

# Simposios

## ORIGEN DEL HUMANO

Coordinador: Dr. Cristián Orrego

GEOGRAFIA GENICA DE SUDAMERICA : CONTRASTANDO MODELOS DE DESPLAZAMIENTO POBLACIONAL PRECOLOMBINOS. (Gene geography of South America : testing models of pre-Columbian population displacements). F. Rothhammer, C. Silva y E. Llop. Departamento Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y Departamento de Matemática y Computación, Facultad de Ciencias, Universidad de Santiago.

Aprovechando avances recientes de la graficación computarizada se han presentado los resultados del tratamiento estadístico multivariado de frecuencias génicas para determinadas áreas geográficas en forma de mapas sintéticos de variación genética. Estos mapas han sido utilizados para poner a prueba hipótesis sobre la difusión de la agricultura en Europa como también sobre la acción de factores evolutivos, tanto a nivel mundial como también para Norte, Centro y Sudamérica. Los resultados obtenidos para América en general son poco concluyentes debido al pequeño número de sistemas genéticos incluidos en el análisis. En esta ocasión presentaremos mapas sintéticos de frecuencias génicas para Sudamérica utilizando el mayor número posible de sistemas. Posteriormente utilizaremos estas representaciones gráficas para poner a prueba modelos de desplazamiento poblacional precolombino.

GRANT N° 91-1110 FONDECYT.

IMPACT OF MOLECULAR GENETICS IN STUDYING ORIGIN OF HUMAN POPULATIONS.

Ranajit Chakraborty. Center for Demographic and Population Genetics. The University of Texas Graduate School of Biomedical Sciences, Houston, Texas.

The origin of specific human populations has always been an intriguing question to biological anthropologists. While early works on this subject relied on typological patterns of human variation, recent advances in molecular genetics make such studies far more incisive; the level at which genetic variation can now be studied is much closer to the underlying molecular typing can now be done on people who existed several thousand years back, dating the origins of populations can now be done with a precision that was not feasible from the traditional biological traits. In this presentation, presentation, preliminary data on molecular variation in humans will be used to show that population genetic theories are available to utilize biochemical variation detected at a molecular level, from which precise genetic profiles of populations can be determined. Anthropologists, human biologists, as well as forensic scientist can profitably use the concept of genetic variations among individuals, allowing reconstruction of past events of colonization and expansion of populations, from which origins of specific populations can be predicted. (Research supported by NIH grant GM-41399

HOMINIZACION UNA PERSPECTIVA BIOANTROPOLOGICA Eugenio Aspíllaga, Departamento de Antropología y Departamento de Anatomía Normal, Universidad de Chile. Para una mayor comprensión del proceso de Hominización es necesario remontarse al origen de los primates como grupo, hace como unos 70 millones de años; y discutir en torno a las adaptaciones y características de dicho grupo, que contribuyeron a la génesis de la propiedades biológicas más notorio del hombre y que en su origen constituyeron un conjunto de propiedades necesarias para la aparición de este y del fenómeno adaptativo extra somático que llamamos cultura. Es posible que las restrictivas condiciones del medio arbóreo, propiciará la selección de variabilidad biológica consistente con una vida exitosa en dicho medio; es así como aspectos tan característicos del Hombre como son su capacidad manipulación, la visión estereoscópica combinada con una desarrollada capacidad de enfoque y visión de colores, el desarrollo de áreas asociativas en el cerebro, así como un cerebro más complejo y otras características relacionadas, pueden comprenderse mejor si se analiza los presuntos requerimientos vitales de los primates primitivos en su relación con la vida arbórea.

*Alustralopithecus afarensis*, probablemente fue el primer homínido donde todas las propiedades biológicas necesarias para la aparición del Hombre y la cultura estaban ya esbozadas, hace unos 3,5 a 4 millones de años. Dichas propiedades se asentaron una vez "gatillado" el fenómeno de la cultura, probablemente por el *homo habilis*, hace unos 2,8 millones de años. La cultura acelerará el proceso enormemente, contribuyendo a hacer exponencial el incremento de la capacidad craneana hasta alcanzar en un plazo muy breve, en términos macroevolutivos, los límites de nuestra propia especie. Esta última en su variedad *Homo sapiens sapiens* se encargará de ocupar casi todos los espacios de nuestro planeta, incluido nuestro continente, América, el cual comenzó a conquistar hace unos 40.000 años y donde han tenido lugar interesantes fenómenos de tipo microevolutivo.

**SIMPOSIO: "LA VERSATILIDAD DE LA PCR.  
(POLIMERASE CHAIN REACTION)"**

*Coordinador: Dr. Romilio Espejo*

**AMPLIFICACION POR PCR DE DNA EN CONCENTRACIONES MENORES DE DIEZ MOLECULAS BLANCO POR MUESTRA.** (DNA amplification by PCR of ten or less target molecules per sample). Escanilla, D., y Espejo, R. Unidad de Virología, Facultad de medicina, Universidad de Chile y Centro de Estudios Científicos de Santiago.

Despues de la infección primaria por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) queda un pequeño número de células mononucleadas de la sangre con el DNA viral integrado (1/1.000 hasta menos que 1/100.000). Por lo tanto, para detectar en las etapas tempranas el DNA viral es necesario amplificar, hasta una cantidad suficiente, 10 o menos moléculas por muestra. Aquí presentamos un procedimiento para la amplificación de secuencias en concentraciones cercanas a una copia por muestra.

La reacción de amplificación es realizada en un pequeño volumen, 26 ul, con el objeto de ahorrar enzima manteniendo una concentración adecuada, por 38 ciclos. El producto específico es identificado por tinción con nitrato de plata, después de electroforesis en minigels de poliacrilamida. La sensibilidad, eficiencia de amplificación, especificidad y reproducibilidad de la técnica se estudió en muestras con concentraciones conocidas de DNA blanco, utilizando plasmídios recombinantes o DNA de células infectadas, diluidas en DNA de células humanas. Este procedimiento permite la detección de hasta una molécula por muestra, o de un provirus en 150,000 células. Un control interno, consistente en dímeros de los partidores generados por la amplificación, permite examinar la efectiva amplificación aún en ausencia de moléculas blanco.

**PCR, UNA ALTERNATIVA PARA EL AISLAMIENTO DE GENES: OBTENCION Y SECUENCIACION DEL GEN QUE CODIFICA PARA RUSTICIANINA DE *Thiobacillus ferrooxidans*.** (PCR, an alternative for the isolation of genes. Obtention and sequencing of the gene encoding for Rusticianin from *Thiobacillus ferrooxidans*). Nunez, L., Moreno, F. y Jedlicki, E. Dpto de Bioquímica, Fac. de Medicina, U. de Chile. El *T. ferrooxidans* es una bacteria quimiotrófica, que obtiene su energía de la oxidación de ion ferroso a ion férrico. En el transporte de los electrones liberados participa una proteína periplasmática, la Rusticianina. Experimentos previos han demostrado que cultivos de *T. ferrooxidans* crecidos en presencia de Fe<sup>2+</sup> como sustrato, poseen niveles mayores de esta proteína que cuando son crecidos en un medio con azufre elemental (S<sup>0</sup>). Con el fin de estudiar la regulación de la expresión del gen de la Rusticianina, es necesario previamente aislar dicho gen. Numerosos intentos para aislar este gen a partir de diferentes genotipos de DNA de *T. ferrooxidans* no tuvieron éxito, debido a la dificultad de contar con una sonda adecuada. La técnica de amplificación de DNA por la reacción en cadena de la polimerasa permitió, usando los partidores adecuados y DNA cromosomal de *T. ferrooxidans*, amplificar un fragmento de 265pb correspondiente a una secuencia interna del gen que codifica para la rusticianina. Este fragmento marcado radiactivamente fue utilizado como manda para detectar dicho gen en una de las genotipos. Actualmente se obtiene la secuencia completa de este gen. (Proyectos PNUD\ONUDI, FONDECYT 0936)

**ESTUDIO DE POLIMORFISMOS EN UN LOCUS VNTR EN LA POBLACION CHILENA, POR LA TECNICA DE PCR.** (PCR analysis of VNTR locus polymorphisms in chilean population). Carvallo, P.; Jorquera, H. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Las regiones VNTR (Variable Number of Tandem Repeats) localizadas en el DNA humano, presentan una alta variabilidad alélica, y por lo tanto han sido muy utilizadas como marcadores genéticos. El análisis de estas regiones ha sido aplicado a una gran variedad de problemas como, ligamiento genético, medicina forense y paternidad. La variabilidad alélica de estos loci es debida a un número diferente de secuencias idénticas repetidas en tandem en cada individuo. El locus VNTR MCT-118 posee secuencias de 16 nucleótidos, repetidas desde 21 a 45 veces dentro de la población. Para este estudio utilizamos la técnica de PCR, con el fin de amplificar este locus y estudiar su variación poblacional en Chile. A partir de muestras de sangre se preparó DNA humano y utilizando partidores específicos se amplificó el locus VNTR MCT-118. Se determinó el tamaño de cada fragmento amplificado y se estableció la frecuencia de cada uno de los 25 alelos encontrados, en la población chilena. Con este estudio se ha establecido una técnica relativamente simple y de mayor exactitud que las existentes en Chile, para el análisis de paternidad y de identificación forense. (Financiado por Instituto Médico Legal).

**AISLAMIENTO DEL GEN ompF DE *Salmonella typhimurium* MEDIANTE AMPLIFICACION DIRECTA DEL DNA CROMOSOMAL POR PCR. ESTRUCTURA Y EXPRESION DEL GEN.** (Isolation of the *ompF* gene by chromosomal DNA amplification using PCR. Structural and expression studies).

Venegas, A., Gómez, I., Martínez, M.J., Leiva, J. Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Considerando cierto grado de homología estructural entre los genes de proteínas de membrana externa *ompF* de *Escherichia coli* y de *Salmonella typhi* y bajo el supuesto que esto podría ser válido para el gen *ompF* de *Salmonella typhimurium*, se diseñaron oligonucleótidos correspondientes a ambos extremos de la región codificadora de *ompF* de *Escherichia coli*. Luego se procedió a amplificar esta zona utilizando DNA cromosomal de la cepa *Salmonella typhimurium* LT2 mediante metodología PCR, en una reacción de 30 ciclos, con DNA polimerasa de *Thermus aquaticus*.

Se obtuvo un fragmento amplificado de 1.1 kb, el cual se insertó en el vector pK233-2 que expresó la proteína *OmpF* bajo el control del promotor lac. Algunos fragmentos de restricción derivados de este vector fueron clonados en los derivados *mp18* y *mp19* de *M13* y secuenciados. Al comparar las regiones codificadoras de *ompF* de *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli* se encontró una homología global del 65% a nivel de proteína.

Para clonar la región promotora de este gen se diseñaron otros 2 oligos: uno correspondiente a la secuencia de unión de *OmpR* de *Escherichia coli*, la cual antecede la región promotora de *ompF* y otro, derivado de la secuencia complementaria a la región codogénica correspondiente al segmento común existente en varias proteínas de membrana externa, entre Tyr301-Met307 de la secuencia de *OmpF* de *Escherichia coli*. En el primer oligo se incorporó además un sitio EcoRI y en el segundo, un sitio HindIII. Este fragmento se ligó directamente a *M13mp18* y se secuenció íntegramente recurriendo a diversos oligos como iniciadores para la reacción de secuenciación. Del análisis de secuencia de algunos clones obtenidos por PCR en reacciones independientes, no se detectaron diferencias, de modo que la fidelidad de la amplificación por PCR fue muy satisfactoria.

El gen *ompF* completo, incluyendo su promotor, fue reconstruido a partir de estos 2 clones parciales y se demostró su funcionalidad en *Escherichia coli* por análisis de Western blot.

Se concluye que es factible clonar genes directamente de DNA cromosomal usando la técnica PCR, basándose en secuencias nucleotídicas conservadas, aún cuando no existe un alto grado de homología en la región codogénica.

Financiado por proyectos FONDECYT 682/91 y AID 513-5542-G-SS-9068-00.

Utilización de PCR en el análisis de una región del genoma de *Thiobacillus ferrooxidans* con múltiples transposiciones de una secuencia de inserción. (Analysis by PCR of multiple transpositions of an insertion sequence in the genome of *T. ferrooxidans*). Cádiz, R., Gaete, L. y Orellana, O.

Dept. de Bioquímica, Fac. de Medicina, U. de Chile.

Las secuencias de inserción son segmentos de DNA entre 0,8 y 1,5 kb que se encuentran en múltiples copias en el genoma de variados microorganismos y tienen la capacidad de movilizarse. En su estructura se pueden identificar genes que codifican para las funciones de transposición y secuencias repetidas invertidas en los extremos.

En el genoma de *T. ferrooxidans*, una bacteria acidófila que participa en la biolixivación de minerales, se identificó una secuencia de inserción de 1,4 kb denominada *IST<sub>2</sub>*. Como parte de la estrategia para analizar la distribución de *IST<sub>2</sub>* en el genoma de *T. ferrooxidans* se diseñaron oligonucleótidos para amplificar por PCR, las secuencias de DNA adyacentes a dos *IST<sub>2</sub>* contiguas a partir del DNA de diferentes cepas de *T. ferrooxidans*. Se amplificaron segmentos de DNA entre 0,2 y 1 kb. Mediante la secuenciación de varios de los productos de amplificación, provenientes de las distintas cepas, se observó que al menos cuatro miembros de la familia *IST<sub>2</sub>* se insertaban en una región del genoma bacteriano no mayor que 0,9 kb. En una cepa se detectó que tres miembros de *IST<sub>2</sub>* se insertaron en esta región. El traspaso de las bacterias a medios de cultivo con diferente fuente energética provocó variaciones en los productos de amplificación a partir de las secuencias de inserción.

Financiado por Universidad de Chile.

EXPRESIÓN GENÉTICA DE PROTEÍNAS Gα DURANTE LA OOGÉNESIS Y EMBRIOGÉNESIS EN *Xenopus laevis*. ANÁLISIS POR PCR REVERSA. (Gene expression of Gα during oogenesis and embryogenesis in *Xenopus laevis*. Analisis by reverse PCR). Oñate, A. y Olate, J. Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile y Dpto de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. (Patrocinio: M. Gatica). La técnica de reacción de la polimerasa en cadena (PCR), es de gran utilidad para amplificar copias de cDNA obtenidas a partir de mRNA. Por ser la técnica de PCR de gran sensibilidad, permite la cuantificación de pequeñas cantidades de un mRNA específico, a partir de RNA total. Utilizando esta técnica con algunas modificaciones, hemos detectado en oocitos de *Xenopus laevis* la presencia de 5 especies de mRNA codificantes para diferentes subunidades alfa de proteínas G. La expresión de mRNA para Gα<sub>o</sub> fue cuantificada en los diferentes estadios de la oogénesis, en la maduración y en estados tempranos de la embriogénesis, a partir de RNA total. Se encontró que el mRNA codificante para la subunidad alfa-o está presente en todos los estados de la oogénesis (I a VI), su cantidad es constante y corresponde a 3.5 pg/oocito, lo que equivale a  $1.3 \times 10^6$  moléculas. Esta concentración es similar a la encontrada para el protooncogen c-myc y superior a la encontrada para los protooncogenes c-fos y c-ras. Los transcriptos para alfa-o también están presentes en los primeros estados embriogénicos analizados, pero el número de transcriptos disminuye gradualmente desde la fertilización hasta el estado de gástrula. (FONDECYT 91-1136)

## SIMPOSIO: "MECANISMOS DE CONTROL DE LA DIFERENCIACION CELULAR"

*Coordinador: Dr. Ricardo Maccioni*

UNKNOWN FEATURES OF CHROMOSOME TRANSPORT DURING MITOSIS IN LIVING CELLS. Bajer, A.S. and Mole-Bajer, J. Dept. of Biology, University of Oregon, USA.

Chromosome movements in endosperm of higher plant Hedera helix were analyzed with standard time-lapse light microscopy and in VEM (video enhanced microscopy). VEM bridges standard light and electron microscopy and allows one to follow details of the spindle organization in living cells with unmatched precision. Both control (untreated) cells and cells in a variety of experimental treatments were studied. The spindle organization in fixed cells (microtubules (MTs), kinetochores (Ks) and F-actin) was visualized with immunogold and immunogold-silver.

The following topics will be discussed: (a) self-reorganization of the spindle without polar constraints (in acentriolar spindle), (b) the role of Ks in dynamic organization of K-fibers, as indicated by injection of anti-kinetochore antibodies and (c) MTs dynamics and chromosome transport. Both K-transport and behavior of spindle inclusions, a behavior which provides important clues for the understanding of chromosome movements, will be discussed.

MECANISMOS DE REGULACION GENETICA EN EL PLASMIDO PROMISCOU pLS1. (*Gene regulation in the promiscuous plasmid pLS1*). Gloria del Solar, José Pérez-Martín y Manuel Espinosa. Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid, España.

pLS1 es un plásmido de estreptococos, totalmente secuenciado (4408 pb), multicopia y que confiere resistencia constitutiva a tetraciclina. Es capaz de replicar de forma autónoma en bacterias gram-positivas y gram-negativas. Hasta la fecha plásmidos con el replicón pLS1 han sido transferidos a muy diversos huéspedes en éste y otros laboratorios. La promiscuidad de pLS1 lo convierte en un sistema atractivo para estudios de expresión génica y su regulación. La replicación de pLS1 está mediada por la proteína iniciadora, RepB, la cual se une a una región del DNA que incluye tres secuencias de 11 pb directamente repetidas. Después de su unión, RepB introduce un corte específico de sitio y hebra, a 85 pb de su sitio de unión, en una región con estructura de tipo tallo-lazo. Ambas regiones constituyen el ori(+) de pLS1. El corte generado por RepB deja un extremo 3'-OH libre, el cual es extendido, probablemente, por la maquinaria del huésped. El producto final de esta etapa es una forma plasmídica bicatenaria con una hebra de nueva síntesis y otra monocatenaria. En una región físicamente alejada del ori(+), denominada ori(-), se inicia la conversión de las formas monocatenarias en bicatenarias, por un mecanismo aún desconocido y en el que parecen intervenir diversas proteínas del huésped. Por tanto, la iniciación de la replicación de pLS1 es la única etapa específica del plásmido. La expresión del gen repB está controlada a dos niveles interrelacionados por la proteína represora RepA y por un RNA "antisense", RNA II. Los genes repA y repB se co-transcriben desde el promotor P<sub>AB</sub>, dentro del cual existe un operador simétrico de 13 pb que forma parte del sitio de unión de RepB. La unión de RepA a su diana induce una fuerte curvatura en el DNA. La formación del complejo RepA-DNA constituye un impedimento estérico para la unión de la RNA polimerasa.

Proyecto financiado por la CICYT (BI088-0449).

THE MECHANISM OF PROGRAMMED CELL DEATH IN THE BLASTOCYST OF THE MOUSE. Pierce, G.B., Gramzinski, R. and Parchment, R. Department of Pathology, University of Colorado School of Medicine, Denver, U.S.A.

Programmed cell death occurs in the inner cell mass (ICM) of the late blastocyst coincident with the loss of trophectodermal potential of the ICM. The paucity of fluid and cells precludes direct analysis to determine the mechanism of cell death. Accordingly, we used three lines of embryonal carcinomas as models of ICM: ECa247 as pretrophectoderm, P19 as embryonic epithelium and the embryo bodies of C44 to serve as a source of fluid corresponding to that of the late blastocyst. ECa247 cells were killed in blastocoel fluid and in that of C44, but P19 cells were not. This suggested the possibility that normal pretrophectoderm might be killed by a toxin in blastocoel fluid. Accordingly, the fluid of C44 was analyzed and found to contain H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (generated by the catabolism of polyamines by amine oxidases) in amounts toxic for ECa247 but not P19. If P19 cells were incubated in buthionine-SR-sulfoximine (reduces glutathione peroxidase), these cells became sensitive to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> suggesting that development of glutathione protective mechanisms is a part of the developmental program which protects cells from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Confirmatory studies were then conducted on normal blastocoel fluid and it too contained H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in amounts lethal for malignant pretrophectoderm while sparing P19 cells. The data are compatible with the concept that programmed cell death is mediated via H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generated by catabolism of polyamines.

REGULACION DE LA EXPRESION DE LOS GENES HOMEOTICOS DE *DROSOPHILA*. (*Regulation of homeotic gene expression in Drosophila*). Morata, G. Centro de Biología Molecular, Universidad Autónoma de Madrid.

Los genes homeóticos determinan los programas característicos de desarrollo de los distintos metámeros (parasegmentos) de *Drosophila*. Cada uno de ellos se activa en un dominio de expresión específico determinado por la actividad previa de genes maternos y de segmentación. Posteriormente, el dominio de expresión inicial es modificado por la actividad reguladora transcripcional de unos genes homeóticos sobre otros. En el presente trabajo hemos estudiado las interacciones de regulación entre los genes homeóticos *Sex comb reduced (Scr)*, *Ultrabithorax (Ubx)*, *Abdominal-A (abd-A)* y *Abdominal-B (Abd-B)*. El gen *Scr* se expresa en el parasegmento 13, indicando que estos últimos reprimen su expresión en la parte posterior del cuerpo. Este fenómeno de regulación entre homeóticos ocurre posteriormente al establecimiento de la actividad inicial de *Scr*, sugiriendo varios niveles diferentes de regulación. Fenómenos similares de interacciones de regulación se dan entre *Ubx*, *abd-A* y *Abd-B*. El estudio detallado de las interacciones entre *abd-A* y *Abd-B* sugiere que *abd-A* puede ser activado transcripcionalmente por más de un mecanismo.

El significado de estas interacciones reguladoras ha sido estudiado utilizando genes de fusión en que los productos de *Ubx* y *abd-A* se expresan por promotores sensibles a temperatura no regulables por homeoproteínas. Los resultados indican que aún cuando estos genes de fusión no pueden ser regulados, sus productos pueden ser inactivados postranscripcionalmente por otros homeoproductos. Este fenómeno, llamado supresión fenotípica, representa un método nuevo de interacción entre genes homeóticos.

## SIMPOSIO. "MECANISMOS DE ADAPTACION"

*Coordinador: Dr. Esteban Rodriguez*

**PAPEL ADAPTATIVO DE LA HORMONA MELANOCITO ESTIMULANTE (MSH).** Adaptive role the melanocyte-stimulating hormone (MSH). Ituriza, F.C. Centro de Estudios Endocrinios, Cátedra B de Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de la Plata, Argentina.

Homeostasis aims at adapting living beings to the surrounding external or internal environment. Even though almost every hormone contributes to homeostasis, ACTH and MSH are superlative in this sense, the former participating in stress and the latter being responsible for the adaptation to the background color.

Both neuroendocrine mechanisms involved in color adaptation and results indicating that in certain species MSH has an adaptive function affecting organs other than those of the pigmentary system will be dealt with in this lecture.

**THE VASOPRESSIN SYSTEM IN ADAPTATIVE MECHANISMS:** Pena, P.A.; Nurnberger, F. and Simon, E. Max Planck Institut für physiologische und Klinische Forschung, Bad Nauheim und Institut für Anatomie und Zytobiologie, Giessen, Germany. Apart from its osmoregulatory functions in the kidneys, arginine-vasopressin (AVP) is modulating regulatory processes of the brain (e.g., drinking behavior, blood pressure, body temperature, biorhythms). Of particular interest is the paraventricular Nucleus (PVN) - septum AVP axis, control adaptive mechanisms of osmoregulation and thermoregulation. In the present study, the AVP content of several brain regions and blood plasma was studied after thermal adaptation (warm: 22°C, 6 weeks; cold: 5°C, 6 weeks; guinea pigs), during euthermia and hibernation (European hamsters), and after osmotic stimulation (guinea pigs, 48 h deprived from drinking water). The content of AVP was measured in punched tissue samples by application to radioimmunoassays (RIA). The localization of AVP-containing structures was visualized by immunocytochemical procedures. The adaptation to cold and warm ambient temperatures and osmotic stimulation generally resulted in decreased AVP contents of the septum, PVN, SON, and in the neural lobe. Tuberulum olfactorium and hippocampus tissue, which were taken for control, did not show differences in the AVP content in relation to the functional state. The two portions of the PVN displayed a differential reactivity pattern. As with osmotic stimulation, the decrease in AVP content was particularly pronounced in the lateral portion of the PVN in cold adapted guinea pigs and in the medial portion of the PVN in warm adapted specimens. In European hamsters, the hypothalamic nuclei and the septum were depleted of AVP during hibernation compared with euthermic winter or summer animals, which exhibited the strongest reactivity to AVP. These findings speak in favor of a specific involvement of both septum and lateral portion of the PVN serves mainly osmoregulatory functions. Supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (Nu 36/2-2) and the Max Planck Gesellschaft.

**PHOTONEUROENDOCRINE SYSTEMS AND THEIR ROLE IN ADAPTATION TO THE ENVIRONMENT.** Oksche, A. Department of Anatomy and Cytopathology, Faculty of Medicine, Justus Liebig University of Giessen, 123 Aufweg, D-6300 Giessen, Germany.

Photoneuroendocrine systems are distinct from the apparatus for vision and optic reflexes. They receive crucial photoperiodic information from the environment and utilize it in the control of different biorhythmic and neuroendocrine functions. The discovery of Photoneuroendocrine systems (Karl von Frisch, Ernst Scharrer) is a fascinating, exemplary story of biological research. This entire apparatus encompasses a retinohypothalamic projection, the pineal organ and the so-called "deep encephalic photoreceptor". It contributes toward the integration of extrinsic and intrinsic information essential for the control of vital autonomic functions. Thus the survival of the individual and the preservation have established close molecular, structural and functional relationships between pinealocytes and retinal photoreceptor cells. However, the nature of the deep photoreceptor has remained enigmatic in more than one respect. In future search for diencephalic primordia capable for photoneuroendocrine and biorhythmic differentiation, methods of molecular biology and embryology will be applied with highest priority. This type of analysis, however, should not overrule the necessity to gain insight into systemic and integrative aspects taking into account the entire organism.

**RESPUESTA AL FRÍO Y SALINIDAD EN VEGETALES (Responses to cold and salinity in plants)** L. Mesa-Basso,<sup>\*</sup>M. Alberdi,<sup>\*\*</sup>J. Arvin,<sup>\*\*</sup>P.D.S., Caligari.<sup>\*</sup>Instituto de Botánica, Universidad Austral de Chile. <sup>\*\*</sup>Department of Agricultural Botany, School of Plants Sciences, Universidad de Reading, U.K. Programa de Biología Vegetal, Facultad de Recursos Naturales, Universidad de Talca.

Los vegetales crecen y están expuestos a una variedad amplia de condiciones ambientales adversas. Condiciones de estrés tales como: falta de agua, nación, salinidad excesiva, temperaturas extremas, etc. generan en algunos casos, un conjunto de respuestas compensatorias. En plantas resistentes, el frío induce cambios en la composición química celular, proceso adaptativo que le permite sobrevivir sin daño permanente. Estas modificaciones cuantitativas serían el resultado de la activación similar en relación al estrés salino; sin embargo, no se dispone hasta el momento de una explicación molecular detallada. El efecto de las bajas temperaturas se estudió en plantas de raps (*Brassica napus*) resistentes y sensibles, y en plantas adultas de coihue (*Nothofagus dombeyi*). Se entregan antecedentes de cambios cuantitativos de la composición lipídica en membranas tilacoides, de carbohidratos solubles, como también de cambios en la biosíntesis proteica. El efecto salino se analizó en plántulas, callos y tuberculos en cultivos comerciales de papa (*S. tuberosum*) y en especies silvestres. Los resultados sugieren que existen variaciones en la tolerancia a la salinidad y estos se expresan en aspectos obtenidos en cultivos *in vitro* e *in vivo*. Los datos obtenidos con genotipos silvestres pueden ser potencialmente aprovechables en programas de mejoramiento de las variedades establecidas.

Financiado: Fondecyt: Proyecto 0898/88, 0897/88 y 0898/91. The British Council y Dirección de Investigación, Universidad de Talca.

## SIMPOSIUM "FUNDACION CHILENA PARA BIOLOGIA CELULAR"

SIMPOSIO: "MANIPULACION DEL DESARROLLO DE ANIMALES  
Y PLANTAS CON FINES PRODUCTIVOS"

*Coordinadores: Dr. Claudio Barros y Dr. Luis Corcuera*

**Manipulación de la Fecundación en Mammíferos.** (Manipulation of Mammalian Fertilization)  
**C. Barros.** Laboratorio de Embriología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

La fecundación en mamíferos supone un espermatozoide móvil para atravesar una cubierta celular, el cúmulo óforo y debe tener además un acrosoma capaz de reaccionar para atravesar una cubierta acelular, la zona pelúcida. Formándose luego el cigoto por la fusión de las membranas gaméticas. Los eventos postfusión comprenden, además de la activación (*ruptura de los gránulos corticales, eliminación del segundo polocito y la activación metabólica*), la decondensación de la cromatina para la formación de los pronúcleos, fundamentales para iniciar el desarrollo. La barrera que representan las cubiertas se ha podido superar con la inyección de espermatozoides vivos y capacitados al espacio perivitelino o bien "*taladrando*" o "*rascando*" la zona pelúcida, perforaciones a través de las cuales el espermatozoide puede alcanzar la membrana plasmática y fusionarse con el ovocito para formar el cigoto. Este último también se ha obtenido inyectando, espermatozoides o núcleos espermáticos al citoplasma ovocitario. Se ha demostrado que al inseminar mediante la inyección la frecuencia de anomalías genéticas no es diferente de aquella de la fecundación normal. Estas metodologías están abriendo no solo nuevos campos de estudio de la problemática del desarrollo de mamíferos sino que además permitirán aumentar la eficiencia del fenómeno reproductivo. Otra importante vía para aumentar esta eficiencia y facilitar el manejo genético es la clonación; la que se puede obtener por: a) *separación* de los primeros blastómeros o porciones de morúlulas o blastocistos jóvenes o por b) *transplantes nucleares* la que tiene el potencial de producir un número ilimitado de individuos genéticamente iguales y el mayor clon conocido a la fecha es el de 11 bovinos nacidos vivos. Progenie con rendimientos de 1% en cerdo y 1 a 4% en bovinos se han obtenido por estos métodos. Fondecyt 749/91 y Fundación Rockefeller GA PS 91/01.

**The mouse developmental control genes PRD-LIKE and PAX2. Two Projects, Reported by Westphal, H., Laboratory of Mammalian Genes and Development, NICHD/NIH, Bethesda, MD, USA.**

**Prd-like, a novel homeobox gene.** Mahon, K.A.\*; Hermesz, E.\* and Jamrich, J.\*\*. \*LMGD/NICHD /NIH and \*\*DBB/CBER/FDA, Bethesda, MD USA. A novel murine homeobox gene, prd-like, has been isolated on the basis of structural similarity with the homeobox of the Drosophila genes paired and gooseberry. It is the most anterior of all known homeobox genes. In situ hybridization experiments have shown that the expression of prd-like in the 7.5 day embryo is confined to the rostral portion of the primitive ectoderm. Later during development, transcripts become progressively development, transcripts become progressively restricted to anterior ectoderm of the headfold. By day 9.5, expression is selectively observed in Rathke's pouch, the primordia of the anterior pituitary. Expression at this location continues through day 12, but is undetectable by 15 days of embryogenesis. This striking pattern of expression suggests a role of prd-like at earlier stages of development suggests a more general function of this gene in defining anterior structures of the embryo.

**Functional analysis of the murine Pax -2 gene product.** Dressler, G.R., LMGD/NICHD/NIH, Bethesda, MD, USA. The mouse paired-box genes were cloned based on their sequence homology with Drosophila segmentation genes. Pax 2 a member of the paired-box family, is transiently expressed in the embryonic kidney and neural tube, suggesting that the protein function during early mesenchymal condensation in the kidney and in neural development. Polyclonal Pax-2 antibodies detect two forms of the Pax-2 protein, produced by differential mRNA splicing, in the nuclei of the renal mesenchymal blastema and in differentiating neurons. In order to identify an *in vivo* DNA binding site and a potential target gene of the Pax-2 protein, antibodies were used to immunoprecipitated intact, Sau3A cleaved chromatin from embryonic kidney nuclei. The immunoprecipitated DNA was cloned into a plasmid vector, and the inserts were screened in a high resolution gel shift assay, using immunoaffinity purified Pax-2 protein. A promoter sequence was identified that bound Pax-2 and other transcription factors. A gene containing this promoter sequence was cloned from an embryonic kidney library. This gene is expressed at high levels in the embryonic kidney. The nature of this gene and its regulation by Pax-2 is currently under investigation.

**MANIPULACION DEL DESARROLLO EN SALMONIDOS.** (Developmental manipulations in salmonids).  
**DIAZ, N.F.**  
 Departamento de Ciencias Ecológicas.  
 Facultad de Ciencias. Universidad de Chile.

En el mejoramiento genético de salmonidos de cultivo, se han desarrollado metodologías que permiten alterar el curso de algunos eventos de la gametogénesis o del desarrollo. Los efectos de esas manipulaciones se aprecian de inmediato en la constitución genética de los individuos tratados y consecuentemente en su desarrollo posterior.

Describiré las metodologías referidas, su fundamento y aplicaciones tecnológico productivas, e ilustraré las que hemos desarrollado en nuestro país:

1. Aplicación de agentes físicos para evitar la expulsión del segundo polocito. 2. Aplicación de agentes físicos para evitar la primera división zigótica. 3. Irradiación de gametos para destruir su material genético.

Estas técnicas permiten obtener individuos poliploides o partenogenéticos, poblaciones mososexo, individuos con sexo revertido.

En nuestro grupo de investigación, trabajando con trucha arco iris y salmones, aplicamos las técnicas descritas: estandarizamos la aplicación de choque térmico a ovas postfecundación obteniendo individuos triploides y tetraploidies; la irradiación de espermios, cuyo uso ha permitido obtener individuos gignogenéticos, que han sido tratados hormonalmente para producir neonachos. A través de estos últimos es posible obtener poblaciones todo hembra.

Comentará las relaciones de estos trabajos con tópicos de biología celular y del desarrollo.

Proyectos FONDECYT 1043/90; ANDES C 11001/90.

## SIMPOSIO: "RETORNO DE CIENTIFICOS CHILENOS EN EL EXTRANJERO"

*Coordinador: Luis Izquierdo***Symposium sobre el Retorno de científicos**

Paíse en desarrollo donde se cuenta con científicos que forman parte activa de la comunidad científica internacional, como en el caso de Chile, están expuestos a que éstos migren atraídos por mayores facilidades para el trabajo de investigación y por superiores niveles de vida cultural y económica.

No nos preocupan las estadías fuera del país de científicos en formación ni los viajes espaciados o frecuentes, todo lo cual es necesario para mantener contacto con científicos extranjeros. Nuestra preocupación se refiere a la emigración y al desarraigo.

El problema tiene dos fases: la retención de científicos en el país y el retorno de los que se han ido, por su voluntad o contra ella.

En una perspectiva económica superficial, retención y retorno pueden parecer alternativas equivalentes, y en competencia, para incrementar nuestra reducida comunidad de científicos; pero en un análisis más profundo se advierte que son soluciones muy distintas por las medidas que deberían adoptarse, el plazo en que pueden surtir efecto, su rendimiento y las expectativas de éxito.

El tiempo de que disponemos en esta Reunión de la Sociedad de Biología no permitiría analizar satisfactoriamente ambos problemas y por lo tanto dedicaremos éste symposium al RETORNO y en una próxima oportunidad no ocuparemos de la retención.

## SIMPOSIO: "NUEVAS APROXIMACIONES A LA PRODUCCION BIOLOGICA"

*Coordinador: Dr. Bernabé Santelices*

**BIOTECNOLOGIA Y AGRICULTURA** (Biotechnology and Agriculture). Meza-Basso, L., Hubert, E., Sáez, J., Theoduloz, C., Poblete, F., Espinoza, P., Vizcarra, G., Parra, C. y Contreras, A. Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, Universidad Austral de Chile y Laboratorio de Bioquímica Vegetal, Programa de Biología Vegetal, Facultad de Recursos Naturales, Universidad de Talca.

Dada la disponibilidad y calidad de los recursos naturales, la actividad agrícola en Chile se desarrolla bajo condiciones climáticas y ecológicas privilegiadas. No obstante, la productividad de los cultivos se ve afectada por pérdidas severas debido a factores ambientales adversos de naturaleza biótica y abiótica.

La biotecnología ha traído consigo la promesa de soluciones a estos problemas ya que ofrece la posibilidad de identificar, modificar y transferir de manera controlada genes para obtener nuevas variedades con características mejoradas que les permitan sobrellevar en mejor forma las enfermedades y plagas, las temperaturas extremas, la escasez de agua, los suelos excesivamente salinos, etc. Gracias a esta revolución tecnológica que involucra a todas las ciencias biológicas, se nos brindan posibilidades de subsanar además muchos de los impedimentos de expansión y mejoramiento en la productividad agrícola, sobre todo en las áreas marginales en donde las condiciones ambientales por lo general son adversas en cuanto a la calidad de los suelos. La aplicación de estas técnicas permitirá en el futuro cumplir el objetivo final de cualquier plan de fitomejoramiento de cultivos.

En relación a esta área del conocimiento, se presentan resultados de investigación básica realizados en nuestro laboratorio acerca del control de ciertas enfermedades virales y cómo abordar el control de insectos apoyado en la biotecnología, así como también, estudios del efecto salino y el de las temperaturas bajas sobre ciertos cultivos de interés agrícola.

Financiado: FNC 0898/88, FNC 0880/88, FNC 0128/91, PNUD RLA 83/003. Consejo Británico y Dirección de Investigación, Universidad de Talca.

**ECOPHYSIOLOGICAL BOTTLENECKS IN TANK CULTURE OF THE SEAWEED *Chondrus crispus* (RHODOPHYTA).** Craigie, J., Shacklock, P. and Staples, L. Institute for Marine Biosciences, National Research Council, Halifax, Canada.

Biomass production results from the appropriate combination of energy, nutrients and organism under conditions favourable for growth. Rapid loss of growth occurs in tank cultured *Chondrus* when seawater is improperly supplied with C, N, P and Fe. Examples of the performance of this alga will be used to show how some limitations can be corrected.

Ultimately, success in aquaculture depends upon obtaining strains having characteristics that are compatible with the culture system. The original *C. crispus* selected for cultivation was a male, clone T4. Subsequent selections yielded clones such as BH-H, female and BH-D, a sporophyte that has been used for the commercial production of lambda carrageenan. The screening procedure developed to isolate fastgrowing strains will be illustrated using data obtained with a highly productive new female clone, H-3.

*C. crispus* grown in our outdoor tanks responds linearly to irradiance. Photosynthetic efficiencies based on carbon conversion and total irradiance data have been calculated at 2.3% for a three month summer period, and 1.76% on an annual basis.

MODELLING THE IMPACT OF LAND TRANSFORMATION AND PRIMARY PRODUCTIVITY SYSTEMS ON ECOSYSTEM SUSTAINABILITY. Prado, C., Depto. de Ecología, Fac. de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

The primary synthesis of dry matter is accomplished through the photosynthetic activities of green plants. While great deal has been learned about the capabilities of individual leaves to assimilate carbon under controlled conditions, much less is known about the rate and efficiency of this process as it applies to plant communities or ecosystems. However, as natural landscapes are being transformed, a predictive understanding of the potential response of ecosystem productivity and sustainability is required. The complexity of factors influencing productivity are directly affected by transfers of materials across ecosystem boundaries which vary temporally with climate, spatial heterogeneity and in response to disturbance. This spatial and temporal variability requires scaling up of information from the site to the landscape which may be feasible using simulation models. At the site level, modelling is an important tool that can be useful for: studying the interactions of specific processes and perturbations; direct experimental research in areas of insufficient understanding; organizing results and findings of various studies; and as a complex and comprehensive bookkeeping facility of known relationships and processes as new understanding evolve. At the landscape level, modeling goals are to examine relationships between intra and intersite processes to gain an understanding of the mechanisms underlying these responses. In order to forecast landscape productivity and sustainability three major tasks should be addressed: (1) to describe processes which occur at specific locations on the landscape; (2) to characterize transport of energy and materials between locations and (3) to interface local transport processes in a landscape framework. The future directions in modelling should focus on hierarchical models in order to account for different levels of time and space scales to simulate ecosystem and landscape dynamics.

INTEGRATED AQUACULTURE FOR INCREASED PRODUCTION AND ENVIRONMENTAL IMPROVEMENT. Kautsky, N. Department of Systems Ecology, Stockholm University, S-10691 Stockholm, Sweden.

Aquaculture is usually practised as large monocultures and implies that man manipulates natural ecosystem processes and redirects energy flows in order to increase production of some demanded species. Like all monocultures, large scale aquaculture will usually result in negative environmental impacts.

However, cultivation of seaweeds, mussels and fish take place on different trophic levels and put entirely different demands on the environment, and also affect the ecosystem in completely different, or even opposite ways.

By using ecological engineering principles, these cultures can be integrated, resulting in an ecologically more complete system of cultivations, that more resembles natural ecosystems where nutrients and waste products are not accumulated but are instead recycled and used as a resource in the cultivation area.

The ecological resource requirements, and the generated wastes and environmental impacts of seaweed culturing, long-line mussel rearing, and salmon cage-farming in coastal waters will be compared and basic ecological engineering principles are discussed by a comparison of conventional throughput-based monocultures with an integrated recycling-based culturing system of seaweeds, mussels, and salmon.