

**SOCIEDAD DE GENETICA DE CHILE
XVIII REUNION ANUAL**

**CLUB DE CAMPO, COLEGIO MEDICO DE CHILE
La Dehesa, Santiago**

30 y 31 de octubre de 1985

RESUMENES DE SIMPOSIOS Y COMUNICACIONES

**SOCIEDAD DE GENETICA DE CHILE
XVIII ANNUAL MEETING**

**COUNTRY CLUB, COLEGIO MEDICO DE CHILE
La Dehesa, Santiago**

October 30th and 31st, 1985

ABSTRACTS OF SYMPOSIA AND COMMUNICATIONS

Simposio

LOS CROMOSOMAS EN LA EVOLUCION

TELOMEROS, CENTROMEROS, COMPLEJO SINAPTONEMICO Y ENVOLTURA NUCLEAR: SU PARTICIPACION EN LA VIABILIDAD DE LOS REORDENAMIENTOS CROMOSOMICOS. (Telomeres, Centromeres, Synaptonemal Complex and Nuclear envelope: Its participation in chromosomal rearrangements viability).

Fernández-Donoso, Raúl. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Durante los estados tempranos de la profase de la meiosis se produce el ensamblaje del complejo sinaptonémico (CS) entre los cromosomas homólogos. La organización del CS culmina en el paquiteno, con la formación de una cinta trilaminar de 0,25 μ m de ancho, que se extiende de un telómero al otro del bivalente manteniendo estrechamente apareados a los cromosomas involucrados. Posteriormente, en el diploteno, el CS se desensambla permaneciendo sólo pequeños segmentos de él en aquellos lugares donde se produjo "crossing-over" dando origen a los quiasmas. En todo este proceso, juegan un rol fundamental los telómeros de cada miembro del par homólogo, los cuales están insertos en la envoltura nuclear y constituyen los puntos donde se inicia el ensamblaje del CS. Por otra parte, los centrómeros junto a otros dominios cromosómicos yuxtapuestos y el CS con sus remanentes quiasmáticos contribuyen a estabilizar y a orientar a los cromosomas homólogos en la segregación de la primera metafase de la meiosis (1, 2).

Para que un reordenamiento cromosómico sea heredado por la progenie debe necesariamente haber estado presente o haberse producido en las células de la estirpe germinal. El comportamiento meiótico de los centrómeros y telómeros y el de los mecanismos derivados de sus interacciones con el CS y la envoltura nuclear imponen en conjunto severas restricciones a la instala-

ción y dispersión de los reordenamientos cromosómicos (3). Sin embargo, cuando tales reordenamientos se producen dentro de los dominios centroméricos, teloméricos, o ambos, de los cromosomas participantes, las restricciones meióticas para su instalación y dispersión, se modifican, favoreciéndose, de esta manera, determinados cambios cromosómicos. La conservación de brazos cromosómicos en la evolución de cariotipos de numerosos grupos de mamíferos podría ser interpretada como una de las consecuencias de este fenómeno (3, 4). Por otra parte, la organización y segregación de trivalentes en organismos triploides o trisómicos o en heterocigotos para reordenamientos robertsonianos, así como de tetravalentes o de sistemas complejos de determinación cromosómica sexual, revelan que es fundamental la participación de telómeros y centrómeros y del CS y envoltura nuclear (1, 2, 4). Sus interacciones, en algunos casos, interrumpen el proceso meiótico haciendo inviables ciertos reordenamientos cromosómicos. En otros casos, esas mismas interacciones garantizan la viabilidad de reordenamiento producido. Finalmente, en algunas situaciones especiales, tales interacciones participan activamente en la promoción de un determinado reordenamiento y eventualmente incentivan una distribución meiótica direccional (4). El análisis del comportamiento de estas estructuras en la profase de la meiosis permite postular mecanismos para explicar la divergencia gradual de los cariotipos y entender, a nivel celular, los mecanismos que actuarían en la transiliencia cromosómica y en la ortodireccionalidad (ortoselección) de reordenamientos cromosómicos.

El análisis citogenético-evolutivo que interpreta, por ejemplo, los cambios cromosómicos robertsonianos, sólo en función de una ganancia o pérdida de telómeros y centrómeros, debería tener en cuenta que ello no constituye una explicación del reordenamiento cromosómico producido,

sino, más bien, un balance consistente con los resultados finales. Antes que centrómeros y telómeros desaparezcan o se transformen, necesariamente debieron haber cambiado las condiciones y restricciones meióticas, tales como organización del CS e inserciones en la envoltura nuclear, que permitieron que el reordenamiento se estableciera con la participación activa de dichos dominios cromosómicos. (Financiado por el Proyecto DIB. N° B-1977-8523, U. de Chile).

REFERENCIAS

1. VON WETTSTEIN, D.; RASMUSSEN, S.W. and HOLM, P.B. (1984). The synaptonemal complex in genetic segregation. *Ann. Rev. Genet.* 18: 331-413.
2. MOSES, M.J.; DRESSER, M.E. and POORMAN, P.A. (1984). Composition and role of the synaptonemal complex. *Society for Experimental Biology.* 38: 245-292.
3. FERNANDEZ-DONOSO, R. (1982). Asociaciones cromosómicas en el núcleo de los meióticos y reordenamientos cromosómicos. *Actas V. Congr. Latinoam. Genética*, pp. 105-114.
4. FERNANDEZ-DONOSO, R. y BERRIOS, S. (1985). La arquitectura nuclear y su injerencia en la variabilidad del cariotipo. En: *El núcleo, los cromosomas y la evolución*, pp. 63-122, UNESCO.

LOS CROMOSOMAS SEXUALES EN VERTEBRADOS. (The sex chromosomes in vertebrates).

Iturra, P. Unidad de Biología de Vertebrados, Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Los cromosomas sexuales están causalmente relacionados con la determinación del sexo. El par sexual es generalmente heteromórfico en uno de los sexos (mamíferos y aves). En peces, anfibios y reptiles sólo algunas especies presentan cromosomas sexuales identificables citológicamente.

Dos etapas esenciales se consideran en la diferenciación de los heterocromosomas: 1) acumulación de genes determinantes del sexo heterogamético en un componente de un par de autosomas isomórficos, y 2) restricción de la recombinación genética en este par durante la meiosis.

Para explicar la iniciación de la diferenciación del par sexual hay dos hipótesis principales: a) inversión pericéntrica y pos-

terior diferenciación estructural del cromosoma Y o W, y b) heterocromatinización del Y o W que se evidencia por bandeo C (heterocromatina constitutiva) y cuya base molecular es la presencia de un DNA satélite (Bkm) sexo específico. Los cambios morfológicos del Y o W serían posteriores a este proceso. La restricción de la recombinación genética del par sexual se debería al reordenamiento cromosómico en la primera hipótesis y a una asincronía en la replicación, en la segunda.

En mamíferos, la diferenciación del par sexual está bien establecida. El cromosoma X exhibe una gran homología entre las diferentes especies, en tanto el Y es variable y generalmente presenta heterocromatina constitutiva. Como característica particular, la cromatina del X es facultativa.

En anfibios y reptiles se reconocen estados "iniciales" de diferenciación de los cromosomas sexuales. Esto hace posible reconstruir, en algunos grupos, la secuencia de cambios que han conducido al establecimiento del par sexual, recurriendo a las hipótesis propuestas.

Los modelos que dan cuenta de la diferenciación de los cromosomas sexuales y consiguiente restricción de la recombinación genética son insuficientes para explicar los cambios genéticos que subyacen a la diferenciación morfológica. Avances recientes en estudios a nivel molecular muestran que, a la búsqueda de los determinantes sexuales en los heterocromosomas de los vertebrados, es necesario agregar la participación del DNA que no codifica y el posible rol de los elementos transponibles en la determinación del sexo. (Proyecto N° 2209-8512, DIB, Universidad de Chile).

VARIACION CROMOSOMICA Y ESPECIACION EN *LIOLAEMUS* (IGUANIDAE).

Lambrot, Madeleine, Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Casilla 653, Santiago, Chile.

En general, los 60 géneros de la familia Iguanidae presentan cariotipos conservativos con una dotación diploide de 12 ma-

crocromosomas y 22 ó 24 microcromosomas, fórmula considerada como primitiva.

Sólo los tres géneros que poseen un gran número de especies, son los que concentran la mayor variabilidad cromosómica de la familia, a saber: *Sceloporus* (más de 70), *Anolis* (sólo *Anolis* tropicales con más de 200 especies) y *Liolaemus* (aproximadamente 80).

Este hecho ha sugerido una posible relación funcional entre el establecimiento de diferencias cromosómicas interespecíficas y la proliferación de especies.

En *Liolaemus* algunas especies incrementan el número diploide por cambios cromosómicos como fisiones céntricas, aumento de microcromosomas, triploidía y otros. En particular, resulta elocuente la situación de *L. monticola*, especie que presenta una serie de formas cromosómicas inter e intrapoblacionales de complejidad creciente de sur a norte, las que, en algunas instancias, están segregadas por barreras biogeográficas.

En *L. monticola*, al igual que otras especies en estudio, pareciera que la diferenciación y especiación cromosómica se inicia por un proceso en cascada, el que a su vez amplifica la probabilidad que especies derivadas den, a su vez, origen a nuevas especies aún más derivadas.

Estos y otros antecedentes permiten poner a prueba algunas predicciones teóricas sobre el rol de los cromosomas en la especiación de estos grupos.

Al parecer, en algunas instancias en la historia de los iguánidos parece probable que los cambios cromosómicos han promovido una especiación prolifera y rápida, ya sea por poliploidía, por formación de cromosomas sexuales, por reordenamientos robertsonianos y otros. Sin embargo, este no es el único modo de especiación; la posibilidad de la existencia de barreras biogeográficas como para *L. monticola* o barreras vegetacionales, producto de la alternancia de períodos secos y húmedos dejando refugios vegetacionales como *Pristidactylus* asociado a bosques de *Notophagus* en Chile y otros ejemplos, nos proporcionan una gran gama de situaciones en las que es posible combinar más de un modo de especiación.

Es importante también recalcar que el patrón de variabilidad cromosómica encontrada en *Liolaemus* es similar al patrón de variabilidad cromosómica encontrada en géneros muy diferentes de iguánidos como *Anolis* y *Sceloporus*, lo que nos inclina a pensar que han y están evolucionando bajo el control genético de circunstancias evolutivas similares, ya sea por características intrínsecas propias de la especie como la arquitectura cromosómica misma, la que puede absorber los cambios producidos, o por genes especiales o, incluso, por la propiedad de elementos genéticos transponibles que den cuenta de eventos macromutacionales de gran importancia evolutiva. (Financiado parcialmente por Proyectos DIB B2007-8524 y Proyecto 1095/1984).

PREDICCIONES DE UN MODELO DE EVOLUCION CROMOSOMICA. (Predictions of a model for chromosome evolution).

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

Uno de los factores más importantes del valor predictivo de un modelo para la evolución cromosómica es su adecuación y consideración de las propiedades demostradas del material hereditario y del ambiente inmediato y mediato en el cual se desenvuelve (cromosomas, núcleo y citoplasma). En los reordenamientos cromosómicos (RC) cabe considerar: 1) La linealidad y sentido 3'-5' del ADN; 2) Las estructuras secundarias, terciarias y empaquetamiento del ADN con proteínas; 3) La distribución de bases púricas y pirimídicas; 4) La distribución de genes transcriptibles; 5) La distribución de segmentos cromosómicos notables como los centrómeros, telómeros, NORes, heterocromatinas y segmentos de ADN de diferente repetitividad; 6) La funcionalidad de los distintos segmentos cromosómicos; 7) Las propiedades del ADN para la duplicación, como es la distribución y funcionalidad de los replicones; 8) Las propiedades interactivas entre el cromosoma, el ambiente nuclear y citoplasmático que posibilitan el ciclo celular manteniendo

viva a la célula; 9) Las propiedades interactivas nucleocitoplasmáticas que posibilitan los fenómenos de sexualidad; 10) Los estados haplo-diploides y sus interacciones cromosómicas; 11) La difusión de RC en las poblaciones y sus condiciones de restricción y posibilidad.

Se ha postulado un modelo de evolución cromosómica por RC binarios del que pueden desprenderse numerosas predicciones, considerando las propiedades antes mencionadas. El modelo supone que los RC ocurren al azar y necesitan de un encuentro de segmentos cariotípicos de roturas cromosómicas y de soldaduras que dejan a los nucleótidos en secuencias distintas a las originarias. Entre estas predicciones se tiene: I) En su origen los RC alternativos ocurren en igual proporción, por ejemplo, cromosomas dicéntricos y translocaciones recíprocas, inversiones y anillos. II) Las diferencias entre lo esperado en I y lo observado se debe a la viabilidad de las células con los distintos RC. III) La distribución de nucleótidos en los cromosomas sigue la estadística de Bose-Einstein y el índice centromérico se aproxima a 1/4. IV) Cualquier cariotipo o historia cariotípica puede repetirse en la evolución. V) Los cromosomas pequeños son más estables. VI) Las inversiones para y pericentroméricas están en relación a la ubicación del centrómero. VII) La proporción inversiones/translocaciones es inversamente proporcional al número de cromosomas. VIII) Los cromosomas telocéntricos son terminales, desde un punto de vista cromosómico. IX) La probabilidad de sufrir RCs cambia con la ploidia celular.

ESTRUCTURA POBLACIONAL, CAMBIOS CROMOSOMICOS Y DIFERENCIACION MORFOLOGICA. (Population structure, chromosomal rearrangements and morphological differentiation).

Gallardo, M. H. Instituto de Ecología y Evolución, Universidad Austral de Chile.

Los reordenamientos cromosómicos requieren de factores endógenos específicos que posibiliten su producción en la línea germinal. Una vez producido el reordenamiento, éste puede conducir a especiación a

través de aislamiento reproductivo causado por esterilidad híbrida o a polimorfismos adaptativos locales por reorganización de nuevos supergenes coadaptados. La factibilidad de fijación de un reordenamiento en las poblaciones naturales depende de factores exógenos como la forma de vida, estructura poblacional y biogeografía histórica.

La diversificación cromosómica que caracteriza a los roedores subterráneos los ha convertido en paradigma de fragmentación poblacional favoreciente de cambios cromosómicos, tanto fijados y coincidentes con el proceso de especiación (*Ctenomys*, *Spalax*) como flotantes (*Thomomys bottae*).

En *Ctenomys*, un herbívoro subterráneo estricto, el tamaño poblacional pequeño, vagilidad restringida, alta territorialidad y fragmentación démica por discontinuidades del hábitat conforman un síndrome biológico que al restringir el flujo génico facilita el establecimiento de los reordenamientos.

Geoxus, un subterráneo facultativo, insectívoro, sin territorialidad marcada y altamente vágil, no ofrece condiciones aptas para la fijación de reordenamientos, siendo cromosómicamente monomórfico.

Oryzomys longicaudatus es epigeico y con distribución en todo Chile. Se reconocen tres subespecies en base a diferencias morfológicas sutiles. Es un generalista ecológico que, poblacionalmente, tiene ámbitos de hogar extensos, cuyos residentes son esporádicos y altamente migratorios. No presentan variación cromosómica intra ni interpoblacional, excepto en el extremo sur, en donde se ha diferenciado por un proceso robertsoniano fijado. Considerando el alto flujo génico en *Oryzomys*, la fijación pudo haberse visto facilitada por los episodios de glaciación que afectaron a esa zona. Estas fluctuaciones ambientales habían ocasionado extinciones locales, fragmentando la distribución y facilitando la fijación de cambio en demos aislados.

La suposición que el cambio cariotípico en las especies pueda facilitar el proceso de divergencia adaptativa es intuitivamente atractivo, debido a que la función génica puede ser alterada por cambios de posición o porque el cariotipo es en sí adaptivo. Sin embargo, las especies cromosómicas crípticas, muchas de las cuales involucran reor-

ganización sustancial del cariotipo, muestran que los reordenamientos citológicos no tienen ningún efecto discernible sobre el fenotipo. Por lo tanto, la divergencia morfológica no es una consecuencia general del

cambio cariotípico. (Financiado por Proyectos RS 83-03, Dirección de Investigación y Desarrollo, Universidad Austral de Chile y Fondo Nacional de Ciencias 1235/84).

Simposio

VARIACION GENETICA EN POBLACIONES NATURALES

RELACIONES EVOLUTIVAS ENTRE LAS GRANDES SUBDIVISIONES HUMANAS. (Evolutionary relationships between the major human subdivisions). *Rothhammer, F.* Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Durante los últimos años varios genetistas se involucraron en una controversia en torno a la presunta diferencia o semejanza entre las grandes divisiones humanas definidas de acuerdo a criterios antropológico-físicos. Desafortunadamente, este problema genético-poblacional, que tiene importantes implicaciones evolutivas (y sociopolíticas), ha sido visualizado frecuentemente a través de lentes ideológicamente teñidas y abordado, consecuentemente, en forma sesgada. El propósito de esta ponencia es examinar la evidencia genética disponible y, en lo posible, consciente de los factores de sesgo, proporcionar una respuesta satisfactoria al problema enunciado como también discutir las implicaciones evolutivas de éste, en especial aquellas que guardan relación con la mantención de variación genética en poblaciones humanas. (Financiado parcialmente a través del Proyecto B-1891-8415, DIB, Universidad de Chile).

LA PERSISTENCIA DE LA VARIABILIDAD EN LAS POBLACIONES. (The persistence of variability within populations).

Brncić, D. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La compleja organización estructural del ADN y de los cromosomas implica que todas las modificaciones, que pueden ocurrir en el material genético, estén limitadas a las posibilidades impuestas por la rigidez del sistema. Esto se traduce en que el número de cambios que es posible detectar sea muy bajo. Por otra parte, la organización compleja constituye un mecanismo para evadir la expresión fenotípica de los cambios producidos. En consecuencia, éstos tienden a acumularse en las poblaciones.

Los mecanismos que preservan la variabilidad genética en las poblaciones y que permiten evitar las presiones selectivas, están basados en la forma como los genes se transmiten, se expresan e interactúan entre sí. Entre ellos 1) La supresión fenotípica (recesividad, penetración y expresividad incompleta, epistasia); 2) Mecanismos citogenéticos (desequilibrio de ligamento, deriva meiótica); 3) Superioridad selectiva de los heterocigotos (heterosis, control alostérico de las enzimas, equilibrios poligenéticos); 4) Mecanismos ecológicos (ineficiencia de la selección); 5) Cambios temporales o espaciales de las presiones selectivas (fluctuaciones estacionales, mosaicismo espacial, efecto "Ludwig", heterogamia, heteroestilia); 6) Ventajas del genotipo minoritario (selección dependiente de la frecuencia); 7) Selección dependiente de la densidad.

En resumen, la eliminación o persistencia de la variabilidad genética en las poblaciones depende de factores direccionales y estocásticos (selección y oscilación genética) y no constituye un proceso simple, automático, fácil de calificar y de predecir, debido a la organización del material genético.

MODELOS DE EVOLUCION FILETICA GRADUAL Y DE EQUILIBRIO PUN- TUADO: ¿ALTERNATIVOS O COM- PLEMENTARIOS? (Models of evolution by phyletic gradualism and punctuated equilibrium: Alternatives or comple- ments?).

Spotorno, A. E. Depto. Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

“La clásica visión de la especiación sostiene que ésta es un proceso microevolutivo gradual” (Carson, 1975): la evolución es controlada por selección conducente a adaptación. En este modo de evolución filética, grandes diferencias morfológicas se interpretan como un producto de cambios genéticos graduales y lentos. En contraste, el modelo de equilibrio punteado sostiene que tales diferencias se producen en episodios rápidos de especiación seguidos por estasis morfológica.

Dos casos de grupos monofiléticos se discutirán, comparando la variación genética y morfológica: 1) Los póngidos están bien separados fenéticamente de *Homo* (i.e., elongación del rostro); sin embargo, los datos electroforéticos (O'Brien *et al.*, 1985), inmunológicos, de DNAm y cromosómicos (Spotorno, 1985) indican que la línea homínida se origina entre los nodos de *Pongo* y de *Gorilla-Pan* (0,28 unidades Nei entre éstos y *Homo*). 2) Entre los roedores del género *Akodon*, *A. longipilis* difiere drásticamente de sus congéneres: el retardo en la osificación neonatal del báculo y su simplificación, el aumento de glándulas accesorias, tamaño corporal y longevidad, y la disminución del tamaño de las camadas y del dimorfismo sexual señalan un desplazamiento hacia una estrategia

K. Sin embargo, el análisis de las frecuencias génicas de 30 loci enzimáticos (electroforesis de muestras de hígado y riñón de 16 poblaciones de 5 géneros y 9 especies akodontinas con *Oryzomys* como extra-grupo) separa a *A. longipilis* y *sanborni* por 0,40 unidades Nei del resto de *Akodon*, cifra similar a las de poblaciones de *Oryzomys*. En ambos casos, las especies presentan: a) pequeñas divergencias fenéticas y genéticas intraespecíficas; b) grandes cambios morfológicos correlacionados con cambios cromosómicos (*Homo-Pongidae* y subgéneros de *Akodon*) o no (subgénero *Abrothrix*).

La evolución de los homínidos fósiles aparece como filética (sucesión de cronoespecies con cambio gradual y continuo) pero también es consistente con un modelo punteado (por extinción de líneas laterales y estasis); en cualquier caso, hay drástica divergencia morfológica por fijación de caracteres ontogenéticos tempranos (neotenia), aunque el factor inmediato de la heterocronía en el desarrollo es desconocido. En el caso de *Akodon*, la reciente separación de *longipilis-sanborni* sugiere un cambio relativamente rápido, probablemente producido por una modificación simple de la cronología hormonal neonatal, con efectos morfológicos en cascada, probablemente seleccionada por factores ecológico-reproductivos.

Así, ambos modelos de evolución parecen operar a distintos niveles de la jerarquía biológica natural, y los resultados de la evolución dependen tanto de factores internos (sistemas genéticos, y particularmente epigenéticos, éstos usualmente subestimados) como de factores ecológicos. (Proyecto B-1979-8523, DIB, Universidad de Chile, y Beca PNUD, UNESCO, CHI-84/003).

Simposio

BIOLOGIA Y GENETICA MOLECULAR

VARIANTES DE HISTONAS EN *T. CRUZI*. (Histone variants in *T. cruzi*).
Cecilia Toro y Norbel Galanti, Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago.

Trypanosoma cruzi es un protozoo hemo-flagelado perteneciente al Orden Kinetoplastida, que produce la enfermedad de Chagas.

Este parásito constituye probablemente uno de los sistemas más complejos de diferenciación en un eucarionte unicelular. Presenta 3 fenotipos durante su ciclo de vida, dependiendo del medio en que se encuentra: esferomastigotes o amastigotes, epimastigotes y tripomastigotes. Los esferomastigotes constituyen la forma replicativa intracelular, sin flagelo evidente al microscopio de luz. Los epimastigotes son formas con flagelo evidente, que se encuentra y multiplica en el tracto digestivo del vector *Triatoma infestans* (vinchuca). Los tripomastigotes corresponden a la forma flagelada no proliferante, que se encuentra tanto en orina y heces de la vinchuca como en la sangre periférica de los hospedadores infectados.

Por otra parte, la división celular de *T. cruzi* presenta características peculiares. Así, su cromatina no se condensa en cromosomas sino en 10 placas densas. La envoltura nuclear permanece intacta durante la división, presentando huso mitótico intranuclear. No hay evidencia experimental que demuestre algún tipo de proceso sexual durante el ciclo de vida del parásito. Sin embargo, antes de la división celular, éste debe necesariamente replicar su material genético. Esto es, *T. cruzi* debe presentar intervalos en su ciclo de proliferación celular, correspondientes a los definidos para eucariontes superiores (G_1 , S, G_2 y M).

Tanto los cambios gruesos de forma que presenta *T. cruzi* en diferentes ambientes como los diferentes períodos de su ciclo proliferativo deben estar acompañados por activación y represión adaptativa de sus vías metabólicas y correlacionados con cambios en la expresión génica. Dentro de este contexto, este trabajo se ha centrado en el análisis de las histonas y sus variantes, moléculas que, por su importancia en la determinación de la estructura de la cromatina, podrían estar involucradas en la diversificación no sólo de su estructura sino también de su función.

Las histonas son proteínas de bajo peso molecular, ricas en arginina y lisina y que carecen de triptófano. Cuatro de ellas (H_2A , H_2B , H_3 y H_4) se unen entre sí, y al DNA nuclear, formando nucleosomas, componentes fundamentales en la organización de la cromatina en eucariontes y en ciertos virus. Una quinta histona (H_1) se ubica entre los nucleosomas, contribuyendo, a través de sus interacciones y modificaciones, en la dinámica de los diferentes estados de compactación de la cromatina.

Se extrajeron histonas a partir de cromatina de *T. cruzi* cepa Tulahuén, en presencia de inhibidores de proteasas. Las histonas se caracterizaron por espectrofluorometría y por su composición de aminoácidos. Posteriormente, se analizaron en geles de poliacrilamida en una y en dos dimensiones. Se demostró ausencia del triptófano y alto contenido de aminoácidos básicos, lo que confirma que las proteínas obtenidas son histonas. En geles en una dimensión se encontraron 6 histonas, una de ellas con alta movilidad electroforética. En dos dimensiones, se encontraron variantes de las familias de histonas.

Estos resultados permitirán establecer relaciones entre presencia de determinadas variantes de histonas y los procesos de diferenciación, proliferación, o ambos, de *T. cruzi*. (Proyecto 1088, Fondo Nacional de Ciencias y UNDP/WP/WHO-TDR).

EXPRESION DE DIFERENTES GRUPOS DE GENES PARA HISTONAS DURANTE EL DESARROLLO EMBRIONARIO PRECOZ DE ERIZOS DE MAR. (Differential expression of histone genes during early development of sea urchins). *María Imschenetzky, Marcia Puchi y Rina Massone*, Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

La información existente hasta la fecha indica que la cromatina de eucariontes está organizada en corpúsculos nucleosomales, formados por un octámero de histonas ($2H_2A: 2H_2B$ y $2H_3: 2H_4$), rodeados por 146 pb de ADN. En las regiones de ADN internucleosomales se encuentra localizada la histona H_1 , interaccionando con el octámero de histonas y con el ADN.

Históricamente, las histonas han sido consideradas como proteínas altamente conservadas a través de la escala evolutiva, en particular las fracciones H_3 y H_4 . Sin embargo, durante el último decenio ha sido claramente demostrado que diferentes familias de genes para histonas son secuencialmente expresadas durante el desarrollo embrionario precoz de erizos de mar.

Las histonas presentes en gametos masculinos difieren de las presentes en gametos femeninos, en sus perfiles electroforéticos y en su composición en aminoácidos. Postfecundación las histonas espermáticas desaparecen en la cromatina siendo reemplazadas por variantes muy tempranas (tipo CS) tanto preexistentes en el ovocito como neosintetizadas durante los cuatro primeros ciclos de segmentación del embrión. La organización de los genes que codifican para las variantes de histonas particulares de los estados de segmentación, tipo CS, es hasta la fecha desconocida.

Entre la etapa de 16 blastómeros y la eclosión de las larvas, las histonas tempranas (variantes tipo α) se transforman en los constituyentes principales de la cromatina del embrión. El complemento de va-

riantes de tipo están codificadas en agrupaciones ordenadas de genes altamente repetitivos.

Posteriormente, a la etapa de eclosión se activa un conjunto de genes que codifica para histonas tardías (variantes de tipo $\beta, \gamma, \delta, \epsilon$). Estas predominan en la cromatina de los estados de gástrula, prisma y larva pluteus, prevaleciendo, además, en larvas tardías las histonas tempranas (tipo α) y las variantes particulares de los estados de segmentación (tipo CS). A diferencia de los genes que codifican para las histonas tempranas, los genes correspondientes a las histonas tardías se encuentran dispersos en el genoma de erizos de mar, habiéndose detectado, a la fecha, entre 8 y 12 copias de ellos por genoma.

Se postula que la expresión de estas tres familias de genes para histonas: las muy tempranas de tipo CS; las tempranas de tipo α y las tardías de tipo β, γ, δ y ϵ , trae como consecuencia la formación de corpúsculos de cromatina diferentes entre sí, condicionados por las interacciones de cada familia de variantes de histonas entre sí y con el ADN.

Hasta la fecha se ha logrado obtener la identificación molecular de variantes de histonas presentes de cromatina de gametos masculinos; las presentes en embriones al comienzo del desarrollo embrionario (tipo CS) y de las predominantes en larvas pluteus. Los resultados obtenidos indican claramente que las tres familias de histonas analizadas difieren entre sí en cuanto a su movilidad electroforética, su microheterogeneidad y su composición aminoacídica. Resalta especialmente la detección de siete fracciones proteicas, mayoritariamente de tipo CS, que difieren notablemente de histonas típicas en su composición aminoacídica.

Estos resultados sugieren la existencia de partículas nucleoproteicas diferentes de nucleosomas en embriones al comienzo del desarrollo embrionario. (Financiado por la Dirección de Investigación de la Universidad de Concepción. Proyectos: 20.31.02; 20.31.06).

ACTIVIDAD GENICA MITOCONDRIAL DURANTE ADAPTACION A BAJAS TEMPERATURAS. (Mitochondrial gene activity during low temperature adaptation).

Manuel Krauskopf, Alejandro Araya, Gloria León, Rodolfo Amthauer, Julieta Villanueva, M. Inés Vera y Oscar Goicoechea**.* Instituto de Bioquímica e Instituto de Embriología**, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Los peces euritermales, expuestos a los ciclos estacionales con sus variaciones naturales de temperatura, pueden mantener sus funciones vitales a través de variados mecanismos fisiológicos y bioquímicos. Al respecto, hemos postulado que la expresión génica diferencial constituiría una de las estrategias adaptativas que conforman la respuesta compensatoria a nivel molecular.

Para obtener información que permita verificar nuestra hipótesis, hemos estudiado aspectos celulares y moleculares asociados a expresión génica en hígado de carpa (*Cyprinus carpio*), observando que la aclimatación estacional genera profundas disimilitudes. Estas comprometerían tanto la actividad nuclear como la citoplasmática. En relación a la última, mitocondriogénesis ocurre aparentemente con la elevación de la temperatura ambiental y cuando peces de invierno son tratados con insulina, lo que remedia celularmente la situación que se observa en verano.

Con el objeto de estudiar la expresión génica mitocondrial durante la respuesta compensatoria, a cambios de temperatura, se procedió a aislar y clonar el genoma correspondiente, y contar con sondas adecuadas que permitan distinguir la actividad del mtDNA, tanto en invierno como en verano.

Se aisló mtDNA de oocitos de *C. carpio*, se dirigió con endonucleasa de restricción Bam H1 y los tres fragmentos obtenidos se ligaron a pBR325 previamente linearizado con la misma enzima. El producto se usó para transformar *E. coli* HB101. Tres clones, pMC5, pMC11 y pMC13 contenían, en su conjunto, el total del mtDNA

del pez. Para identificar la organización genómica, se establecieron los mapas de restricción de los tres clones y, posteriormente, se localizaron los genes estructurales por Southern blots (usando sondas de mtDNA de rata) y determinando la secuencia nucleotídica de varios fragmentos por el método de Maxam y Gilbert. Estas últimas se compararon con el mtDNA humano, localizando computacionalmente las regiones de mayor homología.

En la carpa existen tres tipos de fibras musculares segregadas anatómicamente. Informes recientes revelan que carpas aclimatadas artificialmente a frío reclutan su actividad motora usando el músculo rosado y rojo, los que se relacionan al metabolismo energético aeróbico. Otros autores han determinado estereológicamente que en músculo de *Carassius auratus* existen diferencias cuantitativas en las mitocondrias y que en frío habría, en general, un incremento de ellas. Esto contrasta con nuestros hallazgos en hígado, lo que sugiere que la respuesta a frío es más compleja y probablemente específica de tejido, además de insinuar la posible mediación de factores humorales.

Para estudiar estos aspectos a nivel molecular, estamos aislando mitocondrias de los distintos tejidos musculares de *C. carpio* y del hígado obtenidos de ambas estaciones, y analizando la expresión génica usando los clones pMC5, pMC11 y pMC13 como sondas y el método de hibridación *in situ*. (Financiado por Dirección de Investigación y Desarrollo, UACH, N° RS-82-21 y RS-83-52 y FONDECYT N° 1042/85).

ESTUDIO DEL SIGNIFICADO DE LAS VARIACIONES ELECTROFORETICAS DEL GENOMIO DE ROTAVIRUS HUMANO. (Study on the electrophoretic variation of human rotavirus genome). *Spencer, E.; Sandino, A. M. y Said, A.* Laboratorio de Virología, INTA, Universidad de Chile.

El rotavirus humano es el agente etiológico más común de las diarreas agudas en niños menores de 2 años en nuestro país. Este agente también se encuentra asociado a

* Dirección actual: Institut de Biologie Cellulaire et Neurochimie (CNRS), Bordeaux, Francia.

diarreas en animales, tales como bovinos, porcinos, ovinos, etc. El genomio del rotavirus está formado por 11 segmentos de RNA de doble hebra, los cuales presentan un patrón electroforético característico. Sin embargo, cuando el RNA genómico de diferentes aislados virales se someten a electroforesis en geles, se detectan variaciones en la movilidad de la mayoría de los segmentos de RNA, por lo que se ha llevado a definirlos como electroferotipos. Mediante hibridación del RNA genómico desnaturado con mRNA, sintetizado *in vitro* por la RNA polimerasa viral, ha sido posible observar que las variaciones electroforéticas corresponderían a variaciones en las secuencias ya sea del RNA genómico o del mRNA. En un intento por relacionar electroferotipo con tipo antigénico se ha encontrado que entre los rotavirus humanos aquellos con patrón "largo" por la mayor movilidad de los segmentos 10 y 11 son antigénicamente distintos de aquellos con patrón "corto". Con el fin de conocer más acerca de la relación que hay entre las variaciones electroforéticas y las variaciones antigénicas, se purificaron aislados virales "largos" y "cortos" y se modificaron estructuralmente los viriones obteniéndose subpartículas virales que poseen distintas capacidades en cuanto a transcripción *in vitro*. Se utilizaron estas subpartículas virales y las proteínas estructurales antigénicamente distintas con el fin de analizar el rol funcional de las variantes. (Financiado por Proyecto DIB. B 2175 8514 de la Universidad de Chile).

PIRUVATO QUINASA DE LEVADURA: ESTUDIOS DEL SITIO ACTIVO MEDIANTE MUTAGENESIS SITIO-ESPECÍFICA. (Yeast pyruvate kinase: Studies on the active site by site-directed specific mutagenesis).

Alejandro Venegas, Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago.

La piruvato quinasa cataliza la conversión de fosfoenol-piruvato en piruvato, produciendo energía metabólica en forma de

ATP. Dada la importancia de la reacción en la vía glicolítica y las propiedades regulatorias de la enzima, varios estudios se han dirigido para analizar el mecanismo catalítico y el rol de esta proteína en la modulación del metabolismo glucídico. Se ha logrado un gran avance con el clonamiento molecular de los genes de piruvato quinasa de levadura (yPYK) y de músculo de pollo. La comparación de la estructura primaria de yPYK con secuencias de la enzima de otras fuentes (músculo de pollo y bovino) y resultados de estudios de modificación química han sugerido la posible participación de algunos aminoácidos en el sitio activo, como son: Asp⁸⁴, Cys³²⁸ y Lys³³⁷.

En esta comunicación se explora el rol en el sitio activo de estos aminoácidos mediante mutagénesis sitio-específica. Se ha clonado en fago M13mp11 un fragmento XbaI-EcoRI del gen de yPYK que contiene la codificación de todos los aminoácidos a reemplazar. Mediante técnicas establecidas se ha obtenido DNA de hebra simple de este recombinante (M13 yPYK). Paralelamente, se ha sintetizado un soporte sólido, un conjunto de oligonucleótidos. Estos son complementarios a la región del gen, excepto por los cambios de base que implican el reemplazo de los aminoácidos ya mencionados por los deseados. Las mutaciones *in vitro* fueron corroboradas mediante secuenciación del DNA. Sucesivos pasos permitieron reconstruir los genes mutados de yPYK e introducirlos en un vector de expresión en levaduras (YE_p24). Se transformó una cepa de *Saccharomyces cerevisiae* deficiente en yPYK. Los transformantes obtenidos expresan los genes mutados de yPYK, como lo demuestra la aparición de una banda proteica correspondiente a yPYK analizada en PAGE-SDS e identificada por anticuerpos mediante transferencia Western y por ensayos de actividad enzimática.

Resultados preliminares de actividad enzimática en extractos de mutantes en que Lys³³⁷ ha sido reemplazada por Glu o Leu indican una reducción a un 35 y a un 16%, respectivamente. Esto sugiere que, si bien Lys³³⁷ es importante para la función catalítica, no es un residuo absolutamente esencial. Un reemplazo de Asp⁴⁴ por Lys redu-

ce la actividad a un 30% y el reemplazo de Cys³²⁸ por Ser, a un 83%.

Experimentos cinéticos más detallados con las enzimas mutadas y purificadas es-

tán en curso para, finalmente, comprender el rol de estos aminoácidos en la catálisis. (Financiado por Proyecto DIUC. 66/84, Universidad Católica y PNUD/Unesco).

CROMOSOMA X ISODICENTRICO: ORIGEN Y COMPORTAMIENTO (Isodicentric X Chromosome: Origen and Behavior) Be, C y Youlton, R. Servicio de Genética Dept. de Medicina Hospital Clínico Universidad de Chile.

Las anomalías estructurales del cromosoma X son un hallazgo frecuente en pacientes con disgenesia gonadal. Se presenta el caso de una mujer de 26 años referida para estudio cromosómico por presentar amenorrea primaria y gonadotrofinas elevadas. Es obesa y de baja estatura con algunos estigmas físicos sugerentes de Síndrome de Turner.

El estudio citogenético de la paciente mostró en el 86% de las células un cromosoma X normal y un iso X dicéntrico con uno de los centrómeros no funcional. La otra línea celular presentó una monosomía X. Su cariotipo es mos 45,X/46,X, idic (X) (pter→q24::q24→pter) La cromatina de Barr fué 27% positiva, aparentemente de mayor tamaño. El estudio cromosómico de ambos padres fué normal.

Se discute: 1) los posibles mecanismos de la producción de un cromosoma dicéntrico y de la génesis del mosaicismo en esta paciente y 2) los posibles mecanismos de inactivación del segundo centrómero.

ETNIA Y DIMORFISMO SEXUAL EN LA FISURA LABIOPALATINA. (Ethnicity and sexual dimorphism in the cleft lip and/or cleft palate). Blanco, R. y Rosales, C.M. Depto. Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Las fisuras labiopalatinas constituyen uno de los grupos de malformaciones congénitas de alta incidencia en el hombre (85%). Se sostiene que su etiología es de origen multifactorial con un componente poligénico aditivo con umbral de expresión, en el caso de aquellas fisuras que se presentan como malformación única no asociada a síndrome. En el presente análisis se recopiló de la literatura la información pertinente de un total de 48 poblaciones distribuidas en los cinco continentes a las cuales se clasificó además según origen étnico.

Los resultados indican que al comparar ubicación geográfica, dimorfismo sexual y etnicidad usando el test de Z de proporciones, los valores de incidencia aparecen asociados más a etnia que a situación medioambiental (ubicación geográfica) y que la proporción de individuos afectados según sexo entrega razones relativamente constantes e independientes del valor de incidencia. De esto se puede concluir que el componente genético involucrado en la etiología de esta malformación posee dos elementos principales, uno asociado a la herencia autosómica que explicaría las diferencias étnicas y otro asociado a los cromosomas sexuales que se reflejaría en la relativa constancia de la proporción de individuos afectados según sexo.

Proyecto M-2188-8515, D.I.B., U. de Chile.

EVOLUCION DEL DOMINIO NUCLEOLAR DURANTE LA PROFASE MEIOTICA DE ESPERMATOCITOS HUMANOS. (Nucleolar Domain evolution during meiotic prophase of human spermatocytes). Berríos, S. y Fernández-Donoso R. Unidad de Citogenética, Depto. Biol. Cel. y Gen., Fac. Med., U. de Chile, Casilla 70061, Santiago 7, Chile.

En la profase meiótica de los espermatoцитos humanos, el Dominio Nucleolar aparece compuesto por el brazo corto de uno o más bivalentes nucleolares y por fibrillas y gránulos de RNP que permanecen unidos a la cromatina organizadora del nucléolo (NOR).

La cantidad y distribución de fibrillas y gránulos varían en el transcurso de la profase. En el Leptoteno-Zigoteno en torno a un centro fibrilar (FC) pequeño y localizado junto a la envoltura nuclear aparecen sólo fibrillas. Luego, éstas aumentan en cantidad ampliando su distribución hacia el centro del núcleo. En el Paquiteno temprano surgen acúmulos de gránulos que se relacionan con el FC sólo a través de un puente de fibrillas. En el Paquiteno medio el material nucleolar está mayoritariamente compuesto por gránulos agregados en una esfera conectada directamente con el FC y por ende de localización periférica en el núcleo. Al término de la profase ocurren: la condensación de la cromatina de los bivalentes y el desprendimiento de la esfera de gránulos, junto con el FC del NOR en progresiva desintegración.

Considerando esta secuencia de eventos y otras semejantes observadas en espermatoцитos de distintos mamíferos, se propone un modelo estructural y funcional para el comportamiento de la cromatina NOR durante la transcripción del rRNA en el Dominio Nucleolar del espermatoцитo en profase meiótica.

Proyecto B-1977-8523, D.I.B., U. de Chile.

ASIMETRIA DEL DIAMETRO MESIO-DISTAL Y BUCCO-LINGUAL EN PACIENTES PORTADORES DE LABIO LEPORINO Y/O FISURA VELOPALATINA. (Meso-distal and bucco-lingual dental asymmetry in patients with cleft lip and/or palate). Blanco, R., Vera, S. y Llop, R. Depto. Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Diversos autores han comunicado que el tamaño de la dentición permanente es menor en individuos fisurados en relación al tamaño promedio encontrado en individuos normales.

En el presente estudio se analizó una muestra de 118 casos de pacientes fisurados cuyas edades fluctúan entre 7 y 14 años, considerando sólo piezas permanentes, determinando el diámetro mesio-distal y bucco-lingual a la décima de milímetro.

La asimetría promedio era más evidente en las piezas dentarias adyacentes a la fisura, aunque no se circunscribía sólo a aquellas, sino que se hacía extensiva a todo el maxilar e incluso a la mandíbula, por lo que razonablemente no se puede pensar que estas variaciones del diámetro dentario puedan ser sólo consecuencia directa de la persistencia de la fisura, sino de una alteración mesenquimática presente en toda la zona maxilar y mandibular, como una alteración común previa al momento de la fusión de los procesos maxilares.

El estudio demuestra que el tamaño de las piezas dentarias es menor en el lado adyacente a la fisura, en relación a las del lado opuesto y que si es bilateral el tamaño dentario es menor en ambos lados y que en general las piezas dentarias de los pacientes fisurados son más pequeñas que el tamaño promedio de las piezas dentarias de la población en general.

Proyecto M-2188-8515, D.I.B., U. de Chile.

DISTRIBUCION DE ESTERASA D (ESD), MALATO DEHIDROGENASA (MDH), LACTATO DEHIDROGENASA (LDH) Y HAPTOGLOBINA (HP) EN UNA MUESTRA POBLACIONAL DE VALPARAISO. (Distribution of Esterase D (ESD), Malate dehydrogenase (MDH), Lactate dehydrogenase (LDH) and Haptoglobin (HP) in a population sample of Valparaiso). Campusano, C.; Zambra, E.; Lazo, B. y Figueroa, H. Departamento de Biología, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso.

La estructura de Poblaciones Humanas ha sido de gran importancia en Genética. Dentro de la población mixta chilena actual, Valparaíso ha recibido un mayor y constante flujo génico caucasoide por su condición de puerto, lo que se ha determinado por estudios anteriores.

El propósito del presente estudio es determinar electroforéticamente el polimorfismo de ESD, MDH, LDH y HP, para caracterizar la población de Valparaíso y comparar estos hallazgos con los encontrados para otras poblaciones.

Muestras sanguíneas (7-8 ml p/persona), se obtuvieron de 140 individuos no emparentados, elegidos aleatoriamente y nativos de Valparaíso. Como matriz de soporte se utilizó almidón hidrolizado al 12%. La electroforesis fue horizontal y se determinó una diferencia de potencial de 6 volts/cm en HP, 7 volts/cm en ESD y 4,5 volts/cm en MDH y LDH.

En el sistema ESD se detectaron tres fenotipos: ESD 1-1, 2-1 y 2-2, siendo ESD 1-1 la que presenta frecuencia más alta (91,2%). En HP se encontraron tres fenotipos: 1-1, 2-1 y 2-2, siendo el tipo 2-1 el de la frecuencia más alta (68,57%). En relación a LDH, todos los electroforetogramas presentaban las cinco isoenzimas: LDH-1, LDH-2, LDH-3, LDH-4 y LDH-5. MDH presentó sólo una forma: MDH-1.

Al analizar las frecuencias génicas, se detectó que: 1) Todos los sistemas están en equilibrio de Hardy-Weinberg, mediante test de χ^2 , estadísticamente no significativo; 2) La población de Valparaíso está en una posición intermedia entre caucasoides y mongoloides, algo distante de poblaciones negroides y más próximas a poblaciones españolas.

LA DISCONDROSTEOISIS ES CONTROLADA POR GENES EN LOS CROMOSOMAS X e Y. (Dyschondrosteosis is controlled by X and Y Linked genes). Castillo S., Youlton R., BE C. Servicio de Genética, Depto. de Medicina, Hospital Clínico, Universidad de Chile.

La discondrosteosis es una forma mesomélica de baja estatura que ocurre junto a una alteración característica de la muñeca (deformidad de Madelung) y que afecta con mayor frecuencia y en forma más severa a las mujeres. Se considera que tiene un patrón de herencia autosómico dominante (Mc Kusick 12730).

Hemos publicado el caso de una mujer con discondrosteosis y una traslocación XY (p22 q12) (Rev Méd Chile 113:228, 1985).

El análisis de la probable patogenia de este cuadro y la correlación de alteraciones cromosómicas del X y del Y con el fenotipo de la discondrosteosis, nos permiten postular:

- 1.- Podrían existir genes homólogos determinantes del crecimiento de los segmentos intermedios de las extremidades en X p22 → pter y en Y q11 → qter.
- 2.- Estos genes ubicados en el X estarían en el segmento que permanece activo durante la heterocromatización de uno de ellos según la hipótesis de Lyon.
- 3.- La recombinación de estos genes pudiera simular un patrón de herencia autosómico dominante.

TRANSFORMACION GENETICA DE C. butírico MEDIADA POR DNA PLASMIDIAL (DNA Plasmid Transformation of C. butyricum) Carrasco, A., Depto. de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Los microorganismos anaeróbicos poseen un intrínseco potencial biotecnológico debido a su gran capacidad fermentativa. Tal potencialidad es susceptible de ser mejorada genéticamente.

El conocimiento de la genética de microorganismos esporulados del género Clostridio es escaso, y también lo es el número de cepas genéticamente marcadas requeridas para el desarrollo de sistemas de recombinación genética.

En comunicación anterior se ha informado del sistema diseñado para transformar genéticamente la cepa de C. butírico (ATCC 19398) desde sensibilidad a los antibióticos Estreptomicina y Rifampicina, a las respectivas resistencias. Esta transformación se realizó utilizando DNA cromosómico homólogo. Este sistema nos ha permitido transformar C. butírico con plasmidios crecidos en B. subtilis (pPL 608 y pSA 2100) y E. coli (pHV 32), que confieren resistencia al cloranfenicol.

La eficiencia de transformación con los plasmidios pHV 32 y pSA 2100, es del orden de 2,6 transformantes por ng DNA. El DNA reextraído de varios transformantes ha sido analizado por electroforesis en gel de agarosa, demostrando que los transformantes contienen plasmidios.

Además el DNA de uno de los transformantes fue capaz de transformar B. subtilis ORB 161 cloranfenicol resistencia. Estos resultados apoyan la conclusión de que C. butírico es un organismo transformable y además permite la expresión del replicón de S aureus.

DISTORSIONES PARA LOS SISTEMAS ABO, RH Y SEXO EN HERMANOS. (ABO-Rh-Sex distortions in Sibpairs). Cifuentes, L. y Valenzuela, C. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se estudia la distribución de grupo ABO y Rh en 2227 parejas de hermanos consecutivos nacidos en el Hospital José Joaquín Aguirre entre 1975 y 1982. Las proporciones esperadas de las distintas parejas de hermanos para el grupo ABO se calcularon usando el Método de Matrices ITO para hermanos.

La matriz completa se aleja de lo esperado debido especialmente a un exceso en los casilleros A-0 y A-B. Los hijos de madre A también se apartan de lo esperado debido a los casilleros A-B y O-B excedidos, además existen en ellos más segundos hermanos B en comparación con los primeros y mayor cantidad de primeros hermanos grupo A que segundos. Los hijos de madre B también se alejan de lo esperado con un exceso en los casilleros A-0 y O-A. Los hijos de madre O también se apartan de lo esperado con un exceso en los casilleros B-0 y O-B. Realizando un análisis de Penrose se demuestra una asociación entre sexo y grupo ABO en los hermanos Rh(+).

Estos hallazgos no se pueden explicar por los fenómenos de incompatibilidad materno-fetal conocidos.

INTERRUPCION DEL EMBARAZO POR PATOLOGIA GENETICA. PROBLEMA DEL DIAGNOSTICO PRENATAL (Problems on pregnancy interruption due to prenatal diagnosis of genetics disorders). Cortés, F., Alliende, M.A., Aranda, M., Lacassie, Y. Unidad de Genética, INTA, Universidad de Chile.

El concepto clásico de Consejo Genético, limitado fundamentalmente a la estimación del riesgo de ocurrencia o recurrencia de una enfermedad genética en una determinada familia, ha cambiado sustancialmente en los últimos años con el advenimiento de las nuevas técnicas de diagnóstico prenatal que, en un número creciente de afecciones, permiten transformar una probabilidad en certeza. Si bien el énfasis no está en abortar, sino en permitir que nazcan niños que, de no existir el procedimiento no habrían sido engendrados, así como en permitir el tratamiento oportuno, inclusive intrauterino, de ciertas malformaciones congénitas, la detección de ciertas afecciones genéticas, en que pareciera justificada la interrupción del embarazo, plantea una serie de problemas, éticos, morales, religiosos y legales.

En los últimos dos años nos hemos visto enfrentados al diagnóstico prenatal de algunas afecciones genéticas, en dos de las cuales, por la severidad que involucraban (Síndrome de Lesh Nyhan y Trisomía 21 más un 50% de riesgo de Síndrome de Duncan), las familias decidieron la interrupción del embarazo. Se comentan estos casos, la problemática legal de la interrupción, así como otros aspectos involucrados. Se presentará para discusión una proposición de posibles categorías de enfermedades genéticas a considerar con este propósito.

MAPA DE TRASLOCACIONES CROMOSOMICAS HUMANAS (Translocation human chromosome map) R. Cruz-Coke, Unidad de Genética, Departamento de Medicina Norte, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Progresos médicos recientes han demostrado que las traslocaciones cromosómicas recíprocas son uno de los mecanismos más frecuentes en la etiología de muchas enfermedades genéticas y neoplásicas. Para describir una traslocación hay que señalar un punto de ruptura cromosómica y trazar una línea de conexión con otro punto de ruptura de otro cromosoma. Sin embargo el esquema de este proceso no se puede efectuar en el actual formato clásico del cariotipo basado en la clasificación de Denver, pues los cromosomas están situados en secuencias paralelas en varias hileras. Para solucionar este problema ilustrativo se propone usar un formato circular de los cromosomas humanos, ordenados de mayor a menor tamaño, incluyendo el cromosoma X entre los 7 y 8. De este modo los cromosomas aparecen extendidos a lo largo de la circunferencia de un círculo con un costado mirando hacia el centro. Mediante este formato es posible ilustrar por ejemplo una traslocación 9,22 conectando los puntos de ruptura de ambos cromosomas, cerca de los loci de los protooncogenes *abl* y *sis*, y trazar una cuerda que represente a la Leucemia mieloide crónica. En caso de traslocaciones múltiples también es posible ilustrar claramente la complejidad de los intercambios de cromosomas respectivos. Por otra parte este formato circular permitiría identificar en forma secuencial los loci del mapa genético mediante la numeración del círculo con 360 grados y 21600 minutos, lo que daría mayor precisión a la ubicación de los genes en los cromosomas humanos.

DISPERSION DE ADULTOS DE Drosophila melanogaster RESPECTO A OTROS INDIVIDUOS DE LA POBLACION. (Adult dispersal in Drosophila melanogaster regarding to other members of the population). Del Pino, F., Durán, R. y Godoy-Herrera, R. Departamento de Ciencias Básicas, Inst. Prof. de Chillán y Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se estudió la dispersión de grupos de machos y de hembras, con y sin experiencia sexual, de D. melanogaster, para conocer cómo se forman grupos en esta especie.

La dispersión de grupos de moscas de cada sexo se registró en un matraz con 8 salidas. A cada salida se adicionó un tubo Y terminando en una celdilla, cada una se separó del tubo Y por una gasa. Cada celdilla contenía individuos de uno u otro sexo. Los tubos Y se utilizaron también para estudiar la dispersión individual de las moscas.

La presencia de congéneres distantes aumenta la dispersión de hembras fecundadas; la dispersión masculina no se afecta. Individuos no vírgenes de cada sexo se alejan de hembras fecundadas. Machos vírgenes se aproximan a hembras no vírgenes y no discriminan la presencia de otras vírgenes.

Los resultados sugieren que los machos y las hembras fecundadas perciben señales de hembras no vírgenes distantes, modificando su comportamiento. Estos hallazgos pueden ser de interés para entender la estructura en poblaciones de D. melanogaster.

Proyecto B-1619-8433 D.D.I. Universidad de Chile; Proyecto 018/85 Inst. Prof. Chillán.-

EL BIVALENTE XY EN ESPERMATOCITOS DE Auliscomys boliviensis Y Akodon molinae (Rodentia-Cricetidae). (The XY bivalent in spermatocytes of A. boliviensis and A. molinae). Fernández-Donoso R. y Berríos, S. Unidad de Citogenética, Depto. Biol. Cel. y Gen., Fac. Med., U. Chile, Casilla 70061, Santiago 7, Chile.

Observaciones al M.E. de cortes de bivalentes sexuales de mamíferos, han demostrado que en el extremo apareante de los cromosomas X e Y se forma un pequeño segmento de complejo sinaptonémico (CS).

Microesparcidos de núcleos de espermatoцитos de A. boliviensis y de A. molinae revelan que en etapas tempranas de la profase meiótica el eje del cromosoma Y se aparea en toda su longitud con el eje del cromosoma X, formando un extenso CS. Gradualmente el CS del bivalente se va reduciendo a un pequeño segmento que se conserva entre ambos cromosomas en el punto de inserción común a la envoltura nuclear. En ambas especies, el cromosoma X es de mayor longitud y el sector no apareante de su eje es más grueso y de organización espicular. En las mismas etapas meióticas los CSs de los bivalentes autosómicos presentan una organización y estructura constantes.

Estas observaciones demuestran que el comportamiento del CS de los bivalentes XY de estas especies es diferente al de los respectivos autosomas. El CS participaría en el reconocimiento y apareamiento de los cromosomas X e Y, pero el desensamblaje temprano en gran parte de su extensión contribuiría a impedir la recombinación por crossing over entre los cromosomas participantes. La conservación de un pequeño segmento de CS en el punto de inserción común a la envoltura nuclear, garantizaría su normal segregación en la I división meiótica. Proyecto B-1977-8523, D.I.B., U. de Chile.

EL COMPORTAMIENTO DE LAS LARVAS DE *Drosophila melanogaster* DURANTE LA PUPACION. (The behaviour of *Drosophila melanogaster* larvae during pupariation). Fernández, M., Reyes, L., Valderrama, C. y Godoy-Herrera, R. Departamento de Ciencias Básicas, Inst. Prof. de Chillán y Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

En este trabajo se estudian los mecanismos comportamentales utilizados por las larvas de *D. melanogaster* durante la pupación. Esto puede ser de interés para conocer como estas larvas seleccionan los microhabitats donde puparán.

Cajas de acrílico se llenaron con agar y/o arena (gruesa o fina). Otro grupo de estas cajas no se llenaron con ningún sustrato. En la zona central inferior de cada caja se dispuso un tubo de crianza sembrado con 100 huevos. A los 6 días se registró el número de pupas en cada sustrato y en las superficies de cada caja.

Las larvas enfrentadas a elegir entre arena y acrílico, prefieren arena. En otra elección entre arena seca y agar, prefieren éste último sustrato. Si la arena es humedecida, ésta es preferida al agar. Entre arena gruesa y fina, prefieren la arena de grano grueso. Cruzamientos selectivos para pupar en acrílico o en el medio de cultivo, muestran un aumento del porcentaje de pupas en el acrílico.

Estos hallazgos revelan que la larva de *D. melanogaster* selecciona el sitio de pupación según la humedad, textura y grado de compactación del sustrato, sugiriendo que las características físicas de los microhabitats son importantes para el comportamiento de pupación de estas larvas. Este comportamiento parece estar bajo control genético. (Proyecto B-1619-8433, D.D.I. U. Ch.; Proj. 018/85 I. Prof. Chillán

ORIGEN Y EVOLUCION DE LAS ESPECIES CHILENAS DEL GENERO *RHAGOLETIS* (DIPTERA, TEPHRIIDAE) (origin and evolution of Chilean species of genus *Rhagoletis* (Diptera Tephritidae). Frías, D. Depto. Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El género *Rhagoletis* en Sudamerica está representado por 12 especies que se distribuyen de preferencia en la vertiente occidental de la Cordillera de los Andes. El objetivo de este trabajo es estudiar aspectos de la Biología Evolutiva del grupo, a fin de dilucidar el origen y evolución de las especies chilenas de *Rhagoletis*.

Se realizó una revisión acerca de la taxonomía del grupo. Además se realizaron estudios cromosómicos, enzimáticos y estudios sobre aspectos de la biogeografía y biología poblacional de la mayoría de las especies chilenas.

Los resultados indican que el género *Rhagoletis* en Chile está constituido por un conjunto de especies crípticas. Sin embargo, entre algunas de ellas se encontraron diferencias en la genitalia, diferencias enzimáticas y cromosómicas. Además, los nichos tróficos y los nichos temporales son claramente distintos en la mayoría de estas especies.

Los resultados sugieren que las especies chilenas de *Rhagoletis* habrían derivado de *R. lyco persella* o de un ancestro común, en un tiempo relativamente corto sin grandes cambios genéticos y morfológicos. (Proyecto B 1856-8523 D.I.B. U. de Chile.)

HETEROCIGOSIDAD INDIVIDUAL, ESTRUCTURA GENETICA Y VARIACION MORFOLOGICA EN OSTRAS (*Tiostrea chilensis*) DEL BANCO PULLINQUE (ANCUD, CHILE). (Individual heterozygosity, genetic structure and morphological variation in oysters (*Tiostrea chilensis*) from the Pullinque bed (Ancud, Chile)

Guíñez, R.; Monsalve, A. y Galleguillos, R. Pontificia Universidad Católica de Chile, Sede Talcahuano, Casilla 127 Talcahuano.

En un intento de comprender mejor ciertas relaciones previamente encontradas entre variación genética y morfológica, realizamos este estudio en el principal banco natural protegido de *Tiostrea chilensis*.

Los resultados nos indican, sobre la base de dos loci enzimáticos polimórficos (Anhidrasa carbónica, CA; y Leucina-Amino-peptidasa, LAP), que:

(i) Ambos loci se desvían significativamente de las expectativas de Hardy-Weinberg cuando se los analiza en función de las distribuciones de la longitud máxima, ancho, peso total y porcentaje del peso destinado a tejidos blandos (gónadas y otros) PPTB.

(ii) Tanto la Heterocigosidad observada, como la distribución porcentual del grado de Heterocigosidad individual muestran correlaciones estadísticamente significativas con la longitud máxima.

(iii) Las frecuencias alélicas del locus Lap están correlacionadas significativamente con PPTB, un importante componente de la adecuación darwiniana en moluscos.

(iv) Mientras mayor es el grado de la Heterocigosidad individual, los individuos tienden a tener mayores dimensiones y ser menos variables.

Concluimos que los cambios y oscilaciones observados en la estructura genética son coherentes si consideramos un modelo demográfico-genético edad estructurado en el que los heterocigotos o los multiheterocigotos, crecen más rápido y/o presentan una mayor viabilidad que los homocigotos. (Financ. Proy. DIUC 2F/84, e INB-067-C. Se agradece a R. Norambuena (SERMAP) e I. Solís (INCULMAR) por su colaboración durante el muestreo.

FALTA DE EFECTO DEL ACIDO FOLICO EN PACIENTES RETRASADOS MENTALES CON SINDROME DE X-FRAGIL O CON FRAGILIDADES AUTOSOMICAS EN UN ESTUDIO DE DOBLE CIEGO (Lack of effect of folic acid therapy on mental retarded patients with Fragile-X or other autosomal fragilities in a double blind study). Lacassie, Y., Moreno, R., Alliende, M.A., De la Barra, F., Barahona, G., Anríquez, E., Colombo, M., Segura, T. Unidad de Genética, INTA, Universidad de Chile.

El Síndrome del X-Frágil o de Martin-Bell constituye una de las causas más frecuentes de retardo mental (RM). Debido a que existe controversia sobre los efectos favorables del ácido fólico en esta condición, se realizó un estudio de doble ciego randomizado en 6 pacientes con X-Frágil y 7 con 4% o más de fragilidades cromosómicas autosómicas, todos de sexo masculino y con edades entre 10 meses y 23 años al inicio del tratamiento. Cada paciente tuvo una evaluación clínica, neurológica, psicológica y psiquiátrica y se determinaron protoporfirinas, hemograma, aminoácidos en orina y folatos séricos y urinarios, previo, a los 3 meses y al final de 6 meses ininterrumpidos de tratamiento. En la evaluación final se repitió el estudio cromosómico en medio deficiente en ácido fólico (TC 199 con 5% FCS y FUDR 0.05 μ M). El grupo experimental recibió 0.5 mg/kg/día de ácido fólico (máximo 30 mg/día), hidroxocobalamina 0.5-1 mg/día, y L-Metionina 1-2 gr/día según peso corporal, de acuerdo al tratamiento inicialmente propuesto por el Dr. Lejeune. La evaluación final no demostró diferencias significativas en los coeficientes intelectuales ni cambios conductuales a través de los múltiples tests utilizados. Tampoco hubo diferencias en las evaluaciones clínica, antropométrica, neurológica ni en los valores de protoporfirina y hemograma. Solamente se observó un aumento de excreción urinaria de metionina en el grupo experimental. Estos resultados no muestran un efecto benéfico significativo de esta terapia, por lo que no se justificaría el uso rutinario de ácido fólico en pacientes con RM, con o sin el síndrome del X-Frágil.

Proyecto Financiado por CONICYT, Grant N° 1031 (1984).

EFFECTO DE 5-AZACITIDINA SOBRE EL CRECIMIENTO RADICULAR EN *Allium cepa* L. (Effect of 5-azacitidine on the root growth in *Allium cepa* L., Leyton, C.; Sans, J.; González-Fernández, A. y De la Torre, C. Depto. Biol. Cel. y Gen., Fac. Med. Div. Norte, U. de Chile - Inst. Biol. Cel. (C.S.I.C.) España. Patrocinante, Navarro J.

La incorporación de 5-azacitidina (5-az), análogo de la citidina, al DNA inhibe el proceso de metilación. La metilación se ha postulado como un posible mecanismo de regulación de la expresión génica. Se ha observado, en diversos sistemas que la incorporación de 5-az incrementa la expresión de determinados genes.

En el presente trabajo se estudia el efecto de la incorporación de 5-az en raíces de bulbos de *Allium cepa* L. Se analiza el efecto de diversas concentraciones de 5-az sobre el crecimiento radicular.

Los resultados muestran que concentraciones inferiores a $10^{-6}M$ estimulan el crecimiento radicular sin producir cambios en la actividad proliferativa, por el contrario, concentraciones superiores a $10^{-6}M$ bloquean totalmente el crecimiento radicular. La inhibición de este crecimiento se asocia con una caída en la frecuencia de células en mitosis a nivel meristemático. Sin embargo, el tratamiento con 5-az $10^{-6}M$ acelera el proceso de nucleogénesis en una población de células meristemáticas sincrónicas.

Hemos comprobado, además, que 5-az en concentraciones de $10^{-6}M$ o superiores incrementa considerablemente la frecuencia de aberraciones ana-telófasicas.

Estos resultados sugerirían que:

- 1) 5-az en bajas concentraciones activaría genes relacionados con diferenciación celular (elongación celular).
- 2) 5-az en concentraciones $10^{-6}M$ activaría genes asociados en nucleogénesis pero tendría además, un efecto mutagénico. (Proyecto B1651-8533, Universidad de Chile).

DISPERSION LARVAL DE *Drosophila* EN RELACION CON LA GRAVEDAD. (Larval dispersal in *Drosophila* regarding to gravity). Mora, W. y Godoy-Herrera, R. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La respuesta ante algunos factores abióticos puede ayudar a conocer como los animales usan recursos tales como espacio y/o comida y también acerca de las bases hereditarias envueltas en la invariancia o la diversidad del comportamiento.

Se analizó la perturbación por gravedad de la dispersión de grupos de larvas de *Drosophila*, registrando las posiciones relativas de individuos desplazándose sobre un plano de agar colocado verticalmente.

Se encontró que:

- a) larvas de *Drosophila melanogaster* (cepa Oregon R-C) de 24,48 y 120 horas de edad dispersan a favor de la gravedad pero aquellas de 72 y 96 no responden con alguna tendencia particular.
- b) bajo las mismas condiciones experimentales larvas de *Drosophila simulans* (cepa Quilicura) de 24,48,72,96 y 120 horas de edad presentan un patrón de dispersión caracterizado por ausencia de perturbación por gravedad.

Los cambios en los patrones de dispersión asociados al desarrollo larval, junto con las diferencias interespecíficas encontradas, indican que esta conducta puede ser afectada por la gravedad y que tendría un componente hereditario en su determinación. (Financiado por Proyecto DIB. B-1619-8533, de la Universidad de Chile).

MARCACION GENETICA DE CARDIOPATAS CHAGASICOS. (Genetic marking of chagasic cardiopaths). Llop, E., Acuña, M., Rothhammer, F. y Apt, W. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y Departamento de Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas, presenta aparentemente en Chile, mayor benignidad que en el resto de los países sudamericanos. Este supuesto hecho ha sido atribuido a una adaptación genética de las poblaciones chilenas debido a la antigüedad de la enfermedad en el área andina (Neghme, 1982). Rothhammer y cols. (1984) por otra parte demostraron la existencia de momias fechadas en 2400 años A.P. con sintomatología chagásica en Quebrada de Tarapacá, Chile.

Con el objeto de poner a prueba la hipótesis de una adaptación genética, en el presente trabajo se analizará la distribución de los siguientes marcadores genéticos: Sistema HLA y sistemas de grupos sanguíneos ABO, Rh, Duffy, Kell, Kidd y Diego, en individuos serológicamente positivos con y sin cardiopatía chagásica. Se obtuvo una muestra de 45 individuos residentes en Iltapel, 22 con cardiopatía y 23 sin cardiopatía y otra de 51 individuos residentes en Combarbalá, 18 con cardiopatía y 33 sin cardiopatía.

Resultados preliminares indican que los individuos que no desarrollan cardiopatía chagásica poseen genotipos más indígenas que aquellos que desarrollan esta condición patológica. Si estos resultados son verificados, corroborarían la existencia de una adaptación genética de las poblaciones indígenas a *L. cruzi*.

Financiado por Proyectos 820599/UNDP/World Bank/WHO/SPTD y B-518845F, D.I.B. U. de Chile.

CAMBIOS CROMOSOMICOS Y TASA DE ESPECIACION EN *LIOLAEMUS* (SQUAMATA-IGUANIDAE). (Chromosomes changes and rates of speciation in *Liolaemus* (Squamata-Iguanidae). Navarro J., Veloso A. Depto. Biología Celular y Genética, Fac. de Medicina, U. de Chile. Casilla 70061 Santiago.

En diversos grupos de vertebrados existe una correlación positiva entre cambios morfológicos y cambios cariotípicos. También esta correlación se puede establecer entre tasa de evolución cromosómica (r^*) y tasa de especiación (R), expresadas en millones de años (MA). Esta generalización no está de acuerdo con la constancia cariotípica que se observa en algunos taxa, que muestran una apreciable diversidad morfológica. El análisis intragenérico en géneros politépicos puede ayudar a esclarecer el papel de los cambios cromosómicos en la especiación.

Se calculó r^* y R en *Liolaemus*, género altamente diversificado, que cuenta con unas 70 especies, utilizando un modelo simétrico de especiación. Se dispone de 39 especies cariotipadas, que son el 55.7% del total.

La tasa de evolución cromosómica es $r^* = 0.0466$ cambios cromosómicos/MA. La tasa de especiación $R = 6.088$ especies/MA.

Los cambios cromosómicos (fusión-fisión e inversiones) no presentan en *Liolaemus* una correlación positiva con la diversidad específica. Se trata de un género con tasa muy baja de evolución cromosómica y con tasa alta de especiación. La posibilidad que cambios estructurales de los cromosomas sean la causa principal de la producción de nuevos fenotipos morfológicos es discutible en *Liolaemus*.

Finan. Proy. N-2209-8512, D.I.B., U. de Chile.

ESTUDIO CITOLÓGICO COMPARATIVO EN CELULAS MERISTEMATICAS DE TRES ESPECIES DE AMARYLLIDACEAE. (Comparative cytological studies in meristematic cells of three Amaryllidaceae species). Palma-Rojas, C. y Sans, J. Depto. Biología, U. de La Serena y Depto. Biología Celular y Genética, Fac. Medicina, U. de Chile.

Estudios previos sugieren que *Hippeastrum igneum* (Hig), $2n = 32$, sería un alotetraploide originado de los ancestros de *Hippeastrum bicolor* (Hbi), $2n = 16$ y *Rhodophiala rhodolirion* (Rrh), $2n = 16$. A objeto de precisar las relaciones genéticas entre estas especies, se compararon tres parámetros citológicos: contenido de DNA, puntos naturales de bloqueo de la actividad proliferativa y número de nucléolos por célula como indicativo de la expresión de genes ribosomales. Con este objeto meristemas durmientes y proliferantes se tuvieron con la reacción de Feulgen y con la técnica de plata para nucléolo.

Los resultados obtenidos muestran que Hig tiene un contenido de DNA $2c$ de 29.5 pg., Rrh de 17.2 y Hbi de 14.8, lo cual apoya la relación más estrecha existente entre Hig y Hbi. Las 3 especies presentan meristemas en dormancia en que el 100% de las células han detenido su actividad proliferativa en G1 lo cual sugiere similitudes en el control genético de este fenómeno. Finalmente, las especies diploides Hbi y Rrh presentaron 2 nucléolos por célula en tanto que el tetraploide Hig presentó 4; esto concuerda con el número de constricciones secundarias observadas en los cariotipos de estas tres especies. Este resultado sugeriría que todas las constricciones secundarias descritas corresponden a zonas NOR activas.

Proyectos 12.2.09, D.I. U.L.S., B 1979-8523 y B 1651-8533, D.I.B., U. de Chile.

INHIBICION DEL CRECIMIENTO RADICULAR POR MUTAGENESIS EN CELULAS MERISTEMATICAS CON GENOMA BROMOSUSTITUIDO (Inhibition of root growth by mutagenesis in meristematic cells with bromosubstituted genome). Sans, J. y Mergudich, D. Depto. Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina Norte, Universidad de Chile. Patrocinante, Iturra, P.

La irradiación de un genoma bromosustituido con luz de 300-400 nm altera la expresión génica, al parecer, por un efecto mutagénico, lo que se traduce en la aparición de proteínas no funcionales.

En el presente trabajo, se estudió el efecto de la bromosustitución e irradiación sobre el crecimiento radicular en bulbos de *Allium cepa* L.

Bulbos cultivados por 48 hrs. y a 15°C, se incubaron con 5-Bromo-2-deoxiuridina (BrdUrd) 0.1 mM, por 36 hrs. En estas condiciones alrededor del 89% de las células meristemáticas han tenido un período replicativo completo en presencia del análogo, por lo que presentan todo su genoma unifilarmente bromosustituido. Algunos bulbos se irradiaron con luz de 300-400 nm por 20 min. inmediatamente después de finalizado el tratamiento con BrdUrd.

Los resultados muestran que la irradiación de raíces bromosustituidas inhibe drásticamente el crecimiento radicular. Estudios citológicos de la región meristemática indican que esta inhibición del crecimiento se asocia con una disminución significativa en la frecuencia de células en mitosis. El análisis de la frecuencia de células en las distintas etapas de la interfase, realizado por microdensitometría, demuestra que la irradiación produce una acumulación de células en forma preferencial en los períodos pre y post-replicativo (G₁ y G₂ respectivamente).

Estos resultados sugieren, la existencia en la interfase de estas células, de al menos dos funciones génicas diferentes cuyas expresiones controlarían específicamente las transiciones G₁-S y G₂-M.

(Proyecto B1651-8533 Universidad de Chile).

ENZIMAS PEROXISOMALES EN EL SINDROME DE ZELLWEGER (Peroxisomal enzymes in the Zellweger Syndrome). Santos, M.J. y Leighton, F., Depto. Biología Celular, Fac. Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D.

Los fibroblastos humanos en cultivo constituyen un modelo útil para el estudio de los peroxisomas en células normales y en patología genética presuntamente peroxisomal. En fibroblastos de pacientes afectados por el síndrome Cerebrohepatorenal de Zellweger, enfermedad recesiva y letal caracterizada por ausencia de peroxisomas en hígado y riñón, en comparación a fibroblastos normales, hemos demostrado la presencia de 2 enzimas peroxisomales: catalasa y oxidasa de ácidos grasos, esta última con actividad específica disminuida. El análisis de la distribución subcelular por fraccionamiento mostró una localización citosólica, no particulada, para ambas enzimas. Este hallazgo sugiere que el defecto genético básico de esta enfermedad recae a nivel del ensamblaje del organelo.

El estudio de este defecto lo hemos abordado por, 1.- fraccionamiento subcelular que descarta la presencia de un organelo de características físicas diferentes al peroxisoma normal y 2.- citotóxica a nivel de ME, utilizando el método de la Diaminobenzidina (DAB) alcalina, que muestra la ausencia de estructuras citoplasmáticas DAB positivas; datos que apuntan a la ausencia del organelo en este síndrome.

Dado que en los fibroblastos Zellweger, las 2 enzimas marcadoras de peroxisomas las hemos detectado por su actividad, hemos comenzado la caracterización molecular de otros aspectos distintos al sitio catalítico y de otras proteínas peroxisomales, que ayudarán a identificar la falla biogenética del síndrome.

PARAMETROS CROMOSOMICOS Y ESTADISTICA DE BOSE-EINSTEIN (Chromosome parameters and Bose-Einstein statistics). Valenzuela, C.Y., López-Fenner, J. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, y Departamento de Matemáticas y Ciencias de la Computación, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Chile.

Gran parte de las transformaciones cromosómicas ocurridas en el proceso evolutivo han sido reordenamientos binarios (RB). Si se examina una línea filogenética en donde la cantidad total de nucleótidos es constante y hay RB, es importante tener un valor esperado de la varianza del tamaño cromosómico y del índice centromérico (brazo corto/tamaño). Primero debe encontrarse la ley de distribución de los nucleótidos en los cromosomas de un cariotipo que evoluciona al azar por RB. Se encontró que esta distribución corresponde a una Estadística de Bose-Einstein con ninguna celda vacía, en que las celdas son los brazos cromosómicos, y los objetos a distribuir son nucleótidos; de allí la varianza del tamaño cromosómico resultó ser:

$$\frac{N(N-2K)}{K} \left(\frac{3}{2K+1} + \frac{2}{N-2K} \right) - \frac{N^2}{K}$$

donde N es el número de nucleótidos y K el número de cromosomas. El promedio del índice centromérico tiende a 1/4 cuando N tiende a infinito.

PRI 831040279 U. Ch.

Financiado por PNUD/UNESCO CHI-84/003 y DIUC 55/84

"DIFERENCIAS GENOMICAS CUANTITATIVAS ENTRE DOS ESPECIES DE ROEDORES CRICETIDOS" (Quantitative genomic difference between two species of cricetine rodents). Walker L. I. y Sans J. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El tamaño del genoma en mamíferos es un carácter especie específico de variabilidad relativamente escasa y de evolución poco conocida.

La detección de diferencias considerables en la cantidad de heterocromatina constitutiva entre los cromosomas de *Phyllotis darwini* y *Phyllotis xanthopygus vaccarum*, especies de igual número diploide y similar longitud cariotípica, sugirió la existencia de variaciones en la cantidad de DNA nuclear entre ambas formas.

En el presente trabajo se midió el contenido de DNA nuclear por microdensitometría después de tinción con la reacción de Feulgen fluorescente en prometafases y metafases somáticas de individuos de las dos especies y de sus híbridos.

Los resultados obtenidos muestran que *vaccarum* tiene un contenido 2c de DNA de 6.62 pg., equivalente al 96.4% del contenido 2c humano y superior en un 20.6% al de *darwini* (5.59 pg). Los híbridos interespecíficos presentaron una cantidad de DNA nuclear intermedia a la de sus padres.

Los tamaños genómicos evidenciados serían así muy distintos y estarían en relación directa con las variaciones en heterocromatina constitutiva previamente detectadas. Estos hechos tendrían consecuencias fenotípicas a nivel celular y orgánico.

Financiado por Proyectos DIB B 1979-8523 y B 1651-8533, Universidad de Chile.

ESTIMAS DE PARAMETROS GENETICOS PARA DIAMETRO Y ALTURA EN UN ENSAYO DE PROGENIE DE *Pinus radiata* D. Don.

Estimates of genetics parameters for diameter and height in a *Pinus radiata* D. Don. Progeny test.

Zamudio, F. J.

Escuela de Ciencias Forestales, Universidad de Chile. Godoy, R. Facultad de Medicina Norte. U. de Chile.

En 1976, se instalaron dos huertos semilleros de semillas para *Pinus radiata* D. Don en predios de Forestal Río Vergara S.A., en localidades cercanas a Nacimiento (VIII Región). En cada uno se estableció 200 familias de semifratrias, originarios de polinización abierta y plantados a 3 x 3 m. en un diseño de bloques incompletos al azar, con 88 individuos por familia. En 1980, se evaluaron los huertos y se eliminó 26 familias. Por sus condiciones silviculturales se consideran los huertos como ensayos de progenie, y así se evaluó el ensayo de Marimán (Sector de Negrete, VIII Región) en 1984. Los objetivos fueron determinar el grado de control genético de dos caracteres a diferente edad y analizar la evolución fenotípica de la población. La heredabilidad individual se estimó para diámetro y altura, a los 4 y 8 años; además, para esta última edad, se estimó correlación genética y ambiental.

La heredabilidad para ambos caracteres aumentó con la edad. Para diámetro cambió de 0,06 a 0,195 y para altura varió de 0,03 a 0,181. La correlación ambiental fue mayor que la genética (0,64 > 0,585). Los resultados sugieren que diámetro y altura están genéticamente relacionados y que al variar la edad se van produciendo cambios en el control genético, simultáneamente en ambos caracteres. El estudio no entregó evidencia de una relación del comportamiento familiar a diferentes edades.

El estudio sugiere que diámetro y altura pueden responder a la selección basada en comportamiento individual y que la selección para un carácter puede considerar respuestas correlacionadas para el otro.