitelline envelope in *Bufo arenarum* oocytes (Amphibia). M. Mariano de Bozzini. Laboratorio de Investigaciones Embriológicas (CONICET). R. Argentina.

La formación de la envoltura primaria: membrana vitelina o envoltura vitelina del ovocito, ha sido objeto de estudio en distintas especies animales, sin embargo no existe consenso sobre el sitio de origen de esta estructura admitiéndose en algunos casos que es segregada por las células foliculares y en otros por el ovocito. Con respecto a los ovocitos de Anfibios existen algunos datos bibliográficos inherentes a distintas especies de Rana (Wartenberg, 1962; Kress et al, 1972). Se presentan observaciones a nivel estructural realizadas sobre muestras de ovario de *Bufo arenarum*. El estadio de ovogénesis que estudiamos corresponde al de vitelogénesis en el cual el citoplasma de los ovocitos presenta una matrix granular densa con algunos gránulos de melanina y pequeñas plaquetas vitelinas. En la periferia del citoplasma se observa un aparato de Golgi bien desarrollado con numerosos dictiosomas. En las células foliculares que en este estadio se presentan achatadas y adyacentes al ovocito, se observa también un aparato de Golgi conspicuo. La envoltura vitelina se esboza como una delgada banda fibrosa-granular más o menos densa, entre las células foliculares y el ovocito. En base a estas observaciones se discute el posible sitio y los mecanismos involucrados en la formación de la envoltura vitelina.

CARACTERIZACION DE PROTEINAS EN FRACCIONES SUBCELULARES DE TEJIDOS GASTRICOS NEOPLASICOS HUMANOS. (Protein characterization from subcellular fractions in human gastric neoplasia.). Marshall, S., Sierralta, C., Masson, C., Horvat, A., y Colaboradores. Laboratorios de Genética y Biología Celular. Instituto de Biología. Universidad Católica de Valparaíso.

Tejidos gástricos neoplásicos humanos, del tipo adenocarcinoma, fueron analizados por su contenido protéico en diferentes fracciones subcelulares de muestras obtenidas de resecciones quirúrgicas y comparadas con muestras de estómago normal.

El análisis fue hecho en las fracciones definidas como S-10, S-100 y P-100, que corresponden a supernadante de centrifugación a 10,000xg de fracción post-nuclear, supernadante y pellet de centrifugación a 100,000xg de fracción S-10 respectivamente. La fracción P-100 fue posteriormente fraccionada en gradientes isopícnicos de sacarosa.

El contenido protéico de cada una de las fracciones subcelulares, así como de cada una de las fracciones de los gradientes de sacarosa, fueron analizados en geles de poliacrilamida-SDS uni y bidimensionales, y detectado mediante tinción con Nitrato de Plata. Se encuentran diferencias significativas entre las muestras neoplásicas y los controles normales.

Por otra parte, basados en algunas observaciones hechas en nuestros laboratorios, se trató de detectar en cada una de las fracciones analizadas, actividad de proteína quinasa endógena mediante incubación con ATP-P32-gamma. Estos resultados indican que los tejidos neoplásicos presentan, a diferencia de los controles normales, este tipo de actividad enzimática; la que se encuentra asociada a estructuras microsomales con un valor de densidad buoyante comprendido entre 1.16-1.19 g/ml. en gradientes isopícnicos.

CONVERSION DE FIBROBLASTOS A ADIPOCITOS EN MEDULA OSEA HUMANA. (Fibroblast to adipocytes conversion in human bone marrow). Martínez J. y Minguell J.J. División Ciencias Básicas, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Chile.

El estroma celular de la médula ósea, constituye un compartimento que cumple un rol fundamental en la hematopoyesis. Se han descrito diversas líneas celulares en dicho estroma: fibroblastos, células endoteliales y adiposas. Se postula que éstas últimas se diferencian a partir de fibroblastos. Trabajos previos mostraron que fibroblastos disminuyen su capacidad replicativa en presencia de hidrocortisona 10^{-7} M (HC) a la vez que aumentan su contenido intracelular de lípidos; se postula que respondería a una etapa precoz de la diferenciación a adipocitos. En el presente trabajo se estudian algunos factores que regulan dicha diferenciación a partir de fibroblastos de médula ósea normal. Como criterio de cambio fenotípico se utiliza la síntesis de triglicéridos (TG) medida como incorporación de Ac. Palmítico U^{14} .

Los resultados sugieren una relación inversa entre capacidad replicativa de fibroblastos y su conversión a células adiposas, siendo los principales estímulos para la conversión, la presencia de HC y confluencia de los cultivos. Se describe la producción por parte de cultivos confluentes, en presencia de HC, de un factor lipogénico el cual es capaz de producir un aumento de la síntesis de TG de aproximadamente 100% en cultivos de fibroblastos en fase logarítmica de crecimiento. Se observa que células que se han convertido a adipocitos, al ser colocadas en medio fresco (sin HC) pierden irreversiblemente su capacidad replicativa. Se concluye que la conversión de fibroblastos a adipocitos es un fenómeno controlado por HC, confluencia y factores lipogénicos.

Este proyecto es financiado por DDI. Universidad de Chile. N° B-1763-8312.

MORFOLOGIA Y ESPERMATOGENESIS DEL SISTEMA REPRODUCTOR DEL MACHO DE *Rhagoletis conversata*. (Morphology and spermatogenesis of reproductive system of the male *Rhagoletis conversata*). Martínez, H. Frías, D. y Flores, V. - Depto. Biol. Cel. y Genética, Fac. de Medicina, Universidad de Chile.

Las larvas de las especies chilenas de *Rhagoletis* (Diptera Tephritidae) provocan daños de consideración a frutas de plantas silvestres y cultivadas. En este trabajo estudiamos el aparato reproductor de machos de *R. conversata* (Bréthes). Estudios de esta naturaleza son importante para elaborar programas integrados en el control de plagas y para analizar comparativamente las especies chilenas de *Rhagoletis*.

Insectos machos de 6 a 10 días fueron procesados para M.O.; obteniéndose los siguientes resultados: Aparato reproductor compuesto por 1 par de testículos, un par de conductos diferentes, una cámara espermática, 3 pares de glándulas anexas, conducto eferente, a podema eyaculador, conducto eyaculatorio y aedagus. El testículo posee una envoltura con granulaciones y se distinguen: I, zona generatriz o de gonias, II, zona meiótica, con citos en diversos estados madurativos dentro de folículos irregulares y III, zona de diferenciación de espermios. Los conductos deferente y eferente y eyaculatorio constituido por una capa celular y una capa muscular que alcanza diferentes grosores. Las glándulas anexas son de 3 tipos: 1 formada por células globosas de gran tamaño, 2 formada por células de tamaño medio y 3 formada por células de naturaleza esponjosa.

Los insectos de 6 a 10 días tienen línea germinal completa, aptos para la reproducción. Consideramos estudiar también este tipo de gonadas en larvas y pupas para conocer su desarrollo.

Proyecto N° 1195-8233, Universidad de Chile.

EL EPITELIO SEMINIFERO: PIEL INDICADOR DE LA FUNCION TESTICULAR DE *LIOLAEMUS TENUIS*. (The Seminiferous Epithelium: as a good indicator of the testicular function in *Liolaemus tenuis*). Martínez, R., Bustos, S., Depto. de Morfología Experimental, Facultad de Medicina, U. de Chile.

La actividad testicular estacional de *L. tenuis* ofrece un excelente modelo para estudiar espermatogénesis; la cual incluye un período de reposo muy corto, seguido de una etapa de multiplicación gonial, espermatocitogénesis y espermiogénesis.

Se caracteriza los patrones morfológicos del epitelio seminífero de distintas épocas del año y se determina su duración relativa.

En cortes de testículo de animales colectados en distintas épocas del año, se estudió el diámetro de los túbulos seminíferos, la altura del epitelio germinal, el aspecto y tamaño de las células de Leydig y el porcentaje de los tipos celulares que participan en la espermatogénesis.

Los resultados permiten establecer que las etapas de la espermatogénesis están en estricta correlación con la altura del epitelio, con el diámetro y el lumen tubular. Se postula una primera espermiación a fines de Marzo y una segunda hacia fines de Diciembre, quedando por aclarar el significado del largo tiempo que los espermios permanecen almacenados en el epidídimo.

Grant B-1497-8322. D.D.I., U. de Chile.

EFFECTO DE CASTRACION Y TERAPIA DE RESTITUCION SOBRE NIVELES PLASMATICOS DE TESTOSTERONA Y ALGUNOS PARAMETROS SANGUINEOS EN EQUINOS F.S. DE C. (Effect of castration and hormonal restitution therapy on plasmatic testosterone and some haematological parameters in thorough - bred).

Martínez, R. *, Urquieta, B. *, Altieri, E. ** y Garzón, L. ***
 *Depto. Cs. Clínicas Pecuarias, Fac. Cs. Agrarias, Veterinarias y Forestales, Universidad de Chile.
 **Laboratorio de Bioquímica, Depto. Obstetricia y Ginecología, Fac. Medicina Norte, Universidad de Chile.
 ***Egresada-Tesista, Escuela Cs. Veterinarias, U. de Chile.

La castración del equino f.s. de c. constituye una medida frecuente en la práctica clínica hípica; no obstante existir consenso de que la testosterona juega, entre otros, un rol importante en los factores sanguíneos relacionados con transporte del oxígeno, vital para un atleta, y que participa en fenómenos metabólicos musculares, no existen antecedentes en la literatura pertinente sobre la posología de esta restitución hormonal.

En el presente trabajo, se ha inyectado i.m. testosterona enantato en dosis de 0,5, 1,0 y 1,25 g, a 10 caballos f.s. de c. castrados, iniciándose el tratamiento 8 días después de la intervención quirúrgica, mediando entre cada dosis un mes, constituyendo cada animal su propio control. La testosterona plasmática se midió por radioinmunoanálisis; hemoglobina, volumen globular y proteínas plasmáticas totales mediante las técnicas de cianuro metahemoglobina, microhematocrito y refractométrica de McFarland, respectivamente.

Se analiza la cinética de la testosterona endógena post castración y la correspondiente a cada dosis administrada; así mismo, los cambios hematológicos observados. Se discuten las correlaciones de los parámetros hematológicos versus los niveles de testosterona plasmáticos y la dosis más adecuada al fin perseguido.

DISMINUCION DE DENSIDAD DE PLAQUETAS CANINAS DURANTE SU ENVEJECIMIENTO EN CIRCULACION. (Decrease in density of dog platelets with aging in circulation).

Mezzano, D., Aranda, E., Rodríguez, S., Foradori, A.: Depto. de Hematología, Oncología y Banco de Sangre, Escuela de Medicina, Universidad Católica.

Se estudia la relación entre densidad de plaquetas y su edad en la circulación en perros mestizos esplenectomizados. La sobrevida de plaquetas se mide mediante cinética de plaquetas marcadas con ^{51}Cr y las plaquetas de alta densidad (PAD) y plaquetas de baja densidad (PBD) se separan en gradientes isoosmóticos de arábino-galactano.

La sobrevida promedio de una población total de plaquetas (PTT) es de 5.4 ± 1.5 días ($n=6$). Las curvas de sobrevida son esencialmente lineares, implicando que la remoción de las plaquetas desde la circulación es condicionada por su envejecimiento. En estudios secuenciales y pareados ($n=3$), las PAD sobreviven significativamente más en la circulación que las PBD, que decaen exponencialmente con $T/2 = 1.8$ días. Después de la infusión de PTT marcadas ($n=6$), se mide diariamente la radioactividad específica (RE) en PAD y se observa que disminuye rápidamente ($T/2 = 1.3$ días) mientras RE en PBD aumenta durante 2 días para luego decaer. El conjunto de estos hallazgos indica que las plaquetas caninas disminuyen de densidad con el envejecimiento. Sin embargo, sólo un 20% de la radioactividad inyectada junto a cohortes de PAD, se recupera 4 días después en PBD. Al inyectar PBD marcadas, al contrario, no se recupera radioactividad en cohortes de PAD. Se concluye que en perros, las PAD son en promedio más jóvenes y se desplazan parcialmente hacia compartimientos de menor densidad con el envejecimiento en circulación.

Financiado con Proyectos DIUC N°154/81 y Conicyt 661/82

TOXICIDAD DE UN EXTRACTO METANOLICO DE AMANITA GEMMATA (Fr.) GILLET (Toxicity of a methanolic extract of *Amanita gemmata* (Fr.) Gillet)

Mayer, H., Concha, J. Laboratorio de Toxicología, Departamento de Farmacia, Facultad de Farmacia y Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas y Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

La alta incidencia de la intoxicación aguda con el hongo *A. gemmata* ha motivado su estudio toxicológico tendiente a reconocer el o los agentes causales de la intoxicación.

Para el estudio de la toxicidad, se utilizaron ratones blancos a los cuales se les inyectó, intraperitonealmente, soluciones acuosas del extracto metanólico; obtenido de homogeneizados del hongo enservado.

Los signos de intoxicación observados, 30 minutos después de la inyección, corresponden a trastornos gastrointestinales y alteraciones neurológicas.

De este modo, se obtuvo un extracto probablemente responsable de la entera y neurotoxicidad de la *Amanita gemmata*. Ensayos químicos posteriores del extracto, han permitido aislar, cromatográficamente puro, un derivado indólico cuya toxicidad está siendo estudiada.

PURIFICACION Y CARACTERIZACION DE β -LACTAMASA DE SHIGELLA FLEXNERI (Purification and Characterization of β -lactamase from *Shigella flexneri*). Mondaca, M., Ríos, M., Campos, M., Zelmán, R. Departamento de Química y Departamento de Microbiología, Universidad de Concepción.

Las penicilinas son de gran utilidad en la terapia de enfermedades infecciosas. Sin embargo, los microorganismos han desarrollado sistemas enzimáticos capaces de inactivarlos; siendo el más importante, la producción de β -lactamasas. Estas enzimas hidrolizan el anillo- β -lactámico de las penicilinas, generando el ácido peniciloico que es farmacológicamente inactivo.

Se estableció el método de purificación de β -lactamasa de *Shigella flexneri* 129, en el cual, se extrajo la enzima y se realizaron cromatografías en Sephadex G-100 y en DEAE-celulosa. Se obtuvo un preparado de alta actividad específica (5420 U/mg) y puro de acuerdo al criterio de electroforesis en gel de poliacrilamida. Su movilidad electroforética absoluta fue de 4.3×10^{-5} ($\text{cm}^2 \times \text{seg}^{-1} \times \text{V}^{-1}$) y con pI de 4.9. Se estableció un peso molecular de 22.400 por electroforesis en gel de poliacrilamida en la presencia de SDS. Se determinó la composición de aminoácidos; arrojando un total de 217 aminoácidos, siendo Lys el aminoácido N-terminal.

Se agradece el apoyo económico a Dirección de Investigación, Proyecto N°20.13.20 de la Universidad de Concepción.

FORMAS DE CRECIMIENTO EN EL MATORRAL CHILENO USANDO EL SISTEMA DE MONOCARACTERES. (Growth forms in the Chilean matorral using the monocharacters system). Montenegro, G., Aljaro, M.E., Avila, G., Jordán, M., Mujica, A.M., Walkowiak, A., Andraca, S. y Gomez M. Lab. de Botánica, Depto. de Biología Ambiental y Poblaciones, Fac. de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Santiago.

El conocimiento de la estructura y dinámica de comunidades vegetales de la zona mediterránea de Chile se hace necesario para determinar pautas que incidan en una adecuada utilización y conservación de estos recursos naturales renovables. El estudio de las adaptaciones de las plantas al ambiente, es decir, el conocimiento integrado de aspectos morfológicos, fisiológicos y ecofisiológicos de las especies que conforman estas comunidades permite comprender la dinámica de la biología de ellas para evaluar el grado de intervención humana a que están sometidas y la capacidad de regeneración ante impactos como: sobrepastoreo, tala, fuego, turismo, minería. En este trabajo se analizan las adaptaciones dinámicas estructurales y funcionales de 117 especies nativas en un transecto altitudinal de Chile Central, utilizando 36 caracteres independientes por definición, que corresponden a parámetros morfológicos, anatómicos, fenológicos, fenomorfológicos y fisiológicos. La importancia adaptativa de estos monocaracteres se analizó sobre la base de la presencia de especies portadoras del carácter en cada comunidad y de la dominancia de ellas a través de sus valores de cobertura relativa. Los resultados muestran que atributos morfológicos como: fanerófitas-esclerófitas, presencia de lignotuberos, persistencia foliar, senescencia acrópeta, regeneración epicórmica, aparecen como de gran significancia adaptativa en comunidades del matorral costero, de media altura y montano. El valor adaptativo de estos y otros caracteres se discutirán en relación a factores limitantes del medio. Proy. UNESCO MAB-6, 118-83 y DIUC 93/83.

VARIACION DE LA RESPUESTA DEL HIGADO REGENERANTE A LOS EXTRACTOS DEL HEPATOMA SS1K. (Variations in the responses of regenerating liver to hepatoma SS1K extract). Moreno, F.R. Instituto de Embriología, Biología e Histología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Con el fin de comprobar si los extractos del hepatoma SS1K reproducen los resultados observados en la población hepatocítica del hígado de portadores del mismo tumor se diseñó el presente experimento. Tres lotes de ratones (C3Hs, machos de 12 semanas, estandarizados para análisis de periodicidad) fueron hepatectomizados (70%) a las 14 horas e inyectados con una dosis de extracto 26, 34 y 41 horas después, respectivamente. Todos los animales se sacrificaron 48 horas después de la operación tras recibir colchicina 4 horas antes. Cada grupo tuvo su correspondiente testigo inyectado con solución fisiológica. Se observó que los animales tratados a las 16/26 (hora de inyección/tiempo posthepatectomía) presentaron una disminución de su actividad mitótica; los inyectados a las 24/34, escasas diferencias entre sí y los tratados a las 07/41, altos valores de su actividad mitótica; es decir, que la respuesta del hígado regenerante ante una dosis de extracto del hepatoma SS1K varía de acuerdo a la hora de su administración de la misma manera que ante una dosis de extracto de hígado en regeneración.

INHIBICION DEL EFECTO DE INDOMETACINA SOBRE LA DIFERENCIACION DEL EPITELIO PALATINO MEDIO IN VITRO POR ACCION DE PGE₂ y db AMPc. (Effect of Indomethacin, PGE₂ and db AMPc on developing mouse palatal epithelium in vitro). Montenegro, M.A., González, H.; y Mery, C. Depto. Morfológica Exp., Facultad de Medicina, U. de Chile.

Estudios previos han demostrado que algunas drogas antiinflamatorias no esteroidales (ANE) inhiben el cese de la síntesis de ADN y la muerte celular programada que ocurre normalmente en el epitelio medio del paladar secundario sugiriendo que las prostaglandinas pueden jugar un rol regulatorio en la diferenciación de este epitelio. Se investigó el efecto combinado de Indometacina con PGE₂ y db AMPc en la fusión palatina *in vitro*.

Procesos palatinos tomados de embriones de 13,5 ds. de gestación se cultivaron como pares homotípicos durante 72 hrs. a 38°C. Se establecieron 4 grupos experimentales: 1.- control. 2.- Indometacina (50 ug). 3.- Indometacina + PGE₂ (100 ug). 4.- Indometacina + db AMPc (100 ug).

La adición al medio de cultivo de PGE₂ y de db AMPc reduce significativamente el efecto de la Indometacina en la fusión palatina y los eventos morfológicos ocurren de manera similar a aquellos de los explantes controles.

PGE₂ y db AMPc pueden prevenir el efecto de Indometacina, la cual inhibe la muerte de las células epiteliales *in vitro* sugiriendo que las prostaglandinas son necesarias para la autólisis del epitelio y que este efecto estaría mediado por AMPc.

Estas observaciones indican que los ANE producirían su teratogenicidad a nivel del paladar inhibiendo la síntesis de prostaglandinas en un período crítico del desarrollo.

Proyectos B 1401-8315 y B 1219-8335 U. de Chile

REGIONALIZACION EN LA RETINA DE CODORNIZ. (Regional specialization of the quail retina). Epodozis, J.; Guiloff, G. Depto. Biología, Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

En la retina de las aves, la densidad de células ganglionares es asimétrica, con 2 áreas de mayor densidad: una central y una dorso-nasal. La proyección de estas áreas en las vías visuales es también asimétrica; además, ellas participan diferencialmente en la conducta visual de estos animales. El estudio comparado de esta regionalización retiniana sugiere que ella es coherente con los modos de vida antes que con las relaciones filogenéticas de estos animales, pero no hay datos que permitan probar esta hipótesis. Este trabajo es una contribución a ese respecto.

Otra característica retiniana de las aves es la presencia de gotas de colores en sus conos las que, presumiblemente, participan en la visión de colores. No hay evidencias que indiquen si existe o no una relación entre la distribución de las clases de gotas, la regionalización ganglionar y la ecología de las aves, punto que intenta dilucidar este trabajo.

Se encuentra que en la codorniz la distribución de ganglionares sigue el patrón presente en palomas, con las 2 áreas bien establecidas. Tales resultados apoyan la hipótesis precedente, puesto que codornices y palomas son animales filogenéticamente distantes, con historias de vida más parecidas entre sí que codornices y pollos, que son animales filogenéticamente más cercanos y retinariamente distintos.

Respecto a las gotas de colores, se encuentran 4 clases, las que se distribuyen uniformemente en la retina de codorniz, no existiendo una relación entre su distribución y la de ganglionares, de modo que este trabajo no permite suponer que la relación entre hábitos de vida y regionalización de ganglionares sea extensible también a la regionalización de las gotas.

INFLUENCIA DE AGONISTAS DOPAMINERGICOS SOBRE LOS EFECTOS CONDUCTUALES INDUCIDOS POR LHRH. (Influence of dopamine agonists on the behavioral effects induced by LHRH) Mora, S. y Díaz-Véliz, G. Depto. Preclínicas, Facultad de Medicina División Oriente. universidad de Chile.

Trabajos anteriores han demostrado que la administración subcutánea de LHRH inhibe la adquisición de respuestas condicionadas de evitación activa (RC). Además, el pretratamiento con LHRH antagoniza el efecto estimulante de anfetamina sobre este mismo tipo de respuestas. Con el objeto de determinar la posible participación de dopamina en los efectos de LHRH, se estudió la interacción entre este neuropéptido y diversas drogas agonistas dopaminérgicas.

Ratas Sprague Dawley machos (200 ± 20 g) fueron tratadas con LHRH (100 ug/kg) o su solvente por vía subcutánea, 2 horas antes de la sesión de adquisición de RC. En diferentes grupos de animales se administró L-DOPA (100 mg/kg; IP), anfetamina (1 mg/kg; IP) o apomorfina (250 ug/kg; SC), 60, 90 y 120 minutos, respectivamente, después de LHRH. En cada caso los controles fueron inyectados con solución salina. En la sesión de condicionamiento, cada animal fue sometido a 50 ensayos con intervalos de 30 seg entre ellos. Cada ensayo consistía en la presentación de un tono seguido de un choque eléctrico. Los resultados demuestran que: 1) L-DOPA antagoniza el efecto inhibitorio de LHRH sobre la adquisición de RC; 2) LHRH antagoniza el efecto estimulante de anfetamina en la adquisición de RC; 3) L-DOPA revierte el antagonismo entre LHRH y anfetamina y 4) apomorfina antagoniza el efecto de LHRH.

Se postula que los efectos conductuales de LHRH serían consecuencia de una inhibición de sistemas dopaminérgicos cerebrales relacionados con aprendizaje y memoria. El sitio de esta acción sería presináptico.

Proyecto B-1633-8313 Departamento de Desarrollo de la Investigación. Universidad de Chile.

DESARROLLO DE ULEX EUROPAEUS EN CULTIVOS PUROS Y MIXTOS CON ARISTOTELIA CHILENSIS SOBRE SUELOS ROJO-ARCILLOSO. (Development of Ulex europaeus in pure and mixed culturing with Aristotelia chilensis on red loam soils). Moraga, M. Departamento de Ciencias Exactas y Naturales, Instituto Profesional de Osorno. (Patrocinio: C. Ramírez)

El matorral de espinillo (Rubus ulicetum) es una asociación arbustiva que se forma en lugares abandonados, con suelos degradados por varios años de explotación de praderas permanentes, en la cordillera de la Costa de la Décima Región. Debido al carácter de maleza del espinillo, con una alta capacidad de reproducción, crecimiento y competencia, impide la normal regeneración del primitivo bosque de Coihue y Ulmo (Dombeyo-Eucryphietum)

Se investigó el desarrollo temprano del espinillo en cultivos puros y mixtos con maqui (Aristotelia chilensis) sobre suelos rojo-arcilloso provenientes del bosque primitivo, de matorrales de maqui y de espinillo y de pradera, en condiciones de humedad variable. Se controló el crecimiento y la biomasa aérea y subterránea.

El desarrollo de Ulex europaeus fue en todos los cultivos, mejor que el maqui. Su crecimiento fue mayor en el suelo de pradera, en cultivo puro y condiciones normales de humedad. Los valores más bajos se observaron en el suelo de bosque, en cultivos mixtos y en condiciones de anegamiento. Por último, se constató un aumento de los nutrientes (N,P,K) desde el suelo del bosque primitivo, a la pradera antropogénica, con valores intermedios en los matorrales.

(Financiamiento de la Dirección de Investigación y Desarrollo de la Universidad Austral de Chile. Proyecto S-82-16).

INFLUENCIA DE LA LUZ EN LA RECRUDESCENCIA TESTICULAR EN O. DEGUS. (The role of light on testicular recrudescence in O. degus). Morales, B., Dote, J., Sharp, M. y Díaz, H. Depto de Morfología Exp. Fac. Medicina, Norte, U. de Chile

En condiciones de luz natural las crías de degus nacieron principalmente en los meses de septiembre-octubre (Fotoperíodo: 12L/12D) y se mantienen por varios meses en fotoperíodo de días largos (sobre 12 hrs. de luz diarias) previo al inicio de su primera recrudescencia testicular, que comienza en el mes de marzo (12L/12D) y culmina con actividad testicular máxima en junio-julio (meses de días cortos DC: 10L/14D). Nos pareció interesante analizar si esta sucesión de fotoperíodos (DL seguido de DC) es importante para que se produzca la recrudescencia testicular en O. degus.

5 grupos de 6-7 machos nacidos en septiembre de 1982 fueron mantenidos hasta julio de 1983 en los siguientes fotoperíodos a) Luz natural, b) DC, c) DL, d) Oscuridad constante, e) Luz constante. Todos los animales luego de pesados, fueron sacrificados, disecándose los testículos, V. Seminales y epidídimo. Los órganos, luego de pesados fueron fijados para M. óptica. En los cortes de testículo se midió el diámetro tubular, la altura del epitelio seminífero y el índice espermatogénico.

Los animales en luz natural presentan los más altos índices testiculares. Los en D.C, O.C. y L.C. muestran un desarrollo intermedio y los en DL el más bajo. Se observó recrudescencia en 7/7 de los machos mantenidos en LN; 4/7 en OC; 4/6 en DC; 3/6 en LC y 2/6 en DL.

Estos resultados nos permiten suponer que al igual que en la oveja (reproductor de DC) la sucesión de fotoperíodos (DL seguido de DC) es de vital importancia para que se produzca la recrudescencia testicular en todos los octodones. La mantención de los machos en DL dificultaría en forma importante la recrudescencia.

Financiado por Grant B-1497-8322 de SDCCACI

STRESS REPETIDOS EN RATAS PREÑADAS Y SU REPERCUSION EN LAS CRIAS. (Repeated stress in pregnant rats and its influence on the offsprings). Morales, M. Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Santiago. (Patrocinio: L. Vargas).

Ratas preñadas se sometieron a stress de contención por 60 min. y a stress por shock eléctrico (descarga alterna, 50 c. 220 V, de 0.035 seg.) asociado a sonido de campanilla (reflejo condicionado); repitiéndose cada minuto por 6 veces. Se investigó la repercusión del stress de la madre en su cría. Los resultados se compararon con crías de madres sin stress. Se evaluó la respuesta hiperglucémica al stress y Prueba de Tolerancia a la Glucosa (PTG).

Tres de 4 ratas preñadas, tratadas con stress de contención abortaron y presentaron PTG alterada en la última semana de preñez. No se observó adaptación a la repetición del stress. En el grupo con reflejo condicionado no hubo abortos y la PTG estuvo alterada en el primer ensayo, presentando tendencia a la adaptación tanto a PTG como al stress.

En las crías, el stress de contención y la PTG no registraron diferencia estadística. En las crías de 150 g tratadas con reflejo condicionado la PTG no presentó diferencia significativa en el pre-stress, pero sí en el post-stress donde estuvo alterada. Se sugiere producción de una impronta intrauterina, debido a la mayor respuesta al stress y tendencia a alterarse la PTG.

Las crías con reflejo condicionado presentaron una conducta agresiva. La curva ponderal de las madres no aumentó en las con stress de contención y en las con reflejo condicionado subió sólo 70 g.

EL SISTEMA NERVIOSO DE *Diopatra chiliensis* QUATREFAGES, 1865 (POLYCHAETA, ANNELIDA), HISTOLOGIA GENERAL Y ESTRUCTURA FINA DEL AXON GIGANTE. (The nervous system of *Diopatra chiliensis* Quatrefages, 1865 (Polychaeta, Annelida), Histology and fine structure of the giant axon). Morillas, J. y Villena, F.* Departamento de Biología y Tecnología del Mar, Sede Icahuano, Pontificia Universidad Católica de Chile. * Departamento de Histología, Instituto de Ciencias Médico-Biológicas, Universidad de Concepción.

Diopatra chiliensis, es un poliqueto tubícola que habita en los fondos cenagosos de la costa de Chile.

Los ejemplares fueron obtenidos mediante buceo en Bahía de Concepción (36°43'S., 73°06'W). Las muestras fueron procesadas con las técnicas corrientes para la microscopía electrónica de transmisión.

Sobre la base del examen de secciones seriadas, Cortez (1981) describió la presencia de un sistema nervioso relativamente desarrollado para su Grupo, formado por un ganglio cerebroide del que se desprende una cuerda nerviosa que recorre la zona ventral del animal en toda su longitud. A nivel del primer ganglio ventral, se origina una fibra nerviosa gigante (140 μ m de diámetro) que ocupa la posición más ventral de la cuerda.

La estructura fina del axón gigante consta de una vaina de células gliales que presentan tortuosos procesos citoplasmáticos, dando lugar a notables complejos de unión, los que involucran incluso a la membrana del axón. El axoplasma presenta mitocondrias pequeñas (0.25 - 0.75 μ m), neurofilamentos y escasos neurotúbulos.

Se agradece los consejos y ayuda del Prof. Tito Cortez en la obtención y manipulación de los animales. Parte del estudio de estructura fina fue realizado en el Laboratorio de Histología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago de Chile.

APARENTE INACTIVACION DE CANALES DE CALCIO EN FIBRA MUSCULAR AISLADA DE BALANUS. (Apparent inactivation of calcium channels in isolated muscle fibres from balanus). NASSAR-CENTINA, V. y LUXORO, M. Departamento de Biología Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Registros de corriente de Ca^{++} en un medio con 10 mM de ese ión presentan características de inactivación, con trastando con los que se obtienen en un medio con 60 mM. Considerando, a) que es altamente posible que los canales de Ca^{++} estén colocados muy profundamente en el interior de los hiatos y/o túbulos transversos y que b) las corrientes de Ca^{++} se saturan con niveles de Ca^{++} exterior del orden de 20 a 25 mM, hemos explorado la hipótesis de que la "inactivación" que se muestra a bajos niveles de Ca^{++} sea debida a disminución o agotamiento del nivel de Ca^{++} frente a los canales, asociado a una masiva entrada de éste y a un débil flujo de reemplazo proveniente del exterior.

Para el propósito anterior utilizamos un sistema de doble pulso: el primero o condicionante, "inactiva" y/o "abre" los canales; el segundo o "test" se da a varios niveles de potencial con el objeto de determinar las corrientes instantáneas (o "colas" producidas por el segundo potencial cuando encuentra los canales ya abiertos. Así determinamos el valor del potencial de equilibrio del calcio en el momento en que se aplica el segundo pulso.

Nuestros resultados demuestran que el potencial de equilibrio del Ca^{++} (función de las concentraciones de Ca^{++} a ambos lados del canal) se modifica en la medida que entra Ca^{++} a la fibra y no según el nivel del potencial eléctrico aplicado a la membrana. De acuerdo con lo anterior la "inactivación" detectada sería solo aparente.

EFFECTOS MOTORES DE LA ESTIMULACION ELECTRICA Y COLINERGICA DEL HIPOCAMPO DORSAL DEL GATO. (Motor effects of electrical and cholinergic stimulation of the cat's dorsal hippocampus). Motles, E. y González, M. Departamento de Preclínicas, División de Ciencias Médicas Oriente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El objetivo de este trabajo fue el de estudiar el rol del hipocampo dorsal en la actividad motora del gato y particularmente en las respuestas de orientación.

Se estudió en 17 gatos adultos el efecto de la estimulación eléctrica de electrodos implantados en hipocampo dorsal y en un grupo de 9 gatos con cánula implantada en la misma estructura los resultados de la microinyección de carbaol y dioxolane. La estimulación eléctrica evocó rotación contralateral cabeza-ojo-cuerpo en 3 gatos (17,6%) sólo cuando estuvo asociada a post-descargas. Por otra parte los agonistas colinérgicos provocaron respuesta de rotación contralateral de cabeza-ojo-cuerpo en 8 de los 9 animales. Además se observaron otras manifestaciones de activación del sistema colinérgico (autónomas, cambios de carácter, activación del EEG, epilepsia). En vista que el dioxolane, un agonista muscarínico exclusivo evocó esta conducta de rotación y que el sulfato de atropina inyectado previamente en el mismo sitio lo bloqueó, permite postular que la conducta observada es debida a la activación de los receptores muscarínicos del hipocampo dorsal.

Se discute la razón del fracaso de la estimulación eléctrica en inducir la respuesta de rotación. Estos resultados agregan al hipocampo a la serie de estructuras capaces de inducir la conducta citada y apoyan el papel del hipocampo en la función motora.

BUSCANDO UN SUSTRATO NEUROLOGICO PARA EL APRENDIZAJE DE UNA RESPUESTA CONDICIONAL VISO-SOMESTESICA (In search of a neurological substrate for learning of a visual-somesthetic conditional response).

Nazzari, O., Morgues, M., Pinto-Hamuy, T. y Guic-Robles, E. Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

En un trabajo anterior demostramos que ratas grises pueden aprender un modelo de discriminación bimodal viso-somestésico mediante la modulación de la respuesta y modificación del estímulo, objetivo que no se logró bajo las condiciones habituales de entrenamiento.

Se ha emprendido ahora el estudio de estructuras que estarían involucradas en la adquisición y retención de este aprendizaje. Hemos supuesto que las áreas periferias descritas por Montero et al. (1973) serían críticas y en especial el área antero-medial (AM) por sus relaciones con la corteza visual primaria, el área somática y corteza límbica (Carrasco, Torrealba, comunicación personal). Se usaron ratas grises; los sujetos (Ss) se lesionaron bajo gufa estereotáxica después de ser entrenados. Las ratas operadas fueron las siguientes: AM (N=5) visual estriada (N=2) y una control lesionada en el área auditiva. Dos Ss AM con lesión completa del área y sin compromiso de la visual primaria, no mostraron retención post-operatoria ni reaprendieron la tarea. Una tercera, con lesión parcial AM y con compromiso del área estriada, no retuvo el hábito pero reaprendió la tarea. Dos ratas con lesión del área visual primaria, presentaron diferencias en la retención, una con lesión más restringida retuvo el hábito, la segunda, con lesión más extensa, no tuvo retención pero reaprendió el hábito.

Los cerebros de los otros 2 Ss AM y de la auditiva, se encuentran en procesamiento. Estos resultados alentadores indicarían que la integridad del área AM sería necesaria para la retención y el aprendizaje del hábito.

EFFECTO DE PROGESTERONA SOBRE PIEL AISLADA DE PLEURODEMA THAUL, MODELO DE EPITELIOS DE ALTA RESISTENCIA. (Progesterone's effect on isolated skin of isolated skin of Pleurodema thaul, model of high resistance epithelia). Neumann, V.; Concha, J.; Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas y Recursos Naturales, Universidad de Concepción. (Patrocinio: Dr. J. Concha B.).

El efecto natriurético de progesterona (Pg) ha sido repetidamente demostrado en el hombre. El mecanismo de acción que explicaría dicho efecto no ha sido, sin embargo, claramente establecido.

A fin de aportar datos que permitan aclarar el posible mecanismo de acción de la hormona, nuestro laboratorio ha estudiado la acción de Pg en piel de P. thaul. Trabajando con 22 Na se demuestra que el flujo unidireccional de Na más afectado por Pg 3×10^{-4} M, medio mucosal de incubación, es el influjo, lo que explica la reducción observada de corriente de cortocircuito. Usando el test de amiloride se demostró, en un trabajo comunicado previamente, que dicha reducción se debe a una disminución del potencial de sodio (E_{Na}). Se descartó además un bloqueo de la bomba de Na-K. Dado el estrecho acoplamiento existente entre el consumo de oxígeno y el transporte activo de Na, se estudió el efecto de Pg sobre el consumo de oxígeno. Se demuestra que Pg bloquea el consumo de oxígeno. Se demuestra además que el 2,4 DNP revierte el efecto inhibitorio del consumo de oxígeno de la ouabaina pero no afecta la inhibición producida por Pg. En base a los resultados expuestos se postula que Pg produce un bloqueo metabólico de las células epiteliales.

Financiado por el Proyecto N° 20.33.02

Dirección de Investigación, Universidad de Concepción.

EFFECTO ESTIMULANTE DEL FENOTEROL EN EL TRANSPORTE EN PIEL AISLADA DE SAPO*. (Stimulatory effect of fenoterol on transport across isolated toad skin). Norris, B., Nova, M.C. Departamento Ciencias Fisiológicas, Facultad Ciencias Biológicas y Recursos Naturales. U. de Concep.

El Fenoterol es una droga broncodilatadora eficaz en el tratamiento del asma bronquial por ser estimulante de receptores beta adrenérgicos. Debido a que su acción a nivel de transporte iónico es desconocido, se estudió su efecto en el circuito eléctrico equivalente de la piel de sapo Pleurodema thaul, bañada en Ringer y burbujeada con aire comprimido. Se midió diferencia de potencial (DP) y corriente de corto-circuito (CCC) según técnica de Ussing. Se aplicó test de amiloride y se estudió consumo de O_2 mediante el método clásico de Warburg (Precisión Warburg Apparatus).

Se encontró aumento progresivo de DP y CCC con dosis crecientes (6×10^{-7} a 6×10^{-6} M, serosal) siendo el aumento máximo un 150%. El efecto no se modificó en presencia de aumento o disminución de Ca^{2+} ni con reserpina. El test de amiloride (6×10^{-6} M fenoterol, 1×10^{-6} M, amiloride, mucosal) reveló aumento de E_{Na} (45%) y disminución de R_{Na} (23%). El consumo de O_2 aumentó en 38%.

Se concluye que el efecto estimulante de fenoterol en la piel de sapo se debe en parte al aumento del transporte activo de sodio, conclusión apoyada por el test de amiloride (aumento de E_{Na}) y por el aumento de consumo de O_2 , y en parte a disminución de la resistencia apical a la entrada de sodio (disminución de R_{Na}).

* Proyecto 20.33.10, D.I., U. de Concepción.

ACTIVIDAD FARMACOLOGICA DE N-METILCITISINA (Pharmacological activity of N-methylcytisine) Nuñez-Vergara, L.J., Silva-Lukaszewsky, M.M., Negrete, R., Aguilera, G. y Arellano, J. Laboratorio de Farmacología. Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

El alcaloide N-metilcitisina fue aislado a partir de las hojas de Sophora Macrocarpa Smith. Sin embargo, este alcaloide ha sido identificado en otras 84 especies pertenecientes a 18 géneros agrupados en las familias de las Leguminosas, Escrofulariaceas, y Berberidaceas.

Algunos estudios sobre la actividad farmacológica de este alcaloide describen efectos ganglionares similares a Nicotina, hiperglicemia y efectos sobre la presión arterial.

En este trabajo se estudia el efecto de N-metilcitisina sobre aurícula aislada de cobaño e intestino aislado de rata.

Los estudios se efectúan de acuerdo a las técnicas convencionales, suspendiendo cada preparación en 10 ml. de una solución Krebs-Ringer pH= 6.0 a la temperatura adecuada para cada caso, con burbujeo continuo de una mezcla de O_2/CO_2 (95/5). Luego se registran los cambios de tensión después de la adición del alcaloide.

Los resultados indican que N-metilcitisina provoca un aumento dosis-dependiente de la tensión basal tanto en aurícula como en intestino aislado.

También se discute el efecto de diversos antagonistas sobre las curvas dosis-respuestas del alcaloide en ambas preparaciones.

QUELANTES POLICARBOXILICOS COMO INHIBIDORES ESPECIFICOS DE LOS RECEPTORES DE TRANSFERRINA. (Polycarboxylic chelators as specific inhibitors of transferrin receptors). Nuñez, M.T. Department of Medicina, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts.

Se observó que quelantes policarboxílicos como etilendiaminotetraacetato (EDTA) y etilendiaminopentaacetato (DTPA) producen una inhibición de la unión de transferrina a reticulocitos. La posibilidad de que tal inhibición fuere específica para los receptores de transferrina fue estímulo para caracterizar dicho efecto. Su obtuvieron los siguientes resultados: a) la inhibición de la unión de transferrina producida por la pre-incubación de las células con EDTA o DTPA es irreversible, b) pre-incubación de células con los quelantes no inhibió la unión de ouabaina o insulina a sus respectivos receptores, c) determinación del monto de receptor por radioinmunoensayo dio valores similares para células control y células pre-tratadas con DTPA, d) el ensayo de actividad de receptor en células solubilizadas con detergente indicó, en células pre-tratadas con DTPA, una disminución de la capacidad de unir transferrina que se correlaciona cercanamente con el grado de inhibición observado en la unión de transferrina a la célula intacta, y e) un gran número de disipadores de radicales libres no protegieron a los receptores de la inactivación.

Se concluyó que quelantes policarboxílicos como EDTA y DTPA inhiben específicamente los receptores de transferrina. Dicha inhibición no se debe a una liberación de receptores al medio de incubación. Tampoco es debida al enmascaramiento de receptores en algún compartimiento intra-celular ni es debida a la destrucción de receptores en reacciones del tipo Fenton o Haber-Weiss.

CONEXIONES CALLOSAS VISUALES EN RATONES NORMALES, ENUCLEADOS Y ANOFALMICOS CONGENITOS. (Visual callosal connections in normal, enucleated and congenitally anophthalmic mice). Olavarría, J., Van Sluyters, R. C. Neurobiology Group & School of Optometry, University of California, Berkeley, USA. (Patrocinio: F. M. Jaksic).

Anteriormente hemos observado que, aunque la distribución adulta de las conexiones callosas visuales en ratas enucleadas al nacer es claramente anormal, ambos patrones callosos se caracterizan en general por poseer una acumulación de células y terminaciones a lo largo del borde lateral del área 17 y una serie de anillos callosos extraestrías. Este efecto limitado de la enucleación neonatal puede deberse a que el desarrollo de la vía callosa no depende enteramente de la presencia de los ojos, o que los ojos son capaces de influir prenatalmente en este desarrollo a través de la incipiente conexión retino-genículo-cortical.

En este estudio hemos investigado el efecto de la ausencia total de conexiones retino geniculadas en el desarrollo de las conexiones callosas. Usando peroxidasa (HRP) y secciones coronales, o tangenciales de la corteza aplanada, hemos demostrado la distribución callosa en 17 ratones anoftálmicos (cepa ZRDCT-an), y 8 ratones normales y 8 enucleados de la misma cepa. Además, el patrón de ratones normales de esta cepa fue comparado con el de ratones normales de la cepa C57BL.

El patrón callosos de ratones anoftálmicos y enucleados muestra, como el de los ratones normales de ambas cepas, una banda en el borde lateral del área 17 y bandas y anillos en la corteza extraestrías, aunque estos elementos aparecen algo más irregulares y distorsionados que en los ratones normales. No observamos diferencias en la distribución radial de células y terminales callosos. Estos resultados sugieren que el desarrollo de las conexiones callosas visuales es en gran medida independiente de la vía retino geniculada.

Financiado por EYO2193, BNS8200083.

ACTIVIDAD TESTICULAR EN TROPIDURUS ATACAMENSIS. (Testicular activity in Tropidurus atacamensis). Olivares, A., Henríquez, R., Estica, O. y Tapia, L. Dpto. Cs. Biológicas, F. Cs. de la Salud, Universidad de Antofagasta.

Anteriormente se ha descrito la actividad testicular en una población del lagarto Tropidurus atacamensis localizada en el paralelo 23°45' S.

En este trabajo se estudia el mismo aspecto en otras 4 poblaciones ubicadas entre los paralelos 24° S. y 22° S. con el propósito de verificar y generalizar la función del testículo en esta especie.

Se capturaron machos adultos en las 4 estaciones del año. Se determinó volumen testicular, índices del testículo y del epidídimo e índices espermáticos en ambos órganos. En testículos procesados por técnica histológica corriente se analizaron las poblaciones de la línea germinal.

Se observó que el tamaño e índice del testículo son máximos en invierno y mínimos en verano, que la producción de espermatozoides es mínima a final de verano y máxima en invierno y comienzo de primavera. El índice epididimario es mínimo en verano-otoño y máximo desde invierno a comienzo de primavera en tanto que el índice espermático de este órgano es mínimo a final de verano y otoño.

Los resultados similares en todas las poblaciones permiten concluir que esta especie presenta regresión testicular desde fines de primavera hasta mediados de verano y la máxima actividad gamética desde invierno a primavera.

Financiado por DICYT. U. de Antofagasta

PERTURBACIÓN DE LOS MOVIMIENTOS DE DEFORMACIÓN DEL HUEVO DE SANGUIJUELA CAUSADA POR CITOCHALASINA B. (Perturbation of deformation movements of the leech egg caused by cytochalasin B). Olea, N., Loyarte, N. y Fernández, J. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

Los polos del huevo de Theromyzon rude contienen citoplasma rico en organelos, o teloplasma, destinado a la manufactura de ecto y mesodermo. La formación de teloplasma ocurre durante las primeras 6 hr de desarrollo y se acompaña de notorios movimientos de deformación del huevo. Estos se manifiestan en la forma de dos anillos polares y de varias bandas meridionales de contracción, que se desplazan hacia cada uno de los polos del huevo. Así, el huevo parece incluir un sofisticado aparato contráctil destinado a la translocación vectorial de organelos.

Para explorar la organización del aparato contráctil, huevos de 0-3 hr de desarrollo se incubaron por 2-3 hr en medio de cultivo con 75 ug/ml de citochalasin B. Los resultados fueron los siguientes: A) Los movimientos de deformación pueden iniciarse un poco antes que en los controles y se caracterizan por la aparición de un solo anillo de contracción en el polo animal. B) El destino de este anillo depende del tiempo de desarrollo del huevo al entrar al medio con la droga. En huevos expuestos temprano a la droga el anillo alcanza el polo vegetal, mientras en aquellos expuestos tardamente el anillo avanza solo hasta el ecuador, o se detiene en el hemisferio animal. C) Como las bandas meridionales de contracción se forman entre el lugar de detención del anillo y el polo vegetal, su longitud es mayor en huevos expuestos más tarde a la droga. Se propone que filamentos contráctiles de distribución anular estarían presentes en el huevo cero hr, mientras los de orientación meridional serían ensamblados en la dirección del polo animal durante las primeras horas del desarrollo. (Proyecto B-1223/8333, financiado por DDI, U. de Chile).

CITOTOXICIDAD DE CICLOFOSFAMIDA SOBRE LAS POBLACIONES CELULARES DEL TESTICULO DE Schistocerca cancellata. (Cytotoxicity of cyclophosphamide on Sch. cancellata's testicle cell). Orellana, M., Elahueño, M., La Fuente-Indo, N. Lab. Citogenética Exp., Fac. Odontología, U. de Chile.

Nosotros estamos trabajando en la detección de daño genotóxico sobre el sistema Sch. cancellata producido por agentes químicos, sin embargo es indispensable evaluar el daño tóxico que estas sustancias producen en las poblaciones celulares del testículo de esta sp., para tener una clara percepción de la acción total del agente. Hemos elegido el testículo de Sch. cancellata como órgano blanco, pues este presenta una organización quística que facilita la detección de cada población en el túbulo y como agente ciclofosfamida (CFA), de conocida acción genotóxica, que se usa como citostático en el tratamiento de lesiones tumorales.

Se inyectaron 12 individuos 0 adultos con 200 mgr de CFA por kg de peso corporal, diluida en suero fisiológico para insectos. Se usó un grupo control inyectado con igual volumen de suero. Se muestrearon los testículos a las 24, 48 y 72 horas de tratamiento. Se fijaron e incluyeron según la técnica clásica y se tiñen con feulgen y tinción corriente.

Las poblaciones tienen diferente sensibilidad, siendo las más resistentes las células troncales, la acción depende de la hora de tratamiento para cada población.

Proyecto B 1826-8315, U. de Chile.

Liolaemus bellii GRAY, 1845 (REPTILIA, IGUANIDAE) REVALIDACION DE UNA BUENA ESPECIE. (Revalidation of *Liolaemus bellii* Gray, 1845 (Reptilia, Iguanidae) a good species). Ortiz, J.C. Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

En taxonomía muchos problemas nomenclaturales suceden fundamentalmente debido a las descripciones poco explícitas de los autores, en especial los del siglo pasado, lo cual dificulta su identificación y a la no revisión por los investigadores posteriores del material original (tipos) que sirvió de base a dichas descripciones. Un ejemplo de esto son los *Liolaemus* descritos por Gray (1845) en su "Catalogue of the specimens of the lizards in the British Museum (Natural History)" los cuales en su gran mayoría fueron considerados por Boulenger (1885) como sinónimos de otras especies ya descritas. Este criterio ha sido seguido hasta la actualidad pero sin que se hubieran vuelto a revisar dicho material tipo.

Uno de los *Liolaemus* descritos por Gray, *L. bellii* ha sido asignado como sinónimo de *L. bibronii* (Bell, 1843). El estudio comparado de la morfología, de los modelos de diseño y coloración y de la escutelación demostró que son dos especies distintas.

Los caracteres de *L. bellii* coinciden con una especie sinónima descrita más tarde por Müller y Hellmich (1932) como *L. altissimus*.

Proyecto 20.38.02. D.I. Universidad de Concepción.

TRANSPORTE OVULAR EN CICLOS FERTILES E INFERTILES EN ROEDORES. (Ovum transport in fertile and non fertile cycles in rodents).- Ortiz, M.E., Carvajal, M.I. y Bedregal, P.- Laboratorio de Endocrinología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

En la rata se aprecian diferencias en el curso temporal del transporte ovular asociados a distintos perfiles hormonales dentro del rango fisiológico. En el hamster, se ha establecido que el perfil hormonal difiere en ciclos fértiles y no fértiles. En este trabajo se caracteriza el transporte ovular en estas dos condiciones fisiológicas, y se establece la posible participación del huevo en este proceso.

A distintos intervalos después de la ovulación se comparó el número, distribución y condición de los huevos en hamster apareadas, no apareadas o inseminadas artificialmente con espermatozoides vivos o muertos.

El transporte ovular es diferente en los animales preñados y no preñados. El desarrollo de los huevos en los animales preñados e inseminados artificialmente con espermatozoides vivos es semejante.

Dado que se observaron diferencias en el transporte ovular, no sólo en las distintas condiciones endocrinas, sino también entre huevos fecundados y no fecundados en la misma condición fisiológica, concluimos que la condición del huevo también influye en la regulación de su transporte.

Investigación financiada por Fundación Rockefeller Proyecto RF 83016.

PURIFICACION Y CARACTERIZACION PARCIAL DE ACTIVIDADES RIBONUCLEASICAS EN CELULAS MESOFILAS DE MAIZ. (Purification and partial characterization of ribonucleases activities in mesophyll cells of maize). Ortiz, O., Del Pino, C. y Meza-Basso, L.- Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Se espera que las enzimas que hidrolizan RNA cumplan un rol específico en el procesamiento de estos ácidos nucleicos *in vivo*. Experimentos preliminares demostraron la presencia de al menos una actividad RNásica en extractos purificados parcialmente de células mesófilas de maíz. Con el objeto de caracterizar esta actividad se presenta un esquema de purificación de las enzimas nucleolíticas encontradas.

Se homogenizaron hojas de maíz de 10 días de edad. El extracto soluble se fraccionó con sulfato de amonio al 30-80% de saturación. El precipitado obtenido fue resuspendido en tampón pH 5,5 y fraccionado en CM-celulosa, obteniéndose dos clases de fracciones con actividad: i) Aniónicas, no retenidas en esta resina, y ii) Catiónicas, que fueron eluidas con 0,5 M KCl. Las especies aniónicas fueron adicionalmente purificadas utilizando Sephadex G-200 y DEAE-celulosa, en tanto que las especies catiónicas, recromatografiadas en CM-celulosa y eluidas por gradiente salina. La actividad enzimática fue determinada, utilizando RNA de levadura como sustrato, o bien por la acción hidrolítica de las enzimas sobre (³H)-RNA sintetizado *in vitro*.

Cuatro enzimas de naturaleza aniónica y dos catiónicas fueron purificadas. Las seis enzimas aisladas poseen propiedades cromatográficas, electroforéticas, además de actividades específicas diferentes, indicando que representan entidades macromoleculares distintas.

Financiado por Proyecto S-83-01, DI-UACH.

ROL DE LA HIPOCAPNIA EN EL AUMENTO DE SURFACTANTE PULMONAR INDUCIDO POR LA INFUSION DE ACIDOS GRASOS LIBRES. (Role of hypocapnia in the pulmonary surfactant increase induced by free fatty acids infusion). Oyarzún, M. J., Donoso, P. y Quijada, D. Lab. Fisiopatología Respiratoria. Div. Ciencias Médicas Oriente. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.

La infusión de 20 mg/kg/min de ácidos grasos libres (AGL) aumenta el contenido de surfactante en el lavado bronquioalveolar del conejo y produce edema, hipoxemia e hipocapnia. Estudios previos sugieren que la PACO₂ sería un regulador de los depósitos intracelulares de surfactante (J. Appl. Physiol. 53: 555, 1982).

A fin de conocer el rol de la hipocapnia en el aumento de surfactante en nuestros experimentos, administramos 20 mg AGL/kg/min a conejos respirando: a) aire ambiental (n = 7); b) mezcla de 5 % CO₂ y 95 % O₂ (n = 7) y c) mezcla de 5 % CO₂, 21 % O₂ y 74 % N₂ (n = 7).

Las mezclas b) y c) lograron prevenir la hipocapnia inducida por AGL en los conejos respirando aire ambiental, en tanto que con la mezcla b) se logró hiperoxemia durante la infusión de AGL (PaO₂ = 373 mm Hg ± 35 ES). Se determinó fosfatidilcolina disaturada (DSPC) en el lavado bronquioalveolar como índice de surfactante. Las dos mezclas gaseosas usadas (c y b) bloquearon el 85,6 % de aumento de DSPC inducido por AGL (p < 0,01) sin cambiar substancialmente el edema pulmonar post-AGL. Nuestros resultados sugieren que la hipocapnia provocada por la hiperventilación durante la infusión de AGL sería un factor en la liberación de DSPC inducida por AGL.

Financiado por D.D.I. (M 1436). Universidad de Chile.

ORGANIZACION DEL CITOESQUELETO EN CELULAS OXINTICAS. (Cytoskeletal organization in oxyntic cells) Panace, Teresita; Guzmán, Ana María; Fuentes Carmen Gloria; Rafaeli, Davor; González S, Roberto y Garrido, J. Departamento de Biología Celular, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Las células oxínticas, al secretar ácido experimentan cambios característicos en su forma. Hemos sostenido que en estos cambios la reorganización de elementos del citoesqueleto desempeña un importante papel.

Para indagar sobre la organización del citoesqueleto hemos empleado glándulas gástricas de rata aisladas, según la técnica descrita por A. González (1). Estas, luego de extracción por diversos detergentes en medios de composición iónica determinada fueron sometidas a análisis ultraestructural, bioquímico e inmunocitoquímico. Los sobrenadantes de las extracciones fueron analizadas mediante electroforesis para identificar y cuantificar proteínas citoesqueléticas extraídas.

Los resultados muestran que existe para la actina F una correlación directa entre asociación con membranas y resistencia a la extracción por detergentes. La inmunocitoquímica con anti-espectrina de eritrocitos humanos muestra una reacción positiva en las células oxínticas antes y después de extracción con detergentes.

Estos resultados permiten postular una posible intervención de espectrina como proteína ligante de actina a membranas en estas células.

(1) González, Alfonso. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

EFFECTO DE As^{+5} SOBRE EL CICLO CELULAR EN MERISTEMA RADICULAR DE ALLIUM CEPA L. (Effect of As^{+5} on the cell cycle of Allium cepa L. root meristems). Pepper, I. y Galanti, N. Deptos. de Med. Experimental y de Biol. Cel. y Genética, F. de Medicina, Div. Norte, Universidad de Chile.

El As es un contaminante ambiental que provoca patologías derivadas de alteraciones de la proliferación celular. En las células, As^{+5} reemplaza al P en compuestos fosforilados, provocando productos arsenicados inestables. Concentraciones altas inhiben incorporación de aminoácidos y nucleótidos precursores.

Se estudió el efecto de As^{+5} sobre el meristema de la raíz de A. cepa L. Se midió el crecimiento longitudinal de la raíz y frecuencia de células en M, G_1, S y G_2 , y en tres subcompartimientos de la fase S. Se empleó técnicas citológicas, autoradiográficas y citofotométricas en apilados de meristemas radiculares tratados con diversas concentraciones de As^{+5} y por diferentes períodos de tiempo.

Concentraciones bajas de As^{+5} disminuyen la frecuencia de células en M y S y aumentan el porcentaje de células en G_1 y G_2 . La fase S temprana prácticamente desaparece. Estos resultados señalan que el ciclo celular se detiene en G_1 y G_2 . Este efecto es reversible llegando a condiciones controles a las 36-48 hrs. Concentraciones de As mayores que 3 o 4 ppm inhiben irreversiblemente el ciclo proliferativo.

Considerando el requerimiento energético necesario para las transiciones $G_1 \rightarrow S$ y $G_2 \rightarrow M$, se postula que el efecto observado se debe a competencia de As^{+5} por P en compuestos fosforilados.

(Proyectos 1/82-83 PNUD/UNESCO, B 1245/8321 U. de Chile y Convenio CSIC-España/U. de Chile).

GONADA DE LARVAS DE BUFO ARENARUM SOMETIDAS A LA ACCION DE TEMPERATURA RELATIVAMENTE ELEVADA. (The effect of high temperature on gonads from Bufo arenarum larvae). D. Paz y L. Pasina. Laboratorio de Investigaciones Embriológicas (CONICET), R. Argentina.

Ha sido reconocido que Bufo arenarum pertenece a una "raza sexual indiferenciada" (Pisano y Pizarro, 1958) por sus características ováricas en el 100% de las larvas. El viraje hacia el sexo genético masculino se realiza luego de la metamorfosis y cabe preguntarse si al acelerar este proceso por acción de temperaturas relativamente elevadas, puede verificarse un viraje más temprano. Con el objeto de contestar a ese interrogante se han mantenido desde la segmentación hasta la metamorfosis, larvas de Bufo arenarum a temperatura constante de $36^\circ C (\pm 1^\circ)$. Los resultados obtenidos no corroboran lo señalado al respecto, en literatura, para otras especies anfibias. En nuestro caso, el cuadro más frecuente ha sido una multiplicación gonial y la maduración de una cantidad superior de ovocitos con respecto a los controles. Muchos de los ovocitos de mayor diámetro, probablemente por la acelerada maduración, se encuentran en desintegración manifestada por picnosis nuclear y por intensa vacuolización del citoplasma. Este cuadro abarca mayores extensiones en la gonada, en función de la proximidad de la metamorfosis. Contrariamente a lo señalado en otros Bufoidos, en la especie en estudio, no se verificó, por lo menos en los parámetros experimentales empleados, una masculinización anticipada y menos todavía la inversión del sexo.

CICLO REPRODUCTIVO DE Diplodon chilensis chilensis (MOLLUSCA, BIVALVIA) (Reproductive cycle in Diplodon chilensis chilensis (Mollusca, Bivalvia)). Peredo, S., E. Parada, I. Valdebenito, G. Alcaño y C. Alvarez. Depto. Ciencias Naturales, P. Universidad Católica - Temuco.

Estudios anteriores (Peredo, 1982) han caracterizado la organización gonadal y gametogénesis de D. ch. chilensis. El presente estudio pretende determinar el ciclo reproductivo anual de esta especie.

Mediante un muestreo al azar, se recolectaron 1853 ejemplares de un banco en la zona litoral del lago Villarrica; 1289 fueron utilizados para el cálculo de la proporción sexual y 564 ejemplares fueron separados en intervalos de tallas y mantenidos en jaulas desde marzo 1982 a abril 1983 en el canal de alimentación de los estanques de la piscicultura de Lautaro. Mensualmente se extrajeron 5 individuos de cada talla para análisis histológico.

Los resultados señalan que la proporción sexual es 1:1 ($\chi^2, p < 0.01$); el análisis histológico de las gonadas indica que esta especie presenta actividad gamética durante todo el año distinguiéndose dos períodos: a) proliferación y madurez de marzo a agosto, período en que los folículos gonadales se observan repletos de gametos en vías de maduración y maduros, y b) evacuación y proliferación de septiembre a febrero que se caracteriza por ser parcial y asincrónico. No se registró período de regresión gonadal.

Este estudio sugiere que D. ch. chilensis es un evacuador de gametos de primavera-verano con un período de mayor actividad en los meses de noviembre-diciembre, sin registrarse depleción de los folículos gonadales.

Financiado: DIUC-CIPUC. Temuco (2.80.2).

DISTRIBUCION DE ABUNDANCIAS Y DIVERSIDAD DE LA VEGETACION RELICTUAL EN LA ZONA MEDITERRANEA DE CHILE. (Abundance distribution and diversity of relictual vegetation in the mediterranean zone of Chile). Pérez, C. y Villagrán, C. Fac. de Cs. Bás. y Farms., U. de Chile. (Patrocinio: L. Cardemil).

Se evalúan los efectos de la contribución esclerófila en la estructura de abundancias y diversidad de la vegetación relictual de ocho localidades situadas entre 30° y 34°S. De la ordenación de especies de acuerdo a sus valores de importancia (frecuencias, áreas basales de troncos y coberturas de follaje) se obtuvieron las curvas diversidad-dominancia (Whittaker 1975); como descriptor de la diversidad se utilizó el índice de Shannon (1949).

Para las tres localidades más boreales se obtuvieron curvas tipo geométrica, asociadas a un alto grado de concentración de la dominancia del olivillo; para las localidades restantes se obtuvieron curvas tipo sigmoidea, asociadas al incremento en número de especies esclerófilas y una distribución más homogénea de las abundancias de las poblaciones presentes. En correspondencia con este resultado, los valores de diversidad disminuyen desde el centro hacia el norte.

Los resultados obtenidos para las localidades del norte podrían deberse al efecto combinado de i) aislamiento de fuentes boscosas de este sector por barreras de hábitat y ii) reducción areal de la vegetación bajo las condiciones de aridez creciente del Holoceno. En las restantes localidades, situadas dentro del área distribucional del bosque esclerófilo, la coexistencia de especies esclerófilas y relictuales, sumada al incremento paulatino en importancia de las primeras, incrementaría la diversidad total de la vegetación, como ha sido mostrado para otras áreas mediterráneas (Stebbins y Major 1965). En los sectores más xéricos de cada localidad, la heterogeneidad ambiental jugaría también un rol preponderante en el incremento de la diversidad.

INHIBICION SELECTIVA DE LA OXIDACION PEROXISOMAL DE ACIDOS GRASOS POR FENOTIAZINAS (Selective inhibition of fatty acid oxidation in peroxisomes by phenothiazines). Périco, R., Necochea, C., Škorin, C. y Leighton, F. Laboratorio de Citología Bioquímica, Departamento de Biología Celular, P. Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago, Chile.

La β -oxidación de ácidos grasos en hepatocitos y otras células animales se realiza simultáneamente en mitocondrias y peroxisomas, desconociéndose el significado biológico de esta doble localización. Para analizarla sería conveniente contar con procedimientos experimentales que permitan bloquear selectivamente la oxidación de ácidos grasos en uno u otro organelo. Dado que no se conoce inhibidor alguno con estas propiedades, iniciamos el estudio del efecto de algunas drogas sobre la actividad localizada en peroxisomas. Incluimos a las fenotiazinas por unirse fuertemente a algunas proteínas reguladoras y a apoproteínas de flavoproteínas.

En hepatocitos aislados de ratas tratadas con Nafenopina para inducir proliferación peroxisomal, encontramos que Clorpromazina, Tioridazina y Flufenazina, a concentraciones variables entre 0.02 y 0.50 mM ejercen inhibición selectiva de la oxidación peroxisomal de ácido láurico y ácido palmítico, detectada midiendo la producción específica de H_2O_2 por peroxidación de metanol. La actividad peroxisomal puede inhibirse en 70% sin afectar la cetogénesis que, simultáneamente, evalúa la actividad mitocondrial y la viabilidad celular. La inhibición depende de la dosis, de la concentración de hepatocitos y del sustrato empleado. Actualmente investigamos el mecanismo de esta nueva actividad farmacológica de fenotiazinas que abre nuevas posibilidades experimentales para el estudio de la función peroxisomal y la organización del metabolismo de lípidos en la célula.

Financiado por Proyecto DIUC 58/82.

CELULAS MIOIDES E INTERSTICIALES (Tipo-Leydig) RECIBEN INERVACION SIMULTANEA EN EL TESTICULO DE *Sicyopterus japonicus* (Teleostei). (Myoid and Leydig-type interstitial cells are simultaneously innervated in the testes of the clingfish *S. sanguineus*).

PÉREZ F.; A.M. FUENZALIDA; E. MENDEZ y H. CERISOLA. Labs. de Embriología de Inst. de Biología, U. Católica de Valparaíso y Fac. Medicina, U. de Valparaíso; Dpto. Cs. Nats. Acad. Sup. Cs. Pedag. Valparaíso. (Patrocinio: Eduardo Couve).

El tejido intersticial testicular en *S. sanguineus* está formado por células mioides dispuestas en varias capas separadas por colágeno, células intersticiales (tipo-Leydig), estructuras vasculares y nerviosas. En el presente informe se muestra los elementos nerviosos y su relación con el resto de los componentes.

Secciones transversales de fascículos de axones aparecen con frecuencia muy cerca de las células mioides. Algunos de ellos están rodeados por células de Schwann, mientras que otros sólo lo están por una delgada capa de un material levemente denso. Los axones muestran numerosos neurotúbulos. En asociación muy íntima, ya sea, con las células mioides o con algunas células intersticiales aparecen terminaciones nerviosas cuyas características ultraestructurales corresponden al tipo adrenérgico y colinérgico. Más aún, extensas varicosidades contenidas vesículas de uno o de ambos tipos, adrenérgico y/o colinérgico, se hallan en estrecha relación con las células mioides y las células intersticiales simultáneamente. Las células mioides comúnmente emiten procesos que van a tomar contacto con las varicosidades. Esporádicamente algunas células mioides aparecen en contacto directo con las células intersticiales sin interposición de alguna varicosidad nerviosa.

Se muestra la forma como está innervado el tejido intersticial incluyendo el componente endocrino en esta especie y se formula una posible explicación para un control dual de la función endocrina testicular.

ALGUNAS APLICACIONES DE LA METENAMINA DE PLATA E INCLUSIÓN EN METACRILATO EN INMUNOCITOQUÍMICA. (Some useful applications of silver methenamine and methacrylate embedding in immunocytochemistry). Peruzzo, B. Instituto de Histología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. (Patrocinio: E.M. Rodríguez).

Con el objetivo de perfeccionar los métodos inmunocitoquímicos (ICQ) usados hasta el presente, en nuestro laboratorio se han estandarizados los 4 procedimientos que se describen a continuación. Se usaron cortes semifinos de hipotálamo e hipofisis de rata, fijados en Bouin e incluidos en metacrilato.

1. ICQ para neurofisininas; 2. Cortes seriados-ICQ para neurofisininas, oxitocina y vasopresina; 3. ICQ para neurofisininas-tinción con metenamina de Plata (con y sin oxidación previa) y 4. Tinción doble: ICQ para neurofisininas-metenamina de Plata, luego ICQ para somatostatina.

El procedimiento 1 permite determinar con precisión la localización intracelular del producto de reacción. El procedimiento 2 posibilita visualizar la inmunoreactividad de una misma célula o prolongación celular frente a distintos anticuerpos. El procedimiento 3 aumenta notablemente la intensidad del producto de reacción. Cuando se realiza oxidación previa a esta tinción, se tiñen además las membranas basales. El procedimiento 4 permite visualizar en un mismo corte 2 tipos de antígenos, una reacción aparece negra (por la metenamina de Plata) y la otra café (por la diaminobenzidina).

Son claras las ventajas aportadas por esta serie de procedimientos, los cuales permiten aumentar la cantidad de información obtenida de la técnica ICQ. La inclusión en metacrilato y la tinción con metenamina (electrodensidad) pueden ser de gran utilidad en la ICQ a nivel de microscopía electrónica.

Proyecto RS-82-18, Dirección de Investigación, Universidad Austral de Chile.

MEDULA ADRENAL NEONATAL. MADURACION ONTOGENICA Y RESPUESTA FARMACOLOGICA. (Neonatal adrenal medulla. Ontogenic maturation and pharmacologic response). R.S. Piezzi, R. Bianchi, M. Souto y J. Miranda. Instituto de Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina.

La médula adrenal neonatal es un valioso modelo para estudiar la maduración morfológica, química y farmacológica del tejido cromaffn. Ratas de 2 a 10 días de edad fueron sacrificadas y las glándulas adrenales procesadas para: demostración histoquímica de catecolaminas, determinaciones fluorométricas de adrenalina (AD) y noradrenalina (NA) y estudios ultraestructurales. Los resultados mostraron: 1) El nivel de AD y NA es función de la edad. 2) La reacción cromaffn argéntica para NA fué positiva a partir del 7° día, cuando el nivel de NA fué de 35 ng/glándula. 3) Las células cromafines se modifican (aumentó la población granular e intenso desarrollo del Golgi) a partir del 7° día.

Ratas de 4,7 y 10 días de edad se inyectaron con una dosis de 0.001 UI/gr. peso corporal de insulina cristalina IP y se sacrificaron 3 horas después. Se midió glucemia y se extrajeron glándulas adrenales para estudio estructural. Se observó descenso del 50% de glucemia con respecto al control. El estudio morfométrico demostró un 32% de células alteradas (dilatación del espacio perigranular y del retículo-endoplásmico) a los 4 días, 14% a los 7 y 89% a los 10. No se observó en ningún caso depleción granular.

Estos datos sugieren: a) Las variaciones bioquímicas y estructurales postnatales son expresión de la maduración del complejo granular, y b) Falta de respuesta de la glándula neonatal a la acción insulina-hipoglucemia central.

FUNCION RENAL Y NIVELES DE CALICREINA GLANDULAR EN PLASMA DE RATA. (Renal function and glandular kallikrein in rat plasma). Pinto, I. y Albertini, R. Laboratorio de Fisiología. P. Universidad Católica de Chile.

Se estudiaron los cambios en los valores de calicreína glandular activa (CGL) en plasma en diferentes situaciones experimentales en que se compromete la función renal, con el fin de conocer la participación del riñón en los procesos de regulación de los niveles circulantes de esta enzima.

Tres grupos de ratas fueron sometidas a las siguientes manipulaciones experimentales. Grupo 1: Nefrectomía bilateral. Grupo 2: Ligadura bilateral de ureteres. Ambos grupos fueron sangrados 24 hrs después de la intervención. Grupo 3: Alimentación con dieta hiposódica por una y dos semanas antes de ser sangradas. Los valores de CGL en plasma y calicreína urinaria (CU), cuando se pudo colectar orina, de los grupos experimentales fueron comparados con aquellos de los controles con operación ficticia o con dieta normosódica. La CGL del plasma fue purificada empleando el método descrito por nosotros anteriormente (Masferrer, J. y col. Arch. Biol. Med. Exp. 15-2, 1982). La actividad enzimática de la CGL del plasma y CU fue medida mediante RIA para cininas.

Los valores de CGL en el plasma de los animales con nefrectomía total aumentaron tres veces con respecto a los controles ($p < 0.001$), mientras que en los animales con ligadura de ureter y riñones in situ disminuyeron significativamente ($p < 0.001$). La dieta hiposódica produjo un aumento significativo de la CGL del plasma en la primera y segunda semana mientras que la CU aumentó significativamente sólo en la 2a semana. La correlación entre los valores de CGL del plasma y CU fue significativa con $r = 0.81$ $p < 0.005$ la primera semana y $r = 0.62$, $p < 0.05$ la segunda semana.

Los resultados obtenidos indican una importante participación del riñón en el control de los niveles de CGL circulante.

COSTO ENERGETICO DEL CRECIMIENTO EN PLANTULAS DE TRIGO. (*Triticum aestivum*). (Energetic cost of growth of wheat seedlings) PINTO CONTRERAS M.* y GAUDILLERE J.P.**

*Depto de Producción Agrícola, Fac. de Ciencias Agr., Vet. y Forest. Univ. de Chile. **Laboratoire de Biochimie, Institut National Agronomique, Paris. (Patrocinio: Gladys Fernández).

Se determinó el costo del crecimiento de plántulas de trigo recientemente autótrofas, mediante el análisis de la asimilación del CO_2 en función de distintos aportes energéticos. El consumo de la fotorespiración fue igual a la energía de 1,9 fotones de luz visible (400-700 nm) por molécula de CO_2 reducida. Esto que equivale a un 9,3% de la energía total absorbida por la asimilación bruta. La respiración mitocondrial consume la energía equivalente a 10,9 fotones por molécula de CO_2 reducida, lo que corresponde a un 27,7% del total de la energía fijada por la asimilación bruta del CO_2 . La eficiencia energética en relación a esta última fue igual a 63% y la eficiencia de crecimiento 68%.

FERTILIZACION Y DESARROLLO DE OVOCITOS ENVEJECIDOS DE BUFO ARENARUM. (Fertilization and development in aging oocytes from *Bufo arenarum*). A. Pisanó. Laboratorio de Investigaciones Embriológicas (CONICET), R. Argentina.

Se ha estudiado la posibilidad de fertilización y desarrollo de ovocitos de *Bufo arenarum* que han sufrido un proceso de envejecimiento en su propio ovisaco hasta 15 horas después de iniciar el experimento. Los estadios de segmentación, blástula y gástrula tardía han sido contados y clasificados en función del número de ovocitos no fertilizados, de los en lisis, o bien de los detenidos durante las varias etapas inclusive la gastrulación. El análisis de los resultados demuestra que los ovocitos fertilizados hasta de 6 horas de permanecer en el ovisaco, no presentan diferencias significativas con respecto a los controles. En ovocitos que permanecieron más de 6 horas en ovisaco, el porcentaje de lisis aumenta paulatinamente, alcanzando un 60 - 70% en los ovocitos fertilizados 12 horas después; en estos últimos aproximadamente un 30% logra alcanzar estadios larvales, pero con manifestaciones malformaciones como ser acentuada hidropesía, miocrocefalia, escoliosis, etc. Los ovocitos fertilizados 15 horas después, también presentan un 70% de lisis en estadios de segmentación, sin embargo el 30% restante no supera la gástrula. Parece existir una gradiente de posibilidades de desarrollo el que se manifiesta tanto más malogrado, cuanto más amplio ha sido el período de envejecimiento del ovocito. Se analizan las causas del envejecimiento que probablemente residen en factores de orden enzimático.

SOBRE EL MECANISMO DE LA UNIÓN DE ESTEROIDES CARDIOTÓNICOS A LA BOMBA DE SODIO. (On the mechanism of binding of cardiotonic steroids to the sodium pump). Pizarro, M., De la Fuente, M. Depto. de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, (Patrocinio: R. Nevés).

Hemos demostrado que hay un solo receptor de esteroides cardiotónicos en sarcolema cardíaco de perro, y que la unión de ^3H -ouabaina ocurre de manera anticompetitiva. Los experimentos cinéticos muestran dos etapas en el ligamen: una rápida de orden 1 respecto a la concentración de ligando, y una lenta de orden 0, que presumiblemente refleja un cambio conformacional en el sistema de transporte. Ya que la unión de ouabaina depende absolutamente de un catión divalente como Mg^{2+} , hemos realizado experimentos cinéticos y de equilibrio en función de la concentración de Mg^{2+} : los resultados indican la presencia de dos sitios de distinta afinidad para el metal, y sugieren que el sitio de menor afinidad podría estar involucrado en la transición que abre un sitio de baja afinidad por esteroides cardiotónicos.

Financiado por Proyecto B 929 8234 de la Universidad de Chile.

ESTUDIO ECOCARDIOGRÁFICO PRELIMINAR EN ADOLESCENTES SOMETIDOS A ENTRENAMIENTO AERÓBICO (Preliminary echocardiographic study in adolescents boys undergoing aerobic training). Potthoff, S.; Jaque, L.; Maulén, J. y Montecinos, R. Laboratorio de Fisiología y Cardiología, Sede Maule, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Mediante ecocardiografía se han documentado cambios estructurales en el ventrículo izquierdo (VI) del corazón de atletas de élite sometidos a entrenamiento aeróbico (EA), siendo escasa la información existente respecto a adolescentes. - El propósito de este trabajo fue establecer si los cambios estructurales del VI también pueden ser inducidos en adolescentes no deportistas, sometidos a EA. - 37 jóvenes de 14 a 18 años de edad se dividieron en grupo entrenado (GE) (n=18) y grupo control (GC) (n=19), homogéneos para peso y superficie corporal. El GE fue sometido a un programa de EA, de 5 sesiones semanales de 60' c/u por 10 meses. El GC efectuó las actividades físicas propias de la edad. A ambos grupos se les practicó un ecocardiograma para medir: grosor pared posterior (GPP) del VI, grosor del septum (GS), diámetro sistólico (μS) y diastólico (μD), y porcentaje de acortamiento del diámetro menor (%AC) del VI. - En las mediciones se utilizó un ecocardiógrafo Modo M y los criterios de la Asociación Americana de Ecocardiografía. En el GE se obtuvieron los siguientes valores promedios: $0,99 \pm 0,13$; $1,03 \pm 0,12$; $5,26 \pm 0,39$ y $3,45 \pm 0,44$ cm. para GPP; GS; μD y μS respectivamente. Valores significativamente mayores ($p < 0,01$) que los obtenidos en el GC: $0,84 \pm 0,09$; $0,83 \pm 0,09$; $4,81 \pm 0,37$ y $3,10 \pm 0,20$. No se encontró diferencia significativa respecto al % AC entre ambos grupos. Estos hallazgos permiten concluir que en un grupo de adolescentes normales, sometidos durante 10 meses a entrenamiento de tipo aeróbico, es posible inducir cambios estructurales en el corazón, similares a aquellos que han sido descritos en atletas de élite.

PURIFICACION DE HEXOQUINASAS B Y C DE HEPATOMA DE NOVIKOFF Y PREPARACION DE ANTICUERPOS. (Purification of hexokinases B and C from Novikoff hepatoma and preparation of antibodies). Radojković, J. y Ureta, I. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.

Para obtener sueros anti-hexoquinasas (HK) B y C de rata se diseñó un protocolo de purificación a partir de hepatoma ascítico de Novikoff que posee alta actividad HK-B y C, baja HK-A y ausente HK-D.

Los homogeneizados se sonicaban y centrifugaban a 40.000 rpm por 60 min. Los líquidos sobrenadantes se adsorbieron en Azul de Cibacron-Sepharose a pH 7. HK-C no se retiene; HK-B es retenida eluyéndose con ATP 5 mM. Después de la separación inicial, el procedimiento era idéntico para ambas isoenzimas y consistía en cromatografías sucesivas en DEAE-celulosa, OH-apatita, Sephacryl S-200 y nuevamente en OH-apatita. La HK-B purificada suele tener una actividad específica de ~57 unidades/mg y una banda única de proteína por electroforesis en poliacrilamida en condiciones nativas o en presencia de detergente. La recuperación total era de ~8%. La HK-C purificada suele tener actividad específica de ~40 y una banda única de proteína por electroforesis en condiciones nativas o en presencia de detergente. La recuperación total es de ~8%.

Se inyectaron 100 μg de HK-B o HK-C en coadyuvante completo por vía intraperitoneal a ratones BALB/c. Esa dosis, sin coadyuvante, se repitió tres veces por vía endovenosa. A los 11 días de la última inyección los ratones fueron sangrados por punción cardíaca. El suero anti-HK B tiene un título (por ELISA) de 1/1024; no inhibe la actividad enzimática. El suero anti-HK C tiene un título de 1/4096 y es inhibitorio de la actividad. (Financiado por DDIC, Universidad de Chile y la Organización de los Estados Americanos).

SINECOLOGIA DEL SOTOBOSQUE EN UN MONOCULTIVO DE PINO EN LA DECIMA REGION DE CHILE. (Synecology of the understory of a Monterrey pine forest in the Tenth Region of Chile). Ramírez, C., Figueroa, H. y Carrillo, R. Institutos de Botánica y Estadística, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

La superficie cultivada con *Pinus radiata* en Chile aumenta ocupando terrenos baldíos o desplazando renovals del bosque nativo. Los requerimientos y la autecología de este árbol maderero son conocidos, pero poco se sabe sobre la sinecología de los ecosistemas boscosos artificiales que forma. Por lo anterior se estudia la estructura y microdistribución del sotobosque en un rodal de pino situado en la Décima Región.

Se trabajó con 40 censos de vegetación levantados en parcelas de 100 m², en el sotobosque de un rodal de 27 años del predio "Huape Tres Esteros", ubicado 20 km al Norte de Valdivia. Se relacionó la estructura del sotobosque con la densidad de pinos. La tabla fitosociológica fue tratada estadísticamente con análisis de conglomerados y de componentes principales.

Se encontraron 55 especies nativas y 10 introducidas, siendo *Aristolochia chilensis*, *Rubus constrictus*, *Chusquea quila*, *Boquila trifoliolata* y *Nertera granadensis* las más importantes. El sotobosque no corresponde al del bosque nativo, sino a matorrales secundarios de la Clase *Aristolochietalia chilensis*. Se encontró correlación negativa entre el número de especies y de estratos, cobertura total y abundancia de maqui, con la densidad de pinos. La quila no mostró esta relación por lo que suponemos que su distribución depende más de la humedad del suelo. Estos resultados se confirman con los análisis estadísticos, donde la quila forma matorrales diferentes.

(Proyectos S-82-16 y RS-80-18 de la DID-UACH)

EFFECTO INHIBITORIO DE ESTRADIOL EN LA ESTEROIDOGENESIS TESTICULAR. (Inhibitory effect of estradiol on testicular steroidogenesis). Ramfrez, S.A. y Valladares, L.E. División Ciencias Básicas, INTA. Universidad de Chile.

Las evidencias actuales señalan que la función endocrina del testículo estaría regulada no solo a través de las hormonas hipofisarias, LH, FSH y Prolactina, sino también por algunas sustancias sintetizadas a nivel gonadal, como estradiol (E_2). En el presente trabajo, la funcionalidad celular bajo la acción de E_2 es analizada por: a) Síntesis de testosterona (T) y b) Metabolización de Progesterona.

Las células de Leydig se obtuvieron por digestión del tejido testicular mediante colagenasa. Las células fueron incubadas a 34°C en una atmósfera de 95% O_2 : 5% CO_2 , en presencia o ausencia de (3H)-progesterona (3H -P). La producción de T se determinó por RIA. La metabolización de esteroides se analizó mediante extracción del medio de incubación y posterior caracterización por cromatografía en capa fina y/o cromatografía líquida de alta presión (HPLC).

La adición de 5 μg de E_2 al medio de incubación produce una inhibición del efecto estimulador de hCG en la síntesis de T. Al incubar células con concentraciones saturantes de 3H -P, se observa que el efecto inhibitorio de E_2 ocurre a nivel de la enzima 17 α -hidroxilasa.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se considera la posibilidad que E_2 pueda inhibir directamente la actividad de la enzima 17 α -hidroxilasa.

Financiado por Departamento de Desarrollo de la Investigación. Proyecto # B-15138322. Universidad de Chile.

EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE PEQUEÑAS DOSIS Gn-RH A RATAS HEMBRAS. (Effect of small doses of Gn-RH administered to female rats).

Recabarren, S.E., Rocha, E. y Ríos, G. Departamento de Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción, Chillán.

La liberación de Gonadotropinas en forma de pulsos está impuesta por la liberación intermitente de Gn-RH desde el hipotálamo. Este es un mecanismo fisiológico cuyo significado está estudiándose en nuestro Laboratorio. Se sometieron hembras impúberes y adultas a la administración de pequeñas dosis de LH-RH para determinar si hay algún efecto en la liberación de LH durante la prepubertad y durante el ciclo estral. Ratas de 21, 26 y 31 días recibieron 4 dosis de 20 ngLH-RH/100gr PC vía IP cada hora. Se tomó una muestra de sangre 0 y 20 min. postinyección para medición de LH en plasma por RIA. Se encontró mayor liberación de LH en hembras de 21 y 26 días que en las de 31 días ($P < 0.01$). Por otro lado, hembras adultas en PE, E, D1, D2, recibieron el mismo tratamiento vía IV. Se extrajo sangre a los 0, 20, 80, 140 y 200 min. en cuyo plasma se midió LH. Se encontró mayor liberación de LH total en animales en E que en D2 ($P < 0.01$). Se concluyó que hay cambios en la sensibilidad de la hipófisis a dosis pequeñas de LH-RH en el período prepuberal y durante el ciclo estral de la rata hembra.

Proyecto 20.24.02. Dirección de Investigación.

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA DIFERENCIACION DE LA GONADA EN DISTINTAS ESPECIES ANFIBIAS ARGENTINAS. (Comparative study on the differentiation of gonads in different species of argentinian amphibian). D. Rengel. Laboratorio de Investigaciones Embriológicas (CONICET). R. Argentina.

La diferenciación de la gónada de especies anfibias argentinas distribuidas en cotas elevadas o bien en llanura, presenta modalidades distintas. En algunas especies la gónada adquiere desde estadios larvales muy precoces todas las características morfológicas masculinas o bien femeninas (*Telmatobius*, *Hyla*) propia del sexo genético del ejemplar. En otras especies, en cambio, la gónada en el 100% de las larvas exhibe típicos cuadros histológicos femeninos (*Bufo arenarum*, etc.) logrando la normal "sex-ratio" algún tiempo después de haber superado la metamorfosis. Un cuadro completamente opuesto es decir un aspecto histológico típico de masculinidad se encuentra en el 100% de las larvas de una especie arborícola (*Phyllomedusa sauvagii*). También en este caso el 50% de los ejemplares logran manifestar su sexo genético femenino después de la metamorfosis. Esta ha sido la primera señalación al respecto no conociéndose hasta la fecha ninguna especie con las características que acabamos de describir. Se analizan las causas y se estudian los aspectos morfofisiológicos entre los dos cuadros, el uno de total femineidad larval y el otro de masculinidad.

EFFECTO DE ALTAS CONCENTRACIONES DE POTASIO EN EL DESARROLLO PREIMPLANTACIONAL DE RATON. (Effect of high potassium concentration on mice preimplantation development). Rizzo, M., Roblero, L. y Pérez, E.- Laboratorio de Endocrinología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Los fluidos del oviducto y del útero, constituyen el microambiente donde se desarrolla el embrión preimplantacional de mamíferos. La composición iónica de estos fluidos cambia a medida que el embrión es transportado desde el oviducto hasta el sitio de implantación. El ión K que está a una concentración de 4mM en el plasma sanguíneo, alcanza una concentración de 30mM en el fluido uterino. Esta alta concentración de K sugiere que este elemento debe influir notablemente en los eventos reproductivos que tienen lugar en el oviducto y útero.

Con la finalidad de estudiar el efecto del K en el desarrollo preimplantacional, se cultivaron embriones de ratón al estado de 2 células por 47 y 66 horas, en presencia de diferentes concentraciones de K (4, 10, 25, 40 y 60 mM) y se evaluó su desarrollo en términos de diferenciación y velocidad de clivaje. Los resultados muestran que, el desarrollo de los embriones es modificado por las altas concentraciones de K y que 25mM constituye una concentración que activa el crecimiento embrionario. En otra serie experimental, la adición de progesterona (1 $\mu g/ml$) al medio de cultivo conteniendo 25mM de K, permitió a los embriones desarrollados *in vitro* alcanzar un estado semejante al que tienen los embriones de la misma edad desarrollados en forma natural en el tracto genital materno. Financiado por DIUC Proyecto 96/83 y Fundación Rockefeller Proyecto RF 83016.

ESTUDIOS EXPERIMENTALES SOBRE LOS LIMITES TERMICOS DE LA FOTOSINTESIS EN ESPECIES ALTO ANDINAS. (Experimental studies of the thermic-limits of photosynthesis in high andean species). Ríos, D., Galaz, P. Instituto de Botánica, Universidad Austral de Chile. (Patrocinio: M. Alberdi).

En biótopos de altura, los vegetales están expuestos, durante el período vegetativo a intensos cambios microclimáticos (ej. temperaturas nocturnas bajas y altas en el día), a los que ellos deben adaptar su metabolismo.

En el presente se estudia durante un verano, los límites térmicos del intercambio de CO₂ después del tratamiento a bajas o altas temperaturas y la resistencia al frío y al calor de hojas de especies andinas de *Perinettya* ubicadas en un gradiente altitudinal en Antillanca, Prov. Osorno, X Región Chile, utilizando metodología tradicional.

La intensidad fotosintética fue mayor en el material proveniente de mayor altitud, al igual que la resistencia al calor y a diferencia de la resistencia al frío, que fue mayor en las proveniencias intermedias. Los límites térmicos de la fotosíntesis se ubicaron entre 2°C y 29°-31,5°C, observándose diferencias altitudinales sólo en estos últimos rangos, en que la menor temperatura correspondió al material proveniente del lugar más elevado.

Los resultados se relacionan en general, con el hábitat del que provienen las especies investigadas, que se hace más adverso a mayor altitud y con el incremento de la actividad metabólica que ello acarrea, ya que deben alcanzar un máximo de productividad en un período vegetativo muy corto.

DIUACH, Proyecto RS-80-27

FENOLOGIA DE ESPECIES ANDINAS, VOLCAN CASABLANCA, 40°S, X REGION, CHILE. (Andean plant phenology, Volcán Casablanca, 40°S, X Región, Chile). Riveros, M., Instituto de Botánica, U. Austral de Chile, Valdivia.

Los períodos de floración en las especies vegetales están determinados por factores abióticos y bióticos. La determinación de los niveles de coevolución entre plantas y agentes de polinización en una comunidad requiere del conocimiento detallado de los niveles de sobreposición en los períodos de floración, así también de los vectores de polinización de cada especie.

En este trabajo se presentan datos fenológicos, registrados cada 15 días, de 60 especies ubicadas en cuatro niveles altitudinales entre 1000-1220 m en la zona andina del Volcán Casablanca (Valle de Antillanca), X Región, Chile, junto con los niveles de sobreposición en floración calculados en base del índice de Sorenson.

La floración se inicia en Diciembre y termina en Abril, siendo su inicio cada vez más tardío con mayor altitud. Entre 1000-1100 m el máximo de floración ocurre antes del período más cálido del verano, mientras sobre 1200m ocurre después de este período. Los máximos de fructificación ocurren 1 mes más tarde. El largo promedio de floración por especie fluctúa entre 1.5 meses a 1000 m y 1.25 meses a 1220 m.

Todas las especies estudiadas se sobreponen en floración en alguna medida con otras especies de la comunidad. Los medios de sobreposición son 0.52, 0.64, 0.70 y 0.76 para 1000 m, 1100 m, 1200 m y 1220 m, respectivamente, indicando una clara tendencia para un aumento en sobreposición a mayores alturas. Se destaca que los niveles de sobreposición en floración a esta latitud en los Andes son aproximadamente 2 veces mayores que las encontradas en la zona andina en Chile central.

(Colaboradora M.T. Kalin Arroyo) Proyecto RS-82-27, U. Austral de Chile y Proyecto N 1755/8215, Depto. Desarrollo, U. de Chile.

VARIACIONES CIRCADIANAS DE ACTH PLASMÁTICO EN FETOS DE OVEJA CATETERIZADOS CRÓNICAMENTE (Circadian variation of plasma ACTH in chronically catheterized fetal sheep).

Riquelme R.A. Depto. de Preclínicas, División Oriente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile (Patrocinio: J.A. Llanos).

En trabajos previos informamos la existencia de una variación circadiana de cortisol plasmático durante la vida fetal en la oveja. Esta variación tiene un acmé a las 22:00 horas y un nadir a las 10:00 horas. Con el fin de determinar si existe también una variación de ACTH plasmático en el feto, medimos la concentración de ACTH en el plasma cada dos horas durante 24 horas en 8 fetos de oveja cateterizados crónicamente entre 0.75 y 0.95 de su gestación. ACTH se midió usando Kits de RIA de Inmunonuclear, Co.

Las concentraciones plasmáticas medias de ACTH mostraron una variación circadiana significativa ($p < 0.002$, $n = 8$; ANOVA para mediciones repetidas) con un acmé de 56.3 ± 5.4 pg/ml (media \pm ES) a las 22:00 horas y un nadir de 13.7 ± 2.4 pg/ml a las 12:00 horas.

Nuestros resultados indican que:

- 1) Existe una variación circadiana de ACTH en el plasma del feto de oveja.
- 2) Esta variación se origina en el feto dado que ACTH no cruza la placenta.
- 3) Este hallazgo junto con la observación anterior de una variación circadiana de cortisol permite plantear la existencia de un reloj endógeno en el feto desde muy temprano en la gestación.

(Grant DDI, U. de Chile. N° 904-83-44)

ACIDO N-ACETILASPARTIL GLUTAMICO: CARENCIA DE EFECTOS EXCITATORIOS NEURONALES. (N-acetylaspartyl glutamic acid: lack of excitatory effects). Riveros, N. y Orrego, F. Depto. de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se ha postulado que el dipéptido N-acetil aspartil glutámico (NAAG), ampliamente distribuido en cerebro de mamíferos, podría constituir un neurotransmisor excitatorio endógeno desconocido hasta ahora.

Investigamos el efecto de NAAG sobre la entrada de Ca-45 al espacio intracelular de rebanadas de corteza cerebral de rata incubadas *in vitro*, basándonos en nuestra observación que los aminoácidos excitatorios L glutamato (glu), N-metil aspartato, kainato (ka), ibotenato y otros aumentan la velocidad inicial de entrada de Ca-45. El dipéptido no modifica la entrada de Ca-45, ni tampoco potencia la estimulación provocada por concentraciones subóptimas de glu.

Encontramos que NAAG es capaz de desplazar el ligamen de ka a su receptor en concentraciones extremadamente altas, lo que hace dudosa su relevancia fisiológica. NAAG inyectado (10-100 ug) estereotáxicamente en hipocampo o pulvínar de gato, (experimentos hechos con el Dr. E. Motles), no tiene tampoco efectos excitatorios, ni es capaz de potenciar los efectos excitatorios propios de glu.

Los estudios hechos no apoyan un rol excitatorio para NAAG.

(Apoyado por proyecto B 1596, D.D.I., Univ. de Chile).

ANÁLISIS GENÉTICO EN CYTOPHAGA. (Genetic Analysis in Cytophaga) Robeson, J. y Henríquez, V. Instituto de Biología, Universidad Católica de Valparaíso. (Patrocinio: A. Horvat).

Cytophaga es un importante género bacteriano de interesantes propiedades como son el movimiento deslizante y la capacidad para degradar una gran variedad de polímeros naturales. Sin embargo, la biología molecular de este grupo no ha sido mayormente explorada. Por consiguiente, se decidió iniciar el análisis genético de Cytophaga usando como modelo la bacteria deslizante celulolítica Cytophaga hutchinsonii (NCIB 9469). Usando técnicas de clonación de DNA, con pBR322 como vector y Escherichia coli K-12 como huésped, se han clonado secuencias de DNA cromosomal de C. hutchinsonii generadas por digestión con Hind III.

Algunos híbridos pBR322-DNA C. hutchinsonii complementan mutaciones en genes de biosíntesis de E. coli como purE que codifica para la enzima fosforibosilaminoimidazol carboxilasa. Sin embargo, usando Hind III no se han recuperado genes cut de C. hutchinsonii.

Estos resultados indican la factibilidad del análisis de propiedades de Cytophaga con interés biológico básico y tecnológico.

EFFECTO DE FLAVONOIDES SOBRE LA REDUCCION ENZIMÁTICA DE CARBONILOS (Effect of flavonoids on the enzymic reaction of carbonyl groups) Rojas, C.V.*, Pérez, L.M.**, Cori, O.** y Juliani, H.R.** Dptos. Bioquímica, Fac. Med.* y Fac. Cs. Bás. y Farm.***, U. de Chile y U. Nac. Córdoba***, Argentina.

Flavonoides sulfatados obtenidos de Flaveria bidentis inhiben la aldosa reductasa de cristalino con $I_{0.5}$ de 1-10 nM.

Se ha estudiado si este efecto inhibitorio es específico para algunas deshidrogenasas, con el fin de utilizarlos en el estudio de la isomerización redox de sesquiterpenoles en Citrus.

Se analizó el efecto de flavonoides sulfatados sobre la reacción catalizada por la deshidrogenasa alcohólica de levadura. La oxidación de etanol no es afectada. En cambio el 3-acetil 7,3',4'-trisulfato de quercetina inhibe la reacción de reducción de acetaldehído. La inhibición es de tipo mixto para ambos sustratos, con valores de K_i del mismo orden que los valores de K_m .

Los flavonoides sulfatados no tienen efecto sobre varias deshidrogenasas estudiadas en el sentido de la oxidación. En cambio, la reducción de OAA por NADH y deshidrogenasa málica mitocondrial es inhibida por el 3,7,3',4'-tetrasulfato de quercetina.

Esta aparente especificidad por la reducción de grupos carbonilos nos permitiría la utilización de estos flavonoides en el estudio de la isomerización redox de los sesquiterpenoles alifáticos.

Financiado por PNUD/UNESCO 7/82, CHI 81/001 y B 1127, Universidad de Chile.

ESTUDIO HISTOQUÍMICO E INMUNOCITOQUÍMICO DE LA FIBRA DE REISSNER DE BOVINO. (Histochemistry and immunocytochemistry of the bovine Reissner Fiber). Rodríguez, S. Instituto de Histología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile. (Patrocinio: S. Hein).

La Fibra de Reissner (FR) es una estructura filamerosa formada por condensación de la secreción del órgano subcomisural vertida hacia el líquido cefalorraquídeo y se extiende desde el 3er. ventrículo hasta el filum terminal de la médula espinal. Aspectos de su morfología fueron estudiados en: 1. FR aislada por perfusión del canal central de la médula espinal, fijada en Bouin e incluida en metacrilato y 2. FR in situ, fijada en Bouin e incluida en paraplast; se utilizaron técnicas histoquímicas (Gomori, PAS) e inmunocitoquímicas (inmunoperoxidasa y anticuerpos anti FR de bovino).

Los estudios histoquímicos indicaron la presencia de material Gomori (+), distribuido heterogéneamente dando un aspecto estriado, y de un material PAS (+) homogéneamente distribuido. La tinción inmunocitoquímica mostró que el material inmunoreactivo está también distribuido de manera heterogénea; la FR in situ presenta estrías longitudinales intensamente inmunoreactivas. En secciones lumbares y sacras se observó además inmunoreactividad en el citoplasma de algunas células ependimarias y subependimarias.

Los resultados obtenidos indican que: 1. la FR no es homogénea en su composición y 2. células ependimarias e hipendimarias de la zona lumbar podrían estar involucradas en la degradación de la FR.

Proyecto RS-82-18, Dirección de Investigación, Universidad Austral de Chile.

DESARROLLO DE ORGANOS Y TEJIDOS EN BOVINOS DE RAZA LECHERA. (Bos taurus) (Organs and system development in bovine). Rojas, M.A., Estay, F. Depto. Morfología Experimental. Facultad de Medicina, U. de Chile.

Se estudia la histodiferenciación y organogénesis en bovino con el fin de complementar la información existente en la literatura y colaborar en el campo de la Ginecología Veterinaria.

Se utilizaron 30 embriones y fetos de bovinos tipo overo negro lechero obtenidos en el matadero al momento del sacrificio de las madres. Se analizaron microscópicamente los cortes histológicos de embriones desde 4 mm longitudinal total (L.T.) hasta fetos de 56 cms longitud épico caudal (L.A.C.).

En embriones de 4 mm LT la epidermis posee un epitelio cúbico y hay histogénesis de somitos y tubo nervioso. En estados pre-fetales 5 mm (L.A.C.) se diferencian las 5 vesículas cerebrales, ganglios raquídeos y nervios espinales, se observa además tubo cardíaco plegado, mesonefros, esbozo del estómago, brote pancreático y vesícula biliar. Entre 7 y 15 mm aparecen rhabdomios - blastos y se desarrolla la matriz cartilaginosa de los huesos.

Desde 18 a 21 mm aparecen los leiomioblastos, los primeros puntos de osificación y periderma biestratificado, saculación del estómago y diferenciación gonadal.

Entre 31 y 50 mm se osifican los huesos del cráneo, costillas y extremidades. Se observa además un avanzado estado de organización de todos los órganos y sistemas.

Los procesos de histogénesis y organogénesis siguen un patrón similar al descrito para la mayoría de mamíferos y son particularmente semejantes respecto al desarrollo humano. La histogénesis y organogénesis en ambas especies es paralela a longitudes corporales similares.

Financiado por Grant B 1497 - 8322. U. de Chile.

CONTENIDO ENERGETICO DE ESPECIES VEGETALES DE LA PRADE-
RA ALTO ANDINA DE ANTILLANCA, X REGION. (Energy content
of plant species in the high andean meadow of Antillan-
ca, X Region). Romero, M., Kohler, N. Instituto de Botáni-
ca, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

Con el objeto de contribuir a un mejor conocimiento
de las propiedades ecofisiológicas de vegetales alto an-
dinos, se investigan los valores calóricos de diferen-
tes órganos, en especies pertenecientes a distintas for-
mas biológicas, en un transecto entre 1000 y 1220 me-
tros de altitud en Antillanca, X Región, Chile. Se in-
forma además, acerca de la morfoanatomía de algunas de
las especies.

Los valores calóricos se determinaron durante el pe-
ríodo vegetativo, en material seco y molido con un calo-
rímetro adiabático.

El contenido energético más alto lo presentó Empe-
trum rubrum (6038 cal.g⁻¹) y el menor Senecio trifurca-
tus (4623 cal.g⁻¹). Los órganos que presentaron los ma-
yores valores calóricos fueron las hojas y los menores
los tallos subterráneos y las raíces. Los tallos epí-
geos ocuparon un lugar intermedio. Entre las formas bio-
lógicas investigadas, las fanerófitas tuvieron un conte-
nido energético mayor (5457 cal.g⁻¹) seguidas por las
caméfitas (5172 cal.g⁻¹) y en último término por las
hemcriptófitas (4931 cal.g⁻¹). Además, el valor caló-
rico disminuyó con la altitud, lo que presumiblemente
se relacione con la presencia de especies leñosas a me-
nor elevación. Estas, están constituidas por cantidades
apreciables de lignina y celulosa altamente energéticas.

Los promedios de los contenidos en energía de las
especies estudiadas (5161 cal.g⁻¹) se corresponden con
las mencionadas por otros autores para vegetales de al-
tura.

DIUACH, Proyecto RS-80-27

ESTUDIOS DE LA RELACION ESTRUCTURA-FUNCION EN
MEMBRANAS DE MUSCULO ESQUELETICO UTILIZANDO ANTI-
CUERPOS MONOCLONALES. (Structure-function relationship in
skeletal muscle membranes studied by monoclonal antibodies). Mario
Roseblatt, Ralph Nelson and Noriaki Ikemoto. Dept. of Muscle Res.
Boston Biomedical Res. Inst. Boston, MA 02114. EEUU.
(Patrocinio: O. Alvarez)

A partir de musculo esquelético de conejo hemos preparado
una fracción altamente purificada de membranas de túbulos
transversal (T-T). El análisis esterológico de réplicas de
membranas obtenidas por la técnica de criofractura y por
estudios inmunológicos indican que la pureza de esta preparación
es >97%. Se prepararon además varios hibridomas que secretan
anticuerpos monoclonales (Mo-Abs) específicos en contra de las
membranas de T-T y contra membranas de retículo sarcoplásmico
(RS). Se ha demostrado recientemente que una fracción microsomal
pesada, preparada de un homogeneizado de músculo esquelético de
conejo, es capaz de acumular Ca en presencia de ATP y de
liberarlo en condiciones similares a las encontradas in vivo.
Nuestros resultados, obtenidos tanto al microscopio electrónico
como utilizando los Mo-Abs, demuestran que esta preparación posee
un alto contenido de triadas. Esta fracción puede ser disociada
en sus membranas constituyentes (T-T y RS) usando la prensa de
French y reasociada en presencia de cacodilato de sodio. Sólo
tres de los Mo-Abs anti-T-T examinados inhiben la reasociación.
Estos anticuerpos están siendo estudiados para determinar la
relación de los constituyentes del T-T, su depolarización y la
salida de Ca del RS. Los antígenos del T-T responsables de la
interacción T-T-RS han sido identificados usando "immunoblots".

MECANISMO DE ACCION DE LA CALICREINA RENAL SOBRE LA
PRESION ARTERIAL. (Mechanism of action of renal cal-
licrein on arterial pressure). Rosas, R y Palominos,
G. Laboratorio de Fisiología, Facultad de Ciencias
Biológicas. P. Universidad Católica de Chile.

El inhibidor plasmático de la calicreína y la ci-
nasa II del parenquima pulmonar pueden prevenir
la acción a distancia de la calicreína liberada en
la circulación desde el riñón. Con el fin de inves-
tigar la efectividad de estos mecanismos inhibido-
res se inyectó calicreína por vía venosa y arterial
antes y después del bloqueo de la cinasa II con
SQ 20881. Los cambios en la presión arterial se es-
tudiaron bajo anestesia (Pentobarbital sódico) en
27 ratas normales, 17 nefrectomizadas, 9 adrenalecto-
mizadas y 13 con el sistema nervioso autónomo
bloqueado con pentolinio.

No se observó diferencia en el efecto hipotensor
de la calicreína administrada intravenosamente (40+
17 mmHg) e intraarterialmente (33+15 mmHg) en las
ratas normales. La inhibición de la cinasa II ha-
ce más intensa la hipotensión y prolonga el efecto
de la calicreína (de 32+12 a 55+18 mmHg y de 106+64
a 220+103 sec respectivamente). No se observaron di-
ferencias significativas entre los cuatro grupos de
ratas estudiadas.

Bajo estas condiciones experimentales la calicreí-
na puede actuar más allá de la barrera pulmonar. Los
resultados apoyan la hipótesis de que si se libera
calicreína en el riñón, ésta puede actuar a nivel
sistémico.

CARACTERIZACION HISTOQUIMICA Y BIOQUIMICA DE ACETIL-
COLINESTERASAS EN CORTEZA CEREBRAL, DURANTE EL DESA-
RROLLO POST NATAL. (Characterization histochemistry
and biochemistry of Acetylcholinesterase in cerebral
cortex, during postnatal development). G. Ruiz,
A. Arce, P. Pacheco, Laboratorio de Neurofisiología.
Depto. Biología Celular. Universidad Católica de
Chile.

El proceso normal de maduración cortical cere-
bral está ligado a la estructuración sináptica. En
nuestro laboratorio hemos comenzado el estudio de
su sistema colinérgico, caracterizando los cambios
en la Acetilcolinesterasa (AChE).

La corteza SMI de ratas normales de 1 a 30 días
postnatal fueron estudiadas por técnicas bioquími-
cas por sedimentación de gradientes de sacarosa y
electroforesis de geles de poliacrilamida y para
histoquímica en cortes de congelación.

Desde la primera semana existe paulatino aumen-
to de la forma molecular 10s y disminución de 4s.
Concomitante con esto, la neuropila y capas corti-
cales presentan reacción positiva para colinesteras-
as sensibles a inhibidor BW 284 C.51.

Nuestros resultados nos permiten concluir que
existe una ordenación secuencial muy definida en el
desarrollo postnatal de la AChE cortical, existien-
do un correlato histoquímico - bioquímico, que lle-
ga a estabilizarse a los 30 días después del naci-
miento.

Este trabajo se realizó en colaboración con los
Dres. Nivaldo Inestrosa y Mafalda Maldonado. Finan-
ciado por DIUC 88/83.

PERSISTENCIA DE ALTERACIONES ELECTROFISIOLÓGICAS DE LA CORTEZA PARIETAL DE LA RATA INDUCIDAS POR DESNUTRICIÓN PRECOZ (Persistence of electrophysiological alterations on rat parietal cortex induced by early undernutrition) Ruiz, S. y Pérez, H. Laboratorio de Neurofisiología y Biofísica. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Chile.

Es conocido el hecho que la desnutrición precoz produce alteraciones morfológicas y funcionales de la corteza cerebral que persisten aun después de un período de rehabilitación prolongado. Junto a esto, en la actualidad se reconoce que la corteza posee un cierto grado de plasticidad en etapas tardías del desarrollo. El objetivo del presente trabajo es estudiar los cambios de excitabilidad cortical a largo plazo en dos áreas de la corteza cerebral que cumplen roles diferentes.

La desnutrición calórico-proteica se indujo por aumento de la camada a 18 ratas desde el nacimiento hasta el destete, a partir del cual las crías consumieron la misma dieta que sus nodrizas (dieta stock del vivero). A los 100 días de edad, en 8 ratas desnutridas y en 10 ratas controles se determinó, mediante técnica de respuesta directa cortical (RDC) evocadas en el área somestésica primaria (SI) y en el área parietal asociativa (APA) la cronaxia cortical y la fatigabilidad a la estimulación repetitiva.

Los resultados muestran que la desnutrición precoz provoca disminución de la excitabilidad sólo en el APA ($P < 0.005$) y mayor fatigabilidad de la RDC en ambas áreas ($P < 0.05$).

Se concluye que la desnutrición calórico-proteica produce alteraciones funcionales diferentes en el APA y en SI, las que persisten a pesar del período de rehabilitación prolongado a que fueron sometidos estos animales.

Financiado por proyecto B-1509-8322 del Departamento de Desarrollo de la Investigación, Universidad de Chile.

CURCULIONIDOS DEFOLIADORES DE *Pinus radiata*. ASPECTOS BIOLÓGICOS Y EVALUACIÓN DEL DAÑO. (Curculionid beetles defoliators of *Pinus radiata*. Biological aspects and damage evaluation.). Sáiz, F. y J. Gomá. Sección Ecología, Universidad Católica de Valparaíso.

Entre los insectos colonizadores de las plantaciones de *Pinus radiata* en Chile Central, destacan los curculionidos *Geniocremnus chilensis* (Boh.) y *Cyphometopus marmoratus* (Blanchard), los que habitualmente viven en arbustos nativos.

Mediante un ciclo anual realizado en dos parcelas de un bosque de 8 años de edad, se caracteriza el tipo de daño ocasionado, se evalúa su incidencia, se establecen las variaciones de la densidad de ambas especies y se analiza la velocidad de incremento del daño así como su fuente de origen.

Cada una de las parcelas seleccionadas incluye la información de 49 árboles, distanciados entre sí por dos árboles y formando un cuadrado. Comprometen, además, el sentido periferia a interior del bosque. En cada árbol se hizo el seguimiento, cada 20 días, de 4 ramas dispuestas según los puntos cardinales.

Entre las principales conclusiones destacan: a) el daño se inicia en la periferia del bosque, b) *C. marmoratus* es una especie localizada, de fuerte acción defoliadora y poco expansiva, c) *G. chilensis*, es expansiva, no localizada y de efecto defoliador menos aparente.

Las dos especies no estarían aún adaptadas al bosque de pinos, por lo que aún no logran el desarrollo completo dentro de las plantaciones.

RELACIONES ANATÓMICAS AUDITIVO-MOTORAS EN EL COLÍCULO SUPERIOR DEL GATO. (Anatomical auditive-motor relationships in the cat's superior colliculus). Seavedra, H. Departamento Preclínicas, División de Ciencias Médicas Oriente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El colículo superior (CS) representa un sitio donde las señales de los diferentes sistemas sensoriales son transformadas en un comando motor común. Las aferencias auditivas de estructuras ponto-bulbares al CS no están definidas claramente. Nos interesa demostrar con la técnica horseradish peroxidase (HRP) las neuronas de origen de las aferencias auditivas al CS.

En 6 gatos adultos anestesiados, se inyectó este reotóxicamente con una microjeringa, un volumen de 0,2 a 0,4 ul de HRP (Sigma Tipo VI) al 50% disuelta en 2% de dimethyl sulfoxide, en las capas intermedias y profundas del CS de un lado.

El análisis con microscopía de luz de las secciones seriadas del mesencéfalo de gato ipsilateral al CS inyectado, muestra neuronas marcadas, las más laterales, entre las células del núcleo del cuerpo trapezoide medial (NCTM), y las neuronas más mediales, entre las fibras del NCTM del complejo olivar superior (OS). Somas marcadas también fueron observados en el núcleo reticularis pontis caudalis.

Los resultados demuestran que algunas neuronas de 18 u de diámetro pericárial, alargadas con un núcleo central, yacien en el NCTM de la CS proyectan a las capas intermedias y profundas del CS especialmente en los planos A.2 y A.3.

Estas neuronas difieren de las células "principales" del NCTM tanto en su aspecto morfológico como de sus proyecciones: en el primer caso proyectan al CS y en el segundo, la proyección es sólo a los núcleos olivares superior lateral y núcleo periolivar dorsomedial.

SISTEMAS HUMORALES RENALES EN LA REGULACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL DURANTE LA PREÑEZ. (Renal humoral systems in blood pressure regulation during pregnancy). Salas, S., Roblero, J. y Godoy, J. Laboratorio de Fisiología. P. Universidad Católica de Chile.

Durante la preñez normal existe un aumento del sistema renina-angiotensina-aldosterona, del volumen plasmático y del gasto cardíaco; a pesar de esto, la presión arterial no aumenta e incluso disminuye. Nos ha parecido interesante investigar si los sistemas vasodilatadores de origen renal participan en la regulación de la presión arterial en la preñez.

Se usaron 76 ratas hembras Sprague-Dawley divididas en 2 grupos: a) Trece ratas fueron estudiadas en forma secuencial antes de la preñez, durante el día 4°, 8°, 12°, 16° y 20° de preñez y al 5° día post parto. Se midió la presión arterial sistólica (PAS) y se recolectó orina de 8 horas para medir actividad de caliceína urinaria (CU) por método colorimétrico. b) Sesenta y tres ratas subdivididas en 7 grupos, fueron decapitadas en los días señalados de preñez para medir actividad de renina plasmática (RIA).

Se observó una disminución significativa ($p < 0.001$) de la PAS en el día 20 de preñez, coincidiendo con el máximo aumento de renina ($p < 0.001$). CU permaneció elevada en forma significativa entre los días 4 y 20 con el máximo aumento en el día 16 ($p < 0.001$).

Estudios similares se realizaron con ratas pseudopreñadas, no observándose cambios en los parámetros estudiados.

Los resultados obtenidos permiten postular que el sistema caliceína-cinina renal tendría algún papel en la regulación de la presión arterial en la preñez, pareciendo ser importante la unidad fetoplacentaria en los cambios mencionados.

Proyecto financiado por DIUC N° 303/81.

EFFECTO DE DERIVADOS METABOLICOS DE BENZO(A)PIRENO SOBRE LA SINTESIS DE DNA Y LA DNA POLIMERASA α DE NUCLEOS DE HIGADO DE RATA (Effects of metabolic derivatives of Benzo(a)pyrene on the DNA synthesis and α -DNA polymerase in rat liver nuclei) Salazar, I. y Litvak, S. Depto. Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se estudió el efecto de Benzo(a)pireno y de sus derivados metabólicos dihidrodioles (7,8 y 9,10-dihidrodiol), y diol-epóxidos (I y II) sobre la síntesis de DNA en núcleos purificados de hígado de rata. Se observó que el mayor efecto inhibitorio fue producido por el 7,8-dihidrodiol, precursor de los diol-epóxidos I y II.

Se separaron las DNA polimerasas de núcleos por cromatografía de intercambio iónico en fosfocelulosa y DEAE celulosa y se estudió el efecto de Benzo(a)pireno y sus derivados metabólicos sobre la actividad de la DNA polimerasa α .

Se observó que el derivado Diol-epóxido II produjo el mayor efecto inhibitorio, Benzo(a)pireno en cambio no tuvo efecto sobre esta actividad polimérica.

Los resultados obtenidos apoyarían la idea que el efecto inhibitorio de Benzo(a)pireno sobre la síntesis de DNA, sería el resultado de la interacción de sus productos metabólicos tanto con el DNA como con las enzimas relacionadas con su síntesis.

Proyecto B-1407-823-3. Financiado por S.D.C.A.C.I. Universidad de Chile.

CARACTERIZACION DE GENOMIO DE ROTAVIRUS HUMANO Y ROL DE COMPONENTES SUB-VIRALES EN LA TRANSCRIPCION. (Characterization of human Rotavirus genome and role of sub-viral components in transcription). Sandino, A.M., Jashés, M., Faundez, G. y Spencer, E. Laboratorio de Virología. División Ciencias Básicas. INTA. Univ. de Chile.

El rol de diferentes polipeptidos estructurales durante el proceso de transcripción "in vitro" en rotavirus humano no ha sido bien caracterizado. Estudios preliminares indican que aparentemente la cubierta externa no tiene un rol definido en la transcripción más aún esta puede ser removida dejando una partícula activa que al igual que el virus completo transcribe el mRNA con cap. Si a esta partícula se trata con Ca^{+2} es posible retirar específicamente una proteína Vp6 lo cual produce la pérdida de la actividad transcripcional del virus. Esta se recupera cuando dicha proteína es agregada en condiciones adecuadas. Se discute el rol de esta proteína y las condiciones de reconstitución de la actividad transcripcional.

Las características del genoma viral se analizan también utilizando transcritos de segmentos aislados con el fin de caracterizar las regiones tanto transcribibles como aquellas que no son. Debido a que los segmentos individuales del genoma sufren modificación en su movilidad electroforética la agrupación de estos constituye los llamados electroferotipos cuya razón de ser no ha sido clarificada. (Financiado por Proyecto DDI.1507-8312 U. de Chile).

INHIBICION DE LA HIPERGLUCEMIA DEL STRESS POR EL PINZAMIENTO CAUDAL: RELACION CON LOS ALFA-ADRENOCEPTORES HIPOTALAMICOS. (Inhibition of stress hyperglycemia by caudal pinch: relation with hypothalamic alpha-adrenoceptors). Sanchez, R. & Vargas, L., Laboratorio Citología Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La adición de estímulo doloroso por pinzamiento caudal de la rata indujo inhibición de la hiperglucemia del stress por contención de 60 min. ($p < 0.001$). Esta no se debió a la descarga de opiáceos cerebrales porque naloxona inyectada intracerebro-ventricular (i.c.v.) no modificó la inhibición del pinzamiento en dosis de 50, 100, 1.000 ng/100 g. Por otra parte, enkefalina i.c.v. no reprodujo el efecto inhibitorio del pinzamiento en dosis de 10 a 1.000 ng/100g. La administración i.c.v. del bloqueador alfa-adrenoceptor metil-ergonovina en dosis de 300 ng/100g contrarrestó el efecto del pinzamiento caudal; igual efecto tuvo la destrucción de los alfa-adrenoceptores hipotalámicos mediante 6-hidroxidopamina i.c.v. El estímulo provocado por el pinzamiento caudal, se suprimió por la anestesia troncular intrarraquídea. Estos resultados apoyan que el pinzamiento caudal provoca por vía neural la estimulación de alfa-adrenoceptores hipotalámicos que neutraliza la activación de beta-adrenoceptores, producida por el stress basal.

La sensibilidad del extremo caudal de la rata demuestra tener características especiales, ya que la inserción transfixiante de una aguja en la base de la cola o el pinzamiento auricular no ejerció el mismo efecto que el pinzamiento caudal.

DESARROLLO COMPARATIVO DE *E. crusgalli* y *O. sativa*. (Comparative growth of *E. crusgalli* and *O. sativa*). San Martín, J. & Contreras, D. Área de Ciencias y Tecnología, Universidad Católica de Chile, Sede Talca e Instituto de Botánica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

El sistema de cultivo anegado del arroz en Chile Central ha favorecido la infestación de malezas acuáticas y palustres afectando los costos, calidad y rendimiento de las cosechas. Una de las malezas más frecuentes es el hualcacho *Echinochloa crusgalli*.

Se evaluó el desarrollo de la maleza y de la planta cultivada y sus influencias recíprocas en parcelas pre-establecidas. Se midió semanalmente el crecimiento en altura y en forma mensual, la variación de la cobertura y la fenología. Al término del cultivo se cosecharon las plantas determinando la biomasa aérea y subterránea.

Se concluye que *E. crusgalli* es una maleza agresiva y competente, que germina junto con el cultivo y crece más alto y rápido, fructificando antes que *O. sativa*. Se observó requerimientos de anegamiento diferente para las dos especies.

(Proyecto DID-UACH, N° S-80-30)

POTASIO Y EPINEFRINA EN CAPACITACION ESPERMATICA DE HAMS TER DORADO. (Potassium and Epinephrine in Spermatic Capacitation of Golden Hamster).

Santander, G., González, R., Varas, J.P. Labo-
ratorio Embriología, P. Universidad Católica de Chile.

Las catecolaminas y el K externo estimulan la reacción del acrosoma del espermio de hamster (Cornett et al, Proc. Natl. Acad. Sci. 75: 4954-4958, 1978; Mrsny, JCB 91: 77-82, 1981). En ensayos de fecundación *in vitro* hemos encontrado que la epinefrina disminuye los requerimientos de K durante la capacitación espermática. Espermios preincubados por 2 horas con 50 μ M epinefrina requirieron sólo 0.6 mM K para penetrar la zona pelúcida de 90% de los huevos si la inseminación se hace en 0.1 mM K y requieren 2 mM K si no se usa epinefrina durante la preincubación.

El efecto de la epinefrina sobre los requerimientos de K también es observado en la reacción del acrosoma.

La reacción del acrosoma y la fecundación son inhibidos por 5 mM furosemida (un inhibidor del cotransporte Na-K). Espermios previamente capacitados usados para inseminar huevos en la presencia de furosemida no son capaces de penetrar la zona de éstos apoyando resultados en ratón (Bleil & Wassarman, Dev. Biol. 95: 317-324, 1982) de que el ligamen específico del espermio a la zona pelúcida es previo a la reacción de acrosoma del espermio fecundante. Se postula que la acción de la epinefrina en la capacitación espermática es a través de la estimulación del cotransporte de Na-K.

Financiado por Proyecto DIUC 85/83.

MODELO DE CRECIMIENTO DEL TRIGO BAJO REGIMEN TERMICO DINAMICO. (Wheat growth model under dynamic variations of temperature). Santibáñez, F., Castillo, H. Escuela de Agronomía, Universidad de Chile. (Patrocinio: M. Johnston)

La temperatura ejerce una influencia de primer orden sobre la velocidad del crecimiento, lo que ha concitado el interés de numerosos autores a partir de las experiencias de REAUMUR en 1735. El control que la temperatura ejerce sobre el crecimiento está relacionado con los valores medios y con las variaciones cíclicas de esta. Las curvas de crecimiento en relación a la temperatura, obtenidas en laboratorio, no son directamente extrapolables a las condiciones naturales si se considera que normalmente ellas se han determinado en ambientes controlados y con régimen constante. Este trabajo efectúa un análisis teórico sobre la base de resultados experimentales obtenidos por diversos autores, del crecimiento relativo de plantas de trigo sometidas a un régimen térmico dinámico, para distintas combinaciones de temperaturas extremas, lo que tiene en cuenta además la respuesta termoperiódica de esta especie. La respuesta fisiológica del crecimiento se representa aceptablemente mediante una función de tipo gama. El uso de este modelo superpuesto a las variaciones diarias de la temperatura permitió evaluar las variaciones diarias de la función de control térmico, poniendo en evidencia un stress térmico del crecimiento en el período próximo a las temperaturas máximas en aquellos meses en que ellas superan la temperatura óptima de crecimiento. El modelo obtenido puede servir entre otras aplicaciones, para evaluar la influencia del régimen térmico en diversas condiciones naturales sobre la productividad vegetal y optimizar el ciclo fenológico en plantas cultivadas.

Proyecto A.065/8355

RELACIONES ENTRE APARATO BUCAL Y DIETA EN HERBIVOROS IN TERMAREALES DE CHILE CENTRAL. (Relationships between buccal apparatus and diet in intertidal grazers of central Chile). Santelices, B., Correa, J. y Meneses, I. Departamento de Biología Ambiental y de Poblaciones, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Estudios de dieta de herbívoros intermareales, especialmente moluscos prosobranquios y poliplacóforos de latitudes templadas, han mostrado que sus dietas están restringidas a ciertos tipos morfológicos de algas. Esto estaría determinado por el tipo de aparato bucal del pastoreador y por las características de morfología y textura del alga. La capacidad predictiva de esta hipótesis ha sido evaluada con las algas bentónicas y moluscos intermareales comunes de habitat expuestos de Chile central. Para ello se ha estudiado la distribución ecológica, el aparato bucal y el contenido intestinal de dos especies de *Colisella*, una de *Siphonaria*, dos de *Fissurella* y dos chitones (*Acantopleura echinata* y *Chiton granosus*). Los invertebrados fueron fijados inmediatamente después de recolectados y su rádula preparada para ser observada en microscopía electrónica de barrido. El tracto digestivo fue diseccionado y su contenido cuantificado sobre una cápsula reticulada. Las algas encontradas fueron subdivididas en 7 grupos: microscópicas, filamentosas, foliosas, corticadas, coriáceas, calcáreas articuladas y calcáreas crustosas. Los resultados indican que la hipótesis tiene escasa capacidad predictiva general. En el caso de las especies de *Colisella* existe notable similitud en estructura de rádulas y en dieta, pero esta correlación no se da en las otras especies. Respecto a los grupos de algas, las de tamaño intermedio no son consumidas en menor cantidad que los otros tamaños, como lo supone la literatura actual. Las algas calcáreas sin embargo parecen ser consumidas en cantidades notoriamente menores. La distribución ecológica del alimento aparece como de notable importancia en la determinación de dietas de estos invertebrados.

ALTERACIONES DEL SUERO EN BRUXISTAS. (Alterations of Sleep in Bruxist Subjects). Santibáñez, I., Gamonal, S., González, E., Fernández, A. y Godoy, I.

Depto. Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El bruxismo es una alteración que afecta a un porcentaje entre 23 y 37% de la población de diferentes edades. Consiste en episodios diurnos y/o nocturnos de brusca oclusión dentaria por contracción de los músculos masticadores. Produce desgaste de piezas dentarias y, en vigilia: dolor y fatiga facial, cefalea, tensión e irritabilidad psíquica y/o astenia o somnolencia. Varios autores han registrado con Electromiograma (EMG) episodios bruxistas (EB) en 24 h, pero no hay trabajos con estudios simultáneos de sueño.

En una muestra de buenos-largos-dormidores bruxistas y controles normales-no bruxistas, (18-42a), con índices de salud y EEG normales, se hizo registro poligráfico (EEG, EOG, ERG y EMG de maseteros) del sueño de la. y 5a. noche de sueño en laboratorio. En relación a los sujetos controles, los bruxistas presentaron en ambas noches de registro: 1.-Presencia de EB en todas las etapas del sueño durante toda la noche. 2.-Significativa menor cantidad de EB en Sueño-Lento-Profundo(S-delta) y Sueño-MOR (S-MOR), con presencia constante de ellos al comienzo de S-MOR, acompañando los PPGO y MOR iniciales. 3.-Significativa disminución de MOR. 4.-Clara tendencia a disminución significativa de ambos tipos de sueño profundo(S-delta y S-MOR). 5.-Mayor densidad de reacciones de "arousal". La presencia periódica de EB en las diversas etapas del sueño con menor cantidad total de sueños profundos (S-delta y S-MOR), podría explicar gran parte de síntomas bruxistas diurnos y plantearla a la vez, para esta alteración, mecanismos a nivel del SNC en vez de los dentarios locales actuales.

DISTRIBUCION SUBCELULAR DE ENZIMAS PEROXISOMALES EN FIBROBLASTOS EN CULTIVO (Subcellular distribution of peroxisomal enzymes in cultured fibroblasts). Santos, M.¹ y Ojeda, J.M.² Laboratorio de Citología Bioquímica¹, Depto. de Biología Celular, P. Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Stgo. Chile, y Laboratorio de Virología², Laboratorio de Virología, Depto. de Microbiología, Fac. Medicina Norte, U. de Chile. (Patrocinio: F. Leighton).

Los peroxisomas son organelos subcelulares aparentemente ubicuos. Sin embargo, en fibroblastos no han sido caracterizados, a pesar del uso frecuente de estas células en problemas de Biología Celular. Con el objeto de explorar la presencia de Peroxisomas en fibroblastos y caracterizarlos, hemos estudiado fibroblastos de rata por técnicas de fraccionamiento subcelular.

Analizamos cultivos primarios de fibroblastos de embrión de rata de 17-19° días utilizando cultivos confluente del 2° y 3° pasaje para estudios de fraccionamiento subcelular, por centrifugación diferencial y centrifugación isopícnica en gradiente de Metrizamida. En ambos casos hemos caracterizado las fracciones mediante enzimas marcadoras (citocromo oxidasa, NADPH citocromo-reductasa, N'Acetil-β-glucosaminidasa, 5'Nucleotidasa, Fosfoglucomutasa) utilizando Catalasa y Oxidasa de Ácidos Grasos como marcadores peroxisomales.

La distribución subcelular de las enzimas habitualmente consideradas como marcadores peroxisomales permite concluir que estos organelos están presentes en fibroblastos. Sin embargo, debe completarse su caracterización para correlacionar su composición bioquímica con la de los Peroxisomas descritos en otros tipos celulares.

Financiado por Proyectos: DIUC 405/83, DIUC 58/82 y PNUD/UNESCO CHI-81/001.

¹³⁷Cs PROVENIENTE DE FALLOUT EN PASTO Y SU TRANSFERENCIA A LA LECHE EN VALDIVIA. (¹³⁷Cs fallout in grass and its transference into milk in Valdivia). Schuller, P.*, Handl, J.**., Klhn, W.**., Lóvengreen, Ch.* * Instituto de Física, Universidad Austral de Chile. ** Institut für Tiefelagerung, Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung mbH München, Hannover, Rep. Fed. Alemania. (Patrocinio: F. Ojeda).

En el cálculo de la dosis absorbida por el hombre debida a contaminación radiológica se utilizan modelos matemáticos que incluyen la migración de radioisótopos en la cadena trófica mediante factores de transferencia específicos para cada isótopo. Estos deben ser determinados para las condiciones ecológicas propias de cada lugar.

En predios con suelo de tipo volcánico y una pluviometría media anual de 2300 mm ubicados en el límite urbano de Valdivia, se determinó mediante espectrometría γ en condiciones de contaminación debida sólo a fallout, la actividad específica de ¹³⁷Cs en leche fluida y pasto y se estimaron los respectivos factores de transferencia pasto-leche.

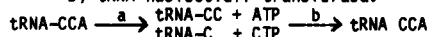
La actividad específica en la leche varió entre 11 y 30 (pCi/l) y en el pasto entre 9 y 58 (pCi/Kg P.F.). Para el factor de transferencia pasto-leche se obtuvieron valores comprendidos entre 0.009 y 0.032 (d/l). Estos resultados preliminares permiten discutir los motivos de la variación de las concentraciones medidas.

La mayor contaminación de ¹³⁷Cs encontrada en leche corresponde al 0.3% del nivel máximo permisible. El valor promedio del factor de transferencia pasto-leche de 0.016 (d/l) coincide con el orden de magnitud del señalado por la bibliografía internacional.

Parcialmente financiado por Dirección de Investigación y Desarrollo, Universidad Austral de Chile.

EXONUCLEASAS DE ESPECIFICIDAD 3' EN OOCITOS DE *X. laevis*. (Exonucleases of 3' specificity on *X. laevis* oocytes.) Solari, A., Gatica, M., y Allende, J.E. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, División de Ciencias Médicas Norte, Universidad de Chile.

Es un hecho conocido que los RNA de transferencia son moléculas muy estables dentro de la célula, sin embargo la secuencia del extremo 3' CCA está sometida a un activo recambio. Dos tipos de actividades enzimáticas en procariontes parecen estar implicadas en este fenómeno tales como: a) exonucleasas de especificidad 3' y b) tRNA nucleotidil transferasa.



En esta comunicación presentamos información sobre la distribución subcelular y caracterización de nucleasas con carácter de exonucleasas en el sistema de oocitos de *X. laevis*. Al estudiar la hidrólisis de tRNAPheCC[³H]A como sustrato detectamos "in vitro" una distribución preferencial de nucleasas en el citoplasma soluble respecto al núcleo. Por el contrario, al utilizar para-nitro-fenil-ester-5' Timidina-monofosfato como sustrato detectamos una total localización de la(s) actividad en el citoplasma soluble.

Fraccionamiento de los extractos nucleares y citoplasmáticos por cromatografía en Sephacryl 200 nos permite separar 4 actividades desde cada extracto utilizando tRNAPheCC[³H]A como sustrato. Al caracterizar estas actividades enzimáticas "in vitro" por hidrólisis de tRNAPheCC[³H]A, tRNAPheC[³H]C y tRNAPheC[³H]CA, encontramos que todas ellas presentan una hidrólisis preferencial de 3 a 4 veces por AMP respecto al CMP terminal. Estos resultados corroboran los obtenidos "in vivo" por microinyección dirigida al citoplasma de los tRNA mencionados, en que la hidrólisis es exclusivamente a nivel del AMP terminal.

(Financiado por proyecto B-1444-8323 de la Universidad de Chile.)

TERATOSPERMIA INDUCIDA POR AGENTES GENOTOXICOS EN ESPERMATOZOIDES DE RATON. (Teratospermy induced by genotoxic agents in mouse spermatozoa). Soto-Bringas, G., Bustos-Obregón, E. Depto. Cs. del Mar, Inst. Prof. de Iquique; Depto. Biol. Cel. y Gen., Fac. Med., U. Chile.; Lab. Citogenética Exp., Fac. Odont., U. Chile.

El ambiente está siendo influenciado por la presencia de numerosos compuestos químicos que causarían efectos genotóxicos en los seres vivos. Por ello se requieren sistemas de ensayo que permitan detectar y evaluar compuestos de acción genotóxica en las células germinales ya que son el vehículo de transmisión hereditaria. La inducción de fallas en la diferenciación del espermatozoide puede ser utilizado como un sistema de ensayo auxiliar.

Dado que la forma del espermatozoide y la incidencia de anomalías sería una característica de la especie se determina la frecuencia espontánea de anomalías en la cabeza del espermatozoide en 3 microscopios de laboratorio. Los espermatozoides son obtenidos de ratones BALB, BALB/C, A/Sw de 10 - 12 semanas de edad, según Wyrobeck (1975). La preparación a fresco es observada con inmersión. La teratospermia es de 8.5%, 38% y 11.5% respectivamente.

Se tratan ratones A/Sw y BALB con dosis de 200 y 175 mg/Kg.p.c. de ciclofosfamida y trichlorfon (pesticida) respectivamente y son sacrificados a 35, 26 y 14 días post tratamiento. Se observa un incremento de formas anómalas en relación a los controles sólo a los 26 y 35 días.

Este sistema auxiliar puede utilizarse en la prevención de riesgo genético producido por xenobióticos.

ESTUDIOS ECOFISIOLÓGICOS EN ESPECIES DE BOSQUES PANTANOSOS DE MIRTACEAS DE LA X REGION-CHILE. (Ecophysiological investigations of plants species from "Bosques pantanosos de Mirtáceas" X Region-Chile). Steubing, L., Debus, R., Instituto de Ecología de la Universidad Justus Liebig, Giessen, Alemania Federal, e Instituto de Botánica de la Universidad Austral de Chile, Valdivia. (Patrocinio: M. Romero).

Los "Hualves" o "Bosques Pantanosos de Mirtáceas" son bosques bajos y tupidos que se distribuyen en depresiones del Valle Central del Sur de Chile, que permanecen gran parte del año anegados.

En hojas de especies dominantes de estas comunidades, *Myrceugenia exsucca* y *Temu divaricatum*, presentes en un Hualve de la X Región de Chile (Rapaco-Valdivia), se estudió semanalmente, en invierno, el déficit de saturación hídrica, la resistencia estomática y temperatura. El suministro de agua a las especies, se obtuvo determinando el contenido hídrico del sustrato y el nivel del agua a diferentes profundidades. Paralelamente se realizaron mediciones microclimáticas (t° , humedad relativa del aire y radiación).

Se encontró que, la resistencia difusiva de las hojas dependía de la intensidad de la radiación y humedad relativa del aire, la que a su vez es influenciada fuertemente por la temperatura ambiental. La disminución de ésta última y de la radiación aumenta la resistencia estomática.

Durante el período investigado el nivel de agua del suelo sobrepasaba la superficie, por lo que el déficit de saturación foliar fue pequeño y no estuvo influenciado por él.

Financiado: DAAD (Alemania Federal).

CENTRIFUGACION DE HUEVOS DE RATON (Centrifugation of mouse ova). Tellez, V. e Izquierdo, L. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Casilla 653, Santiago.

El estudio microscópico de los primeros blastómeros del ratón no revela una organización espacial que haya sido relacionada con la diferenciación del blastocisto. Aquí se estudia huevos centrifugados para distinguir componentes del citoplasma y observar el desarrollo.

Se centrifugó huevos de 2 blastómeros durante una hora entre 35.000 y 90.000 g en un gradiente dextran/medio de cultivo. Con microscopio de luz y electrónico se observó una estratificación del citoplasma desde el polo centripeto al centrifugo, en el siguiente orden: estrato de lípidos, de vesículas, homogéneo, de organelos y material fibrilar, de material cristalino. El núcleo se alarga y se extiende desde el estrato de organelos hacia el polo centrifugo. Cultivando huevos que han sido centrifugados a 35.000 y 50.000 g, se desarrollan hasta blastocistos un 40% y un 20%, respectivamente. Se concluye: que los componentes citoplasmáticos no tienen una posición fija o su fijación es lábil; que el núcleo tiene una posición fija y es deformable por la centrifugación; que la estratificación del citoplasma es regulable y permite un desarrollo normal.

POLIMORFISMO E HIDRATACION DE BICAPAS DE DIMIRISTOILFOSFATIDILCOLINA. (Polymorphism and Hydration of Dimyristoylphosphatidylcholine Bilayers). Suwalsky, M. y Tapia, J., Departamento de Química, Universidad de Concepción.

Los fosfolípidos más frecuentes en las membranas biológicas son los acilfosfatidil derivados de la etanolamina y colina. Estudios estructurales por difracción de rayos X revelan que ellos tienden a formar bicapas; sin embargo sus conformaciones moleculares y empaquetamientos son dependientes, entre otros factores, del modo de preparación de los especímenes y de la naturaleza de los grupos polares terminales.

El estudio del efecto de la hidratación sobre la dimiristoilfosfatidilcolina (DMFC) a la forma de películas orientadas, cilindros semi-orientados y polvos sin orientación indica que en el rango de 0-5 H₂O/DMFC las moléculas se ordenan en forma regular, aunque difieren según el modo de preparación de las muestras. Al aumentar la hidratación se produce un paulatino desorden molecular; el ancho de las bicapas se mantiene constante en ~55 Å hasta ~30 H₂O/DMFC, pero aumenta hasta ~70 Å a 100 H₂O/DMFC en las películas orientadas. Este comportamiento contrasta con el de cefalinas, que bajo las mismas condiciones experimentan sólo variaciones menores. En gran medida ello se puede atribuir a que el requerimiento espacial molecular de las cefalinas en la superficie de las bicapas es de ~39 Å², comparado con los ~46 Å² de DMFC en películas orientadas, lo que les permite un empaquetamiento más compacto y, por lo tanto, mayores interacciones estabilizadoras.

Este Proyecto (2.15.40) contó con el patrocinio de la Dirección de Investigación de la Universidad de Concepción.

ECOLOGIA Y REPRODUCCION DE *PHYLLODACTYLUS GERRHOPYGUS* Ecology and reproduction of *Phyllodactylus gerrhopygus*. Tesorieri, I.; Troncoso, C. Depto. Ciencias Naturales, Liceo Luis Cruz Martínez - Calama. (Patrocinio A. Veloso).

P. gerrhopygus (Wiegmann) es un gecko de hábitos nocturnos del Norte de Chile. Se analizan sus características morfológicas, termoregulación alimentación y reproducción en relación al hábitat.

Fueron colectados 171 geckos en Colorado Chico (20°18'S, 70°8'W) y Coloso (23°45'S, 70°30'W) entre Marzo 1979 y Enero 1980. En terreno se registró la utilización del hábitat y se midió la temperatura cloacal. Los especímenes fueron inyectados con formol al 10% y en el laboratorio se realizaron análisis biométricos, estomacales y gonadales.

P. gerrhopygus muestra una estrecha relación con el microhábitat, en ambas localidades habita de preferencia bajo piedras. En el período de actividad permanece en el refugio diurno, lo que podría explicarse por su conducta termoregulatoria y alimenticia, pues su t° corporal se relaciona con la t° del suelo y las presas de su dieta están asociadas a su microhábitat. Además, difícilmente puede ser detectado por su coloración críptica, y el análisis morfométrico revela una tendencia hacia hábitos terrestres. El período reproductivo es estacional, con una máxima actividad gamética entre Mayo y Agosto, que coincide con un aumento en la ingesta. Cada hembra pone un huevo grande (1/5 de LHG) debajo de piedras.

CORRELACIONES ENTRE EL PATRON DE CONECCIONES CALLOSAS Y LA ORGANIZACION RETINOTOPICA EN LA CORTEZA OCCIPITAL DE LA RATA. (Correlations between the pattern of callosal projections and the retinotopic organization in the occipital cortex of the rat.) Thomas, H. C. y Espinoza, S. G. Instituto de Fisiología, Fac. de Medicina, Univ. Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia.

En adición a la representación visual primaria (V1) en el área 17, existe un número de re-representaciones del campo visual en la corteza extraestriada de la rata (Montero et al., Brain Res., 1973, 53:197-201; Espinoza & Thomas, Brain Res., 1983, 272:137-144). La proyección callosa a la corteza occipital de la rata conforma un patrón complejo y altamente reproducible, el que sugiere una correspondencia con las áreas definidas por electrofisiología (Cusick & Lund, Brain Res., 1981, 214:239-259). En el presente trabajo se ha explorado esta correspondencia combinando mapeos electrofisiológicos en un hemisferio y correlacionándolos con el patrón de conexiones callosas obteniendo inyectando HRP en la corteza del hemisferio contralateral. Los resultados obtenidos indican una precisa correspondencia entre la división que se obtiene con el marcaje anatómico entre el área 17 y 18a y la representación del meridiano vertical. En el área 18a, el "rectángulo" callosa parece contener dos representaciones, las que corresponderían a AM y LM; el "anillo" anterolateral podría contener una representación adicional, mientras que el "islote" posterolateral no parece contener una representación separada. Aunque todavía no se puede afirmar nada respecto a LI y LL en el área 18a, como tampoco respecto a AM y PM en el área 18, se puede afirmar que las regiones de corteza visual que contienen una mayor densidad de proyecciones callosas parecen corresponder a zonas de representación del meridiano vertical y de las regiones mas centrales del campo visual.

Financia: Dirección de Investigación, Proyecto S-79-1, Univ. Austral.

CARACTERISTICAS ANATOMICAS E IDENTIFICACION DE ARAUCARIAS FOSILES DE ISLA QUIRIQUINA (Anatomical characters and identification of the fossil Araucariaceae wood, from the Quiriquinas Island). Torres, G.T. Facultad de Ciencias Agrarias, Veterinarias y Forestales, Universidad de Chile.

El material fue encontrado en la playa Las Tablas en la Isla Quiriquinas. Los redondeados fragmentos de xilema secundario silicificado, se laminaron en secciones transparentes de 45 μ , encontrándose estructuras celulares de coníferas y dicotiledóneas muy bien preservadas.

Las coníferas objetos de este estudio corresponden a 2 especies. *Araucarioxylon pluriresinosum* n.sp. (Torres), con anillos visibles, traqueidas de 30 a 50 μ de diámetro tangencial, puntuaciones radiales araucariodes con 1 a 4 series alternas hexagonales. Radios leñosos con 1 a 25 células. Campos de cruce con 2 a 8 puntuaciones cupresoides. Numerosas traqueidas resinosas. Este elemento ha sido descrito por varios autores como poco frecuente en el género *Araucaria* pero común en el género *Agathis* (Bamber, 1979; Dadswell, 1935; Phillips, 1948).

La segunda especie es similar a *Araucarioxylon Doeringii*. Conwentz, encontrada en la Patagonia. Presenta anillos visibles, traqueidas de 20 a 36 μ de diámetro tangencial, puntuaciones radiales araucariodes con 1 a 2 series alternas hexagonales. Radios leñosos de 1 a 40 células, 6 a 15 más frecuente. Campos de cruce con 2 a 5 puntuaciones con mucho contenido resinoso. Numerosas traqueidas resinosas que pueden ser confundidas con parénquima longitudinal.

El estudio anatómico de estas especies y su comparación con otras Araucarias fósiles provee de documentación adicional, acerca de la evolución, en relación con el xilema secundario de *A. araucana* y *A. angustifolia* con las cuales se las comparó.

Proy. A-1188-883-5 - D.D.I. de la Universidad de Chile.

FISIOLOGIA DEL EJERCICIO DEL CABALLO DE SALTO (Physiological Exercise of Jumping Horse). Torres, P., Villarroel, G. y Manríquez, V. Depto. Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas y Rec. Naturales, Universidad de Concepción.

El caballo fina sangre de carrera representa un excelente modelo para el estudio de la fisiología del ejercicio. No se conoce por completo la respuesta al ejercicio del caballo de salto.

Se sometió a dos grupos de caballos adiestrados en salto a un ejercicio estándar consistente en una cancha de 300 mts. con 9 vallas de 1.10 mts. de altura. Se controló frecuencia cardíaca (FC), frecuencia respiratoria (FR) temperatura rectal (T°) y se midió: ácido láctico venoso (ALV), hematocrito (HTCO) y hemoglobina (HB), en reposo como post-ejercicio en los tiempos: 1, 7, 15 y 30 minutos.

No se encontraron diferencias significativas entre el grupo 1 (Caballos novicios) y el grupo 2 (Caballos fogueados) (Federación Ecuista de Chile) en ninguno de los parámetros estudiados ($P=0.5$), revelando un grado de adaptación similar al ejercicio. Se observó un incremento significativo de todos los parámetros estudiados en el minuto post-ejercicio especialmente de FC y FR que alcanzaron el doble y el triple de basal respectivamente. También es importante el incremento del hematocrito y de la hemoglobina, no así, el del ALV. Todas las variables alcanzan un nivel similar al basal solo a los 30 minutos de reposo, expresando el tiempo de recuperación de la fatiga.

Los resultados revelan que el ejercicio de salto es un trabajo fundamentalmente de tipo aeróbico expresado en el pobre aumento de la tasas de ácido láctico y ambos grupos de animales demuestran un excelente grado de adaptación al tipo de ejercicio que realizan habitualmente.

BIODIGESTION ANAEROBICA DE ESTIERCOL DE POLLO [Anaerobic digestion from poultry manure]. Varnero, M.I.; Lazo, J. y Ugarte, M. Escuela de Agronomía, U. de Chile. (Patrocinio: G. Fernandez).

La actividad metabólica microbiana y el número de la microflora total dependen, entre otros factores, de la concentración inicial de los nutrientes orgánicos. La velocidad de producción de biogas, mediante el proceso de fermentación anaeróbica de desechos orgánicos, estaría limitada por la velocidad de hidrólisis de los compuestos orgánicos complejos y la velocidad de producción de ácidos orgánicos volátiles, es decir, está estrechamente relacionada con la actividad de las bacterias acidógenas y las metanobacterias, estableciéndose un equilibrio entre estas poblaciones. El objeto de este trabajo fue evaluar la biodigestión anaeróbica en excretas de pollo y su posible industrialización. Se trabajó con suspensiones con distinto contenido de materia prima, con cargas estacionaria y de fase continua, en un big digestor piloto de 1m³ de capacidad, aislado térmicamente, con homogenización de la carga por recirculación y controles de temperatura. Se observó que a mayor porcentaje de sólidos totales, hay una disminución en la generación de biogas, probablemente por inhibición de las metanobacterias frente a compuestos tóxicos, como es el caso del amoníaco. El lodo digerido obtenido de la carga continua presentó una disminución del número de coliformes, salmonellas y shigellas, respecto del estiércol fresco. En cambio, en el lodo de la carga batch no se detectó la presencia de patógenos. Los niveles de P asimilable aumentaron en ambos lodos, siendo mayor en la fase continua.

INFLUENCIA DE HCG SOBRE CUERPO LUTEO HUMANO IN VITRO (Influence of HCG on human Corpus Luteum in vitro). Vega, M., Kohen, P., Castro, O., Vantman, D., Devoto, L. Instituto Investigación Clínica, Departamento Ciencias Básicas, Departamento Obstetricia y Ginecología. Facultad de Medicina División Sur, Universidad de Chile, Hospital Paula Jaraquemada.

La Progesterona (P) ha sido considerada el mejor marcador de la capacidad esteroidogénica del Cuerpo Lúteo humano (CL) no concepcional, y su síntesis estaría regulada por LH. Este trabajo ha evaluado el efecto de hCG sobre producción de P y Estrógenos (E) en CL de pacientes fértiles en distintas etapas del ciclo menstrual. El día del ciclo menstrual se determinó por criterios clínicos, hormonales y biopsia del tejido. Los CL se clasificaron en Tempranos (14-17), Intermedios (18-22) y Tardíos (23-28).

12 CL fueron incubados a 37°C en buffer pH 7,4 con y sin hCG por 180 minutos en una atmósfera de O₂/CO₂. P y E liberados al medio se determinaron por RIA. Los resultados experimentales revelan que la capacidad intrínseca (sin hCG) del CL de producir P y E disminuye con la edad del tejido. La hCG incrementa en 53 % la P y en 89 % la de E en CL intermedios, y en tardíos un 20 % la de P y 33 % la de E. No hay efecto hCG en CL tempranos, a pesar de existir receptores. Esto podría ser por baja actividad de mediadores intracelulares o por falta de precursores en la síntesis de P y E.

Financiado por el Departamento de Desarrollo de la Investigación. Universidad de Chile.
Proyecto M-1685 8312.

CRECIMIENTO Y MADUREZ SEXUAL DE *Diplodon chilensis chilensis* (MOLLUSCA, BIVALVIA) EN CONDICIONES EXPERIMENTALES. (Growth and sexual maturity of *Diplodon chilensis chilensis* (Mollusca, Bivalvia) in experimental conditions) Vega, R.; R. Palma; J. Cifuentes; J. Huaiquilaf; R. Ulloa; I. Muñoz y G. Lara. Depto. CC.NN. P. Universidad Católica de Chile. Sede Regional Temuco.

Diplodon chilensis chilensis (Gray, 1828), es un filtrador común en lagos y ríos del sur de Chile, del que se desconocen aspectos básicos de su biología. Este trabajo tiene como objetivos determinar crecimiento, biometría, madurez y proporción sexual en condiciones experimentales.

En el litoral del lago Villarrica se extrajeron al azar 2380 ejemplares que fueron controlados mensualmente durante 14 meses (marzo 1982-abril 1983) en sistemas experimentales ubicados en un canal de la Piscicultura de Lautaro, IX Región. Los parámetros controlados fueron: a) biológicos: sexo, longitud, altura, espesor peso húmedo y seco de la carne y valva; b) físicos: temperatura, oxígeno y materia orgánica.

La población de *D. ch. chilensis*, presenta una distribución agregada ($\sigma^2/\bar{x} > 1$) y una proporción sexual 1:1 (X^2 , $p < 0.01$). Las regresiones longitud-altura ($A=0.20 + 0.48L$, $r = 0.95$) y longitud-espesor ($E = 1.05 + 0.07L$, $r = 0.65$) no presentan diferencias significativas entre los sexos. El crecimiento en longitud y peso en condiciones experimentales es estacional y extremadamente lento, especialmente sobre los 4 cm. de longitud; ocurriendo sólo en primavera y verano. El índice de condición $K(K = (PSC/L^3) \times 100)$ es mayor en hembras que en machos. Se discute el significado de estos resultados.

Se concluye que: - la población de *D. ch. Chilensis*, presenta un crecimiento extremadamente bajo a lo largo del año y en todas las tallas - en las hembras la maduración de gametos ocurre en otoño-invierno para liberar las larvas en primavera-verano.

Financiamiento: DIUC-CIPUC. Temuco (2.80.2).

BIOSÍNTESIS in vivo DE LOS COMPONENTES POLIPEPTÍDICOS DE LAS FIBRAS DENSAS EXTERNAS DEL ESPERMIO DE RATA. (In vivo biosynthesis of the polypeptidic components of rat sperm outer dense fibers). Vera, J.C., Brito, M., von Chrismar, A.M. y Burzio, L.O. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

En la rata, de acuerdo a estudios ultraestructurales, el ensamblaje de las fibras densas externas ocurriría en los últimos estadios de espermiogénesis, fundamentalmente en la etapa denominada de maduración. Sin embargo, nada se sabe acerca de la biosíntesis de los componentes polipeptídicos de las fibras, y de su relación temporal con el proceso de ensamblaje.

Para estudiar esto, ratas macho adultas fueron inyectadas intratesticularmente con ¹⁴C-leucina. A diferentes tiempos luego de la inyección, se sacrificaron los animales y se midió la incorporación del precursor radioactivo en las fibras densas externas de espermios extraídos de la cabeza y de la cola del epidídimo. Los componentes polipeptídicos de las fibras fueron separados por electroforesis en poli-acrilamida en presencia de dodecil sulfato de sodio, y se determinó la radioactividad incorporada en cada uno de ellos.

Los resultados muestran que las proteínas que forman parte de las fibras densas externas se sintetizan en forma coordinada durante las etapas finales de espermiogénesis, no observándose diferencias significativas en la cinética de incorporación de radioactividad a cada una de ellas.

De acuerdo a lo anterior, pareciera existir una muy estrecha relación temporal entre los procesos de biosíntesis y ensamblaje de las fibras densas externas del espermio de rata.

Financiado por Proyecto RS-82-01, DI-UACH.

ACTIVACION Y BLOQUEO POR Ca DE UN CANAL DE K DE MUSCULO DE CONEJO. (Activation and blockage by Ca of a K channel from rabbit muscle). Vergara C. Depto. Fisiología, Universidad de Harvard. Patrocinio: Alvarez O.

La interacción de vesículas de músculo esquelético de conejo con bicapas artificiales (hechas de fosfatidiletanolamina y fosfatidilserina en decano) produce la incorporación a la bicapa de un canal de K⁺ activado por Ca²⁺. La bicapa separa dos soluciones de 0.1 M KCl, 10 mM MOPS Tris pH 7, [Ca²⁺] variable entre 10⁻⁸ y 10⁻² M. Las vesículas se agregan al lado cis que está conectado a una fuente de voltaje. El lado trans está conectado a la tierra virtual de un transductor corriente-voltaje. El canal presenta períodos de actividad en los que fluctúa rápidamente entre un estado abierto (A) y un estado cerrado (C). Entre estos períodos el canal permanece en un estado no conductor (B) por varios segundos. La conductancia del canal es 230 pS y es independiente de [Ca²⁺] y potencial. Sin embargo, aumentos en [Ca²⁺] cis (10⁻⁸ → 10⁻⁴ M) y/o potenciales positivos causan un aumento en la fracción de tiempo que el canal permanece en A, durante un período de actividad. El efecto de [Ca²⁺] en el equilibrio entre A y C indica que al menos dos iones Ca²⁺ son necesarios para activar el canal. Además, los tiempos abierto y cerrado promedio dependen de [Ca²⁺], indicando que el canal presenta al menos dos estados abiertos y dos estados cerrados. Por otra parte, un aumento en [Ca²⁺] cis (>0.1 mM) y/o potenciales positivos aumentan la frecuencia de aparición del proceso lento. El tiempo promedio que el canal permanece en un período de fluctuaciones rápidas disminuye linealmente con [Ca²⁺]. Además, K⁺ compete con Ca²⁺ en su efecto en el proceso lento. En base a estos resultados proponemos que: 1) el ligamen de Ca²⁺ a ciertos sitios en el canal causa su activación, 2) B corresponde a un estado en que Ca²⁺ bloquea la conducción iónica, 3) las reacciones de ligamen y bloqueo son dependientes de potencial.

BIOLOGIA DE *Basilichthys microlepidotus* JENYNS (Pisces, Atherinidae). (Biology of *Basilichthys microlepidotus* Jenyns (pisces, Atherinidae). VILA, I., COMTE, Sh., URIBE, L., ARRATIA, C.+. Depto. Cs. Ecológicas, Fac. Cs. Bás. y Farmacéuticas, Universidad de Chile. +U. de Kansas.

Basilichthys microlepidotus Jenyns se distribuye preferentemente en los sistemas hidrográficos de La Serena a Santiago. Su habitat corresponde al de ríos con períodos de estiaje prolongado y régimen nivoso con brusco aumento de caudal. Por las características hidrológicas de su habitat postulamos que sus hábitos alimentarios podrían diferir del de otros Atherinidae y por lo tanto, la morfología de su aparato bucal y branquial debieran reflejar tales diferencias. Igualmente esperaríamos adaptaciones reproductivas a estos ecosistemas.

Durante 12 meses se colectaron aproximadamente 300 ejemplares bimensualmente con equipo de pesca eléctrica. Se determinaron índices de condición y gonadosomático y se estimó el número y talla de los oocitos. Finalmente, se calculó el volumen del contenido gástrico y se realizaron mediciones lepidométricas.

Las escamas cicloideas muestran un máximo de tres anillos de crecimiento poco diferenciados. El análisis del contenido gástrico revela un alto número de algas epipélicas y fauna bentónica (larvas de Trichoptera, Ephemeroptera, Díptera, Coleóptera y Mollusca). *B. microlepidotus* posee hocico no protráctil y las branquiespinas son cortas y poco numerosas. La maduración de las gónadas se inicia en hembras de 4.5 cm y en machos de 5.0 cm de longitud total. El máximo número de ejemplares maduros se capturó entre Septiembre y Enero.

Los resultados indican que *B. microlepidotus* es un pez que alcanza tres años de vida y de hábitos alimentarios raspadores. Se reproduce en primavera-verano y posee un número de oocitos maduros significativamente inferior al de otros Atherinidae de igual talla.

Financiado Programa MAB-5 UNESCO.

CARACTERIZACION DE LINFOCITOS DE BOVINOS NORMALES E INFECTADOS CON EL VIRUS LEUCEMIA BOVINA (VLB) POR LA INCORPORACION DE URIDINA Y TIMIDINA TRITIADA EN CULTIVOS CON Y SIN FITOHEMOAGLUTININA (PHA)* (Characterization of lymphocytes from normal and bovine leukemia virus infected cattle by the incorporation of tritiated thymidine and uridine in cultures with and without phytohaemagglutinin). Villouta, G.; Botto, G. y Rudolph, W. Depto. Patología Veterinaria, Fac. Cs. Agrarias, Veterinarias y Forestales, U. de Chile (Patrocinio: J.L. Arias)

Los bovinos infectados con el VLB presentan anticuerpos específicos contra él, pero, no siempre linfocitosis. Con el objeto de conocer si existen diferencias metabólicas en los linfocitos, según dichas manifestaciones hematológicas y serológicas, se cultivaron "in vitro" linfocitos sanguíneos de 10 bovinos normales, 10 infectados con el VLB con linfocitosis y 10 infectadas con cuentas de linfocitos normales. Se determinó en las células la incorporación espontánea de T-H3 y U-H3 (c.p.m.) al ADN y ARN respectivamente, y el índice de estimulación al agregar PHA a los cultivos.

Los bovinos infectados con el VLB con linfocitosis, sintetizaron espontáneamente más ADN ($p < 0,05$) que los normales y los que sólo presentaron anticuerpos, siendo la respuesta a la PHA menor; comportándose los dos últimos grupos en forma semejante. En la síntesis espontánea de ARN se observaron diferencias significativas entre los tres grupos, con niveles de incorporación de U-H3 mayores en los bovinos con anticuerpos y linfocitosis, intermedia en los que sólo presentaron anticuerpos y menor en los normales. En tanto que, con PHA los linfocitos de bovinos hematológica y serológicamente positivos al VLB sintetizaron menos ARN que los otros dos grupos, manteniendo los sujetos sólo positivos serológicos un grado de estimulación blástica intermedia.

* Proyecto A 1570-8322. Depto. Desarrollo Investigación, Universidad de Chile.

EFFECTO DE AMILORIDE SOBRE CALICREINA URINARIA EN LA RATA (Effect of Amiloride upon urinary kallikrein in the rat). Villalón, P., Pesce, F., Pérez, F. y Croxatto, H.R. Lab. Fisiología, P. Universidad Católica de Chile.

Los diuréticos Furosemida (FUR) Hidroclorotiazida, Acetazolamida, producen aumento de la calicreína urinaria (KAL) que se correlaciona positivamente con la excreción de electrolitos y de agua. Amiloride (AMIL), si bien presenta actividad natriurética, no afecta la eliminación de K^+ . Como algunos autores han atribuido la mayor excreción de KAL producida por los diuréticos a un fenómeno de arrastre (wash-out), nos pareció de interés investigar si AMIL muestra la misma propiedad sobre KAL.

Se utilizó grupos de 12 ratas Sprague-Dawley adultas colocadas en jaulas metabólicas individuales. En 6 de cada grupo se inyectó 0.62, 1.25, 2.5 y 5 mg x 100 g i.p., de AMIL. Las 6 restantes de cada grupo se inyectaron con el solvente. Además se utilizó: a) un grupo de ratas hiperhidratadas (2.5%) que recibió 2.5 mg de AMIL x 100 g y b) un grupo en el cual se ensayó el efecto combinado de 2.5 mg de FUR y 2.5 mg de AMIL. La KAL activa se midió por método biológico (útero aislado de rata) y por método químico de Amudsen y la pro-KAL se midió por el método de Corthorn. Contrariamente a los otros diuréticos, AMIL no sólo no aumenta la KAL activa sino que con las dosis mayores (2.5 y 5 mg) se observó disminución significativa de la enzima activa. La pro-KAL sigue variaciones similares a la KAL activa. Con todas las dosis de AMIL se produjo un intenso efecto natriurético sin aumento significativo de la excreción de K^+ . Por otra parte, AMIL no impidió el efecto estimulador sobre KAL de la FUR, aún cuando bloqueó el efecto kaliurético de ésta y sumó su acción a la excreción de sodio. El efecto negativo de AMIL sobre la excreción de KAL, descarta que la mayor excreción de esta enzima sea dependiente de los efectos eliminadores de electrolitos, pero plantea la posibilidad que la excreción de K^+ guarde relación con el proceso de excreción de KAL.

CININAS EN EL APARATO YUXTAGLOMERULAR: LOCALIZACION INMUNOCITOQUIMICA (Kinins in the juxtaglomerular apparatus: immunocytochemical localization). Vio, C. P. Institutos de Fisiología e Histología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.

Recientemente se ha descrito la presencia de cininas y cininógeno en riñones aislados y perfundidos, lo que sugiere que las cininas tendrían origen intrarrenal (Vio, Hight, Pisano, 1982).

El objetivo de este trabajo fue localizar las cininas intrarrenales mediante inmunocitoquímica.

Riñones de ratas fueron fijados, cortados y procesados de acuerdo a técnicas convencionales. Luego se aplicó la técnica de inmunoperoxidasa (PAP) de acuerdo al siguiente esquema: Incubación con: 1.- suero de conejo anti bradidinina (1:10.000) (NIH), 2.- suero de cabra anti IgG de conejo (1:50), 3.- PAP (1:75), 4.- revelado con Diaminobenzidina- H_2O_2 . Los controles incluyeron: suero anti bradidinina preabsorbido con bradidinina, lisilbradidinina o angiotensina II, y reemplazo por suero normal de conejo.

Inmuntinción específica contra cininas se observó en: la arteriola aferente a su llegada al glomérulo (aparato yuxtaglomerular) y en el túbulo proximal, en su porción apical. Con suero preabsorbido con bradidinina la inmunoreactividad de la arteriola aferente desapareció, no así en el túbulo proximal donde no se modificó o se intensificó. Esto último sugiere la presencia de sitios de unión, probablemente a Cininasa II.

La localización de cininas en la arteriola aferente del aparato yuxtaglomerular permite especular que bradidinina puede modificar directamente el flujo sanguíneo renal y la filtración glomerular. Efecto que sería antagonístico al de angiotensina II la cual tiene una localización similar.

Proyecto S-82-32, Dirección Invest. y Desarrollo, UACH.

ONTOGENIA DEL CICLO SUEÑO VIGILIA EN LACTANTES DESNUTRIDOS GRADO III. (Ontogeny of sleep-wakefulness cycle in severely undernourished infants). Vivaldi, E., López, I., Perales, C.G., Heresi, E., Colombo, M. Unidad de Neuropsicología, INTA, U. de Chile.

Con el fin de evaluar posibles alteraciones en la ontogenia del ciclo sueño-vigilia (CSV) producidas por la desnutrición precoz grave, se estudiaron 2 grupos de lactantes entre 6-9 meses. El grupo con desnutrición grado III fue estudiado durante la segunda semana de estadía en un Centro de Rehabilitación y el grupo eutróficos en sus hogares. Se utilizó un método de fotografía seriada tomando un marco de película por minuto, durante 4 días consecutivos, con lo que se detectaba sueño, vigilia y motilidad durante el sueño. Se observó una marcada diferencia en el sueño durante las 24 horas. Los lactantes eutróficos dormían significativamente más entre las 20 P.M. y 08 A.M. (\bar{x} = 8 hrs 44' y 7 hrs 51'), mientras que el grupo desnutrido dormía significativamente más entre las 08 AM y 20 PM (\bar{x} = 3 hrs. 32' y 2 hrs 24'). Los lactantes eutróficos consolidaban períodos más prolongados de sueño durante la noche y de vigilia durante el día. En relación a la motilidad los lactantes eutróficos presentaban mayor cantidad de movimientos globales, mostrando una mayor organización periódica de éstos. Complementariamente se observaron 2 siestas por lactantes con el fin de estudiar el sueño con movimientos oculares rápidos (S.MOR). En el grupo desnutrido se observó que presentaban significativamente una menor latencia al sueño MOR (\bar{x} = 23' y 30'), una mayor proporción de este tipo de sueño (\bar{x} = 26 y 19%), una mayor intensidad de la motilidad ocular durante este estado. Estas características del sueño de los lactantes desnutridos corresponden en general a las observadas en etapas más tempranas de la ontogenia. Se discuten los mecanismos neurales subyacentes y el rol funcional que podría tener el sueño MOR.

Proyecto B-1508-8212. Oficina Desarrollo Científico. Universidad de Chile.

APROXIMACION AL PERIODO DE TRANSFORMACION TUMORAL DE LAS CELULAS MAMARIAS DE RATAS AxC OVARECTOMIZADAS TRATADAS CON ESTRADIOL. (An approach to the tumor transformation period of mammary cells in estradiol treated ovariectomized AxC rats). Vukusić P. Instituto de Medicina Experimental. Servicio de Salud Metropolitano Oriente. Santiago. Chile.

Glándulas mamarias, aparentemente sanas, de ratas AxC hembras tratadas durante 70 días con un pellet sc de estradiol-17 β al 10% en colesterol (E) al ser transplantadas en la región sc dorsal de hembras tratadas con E desarrollan tumores cancerosos sugiriendo la preexistencia de células tumorales en las glándulas injertadas. Decidimos repetir este estudio con glándulas mamarias de ratas ovariectomizadas.

Dos grupos (A y B) de 8 ratas AxC hembras de 100 días de edad, castradas 22 días antes, se trataron con un pellet sc de E. Las ratas del grupo A se sacrificaron a los 70 días y los grupos mamarios inguinales se injertaron en la región sc dorsal de hembras enteras (A-I) o castradas (A-II). A las ratas del grupo B se les extrajo el pellet de E a los 70 días, se sacrificaron 70 días más tarde y el grupo mamario inguinal izquierdo se injertó en la región sc dorsal de hembras enteras (B-I). Todas las glándulas injertadas eran, aparentemente, sanas y todas las ratas receptoras se trataron con E. La presencia de nódulos se detectó por palpación y se hicieron biopsias a los 145 días en el grupo B-I y a los 210 días en los grupos A-I y A-II.

Las 8 ratas del grupo A-II y 7 de las 8 ratas de los grupos A-I y B-I desarrollaron nódulos cancerosos (Siopsias).

Los resultados parecen confirmar observaciones indirectas previas que insinúan que la transformación tumoral de las células mamarias en ratas AxC ovariectomizadas tratadas con estradiol ocurriría, como en las enteras, alrededor de los setenta días de tratamiento.

EFFECTOS LOCALES Y SISTEMICOS DE LAS QUEMADURAS: (Local and systemic effects of burns).

Vivaldi, E., Sáez, J.C. y Cifuentes, F. Departamento de Ciencias Fisiológicas. Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales. Universidad de Concepción.-

La respuesta orgánica a quemaduras intensas se caracteriza principalmente por stress y por un proceso inflamatorio que implica modificaciones vasomotoras, injuria celular y migración leucocitaria con la consiguiente formación de oxidantes derivados del oxígeno.

Con el fin de determinar la importancia de estos oxidantes como causal de letalidad, se utilizaron tres grupos de ratones hembras inoculados por vía intraperitoneal con 0.2 ml. de suero fisiológico (grupo I), agregándose alopurinol (40 mg/Kg) o superóxido dismutasa (100.000 U/Kg) en los grupos II y III respectivamente. Se consideró como letalidad por shock a los animales fallecidos dentro de las 24 horas post-quemadura.

El grupo control evidenció una sobrevida de 18%, en cambio, la sobrevida se elevó a un 73% y a un 100% en los animales del grupo II y III respectivamente. Además, los ratones del grupo III no evidenciaron la respuesta inflamatoria esperada.

Los agentes oxidantes derivados del oxígeno, parecen jugar un rol importante en la patogénesis de las alteraciones locales y sistémicas inducidas por quemaduras.-

Proyecto 20.33.07 de la Dirección de Investigación de la Universidad de Concepción.

AI SLAM I ENTO DE T. CRUZI METACICLICOS SILVESTRES (Isolation of wild metacyclic T. cruzi). Wallace, A., Stutzin, M. and Potocnjak, P. INTA y Departamento de Medicina Experimental Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La diversidad antigénica de T. cruzi se conoce parcialmente. Dada su amplia distribución geográfica es concebible que existan variedades antigénicas del protozoo. El análisis de poblaciones silvestres del parásito permitiría establecer la existencia, y eventualmente, la magnitud de dicha diversidad. El propósito de este estudio fue determinar las condiciones para obtener T. cruzi metacíclicos a partir de Triatoma infestans silvestres.

T. infestans domiciliarios obtenidos de la Región Metropolitana han sido mantenidos en condiciones de laboratorio por más de 7 meses. Durante este período los tripanosomas fueron purificados por pasaje a través de resina de intercambio iónico, de deyecciones espontáneas de T. infestans al momento de ser alimentados por picada de ratas AxC sanas anestesiadas, en un dispositivo diseñado especialmente para ello. Los parásitos así obtenidos han permitido inmunizar ratones Balb/c y montar antígeno para fluorescencia.

Aproximadamente el 80% de los T. infestans presentaron T. cruzi. En cada alimentación se obtienen entre 5×10^5 y 5×10^6 tripomastigotes metacíclicos purificados viables. Las deyecciones fisiológicas permitieron reutilizar los insectos en intervalos de 10-15 días. Ratones Balb/c normales, que recibieron por vía endovenosa, 5 a 6 dosis de tripanosomas, no presentan síntomas de la enfermedad aguda, pero sus sueros alcanzan títulos entre 1/320 y 1/1300 contra los tripanosomas purificados, medidos por fluorescencia indirecta.

Estos resultados muestran que el diseño experimental permite obtener T. cruzi metacíclicos viables e inmunogénicos a partir de poblaciones silvestres de T. infestans. El método hará posible el análisis antigénico de distintas poblaciones de la forma metacíclica de T. cruzi. Financiado por los proyectos B-1475-8323 DGA, DD1., Universidad de Chile y Re-Entry Grant T 16/181/74(A) WHO/World BANK/UNDP.

RADICALES LIBRES EN LA PATOGENESIS DEL SHOCK (Free radicals in the pathogenesis of shock). Ward, P.H y Vivaldi, E. Departamento de Cs. Fisiológicas, Facultad de Cs. Biológicas y de Rec. Naturales. Universidad de Concepción.

La hipoperfusión tisular constituye una de las características fundamentales del síndrome de shock. La hipoxia celular consiguiente determina depleción de bases púricas con formación de ácido úrico y iones superóxidos. El alopurinol (A), inhibidor competitivo de la xantina oxidasa, y la superóxido dismutasa (SOD) han demostrado aumentar la sobrevida de animales sometidos a algunas formas de shock.

Diez grupos de ratones fueron inyectados intraperitonealmente con A antes de ser sometidos a métodos estandarizados de shock: endotóxico (I), por torniquete (II) o por quemadura (III) con o sin bacteremia asociada. Un último grupo de ratones fue tratado con SOD antes de ser inmersos en agua a 70°C por 5 seg. En todos los grupos se evaluó la sobrevida. En los animales con injuria térmica se determinó, además, el hematocrito; así como la aparición, en el tiempo, de alteraciones macroscópicas de diversos órganos y la presencia de pigmentos en la vejiga urinaria.

El A aumentó significativamente la sobrevida de los grupos II y III que presentaban ausencia de bacteremia. El hematocrito de los animales sometidos a shock por quemadura y tratados con A aumentó en forma más lenta que los controles y no sufrió cambios en los pretratados con SOD, además, en este último grupo no se evidenciaron microlesiones hemorrágicas sistémicas ni la presencia de pigmentos urinarios característicos del resto de los animales.

Se concluye que en varios síndromes de shock, la hipoperfusión tisular inicial conlleva la producción de radicales libres y que las alteraciones que estos inducen repercuten a nivel sistémico como consecuencia de una hemiconcentración originada a nivel local.

Proyecto N°20.33.07. Dirección de Investigación.

ESTRATEGIAS EN LA ECONOMIA DEL NITROGENO EN ESPECIES ARBUSTIVAS DEL MATORRAL PREMONTANO DE CHILE CENTRAL (Nitrogen allocation strategies of shrub species of the piedmont matorral in Central Chile). Yates, L.R. y R. Cisternas. Laboratorio de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile; y Departamento de Biología y Química, Universidad de Talca.

Se ha postulado que las plantas optimizarían la conservación y utilización del nitrógeno mediante la intensidad de la translocación interna del nutriente. Así, cuando la planta puede recuperar con relativa facilidad y rapidez el N ambiental (fijación del nitrógeno) o cuando el clima posibilita una rápida descomposición de la hojarasca, se favorece una mayor eliminación y circulación ambiental del nitrógeno. Por el contrario, cuando estas condiciones no se dan, la planta maximizaría la conservación del nitrógeno mediante una translocación interna del elemento. Para verificar si estos patrones generales de la administración del N se presentan en las especies del matorral premontano, se estudió *Lithraea caustica*, *Quillaja saponaria*, *Colliguaya odorifera* y *Trevoa trinervis*.

La concentración de N en hojas de distinta edad, tallos, flores, frutos y hojarasca de las especies mencionadas, se determinó mediante el método de Kjeldahl, en muestras mensuales durante un ciclo anual.

En general, las especies estudiadas se caracterizarían por una translocación interna activa de N en la senescencia debido a la descomposición lenta de la hojarasca. Sin embargo, *L. caustica* presentaría una mayor translocación de N pues sólo el 38,5% del N de la hoja en el punto máximo de crecimiento, es eliminado al ambiente en la hojarasca. *T. trinervis*, por otra parte, elimina en la hojarasca el equivalente al 55,3% del N foliar. *Q. saponaria* y *C. odorifera* representarían una situación intermedia en que el 50% del N foliar persiste en la hoja muerta.

Se interpretan los resultados en función de algunas características biológicas y ecológicas de las especies estudiadas.

POLARIZACION ESPACIAL DE LAS PROLONGACIONES NEURONALES DEL NUCLEO SUPRAOPTICO DE LA RATA. (Spatial polarization of the neuronal process of the rat supraoptic nucleus). Yulis, C. Instituto de Histología y Patología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.

Utilizando la técnica de inmunocitoquímica para neurofisin, oxitocina y vasopresina, y microscopía electrónica convencional, se estudió la región localizada entre el borde ventral del núcleo supraóptico (NSO) de rata y la membrana limitante externa del cerebro, designada por nosotros neuropila ventral.

El estudio inmunocitoquímico fue realizado en 6 grupos de ratas: 1. Control; 2. Perfundidas con solución salina isotónica en el líquido cefalorraquídeo (LCR); 3. Perfundidas con solución salina hipertónica en el LCR; 4. Bebiendo solución salina hipertónica por 4 días; 5. Igual al grupo 4, pero con inyección de colchicina al LCR en el 2do. día de deshidratación; 6. Bebiendo solución salina hipertónica durante 3 meses. El estudio ultraestructural se realizó en los grupos 1 y 6.

En la rata control la neuropila ventral contenía escasas prolongaciones inmunoreactivas con una morfología general completamente diferente a la observada en los axones neurosecretorios (ns) que se desprenden dorsalmente del NSO. En ratas de los grupos 3-6 las prolongaciones ventrales estaban cargadas de gránulos ns, mientras que el pericarion y los axones estaban depletados. Basándose en la morfología general, comportamiento fisiológico y ultraestructura, se sugiere que las prolongaciones ventrales son dendritas conteniendo gránulos ns. La mayoría de estas "dendritas" estaba incluida en un "colchón" glial, formado por las prolongaciones de un tipo particular de glia marginal. Algunas de estas "dendritas" envolvían una arteriola en su lugar de penetración al tracto óptico. Todo esto indica una polarización morfológica y funcional de la neurona ns del NSO.

Proyecto RS-82-18, Dirección de Investigación, Universidad Austral de Chile.

UN ESTUDIO COMPARATIVO SOBRE LA MUTAGENICIDAD DEL HEPTACLORO. (a comparative study about the mutagenicity of Heptachlor). Zamorano-Ponce, E; Bastías, J; Muñoz, F. y Cisternas S. Laboratorio de Citogenética, Instituto Profesional de Chillán, casilla 848 Chillán.

El contrastar la acción clastogénica de un agente químico frente a dos sistemas de ensayos distintos, constituye una problemática interesante puesto que asegura que el daño encontrado, si lo existe, es inducido por el químico en cuestión. Ello permite obtener además, alguna información sobre el mecanismo de acción del agente que se prueba, así como inferir los posibles riesgos que plantea su utilización. Por lo anteriormente expuesto es que en este trabajo nos hemos abocado a analizar la actividad clastógena del Heptacloro en dos sistemas de ensayo distintos: el primero corresponde a un insecto (*Schistocerca cancellata*) y el segundo a un vegetal de la familia Liliaceae (*Chlorophytum comosum*).

Se utilizaron machos preadultos de *Sch. cancellata*, los que fueron separados en: controles negativos, positivos e inyectados intrabdominalmente con 0.001 gr/ml de Heptacloro diluido en suero Nicklas. Se sacrificaron sistemáticamente a las 24-48 y 72 posttratamiento y los cromosomas se obtuvieron a través de la técnica de aplastado. En *Chl. comosum*, se hicieron germinar 10 plántulas en contacto directo con una solución de Heptacloro 0.001 gr/ml, se aplicó colchicina 0,1 %, se fijó en Ácido Acético Metanol (1:3) y se realizó aplastado para los cromosomas.

Nuestros hallazgos revelan que el pesticida induce daño cromosómico en ambas especies. Este daño es evaluado estadísticamente y discutido en base al mecanismo de acción del pesticida.

INHIBICIÓN QUIMIOSENSORIAL MEDIADA POR DOPAMINOCEPTORES D-2. (D-2 dopaminoreceptor-mediated chemosensory inhibition). Zapata, P., Serani, A. y Lavados, M. Laboratorio de Neurobiología, Universidad Católica de Chile.

Las células glómicas de los quimiorreceptores arteriales contienen dopamina. Esta sustancia y sus agonistas producen inhibición de la actividad quimiosensorial. Interesa precisar si este efecto es mediado por dopaminoreceptores D-1 (ligados a activación de adenil ciclasa) ó D-2 (bloqueados selectivamente por benzamidas substituidas).

Los experimentos se realizaron en gatos anestesiados con pentobarbitona, paralizados con galamina y ventilados artificialmente. Se registró la actividad de fibras quimiosensoriales de un nervio carotídeo y se analizó los cambios de su frecuencia de descarga.

La administración i.v. de metoclopramida (1-10 mg/kg) como la de sulpiride (0.5-5.0 mg/kg) bloqueó competitivamente y en forma dosis-dependiente la inhibición quimiosensorial inducida por dopamina, pero no aquélla provocada por hiperoxia. Establecido el bloqueo, se observó excitación quimiosensorial en respuesta a dosis altas de dopamina. Ambas benzamidas produjeron además un aumento sostenido de la actividad quimiosensorial basal.

Se concluye que la inhibición quimiosensorial inducida por dopamina es mediada selectivamente por receptores D-2 y que la actividad quimiosensorial basal estaría normalmente inhibida por dopamina liberada desde las células glómicas del cuerpo carotídeo.

Financiamiento: DIUC y Fund. Gildemeister.

ESTUDIO DE LOS FRUTOS Y SEMILLAS DEL GENERO CASSIA (fam. CAESALPINACEAE) EN CHILE. (Study of fruits and seeds of the genus Cassia (fam. Caesalpinaceae) in Chile. Zöllner, O., San Martín, C. Laboratorio de Fanerogamia, Instituto de Biología Universidad Católica de Valparaíso. (Patrocinio: Prof. L. Zúñiga, Universidad Católica de Valparaíso.

Los botánicos C. Gay y R. A. Philippi, describen 28 especies integrantes del género Cassia para Chile, las que C. Reiche reúne en 21, considerando además, 4 especies con clasificación dudosa; ellos se basaron principalmente en la presencia de glándulas raqueales entre los folíolos y en el número de éstos. Sólo en 4 especies describen el fruto y sus semillas, por no ser posible su recolección.

Como una forma de contribuir a éstas investigaciones, en el presente trabajo se elabora una clave basada en las estructuras anatómicas existentes en el fruto y las semillas, considerando también el medio de vida de las especies.

La recolección de las especies, se realizó desde el Norte de Arica hasta Valdivia y en la Cordillera, desde 1977 a Abril de 1983. En la clave se consideran la dehiscencia de los frutos, y la forma y tamaño de éstos y sus semillas.

Se describen 9 especies, las que de acuerdo al tipo de fruto, se pueden relacionar con su habitat, ya que aquellas que presentan legumbres dehiscentes habitan en zonas costeras, mientras que las indehiscentes lo hacen en zonas interiores del país.

ESTRUCTURA SEXUAL DE ORYCTOLAGUS CUNICULUS (L). (Sexual structure of *Oryctolagus cuniculus* (L). Zunino, S., y Vivar C. Museo de Historia Natural de Valparaíso. (Patrocinio: F. Silva G.) Un estudio poblacional de *Oryctolagus cuniculus* se efectuó en la Reserva Forestal Peñuelas V Región. Uno de sus objetivos, fue determinar la estructura sexual y su variación anual de dicha población.

Como resultado de los muestreos mensuales (13) se capturaron 787 animales, 376 hembras y 411 machos. El establecimiento de la madurez sexual se basó en histología de los testículos, presencia de embriones in utero o desarrollo mamario. La edad determinó por el peso seco del cristalino. Nuestros resultados indican que:

1. La edad mínima para determinar como adulto a un animal, de cualquier sexo, es 120 días.
2. La relación inmaduro-adulto sufre, mensualmente, importantes variaciones. Incluso hay ausencia de inmaduros durante un período del ciclo: Junio-Julio.
3. La razón sexual (machos/hembras) sea de inmaduros o adultos son muy variables de un mes a otro, siendo mayor en los primeros. La razón sexual media anual para inmaduros y adultos se estimó en 1,26 y 1,02 respectivamente. Comparativamente, la población estudiada sigue el mismo patrón de las otras poblaciones presentes en el globo. La variación puede ser a causa de la metodología de captura utilizada y el comportamiento diferente de los sexos durante el ciclo sexual.

ZOOPLANCTON DEL LAGO RANCO: DISTRIBUCIÓN ESPACIO-TEMPORAL DE LA COMUNIDAD. (Zooplankton of the lake Ranco: spatial and temporal distribution of the community). L. R. Zúñiga y J. M. Araya. Instituto de Biología, Universidad Católica de Valparaíso.

La fauna limnética lacustre en Chile, ha recibido mayor atención en los últimos años. En lago Ranco, esta fauna se conoce parcialmente proyectada en su dinámica anual. El trabajo presente tiene por objetivo, definir la dinámica comunitaria de la taxocenosis total, en una dimensión espacio-temporal.

El zooplankton se recolectó mensualmente (Julio 1982 a Mayo 1983) en una estación situada entre las islas Guapi e Illeifa, en cinco niveles de profundidad, mediante arrastre vertical de una red cónica Kahlsico No. 20122.

La taxocenosis se define por 4 especies de Copepoda, 5 de Cladocera y 9 de Rotifera. La densidad tiende a ser mayor durante primavera-verano y en el estrato comprendido entre 0 y 25m, debido, tal vez, al aumento del número de especies y el preferendum térmico de ellas.

Durante este período, se detectan diferencias notorias en la distribución espacial y temporal de las especies, asimismo se denota una comunidad estructuralmente simple y con sólo dos especies de importancia notable, pertenecientes a Copepoda. Pese a la aparente simplicidad, la comunidad aparece como permanente en el tiempo, como se deduce del índice de fluctuación y de las variaciones de la diversidad específica. La mayor complejidad estructural se da en primavera-verano. El análisis por estrato, muestra que el nivel entre 0 y 25m tiene mayor variabilidad que los restantes, debido, quizás, a que es el de mayor variabilidad térmica en el año.