

FIA - CD - V - 2005 - 1 - A - 073 ITD

PROGRAMA DE CAPTURA Y DIFUSIÓN TECNOLÓGICA

INSTRUCTIVO ELABORACIÓN INFORME TÉCNICO Y DIFUSIÓN

AÑO 2005

INSTRUCTIVO PARA LA PREPARACION DEL INFORME TÉCNICO Y DE DIFUSIÓN

1. OBJETIVO

El objetivo de este informe es sistematizar la forma en que se desarrolló la propuesta, tanto desde el punto de vista técnico, como de su gestión administrativa y de la respuesta del sector convocado a la actividad. Específicamente, en este informe se deberán describir los conocimientos y tecnologías adquiridos y/o entregados durante el desarrollo de la propuesta, en forma global e individual para cada uno de los tipos de iniciativas (Giras, Becas, Consultores, Eventos y Documentos). Junto con eso también se deberá contemplar un análisis y reflexión respecto a los temas abordados, las posibilidades concretas de su aplicabilidad nacional, regional y sectorial, como también un análisis sobre los desafíos o limitantes que se presentan para su incorporación.

Adjunto al informe se deberá entregar una copia de todo el material o documentación recopilado, entregado y preparado durante el desarrollo de la propuesta, incluyendo copia del material audiovisual (incluye fotografías cuando corresponda). Cabe señalar que para la realización de las actividades comprometidas, la entidad responsable deberá seguir los lineamientos que establece el "Instructivo de Difusión y Publicaciones" de FIA, que le será entregado oportunamente.

El informe deberá, adicionalmente, describir las actividades de promoción realizadas para convocar a la actividad, adjuntando el material y documentación utilizada y entregada para tales efectos. De la misma forma, en el caso de la realización de eventos técnicos o ferias tecnológicas.

Por último, cabe señalar que cualquier cambio o modificación que sea necesario realizar en el programa de trabajo de la propuesta, deberá ser previamente solicitado a la Dirección Ejecutiva de FIA, quien autorizará dichos cambios sólo en la medida que estén claramente justificados. Por lo tanto, no se aceptarán propuestas que hayan sufrido modificaciones en sus programaciones sin previa autorización de FIA.

2. PLAZOS DE ACTIVIDADES Y ENTREGA DE INFORMES

Luego de terminada la propuesta (o de realizada la última actividad de difusión comprometida), la Entidad Responsable, a través de su coordinador, tienen un plazo máximo de 15 días para la entrega a FIA del Informe Técnico y de Difusión.

Estos plazos están especificados en el contrato de ejecución respectivo y en la eventualidad de que exista un imprevisto que no le permita a la Entidad Responsable cumplir con dichos plazos, éstos deberán justificar y solicitar por escrito a la Dirección Ejecutiva de FIA la posibilidad de prorrogar los plazos estipulados, los cuales se autorizarán en la medida que existan una razón clara y justificada.

En la eventualidad de que los compromisos antes señalados no se cumplan, se procederá a ejecutar la garantía respectiva y la entidad responsable quedará imposibilitada de participar en nuevas iniciativas apoyadas por los diferentes programas e instrumentos de financiamiento de FIA.

3. PROCEDIMIENTO

Los informes deben ser presentados en disquet o disco compacto y en papel (tres copias) de acuerdo a los formatos establecidos por FIA, en la fecha indicada como plazo de entrega en el contrato firmado con el postulante y/o Entidad Responsable. Los formatos de dichos informes (impresos y en disquet) son entregados por FIA al postulante o coordinador de la propuesta en este documento.

Los informes deberán ser dirigidos a las oficinas de FIA ubicadas en Loreley 1582, La Reina, Santiago, y podrán entregarse personalmente en dichas oficinas en horario hábil o enviarse por correo a domicilio en forma oportuna para que llegue dentro del plazo establecido.

El FIA revisará los informes y dentro de los 45 días hábiles siguientes a la fecha de recepción (plazo máximo) enviará una carta al responsable de la propuesta o coordinador, informando su aceptación o no aprobación. En caso de no aprobarse el informe, FIA comunicará en detalle las razones de dicha decisión. El responsable deberá corregir los reparos u observaciones, motivo del rechazo, dentro del plazo determinado por el FIA.

Tal como se indicó en el punto anterior, en caso de fuerza mayor se podrá solicitar con anterioridad a la fecha de vencimiento y por escrito a FIA la postergación de las fechas de entrega de los informes, quien evaluará la pertinencia de dicha solicitud.

4. CONTENIDO Y FORMATO

La información debe ser presentada en un lenguaje claro. El informe debe incluir o adjuntar los cuadros, gráficos, fotografías y diapositivas, publicaciones, material de difusión, material audiovisual y otros materiales que apoyen o complementen la información y análisis presentados en el texto central.

La información presentada en el informe técnico debe estar directamente vinculada a la información presentada en el informe financiero, y ser totalmente consistente con ella.

El informe técnico debe incluir, información sobre todos y cada uno de los puntos mencionados a continuación, y siguiendo en lo posible el orden indicado.

De no contar con toda la información solicitada, en especial las fichas de participantes en la actividad, el informe técnico podría ser rechazado.

Es importante contar con toda la información que se solicita, como por ejemplo, los antecedentes de los participantes en las actividades, información relevante para FIA. El envío de la información incompleta puede ser motivo de no aprobación de este informe.

CONTENIDO DEL INFORME TÉCNICO

Fecha de entrega del Informe
22 de Noviembre de 2005
Nombre del coordinador de la ejecución
Patricio Villalobos Biaggini
Firma del Coordinador de la Ejecución

1. ANTECEDENTES GENERALES DE LA PROPUESTA
Nombre de la propuesta
Pseudomonas 2005 – 10 th International Congress – Marseille, France
Código
FIA-CD-V-2005-1-A-073
Entidad responsable
Universidad Técnica Federico Santa María
Coordinador(a)
Tipo de Iniciativa(s)
☐ Gira ☒ Beca ☐ Evento ☐ Consultores ☐ Documentos
Fecha de realización (inicio y término)
Inicio: Agosto 24 Término : Noviembre 11

2. RESUMEN DE LA PROPUESTA

Resumir en no más de una página la justificación, actividades globales, resultados e impactos alcanzados con la propuesta completa. Cuando exista más de una iniciativa, ellas debe ser resumida en forma específica. Estos resúmenes deben sintetizar aspectos principales de la propuesta y cada una de sus iniciativas en forma general.

GLOBAL (Completar sólo cuando existe más de una iniciativa)

GIRA TECNOLÓGICA

BECAS

La simazina es un herbicida usado para controlar la maleza acompañante de cultivos de importancia comercial en Chile. Este herbicida es considerado persistente dado que su vida media oscila entre las 4 y 57 semanas. *Pseudomonas* sp. P41, es una cepa bacteriana que posee relevantes cualidades degradativas del compuesto, al usarlo como fuente de nitrógeno para su crecimiento, en condiciones de laboratorio. Actualmente, nuestros estudios se han enfocado a entender procesos de regulación génica que posee esta bacteria, con el fin de evaluar el potencial para degradar el compuesto *in situ*. Ensayos de células en reposo, mostraron que la degradación de simazina en la cepa P41 está controlada por la disponibilidad de fuentes de nitrógeno. Fuentes de nitrógeno preferencial, como el amonio, reprimieron los genes catabólicos de simazina, mientras que condiciones de nitrógeno limitante inducen la degradación del compuesto. Experimentos de RT-PCR mostraron que los genes de la vía superior son constitutivamente expresados. El operón *atzDEF* (ruta inferior) fue regulada por la disponibilidad de fuentes de nitrógeno de la ruta, como lo son el ácido cianúrico y simazina.

Similares procesos de regulación han sido estudiados en relación a la degradación de compuestos como el estireno, policlorobifenilos, alcanos, lo cual indica que para considerar una bacteria que degrade el compuesto *in situ*, es decir, en condiciones reales de campo, se deben considerar otras variables ambientales que pueden afectar la capacidad del microorganismos para degradar compuestos recalcitrantes. En nuestro caso, fuentes de nitrógeno presentes en suelo a remediar. La presencia de nitrógeno amoniacal, así como de nitrato, serían un efecto negativo para la expresión de genes de la bacteria, por lo que, bacterias que poseen este tipo de regulación descrito, anteriormente, no serían efectivas para remediar suelos contaminados con el herbicida.

Dada la importancia de este trabajo, y a los resultados obtenidos, ha sido aceptado en el Congreso bianual sobre *Pseudomonas*, 2005, Marseilles, Francia. La asistencia a este Congreso fue posible gracias a los aportes del Fondo de Innovación Agraria FIA-Gobierno de Chile. Este congreso, ha enriquecido nuestros conocimientos en cuanto a mejorar aspectos del estudio de la aplicabilidad de *Pseudomonas* p. P41 en vías de remediar suelos tratados con simazina. Por otro lado se consiguieron materiales genéticos, para continuar nuestros estudios y se generaron contactos que pueden ser potenciales colaboradores en futuros proyectos científicos en el área. Este informe describe nuestra experiencia, discute resultados y proyecta aplicaciones derivadas de la participación en el congreso, con aportes del Fondo de Innovación Agraria, FIA-Gobierno de Chile.

CONSULTORES

EVENTOS

DOCUMENTOS TÉCNICOS

3. ALCANCES Y LOGROS DE LA PROPUESTA GLOBAL

Problema a resolver, justificación y objetivos planteado inicialmente en la propuesta

Introducción

La contaminación atmosférica por compuestos orgánicos sintéticos recalcitrantes, es un problema de creciente importancia en el mundo (Alexander, 1994). Los pesticidas, o plaguicidas, son compuestos químicos usados para combatir plagas de animales, insectos, plantas y hongos, que no sólo inciden en la agricultura, sino también en actividades domésticas e industriales. Estos plaguicidas se dispersan en el ambiente y se convierten en contaminantes para los sistemas biótico y abiótico amenazando su estabilidad y representando un peligro para la salud pública (Ortiz-Hernández et al., 1997). La atrazina, y su análogo simazina usado en Chile, es un herbicida considerado persistente dado que su vida media oscila entre las 4 y 57 semanas. Su detección ha sido no sólo en suelos sino también ha contribuido en la contaminación de aguas superficiales y subterráneas en niveles que han sobrepasado ampliamente los límites establecidos como aceptables por la agencia de protección ambiental (EPA) de 3 µg/Lt en los Estados Unidos. A pesar de estas alertas, en Chile la reglamentación de herbicidas está sólo a nivel de informes y sin una reglamentación oficial (Informativo Agropecuario, 2002. INIA Gobierno de Chile). Dada su importancia, así como las facilidades para ser cultivadas en el laboratorio, el género *Pseudomonas* constituye uno de los grupos bacterianos mejor estudiados. Bacterias del género *Pseudomonas*, son microorganismos cosmopolitas que incluyen varias especies de interés ambiental por su rol como promotores del crecimiento en plantas, patogénesis de plantas, animales y humanos, así como en la degradación de compuestos xenobióticos. El Laboratorio de Microbiología Ambiental de la Universidad Federico Santa María, Valparaíso ha aislado diferentes microorganismos con potencial biodegradativo de simazina. Una bacteria del género *Pseudomonas* sp. P41, ha demostrado relevantes cualidades degradativas del compuesto al usarlo como fuente de nitrógeno para su crecimiento, en condiciones de laboratorio. La bacteria, posee todos los genes catabólicos de la vía superior *atzA*, *atzB* y *atzC*, así como los de la vía inferior *atzD*, *atzE* y *atzF*, responsables de mineralizar el compuesto hasta CO₂ y agua. Sin embargo, para su aplicación ambiental en procesos de biorremediación de suelos contaminados, la eficiencia de degradación de compuestos xenobióticos por bacterias depende de la expresión de los genes catabólicos y del tipo de compuesto a degradar. En este sentido, hemos investigado si la regulación génica que posee esta bacteria para degradar el compuesto se ve afectada por la presencia de otras fuentes de nitrógeno, como ocurre en los suelos agrícolas que son enriquecidos por procesos de fertilización. Dada la importancia de este trabajo, y a los resultados obtenidos, ha sido aceptado en el Congreso bianual sobre *Pseudomonas*, 2005. La asistencia a este Congreso no sólo es una ventana para integrar este trabajo a la comunidad científica mundial, sino también intercambiar experiencias con científicos de renombre internacional que permiten aumentar nuestros conocimientos y mejorar las proyecciones de los resultados obtenidos, para así, favorecer indirectamente el desarrollo biotecnológico de nuestro país.

En este contexto, fueron planteados los siguientes objetivos:

- 1) Difundir resultados experimentales obtenidos en una *Pseudomonas* silvestre, aislada desde el Valle de Aconcagua-Chile, y que posee capacidad de biodegradar el herbicida simazina.
- 2) Ampliar los conocimientos sobre mecanismos regulatorios en otras *Pseudomonas* degradadoras de compuestos xenobióticos.
- 3) Aumentar los conocimientos sobre factores que influyen en la aplicación bacteriana a ambientes contaminados con xenobióticos, desde una perspectiva de biorremediación.
- 4) Interaccionar científicamente con pares científicos de todo el mundo, en términos de la versatilidad de aplicaciones de bacterias del género *Pseudomonas*, con el fin de mejorar el desarrollo científico en Chile.



Objetivos alcanzados tras la realización de la propuesta

Todos los objetivos fueron alcanzados. El grado de cumplimiento de cada uno será discutido en los resultados correspondientes.

- 1) Difundir resultados experimentales obtenidos en una *Pseudomonas* silvestre, aislada desde el Valle de Aconcagua-Chile, y que posee capacidad de biodegradar el herbicida simazina.

El trabajo con el cual fue aceptada la participación en el 10° Congreso de *Pseudomonas*, Marseille-Francia 2005, fue titulado "Simazine degradation by *Pseudomonas* sp. Strain P41 isolated from herbicide-treated agricultural soils in Chile". Este fue discutido en modalidad de poster en la session V, Physiology and Metabolic Versatility", del día Lunes 29 de octubre entre las 16:00 y 18:00 hrs. El trabajo recibió buena crítica, sin embargo, las preguntas estuvieron dirigidas mayormente a las normas de uso de herbicidas en Chile, que al desarrollo propio del trabajo.

- 2) Ampliar los conocimientos sobre mecanismos regulatorios en otras *Pseudomonas* degradadoras de compuestos xenobióticos.
- 3) Aumentar los conocimientos sobre factores que influyen en la aplicación bacteriana a ambientes contaminados con xenobióticos, desde una perspectiva de biorremediación.

En relación a estos dos objetivos. Nuestros estudios sobre degradación de herbicidas se iniciaron sólo hace dos años en el laboratorio de Biología Molecular y Biotecnología Ambiental, Universidad Federico Santa María, Valparaíso. Las implicancias metabólicas concernientes al uso de microorganismos usados en biorremediación de compuestos tóxicos en el ambiente, está siendo entendida desde una perspectiva regulación de genes implicados en el metabolismo del compuesto. Sólo recientemente nuestro grupo ha comenzado a estudiar este enfoque. De manera que nuestros conocimientos de vieron altamente enriquecidos en entender la importancia de considerar estudios de este tipo, no sólo para herbicidas, sino en general para diferentes aplicaciones en que se usan microorganismos. Se pudo observar que la mayoría de los trabajos relacionados a compuestos recalcitrantes que el universo de trabajos vistos en el congreso involucraban la descripción de procesos de regulación génica, implicados en rutas metabólicas. Además se pudo constatar del uso avanzado de técnicas de Biología Molecular para describir eventos e interacciones moleculares intracelulares para degradar compuestos (identificación de transportadores, genes de estrés, participación e identificación de factores sigmas, identificación de promotores y represores, etc).

- 4) Interaccionar científicamente con pares científicos de todo el mundo, en términos de la versatilidad de aplicaciones de bacterias del género *Pseudomonas*, con el fin de mejorar el desarrollo científico en Chile.

La versatilidad de la especie *Pseudomonas* y la multiplicidad de mecanismos moleculares involucrados en la adaptación y colonización de varios nichos han



sido usados como modelos para estudios de muchos otros microorganismos. Los temas expuestos en este congreso cubrieron diversas facetas del campo de investigación de *Pseudomonas*, incluyendo genómica, interacciones bacteria-hospedador y la fisiología bacteria-ambiente, formación de películas, virulencia y mecanismos globales de regulación de genes. El estar y tener acceso a interactuar con pares que trabajan con tecnologías de punta y en temas de importancia mundial pone un barrera muy alta de imitar en vista de mejorar nuestro nivel científico. A mi juicio, este objetivo, es el de mayor importancia a la hora de relativizar nuestro trabajo en laboratorio. Los trabajos expuestos mostraron aproximaciones en la Microbiología molecular como ejes fundamentales, de la investigación básica y principalmente de medicina aplicada. Objetivo alcanzado.

De acuerdo a los objetivos planteados, se esperaban los siguientes resultados:

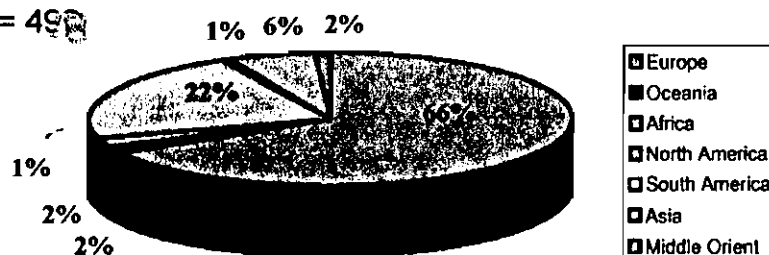
- 1) Acceder, por vez primera, a presentar resultados en un congreso internacional directamente.
- 2) Situar nuestro trabajo en uno de los congresos científicos más importantes que existen, dada la importancia del género *Pseudomonas* en el mundo. No sólo para efectos curriculares, sino para ser partícipes de congresos internacionales de alto nivel.
- 3) Obtener discusión acerca de nuestro estudio. Recibir críticas y sugerencias referente al tema de contaminantes en el ambiente.
- 4) Adicionalmente se esperaba ampliar nuestros conocimientos respecto a estudios de regulación de genes, de cómo estos estudios están implicados en trabajos aplicados.
- 5) Generar contactos con laboratorios de alto nivel científico.

El acceso a este importante evento reconocido por su alto nivel científico nos hace enfocar de forma distinta nuestros resultados de laboratorio. Por un lado se aclararon algunos conceptos sobre degradación de compuestos xenobióticos, y por otro se entendió la importancia de realizar estudios de expresión génica para diversos procesos aplicativos, como los es el de potencialmente biorremediar suelos o ambientes contaminados. Así también, se entendió la importancia de participar en este tipo de congresos, internacionales y de alto nivel.

De acuerdo a los objetivos planteados, los resultados son los siguientes:

1) De acuerdo a las estadísticas de representación por nacionalidades, fuimos parte del 1% de participantes sudamericanos en el congreso. El mayor número de participantes fueron europeos, seguido de nacionalidades norteamericanas y asiáticas, respectivamente.

Número de inscripciones= 49



El trabajo realizado fue expuesto y recibió, aunque escasos, buenos comentarios. El apoyo impartido por el Fondo de Innovación Agraria, a través de este fondo "becas de formación" fue esencial para lograr este objetivo. El enriquecimiento cultural, así como científico, son de gran importancia para generar autocríticas de una investigación que necesariamente es de carácter universal. En términos de grado de cumplimiento de objetivo, éste fue alcanzado.

Cabe mencionar que muchas de las preguntas estuvieron dirigidas a saber cómo se regula el uso de herbicidas en Chile. Dado que nuestro nivel acerca de regulación de genes es inicial, la mayoría de los trabajos tenía un nivel muy avanzado de genética y biología molecular.

De acuerdo al objetivo 2 y 3. Estos dos objetivos se discutirán unidos, puesto que son íntimamente dependientes.

El número de trabajos directamente relacionados al estudio de regulación de genes asociados a rutas metabólicas fueron 94 de 320 expuestos, es decir, un 29.4%. Esto indica que la importancia del género *Pseudomonas*, está dada también en su capacidad de participar en procesos de degradación de compuestos xenobióticos.

Para describir los resultados, es necesario mencionar lo siguiente. El congreso de *Pseudomonas* se realiza bianualmente, rotando en diferentes lugares del mundo. Su relevancia en cuanto al interés que convoca, de acuerdo a conversaciones con pares del congreso, se debe al significado que tiene el género *Pseudomonas*, como patógeno en salud humana. Este microorganismo, específicamente la especie *Pseudomonas aeruginosa*, tiene una importancia mundial por ser causante de fibrosis quística. Esta es una enfermedad hereditaria causada por una proteína anormal que no permite el ingreso y salida normales del cloruro a las células que revisten los pulmones y el páncreas, principalmente. Por estos efectos, estas células producen una secreción mucosa espesa y pegajosa y otras secreciones. Consecuencia de ello, las inflamaciones e infecciones pulmonares terminan por dañar los pulmones y contribuyen a una muerte prematura. Además, los líquidos digestivos espesos producidos por el páncreas no pueden llegar al intestino delgado, que los necesita para digerir los alimentos.

Las estadísticas consideran que aproximadamente 30.000 niños y adultos tienen CF en los Estados Unidos. Si bien todos los grupos raciales pueden verse afectados por esta enfermedad, es más común en las personas de origen caucásico.

En consecuencia, se han generado diversas fundaciones pro-estudios de fibrosis quística a nivel mundial, especialmente en países desarrollados, lo cual puede explicar que aproximadamente que el 70% de los trabajos científicos presentados en este congreso fueran dirigidos hacia este tema. La alta capacidad de recursos dispuestos, permiten a los científicos de esa área, acceder a equipos y desarrollar tecnologías de alto nivel para tratar de dar respuesta a esta enfermedad.

Con ello, los estudios involucrando *Pseudomonas* han alcanzado también un muy buen nivel científico, digno de imitar en cualquier área de estudio. El proyecto genoma, cuya página web es www.pseudomonas.com, es una evidencia de ello.

En relación a esto. Los trabajos dirigidos a *Pseudomonas* que poseen la capacidad de degradar algún compuesto riesgoso para el ambiente y la salud humana, han alcanzado también, muy buen nivel. Cabe destacar los trabajos realizados por el grupo de red genómica de España trabajando en *Pseudomonas putida*. En este grupo, destacan científicos de gran renombre internacional a nivel mundial, como lo son los doctores Víctor de Lorenzo, Eduardo Santero, Fernando rojo, Juan Luis Ramos y Eduardo Díaz. Todos participantes de este congreso. Ellos disponen de del uso de tecnologías de vanguardia, con los cual está describiendo mecanismos de regulación global de genes, en los cuales están acoplados los que participan en la degradación de compuestos recalcitrantes. Tal cual ocurre con *Pseudomonas*

aeruginosa, *Pseudomonas putida*, material de sus estudios, está también completamente secuenciada.

Clave en nuestro aprendizaje, es entender, que en general dentro de la red regulatoria de genes involucrados en la degradación de compuestos recalcitrantes, existe una coordinación y optimización de la expresión de una gran cantidad de genes, particularmente relevantes en vías catabólicas, cuya expresión es frecuentemente controlada por reguladores transcripcionales, que responden a la presencia de sustratos de la vía, y por un control global sobrepuesto que asegura que los genes de la vía sean inducidos sólo bajo condiciones fisiológicas y metabólicas apropiadas.

Con el uso de algunas técnicas como Microchips de ADN, Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR) y generación de mutantes se ha podido rescatar, en relación a nuestro tema, lo siguiente: El grupo de Santero trabajando con atrazina, ha logrado dilucidar, por un lado, que la degradación de compuestos del tipo s-triazinas está siendo regulada por un marco de lectura abierto (orf99), que está dispuesto, en dirección opuesta al gen de la ruta inferior de degradación del compuesto, llamado *atzD*. Por otro lado, ha confirmado que este operón está en forma de cluster, es decir, que responden los tres genes como un sólo operón, el operón *atzDEF*. Mediante estos chips y por técnicas moleculares de footprinting, han descubierto el sitio de unión de factores sigma (cofactores de enzimas polimerasas que participan en la transcripción de genes que se unen a promotores específicos para expresar genes frente a condiciones específicas). En términos prácticos, han descrito que este operón, el cual es el que está presente en nuestra bacteria aislada en Chile, *Pseudomonas* sp. P41, tiene su inicio desde un promotor del tipo $\delta 70$, que responde a limitación de nitrógeno y al metabolito intermediario ácido cianúrico. Ambas respuestas son inducidas por el regulador orf99, que responde a factores $\delta 54$, en respuesta a limitación de nitrógeno, pero más importante aún, hace que estén bajo el regulador global de genes del tipo NtrC, como respuesta a falta de nitrógeno. Es decir, la degradación de compuestos herbicidas como la simazina, están bajo el control global de regulación por nitrógeno.

Para interpretar estos resultados como aplicativos a nuestro trabajo. Simazina es una fuente de nitrógeno para *Pseudomonas* sp. P41. Para considerar una bacteria que degrade el compuesto *in situ*, es decir, en condiciones reales de campo, se deben considerar otras fuentes de nitrógeno presentes en suelos a remediar. La presencia de nitrógeno amoniacal, así como de nitrato, serían un efecto negativo para la expresión de genes de la bacteria, por lo que, bacterias que poseen este tipo de regulación, en el que la degradación de compuestos se ve inhibida por la presencia de otras fuentes de nitrógeno, no serían efectivas para remediar suelos contaminados con el herbicida.

Nosotros hemos descubierto que nuestra bacteria, *Pseudomonas* sp. P41, es capaz de degradar simazina aún en presencia de nitrato, aunque moderadamente, pero no así en presencia de amonio. Los suelos agrícolas de cultivos de

importancia comercial son ricos en nitrógeno, por lo tanto es una variable muy importante de considerar.

Cuando se piden sugerencias a la idea de remediar suelos, algunos investigadores, son bastante excépticos en la remediación como bioaugmentación (agregar microorganismos para remediar). Sugieren más bien, bioestimulación. Es decir, si lo que hay que degradar es el compuesto como fuente de carbono, se debería adicionar nitrógeno, e inverso para una contaminación con compuestos a usar como fuente de nitrógeno.

Nuestros estudios se están reenfocando en considerar las condiciones discutidas anteriormente.

Por lo tanto, el grado de conocimientos adquiridos está conforme con las expectativas de los objetivos planteados. Se aumentaron los conocimientos acerca de la importancia del género *Pseudomonas* en el mundo científico. Por otro lado, se entendió, y aumentaron los conocimientos acerca de la importancia de incorporar estudios de regulación de genes que participan en rutas catabólicas de compuestos recalcitrantes.

De acuerdo al objetivo 4.

El alto nivel científico observado sobrepasó las expectativas de congreso. Se consiguió contactos con otros grupos y se desarrollaron ideas para ser aplicadas en nuestro proyecto, como potenciales ideas de estudios futuros.

Mediante la interacción con pares científicos, y de presenciar las diferentes conferencias, el objetivo era proyectar nuestro trabajo científico actual.

Nuestro trabajo se ha visto beneficiado, puesto que se consiguieron que posteriormente nos enviaron dos vectores de expresión transcripcional para ser usados en nuestra *Pseudomonas*, los cuales actualmente están en nuestro laboratorio y estamos preparando ensayos con ellos. El objetivo es continuar nuestro estudio de regulación génica de la ruta de degradación de simazina en *Pseudomonas* sp. P41. Además obtuvimos con el doctor Alain Filloux un vector tipo miniTn5 para generar mutaciones y proyectar a futuro la aplicación de mutantes bacterianos en estudios de regulación de genes.

Por otro lado, permitió concretar la colaboración que tenemos con el grupo del Dr. Eduardo Santero, y las posibilidades de cooperación en futuros proyectos están abiertas.

En general, todos los trabajos acerca de xenobióticos usan biología molecular de alto nivel, describiendo procesos metabólicos bioquímica o genéticamente

Resultados adicionales

Describir los resultados obtenidos que no estaban contemplados inicialmente como por ejemplo: formación de una organización, incorporación de alguna tecnología, desarrollo de un proyecto, firma de un convenio, entre otros posibles.

Se consiguieron dos vectores para estudios transcripcionales de genes probados en *Pseudomonas*, con los cuales se está trabajando en laboratorio. Con ellos se posibilita estudio genéticos detallados en nuestra *Pseudomonas* y da facilidades de publicar un artículo en el tema.

Aplicabilidad

Explicar la situación actual del sector y/o temática en Chile (región), compararla con las tendencias y perspectivas presentadas en las actividades de la propuesta y explicar la posible incorporación de los conocimientos y/o tecnologías, en el corto, mediano o largo plazo, los procesos de adaptación necesarios, las zonas potenciales y los apoyos tanto técnicos como financieros necesarios para hacer posible su incorporación en nuestro país (región).

Como es el caso de simazina, el uso de este herbicida en Chile no está regulado. Nosotros estamos generando estudios de cómo facilitar la degradación de este compuesto en sistemas naturales, además de poseer datos que nos dan a conocer la vida media del compuesto en suelos contaminados.

Lo interesante para nuestro enfoque, es que, existen diferentes ejemplos acerca de regulación de genes aplicados a compuestos recalcitrantes. Los genes de degradación del estireno, cuyo operón catabólico es *PstyA*, es inducido por estireno y reprimido por fuentes preferenciales de carbono. Es decir, cuando la bacteria se encuentra fuentes ricas de carbono, como los es glucosa o derivados de esta, no es capaz de degradar el estireno. Lo mismo ocurre con la degradación de hidrocarburos (alcanos) mediante los genes *alk* descritos en *Pseudomonas putida*, es decir, fuentes preferenciales de carbono inhiben la expresión de la ruta para degradar compuestos de cadena ramificada como lo son los alcanos. Ambos sistemas de regulación son homólogos en comportamiento, a lo que ocurre con la degradación de policlorobifenilos, y a lo que ocurre en nuestro caso con la degradación de simazina. Es decir, el estudio sobre el uso de microorganismos utilizados para generar un producto o una aplicación industrial, requiere necesariamente incluir variables fisiológicas de la bacteria que evalúen posibles represores presentes en el sistema donde se va a aplicar el microorganismo. Si bien el estudio a nivel genético puede sustentar publicaciones en el área científica, en el área productiva no resultan imprescindibles si se consideran variables fisiológicas que pueden afectar, como ocurre en nuestro caso, los procesos de biorremediación.

Como se ha descrito anteriormente, para considerar una bacteria que degrade el compuesto *in situ*, es decir, en condiciones reales de campo, se deben considerar otras fuentes de nitrógeno presentes en suelo a remediar. La presencia de nitrógeno amoniacal, así como de nitrato, serían un efecto negativo para la expresión de genes de la bacteria, por lo que, bacterias que poseen este tipo de

regulación, descritos anteriormente, no serían efectivas para remediar suelos contaminados con el herbicida.

Los mismos principios pueden ser aplicados a discusiones sobre la degradación de muchos otros compuestos no biodegradables en corto tiempo, y que están o fueron usados en nuestro país.

Detección de nuevas oportunidades y aspectos que quedan por abordar

Señalar aquellas iniciativas que surgen como vías para realizar un aporte futuro para el rubro y/o temática en el marco de los objetivos iniciales de la propuesta, como por ejemplo la posibilidad de realizar nuevas actividades.

Indicar además, en función de los resultados obtenidos, los aspectos y vacíos tecnológicos que aún quedan por abordar para ampliar el desarrollo del rubro y/o temática.

Para nuestros efectos, el tema de estudios de degradación de herbicidas s-triazinas (simazina), se enmarca en un proyecto científico que actualmente está en fecha de término. Directamente asociado, se ve la posibilidad de publicar un artículo científico en una revista de impacto. Se está barajando la posibilidad de realizar una estancia de especialización en el laboratorio del Dr. Eduardo Santero para complementar y terminar estudios genéticos con el laboratorio del grupo en Sevilla, España con el que cooperamos. Dado que potencialmente podemos seguir realizando estudios de esta bacteria con fines de patentarla como producto, o bien seguir el estudio en otras bacterias aisladas desde suelos contaminados en Chile, y que están siendo estudiadas fisiológicamente en nuestro laboratorio.

De acuerdo a los resultados vistos en este congreso. Nuestros conocimientos están derivando a postular eficientemente, que estudios del uso de microorganismos en procesos aplicativos deben considerar aspectos de regulación génica deben ser involucrados en algunos procesos productivos de carácter biotecnológico. De manera de asegurar que funcionen eficientemente.

Dentro de un nivel más específico. Sin bien en nuestro laboratorio existen esfuerzos en abordar este tipo de variables, estamos aún en una etapa inicial. La creación de mutantes para estudios de este tipo parece ser una variable muy importante a considerar.

En consecuencia, este tipo de iniciativas (aportes FIA) es indispensable para favorecer la interacción con pares a nivel mundial, y generar políticas de colaboración con grupos que ayuden a mejorar la ciencia en Chile.

Durante este congreso, la compañía Sigma-Aldrich ha lanzado al mercado el sistema de creación de mutantes "Tarjetrón". Este es un sistema de creación de genes "knockout", que consiste en usar ingeniería genética basada en el grupo de intrones II de *Lactobacillus lactis*, los cuales, al igual que la mutagenesis convencional de transposones, inactiva genes por inserción. Esta tecnología, aún no presente en Chile, daría la posibilidad de que laboratorios con no demasiada infraestructura generen mutantes con una mayor facilidad, lo cual podría potenciar estudios genéticos, con fines aplicados.

4. ASPECTOS RELACIONADOS CON LA EJECUCIÓN DE LA PROPUESTA

Programa Actividades Realizadas

Nº	Fecha	Actividad	Iniciativa
1	27 al 31 de Agosto	Congreso	
2	02/09/2005	Visita al CNRS	
3	23/09/2003	Seminario difusión Universidad del Mar	
4	06/10/2005	Seminario Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.	
5	11/10/2005	Seminario Universidad Federico Santa María.	
6	15/10/2005	Envío informe a FIA	

Detallar las actividades realizadas en cada una de las Iniciativas, señalar y discutir las diferencias con la propuesta original, y rescatar lo más importante de cada una de ellas. Por ejemplo, en el caso de Giras discutir las actividades de cada visita; Becas, analizar las exposiciones más interesantes; Consultores, detallar el itinerario y comentarios del consultor; Eventos, resumir y analizar cada una de las exposiciones; y Documentos, analizar brevemente los contenidos de cada sección.

GIRAS

BECAS

Programa de Actividades

Sábado, Agosto 27
13.30 - 18.00: Inscripción
8.00 - 18.30: Reunión de apertura (Alain Filloux)
18.30 - 19.30: Lecturas claves Andrée LAZDUNSKI (CNRS, Marseille, France)
Domingo, Agosto 28
8.45 -12.45. Session 1: GENOMICS., Preside: Victor de LORENZO
12.45 - 14.00 Lunch & Postres
14.00-16.00. Session 2: TRANSPORT & SECRETION Preside: Alain FILLOUX
16.00 - 18.00:Pause & POSTER SESSION I
18.00-20.00. Session 3: CHEMOTAXIS & MOBILITY Preside: Reuben RAMPHAL
Lunes Agosto 29
8.45-12.45. Session 4: GLOBAL GENE REGULATION Preside: Andrée LAZDUNSKI
12.45 - 14.00: Lunch & Posters
14.00-16.00 Session 5: PHYSIOLOGY & METABOLIC VESATILITY



Preside: Juan Luis RAMOS

16.00 - 18.00: *Pause & POSTER SESSION II*

18.00-19.45. Session 6: GENETIC ADAPTATION Preside: Maia KIVISAAR

Martes, Agosto 30

8.45-12.45. Session 7: BIOFILMS & LIFESTYLES Preside: Soeren MOLIN

12.45 - 14.00: Lunch & Posters

14.00-16.00. Session 8: CYSTIC FIBROSIS Preside: Sophie de BENTZMANN

16.00 - 18.00: *Pause & POSTER SESSION III*

18.00-20.00. Session 9: ENZYMES Preside: Karl-Erich JAEGER

Miércoles Agosto 31

8.45-12.45. Session 10: HOST-BACTERIUM INTERACTIONS Preside: Carol BENDER

12.45 - 14.00: Lunch & Posters

14.00-16.00. Session 11: BACTERIAL CELL SURFACES Preside: Pierre CORNELIS

16.30 - 17.30: *CONCLUDING REMARKS*

17.30 *END OF MEETING*

Viernes 02 de Septiembre : Visita al Laboratorio de Microbiología Molecular dirigido por el Doctor Alain Filloux, en las instalaciones del CNRS en Marseille-Francia.

En general, todos los trabajos acerca de xenobióticos usan técnicas de biología molecular de alto nivel, describiendo procesos metabólicos a nivel bioquímico o genético.

Nuestros estudios se están reenfocando en considerar las condiciones discutidas anteriormente.

Algunos ejemplos de otras rutas en que la regulación está siendo estudiada

Los policlorobifenilos ó PCBs son compuestos sintéticos usados principalmente como refrigerantes y lubricantes en transformadores y otros equipos eléctricos. Sin embargo, como muchos compuestos sintéticos, son liberados al medioambiente como subproductos indeseados en la fabricación e incineración de sustancias químicas. El riesgo a la salud humana ha sido relacionado con disfunciones inmunitarias, neurológicas, reproductivas, alteraciones hormonales, del desarrollo, trastornos neuroconductuales y cáncer asociado con la presencia de estos compuestos en el tejido adiposo del afectado. Se ha descrito además que los PCBs puede atravesar la placenta materna, lo que hace que los organismos en desarrollo sean vulnerables. También pueden transferirse a través de la leche materna.

Los microorganismos poseen un gran potencial de degradación de la mayoría de los más de 209 congéneres conocidos. Por lo tanto, han sido y siguen siendo motivo de estudio para muchos científicos a nivel mundial.

En Chile el uso de los PCB está normada bajo el convenio de Estocolmo 2001, con el cual se restringe el uso y las emisiones de éstos al ambiente. Sin embargo, existe material guardado a esta fecha que necesita de un tratamiento para ser eliminado sin riesgo a la salud humana.

Los genes degradadores de compuestos bifenilos corresponden al operón bph. Una de las mejores bacterias descritas como degradadora de este tipo de

compuestos es la cepa Bulkolderia LB400. En este congreso el trabajo realizado por Ohtsubo y colaboradores, de la Universidad de Tohoku, Katahira, Sendai, demostraron que en *Pseudomonas* sp., antes acidovorax KKS102, la activación de promotor pE, responsable de la expresión de los genes bph, está bajo control catabólico, y es reprimido, por algunos ácidos orgánicos como succinato y acetato. Su regulación está basado en un sistema de regulación de dos componentes llamados BphP (sensor kinasa) y BphQ (regulador respuesta). Este estudio lo realizó usando doble mutantes BphP.

El caso del Estireno

La degradación del estireno en sistemas microbianos es de interés por dos razones. Es usado como un importante monómero en la fabricación de polímeros. El estireno ayuda a producir materiales plásticos utilizados en miles de productos que se caracterizan por su bajo peso, su flexibilidad y su extraordinaria resistencia. Sin embargo frecuentemente entra al ambiente natural. El estireno como tal, es tóxico para los sistemas vivos en bajas cantidades debido a los efectos relacionados a las membranas. Además los productos de degradación inmediata del estireno en el hígado humano, el óxido de estireno, son carcinogénicos. Los trabajos de Monney (National University of Ireland), y Leoni (University of Roma Tre) involucraron estudios de regulación de la ruta de degradación del estireno. Al igual que nuestro herbicida, y a los PCBs, nombrado anteriormente, el operón responsable de la degradación de metabolitos de estireno y del estireno en sí, están también regulados por un sistema de dos componentes llamado StySR, el cual funciona como activador transcripcional de genes en *Pseudomonas putida* CA-3. Este sistema funciona de manera similar a como funciona la regulación de los genes TodS y TutC para el catabolismo del tolueno en *Pseudomonas putida* F1 y en *Thauera* sp. Cepa T1, respectivamente.

Biosensores de contaminación

Un trabajo interesante de ser discutido en estos resultados, son aquellos dirigidos a la creación de vectores de expresión para ser usados en bacteria como bioindicadores de contaminación. Destaca el trabajo de de las Heras y Víctor de Lorenzo. Ellos, con lo que llaman "downstream engineering" crearon un vector derivado de Tn5 y Tn7 genes reporteros unidos a promotores conocidos que responden a un abanico de diferentes contaminantes aromáticos, e introducidos en *Pseudomonas putida*, son promovidos como bioindicadores. Hasta este punto, no existe novedad en el tema, pues diversos trabajos han tratado de generar biosensores ambientales de contaminación. La deferencia de éste, es que los vectores desarrollados son creados con secuencias Res, como flanqueantes a genes de selección, los cuales inicialmente son usados, pero que luego por recombinación se pierden y queda un vector no transmisible que potencialmente da mucha seguridad para usarlo en suelo, disminuyendo ampliamente el riesgo de usar organismos genéticamente modificados en sistemas naturales.

Los trabajos de Monney (National University of Ireland), y Van der Meer (University of Lausane, Switzerland) involucraron desarrollo de biosensores de compuestos contaminantes mediante estrategias de modificación de promotores para que



respondan a espectros más amplios de contaminantes.

Este punto puede ser complementado con los resultados. Como está dicho en aquella sección. Lo interesante para nuestro enfoque, es que el estudio sobre el uso de microorganismos utilizados para generar un producto o una aplicación industrial, requiere necesariamente incluir variables fisiológicas de la bacteria que evalúen posibles represores presentes en el sistema donde se va a aplicar el microorganismo.

CONSULTORES

EVENTOS

DOCUMENTOS

Se incluyen los siguientes documentos

1. Fotocopia de nuestro resumen presentado en el congreso.
2. Fotocopias del sistema de generación de genes knockout, Sigma , Aldrich, USA.
3. Copia en formato digital (powerpoint) de las actividades de difusión.



Contactos Establecidos

Presentar los antecedentes de los contactos establecidos durante el desarrollo de la propuesta (profesionales, investigadores, empresas, etc.), de acuerdo al siguiente cuadro:

Institución Empresa Organización	Persona de Contacto	Cargo	Fono/Fax	Dirección	E-mail
CABD Centro Andaluz de Biología del Desarrollo	Francisca Reyes Ramirez	Investigador	Fono: +34 95 4348917 Fax: +34 95 4349376	Carretera de Utrera, Km.1 41013 Sevilla	freyra m@up o.es
CNRS Centre Nationale Recherche Scientifique	Dr. Alain Filloux	Jefe grupo de genética	Fax : 33 4 91 71 21 24	31 Chemin Joseph Aiguier, 13402 Marseille Cedex 20 Francia	filloux @ibsm. cnrs- mrs.fr
GBF	Howard Junca	Microbiologi st, PhD in Biological Sciences Investigador		Mascherode r Weg 1, 38124, Braunschwei g, Alemania	haj@g bf.de

Material elaborado y/o recopilado

Entregar un listado del material elaborado, recibido y/o entregado en el marco de la propuesta. Se debe entregar adjunto al informe un set de todo el material escrito y audiovisual, ordenado de acuerdo al cuadro que se presenta a continuación.

También se deben adjuntar fotografías correspondientes a la actividad desarrollada. El material se debe adjuntar en forma impresa y en un medio electrónico (disquet o disco compacto).

Elaborado

Tipo de material	Nombre o identificación	Preparado por	Cantidad
Poster		P.Villalobos	1
Fichas de presentación de seminarios		P.Villalobos	15
Invitaciones		P.Villalobos	15



Recopilado

Tipo de Material	Nº Correlativo (si es necesario)	Caracterización (título)
Artículo		Lámina de poster, fotocopia de resumen Fotocopias Targetrón
Foto		
Libro		Resumen congreso
Diapositiva		
CD		

Programa de difusión de la actividad

En esta sección se deben describir las actividades de difusión de la actividad, adjuntando el material preparado y/o distribuido para tal efecto.

En la realización de estas actividades, se deberán seguir los lineamientos que establece el "Instructivo de Difusión y Publicaciones" de FIA, que le será entregado junto con el instructivo y formato para la elaboración del informe técnico.

Las actividades de difusión, correspondieron a seminarios expositivos pronosticados a media hora de presentación, en el que inicialmente se relataba acerca de los aportes de la Fundación para la Innovación Agraria FIA, los objetivos de esta entidad, así como su página web. Posteriormente se hablaba del trabajo presentado en el congreso, y se discutían algunos ejemplos de otros trabajos que incluyeron estudios de compuestos tóxicos, así como los beneficios de la asistencia a eventos de esta naturaleza.

El grado de efectividad de la convocatoria se detalla en el próximo ítem. Por lo general la asistencia a exposición de trabajos científicos es siempre baja, en especial en la Universidad Federico Santa María que no tiene un enfoque biológico. Se coordinó con personal a cargo de cursos para asegurar una asistencia mínima. Las fechas para cada seminario, son las que a continuación se detallan:

23/09/2003 Seminario difusión Universidad del Mar

06/10/2005 Seminario Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

11/11/2005 Seminario Universidad Federico Santa María.



5. PARTICIPANTES DE LA PROPUESTA

GIRAS, BECAS: Ficha de Participantes

CONSULTORES: Ficha de(l) Consultor(es)

EVENTOS: Ficha de Expositores y Organizadores

DOCUMENTOS: Ficha de Autores y Editores

Nombre	
Apellido Paterno	
Apellido Materno	
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	
Fono y Fax	
E-mail	
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	



Participantes en actividades de difusión

Es necesario registrar los antecedentes de todos los asistentes que participaron en las actividades de difusión. El listado de asistentes a cualquier actividad deberá al menos contener la siguiente información:

Nombre	
Apellido Paterno	
Apellido Materno	
RUT Personal	
Dirección, Comuna y Región	
Fono y Fax	
E-mail	
Nombre de la organización, empresa o institución donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor	
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor	
Cargo o actividad que desarrolla	
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja	

6. EVALUACIÓN DE LA PROPUESTA

Evaluación de la actividad para cada INICIATIVA

En esta sección se debe evaluar la actividad en cuanto a los siguientes ítems:

a) Efectividad de la convocatoria (cuando corresponda)

De acuerdo a nuestra experiencia universitaria, las convocatorias a seminarios son de muy poca asistencia sobre todo en provincia. Un claro ejemplo, esta vez lo constituye el seminario ofrecido a la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, en que se aprovecho la convocatoria interna del programa de Doctorado, el cual tiene la norma de carácter obligatorio. A pesar, y de que en la escuela en que se ofreció imparte los postgrados de Magister en Bioquímica y Doctorado en Ciencias químicas, la asistencia fue baja.

La mejor convocatoria fue recibida en la Escuela de Agronomía de la Universidad del mar, que por cooperación de la jefa de carrera de Agronomía, la Srta. Rosa Arancibia, se logro la participación del curso de último año de Agronomía.

b) Grado de participación de los asistentes (interés, nivel de consultas, dudas, etc)

La complejidad del tema no siempre gatilla una gran participación. No obstante aquello, en nuestro caso, el grado de participación mostrado por la Universidad del Mar, fue muy amplio. Había bastante interés en los participantes, dirigiendo dudas a saber como guiar un trabajo así. Desde este punto de vista, esto es bastante acogido, pues indica que los profesionales jóvenes tienen inquietudes en ir más allá, en aprender y aplicar los conceptos teóricos que escuchan.

Menos preguntas, y más dirigidas a la parte genética fueron recibidas en la PUCV. Con mucho menor grado de participación se observó en la Universidad Federico Santa María. Quizás esto puede ser explicado, en parte, porque esta Universidad está dirigiendo recientemente sus enfoques a la parte Biológica, cuyo interés tradicional es el de las ciencias de la ingeniería.

c) Nivel de conocimientos adquiridos por los participantes, en función de lo esperado (se debe indicar si la actividad contaba con algún mecanismo para medir este punto y entregar una copia de los instrumentos de evaluación aplicados)

Los tres seminarios fueron dados para un tiempo promedio de exposición de treinta minutos, utilizando imágenes digitales proyectadas desde un computador. Pero la modalidad fue dialogar y responder las dudas en forma inmediata, para favorecer la comprensión del tema.

Esto hacía que las dudas no permanecieran, por lo que podría entenderse que el mensaje fue aceptado y aprendido. Directamente no hubo un mecanismo de evaluación preimpuesto.

**d) Problemas presentados y sugerencias para mejorarlos en el futuro
(incumplimiento de horarios, deserción de participantes, incumplimiento del programa, otros)**

En un principio, y como está escrito en la propuesta inicial, se había planificado el seminario en la Universidad Federico Santa María para las fechas el 28 de septiembre. Éste debió ser aplazado por fuerza mayor. En La Universidad Santa María, ocurrieron problemas de protestas y toma de sede por parte del alumnado, por temas internos derivados de las reelecciones de rector. Finalmente este seminario, fue coordinado con la Dra. y Profesora Lorna Guerrero del Departamento de Procesos Químicos. La fecha fue postergada posterior al Congreso Nacional de Microbiología, realizado en Pucón, en el cual participamos los días 13 al 16 de Octubre, por lo cual el seminario fue realizado finalmente el 11 de Noviembre del 2005.

Aspectos relacionados con la postulación al programa de Captura y Difusión

a) Información recibida por parte de FIA para realizar la postulación

☒ amplia y detallada ☐ aceptable ☐ deficiente

Justificar:

b) Sistema de postulación al Programa de Formación o Promoción (según corresponda)

☒ adecuado ☐ aceptable ☐ deficiente

Justificar:

c) Apoyo de FIA en la realización de los trámites de viaje internacionales (pasajes, seguros, otros) (sólo cuando corresponda)

☒ bueno ☐ regular ☐ malo

Justificar:

d) Recomendaciones (señalar aquellas recomendaciones que puedan aportar a mejorar los aspectos administrativos antes indicados)

En términos críticos, esta es la primera experiencia de proyectos FIA, y limitado sólo a la asistencia de congresos. En consecuencia, nuestras sugerencias podría llevar un sesgo indeseado. Bajo esta premisa, podrían someterse a discusión dos puntos:

- Por un lado, en algunos momentos resulta inapropiado pedir identificación detallada a los participantes del seminario, de acuerdo al esquema FIA.
- El llenado de todos los puntos del informe, podría ser sobredimensionados cuando se trata de fondos para asistencia a congresos cuando el objetivo inicial, de una actividad como esta es promover los resultados obtenidos.

7. Conclusiones Finales de la Propuesta Completa

En el caso de Giras Tecnológicas, en lo posible presentar conclusiones individuales por participante.

Diferentes procesos industriales incluyen la producción de compuestos no biodegradables en el ambiente. Una de las herramientas naturales ofrecidas por la naturaleza son los microorganismos. Nosotros aislamos, desde estos cultivos agrícolas tratados con simazina, la cepa *Pseudomonas* sp. P41. Esta cepa posee relevantes cualidades para degradar el compuesto. Durante nuestros estudios descubrimos que fenómenos de regulación de genes son indispensables de estudiar si se quiere usar estos microorganismos como biorremediadores. Nuestra experiencia indica que estudios de fisiología, y si es posible, la comprobación de éstos a través de estudios génicos y sus reguladores, es indispensable para proponer responsablemente microorganismos para aplicaciones biotecnológicas.

Diferentes otros ejemplos de degradación de compuestos confirman estos antecedentes. Casos como el estireno, policlorobifenilos, alcanos, entre otros, confirman estos antecedentes.

La asistencia a congresos, no sólo permite presentar nuestros trabajos a instancias internacionales, sino que también favorece el enriquecimiento de conocimientos frente a un área específica de trabajo. De esta forma permite potenciar la nivelación de trabajos científicos con pares más adelantados en el sector que se trabaja. Aportes como los que realiza el Fondo de Innovación Agraria-Gobierno de Chile, son indispensables para favorecer el acceso a información por parte de grupos que está trabajando en procesos dirigidos a la Biotecnología en Chile y las ciencias en general.

En nuestro caso, este congreso, *Pseudomonas* 2005, ha enriquecido nuestros conocimientos en cuanto a mejorar aspectos del estudio de la aplicabilidad de *Pseudomonas* P41 en vías de remediar suelos tratados con simazina. El exceso de nitrógeno preferencial estaría inhibiendo la expresión de los genes de vía inferior de la degradación de simazina. Estos resultados serán reconfirmados a través de la creación de fusiones transcripcionales y posteriormente realizaremos ensayos en microcosmos con suelos reales traídos desde el campo.

Nuestra interacción con pares en el congreso, favoreció nuestro entendimiento del tema. Además se consiguieron materiales genéticos, para continuar nuestros estudios y se generaron contactos que pueden ser potenciales colaboradores en futuros proyectos científicos en el área.

INFORME FINANCIERO

Institución Ejecutante

Universidad Técnica Federico Santa María

Nombre del Programa

Pseudomonas 2005 - 10th International Congress - Marseille, France

Código

FIA-CD-V-2005-1-A-073

Nº del Informe

Periodo Cubierto

Desde

26-Ago-2005

Hasta

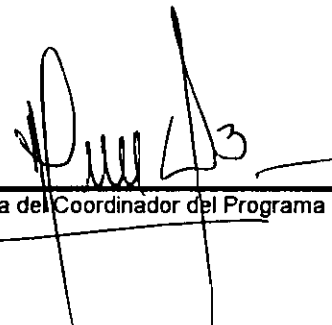
05-Sep-2005

Fecha de Presentación

Noviembre 17, 2005

Coordinador Programa

Patricio Villalobos biaggini


Firma del Coordinador del Programa

Uso Interno FIA

Fecha de Presentación

NOV. 24-2005.

Item	Aporte FIA		Aporte Contraparte		Total		Saldo	Variación
	Programado 25 - 08 al 08-10 de 2005	Real 25 - 08 al 08-10 de 2005	Programado 25 - 08 al 08-10 de 2005	Real 25 - 08 al 08-10 de 2005	Programado 25 - 08 al 08-10 de 2005	Gasto 25 - 08 al 08-10 de 2005		
Pasajes Aéreo Internacionales	782.388	837.286	-	0	782.388	837.286	(54.900)	-7.02%
Tasas de Embarque	128.620	128.620	-	0	128.620	128.620	-	0.00%
Seguro de Viaje	57.684	57.684	-	0	57.684	57.684	-	0.00%
Pasajes Terrestres Internacionales	35.000	53.340	-	0	35.000	53.340	(18.340)	-52.40%
Pasajes Terrestres Nacionales	8.400	11.350	-	0	8.400	11.350	(4.950)	-77.34%
Alojamiento	-	0	384.000	424.900	384.000	424.900	(60.900)	-16.73%
Viaje de Alimentación y Movilización	-	0	217.000	151.368	217.000	151.368	65.632	30.25%
Matrícula o Costo de la Actividad de Formación	161.000	161.000	-	0	161.000	161.000	-	0.00%
Materiales de Trabajo y Libros	-	0	28.000	33.300	28.000	33.300	(5.300)	-18.93%
Gastos Emisión de Garantía	-	0	12.728	12.728	12.728	12.728	-	0.00%
TOTALES \$	1.171.070	1.249.260	621.728	622.296	1.792.798	1.871.556	(78.758)	0

Aportes

FIA	1.171.070
Contraparte	622.296
Total	1.793.366

Gastos Rendidos

FIA	1.249.260
Contraparte	622.296
Total	1.871.556

Gastos Aceptados

FIA	(1.249.260)
Contraparte	3.120.816
Total	1.871.556

Situación Fondos Comprometidos

Costo Total de la Gira	\$ 1.871.556
Compra Pasajes Seguros y Tasas	\$ 57.684
Aporte Efectivo al Ejecutor	\$ 1.113.408
Total Entregado al Ejecutor	\$ 1.171.070
Total Gastos Efectivos FIA	\$ 1.249.260

Aporte Entregado al Ejecutor	\$ 1.171.070
Gasto Máximo FIA Aceptado	\$ 1.249.260
Saldo a Favor del FIA	(\$ 78.190)
Devolución del Ejecutor	\$ 0
Saldo Final \$	(\$ 78.190)

• Máximo Rendido por Ejecutor

DETALLE GASTOS APORTES FIA						
Item Gasto por item	Detalle	Fecha	Nº Comprobante	Monto Moneda Extranjera	Tipo de Cambio	Monto en \$ Chilenos
Pasajes Aereos Internacionales	Santiago Marseille-Santiago	25/08/2005	F 13330 (1)			837.286
Tasa de Embarque	Tasa de embarque	27/08/2005	F 13330 (1)			128.620
Matricula o costo de la Actividad de Formación	Inscripción	27/08/2005	hoja 2	230	700	161.000
Pasajes terrestres nacionales	Valparaiso-Aeropuerto x buses	25/08/2005	hoja 3			4.100
Pasajes terrestres nacionales	Aeropuerto-Valparaiso por auto	07/09/2005	hoja 3			7.250
Seguro Viaje	Seguro	25/08/2005	Poder de FIA			57.664
Masajes terrestres Internacionales	Aeropuertos Marseille	26/08 y 05/09	Hoja 4, 5 y 6	17	700	11.900
	Aeropuestos Paris	05 y 06/09	Hoja 4, 5 y 6	11	700	7.700
	Movilización Marseille	26/08 al 05/09	Hoja 4, 5 y 6	48,2	700	33.740
TOTALS:						1.249.260



RECIBO SIMPLE

Yo, Patricio Villalobos biaggini, RUT N° 10714835-3

recibí de Universidad Federico Santa María, Entidad Responsable de la

propuesta Código FIA-CD-V-2005-1-A-073, la suma de \$ 581,000

por concepto de viáticos (alimentación y traslados menores) entre las siguientes fecha:

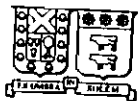
26/08/2005 al 06/09/2005

Firma receptor : _____

RUT: _____

V°B° y Timbre Entidad Responsable: _____

Fecha : noviembre 25/2005



RECIBO
COMPROBANTE INTERNO

\$ 581.000

He recibido de la Universidad Técnica Federico Santa María la suma de Quinientos ochenta y un mil pesos en cheque/ efectivo.

Cancela lo siguiente: Viático a Francia para participar en el Congreso Internacional Pseudomonas 2005 a realizase entre el 26 de Agosto y 1 de Sept/05 para presentar trabajo de investigación. Proy. de Investigación Access N° ICA4-2002-10011 , que dirige: Michael Seeger, del departamento de Química
Documento Adjunto: No Hay.

DGIP-Dinv-181/2005

CONTABILIZACION	
Débito	Crédito

Patricio Villalobos

Nombre y Firma

Dr. Eugenio González V. DGIP		
Cta. Presupuestaria 53.35.01	Jefe Presupuesto	Dirección de Finanzas

VALPARAISO, Agosto 24, 2005

ITEM

Matrícula

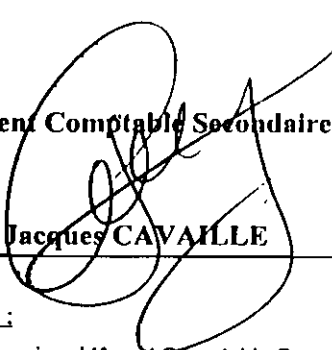


31 Chemin Joseph Aiguier
13402 MARSEILLE Cedex 20
Dossier suivi par : S Terzian et M H Meissel
Tél : 04 91 16 45 10 Fax : 04 91 16 42 16
mail: sylvie.terzian@dr12.cnrs.fr
et marie-helene.meissel@dr12.cnrs.fr

VILLALOBOS BIAGGINI Patricio
Universidad tecnica Federico
Santa Maria
Avda Espana 1680
0
Valparaiso
CHILE

Votre reference: 0

FACTURE ACQUITTEE N° 411 / 9K3005
PSEUDOMONAS 2005 DU 27 AU 31 AOUT 2005

Désignation	Taux TVA	Quantité	Prix Unitaire	Montant H.T.
STUDENT : Frais d'inscription comprenant 4 déjeuners VILLALOBOS BIAGGINI Patricio	1	1	192,31	192,31
Acquittée par : CARTE VISA l'Agent Comptable Secondaire  Jacques CAVAILLE	Total Net HT			192,31
	TVA taux 1 = 19,6%			37,69
	TVA taux 2 = 5,5%			
	TVA taux E = exonérée			
	TOTAL TTC			230,00 EUR

Conditions de paiement :

Payable à réception à Monsieur L'Agent Comptable Secondaire du CNRS
31 Chemin Joseph Aiguier - 13402 Marseille cedex 20
Par chèque bancaire ou postal à son ordre ou par virement bancaire :
Marseille : 10071 - 13000 - 00001005445 clé 05

L'établissement n'accorde pas d'Escompte.

Le CNRS est assujéti à la TVA sur les débits

Numéro d'identification TVA : FR 40 180 089 013

Code RET 180 089 013 01724 - APE 731Z

PSEUDOMONAS 2005



10th INTERNATIONAL CONGRESS ON PSEUDOMONAS

A multidisciplinary exploration of current Pseudomonas Research

Palais des Congrès - Marseille
France - August 27-31, 2005

Marseille, August 18th, 2005

CERTIFICATE OF ATTENDANCE

The Organizing Committee certifies that

Mr. Patricio VILLALOBOS BIAGGINI

attended the 10th International Congress on Pseudomonas which took place
in Marseille (France) from August 27 to 31, 2005.

Alain Filloux

ITEM

Pasajes Aéreos Internacionales
Tasas de embarque

turismo forestier
LIMITADA

GIRO: AGENCIA DE VIAJES
BELLAVISTA 409 - FONOS 211024 - 747074
FAX 32-211024 VALPARAISO
e-Mail: forestie@tie.cl

R.U.T.: 89.036.700-3
FACTURA

Nº 13330

S.I.I. VALPARAISO

Valparaíso, 19 de AGOSTO de 2005

Señor(es): UNIVERSIDAD TECNICA FEDERICO SANTA MARIA RUT: 81.668.700 -4

Dirección: AVDA. ESPAÑA 1680 Ciudad: VALPARAISO.

a: TURISMO FORESTIER LIMITADA

Por lo siguiente enviado por

Pagadero: Rol: Nº P.UNITARIO TOTAL

VALOR CORRESPONDIENTE A PAGO DE PASAJE
EN LA RUTA SANTIAGO/PARIS/MARSEILLE/
PARIS/SANTIAGO. VIA AIR FRANCE.
A FAVOR DEL PASAJERO:

PATRICIO VILLALOBOS.

POR	\$ 837.286.-
MAS TAXS.	\$ 121.682.-
MAS TASA SERVICIO AGENCIA Y SEGURO	\$ 5.830.-
SUB TOTAL AFECTO	\$ 5.830.-
19% IVA	\$ 1.108.-
TOTAL AFECTO	\$ 6.938.-

TOTAL DOCUMENTO

\$ 965.906.-

SON: NOVECIENTOS SESENTA Y CINCO MIL
NOVECIENTOS SEIS PESOS.-

965.906.-

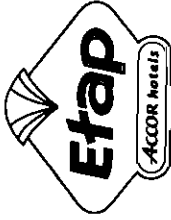
TOTAL \$

ITEM

Viáticos

Alojamiento y comidas

Hotel : 2136
ET MARSEILLE Prado
35 BOULEVARD RABATAU
13008 MARSEILLE France



Réservation Automatique - 24h/24 - 7 jours/7
Internet : www.etaphotel.com
Tél. : 0 892 688 900 (0,34 € TTC/min)
Minitel : 3615 ETAP (0,20 € TTC/min)
Tel: 08 92 68 31 86 Fax: 33 (0)4 91 25 49 88 Email:

Duplicata facture N° : 44 884
Date d'émission : 26/08/05 18:30:00
N/Ref : 35 759 - mn

M. Patricio BIAGGINI
Arrhes : 0,00 EURO

Réservation N° 114541 Du : 26/08/05 Midi Au : 28/08/2005 Midi
Vous avez réglé : 2 nuitée(s) au total

Date	Prestation	Qté	PU HT	PU TTC	Cde Tarif	Cde Tva	Total HT	Total TTC
26/08/05	Taxe Séjour	2	0,30	0,30	N	S	0,60	0,60
	Standard 2P No202	1	45,50	48,00	N	C	45,50	48,00
	Petits déj	2	3,34	4,00	N	R	6,69	8,00
27/08/05	Taxe Séjour	2	0,30	0,30	N	S	0,60	0,60
	Standard 2P No202	1	45,50	48,00	N	C	45,50	48,00
	Petits déj	2	3,34	4,00	N	R	6,69	8,00

Mode de règlement :	Montant :
Espèce	113,20

Prix nets
0% d'escompte

Base HT	TVA	Taux TVA	Total TVA
1,20	S	0.00%	0,00
91,00	C	5.50%	5,00
13,38	R	19.60%	2,62
	A	33.00%	

GESTAL SAS
Siège social : 6/8 rue du Bois Briard
91080 COURCOURONNES
Capital : 148.400 €
RCS : 350-052-388
N° NAF : 741 J
TVA intra communautaire n° : FR 09 350 052 338
Classification tourisme : 0
N° d'habilitation tourisme :
Le gérant de l'hôtel vous souhaite la bienvenue



Nous n'accordons pas d'escompte en cas de règlement anticipé

TICKET CARTE DE PAIEMENT

N° de chambre :

Occupant

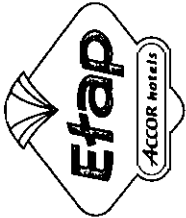
Du

Nb de Nuits

Petits Déjeuners

N° de code

Réservation & Information
www.etaphotel.com



Hotel : 2136
ET MARSEILLE Prado
35 NBOULEVARD RABATAU
13008 MARSEILLE France

Réservation Automatique - 24h/24 - 7 jours/7
Internet : www.etaphotel.com
Tél : 0 892 688 900 (0,34 € TTC/min)
Minitel : 3615 ETAP (0,20 € TTC/min)

Tel: 08 92 68 31 86 Fax: 33 (0)4 91 25 49 88 Email:

Facture N°: 44 902

Date d'émission : 04/09/05 19:31:21

N/Ref: 35 759 - mn

Arrhes : 0,00 EURO

M. Patricio BIAGGINI

Réservation N° 114541 Du: 26/08/05 Se : 04/09/05 Midi

Vous avez réglé : 7 nuitée(S) au total

Date	Prestation	Qtié	PUHT	PUTTC	Cde	Tarif	Cde	Tva	Total HT	Total TTC
28/08/05	Taxe Séjour	2	0,30	0,30	N	S		0,6	0,6	0,6
	Standard 2P N°202	1	45,50	48,00	N	C		45,50	48,00	48,00
	Déjeuner (Dîner)	1	3,34	4,00	N	R		6,69	8,00	8,00
29/08/05	Taxe Séjour	2	0,30	0,30	N	S		0,6	0,6	0,6
	Standard 2P N°202	1	45,50	48,00	N	C		45,50	48,00	48,00
	Déjeuner	1	3,34	4,00	N	R		6,69	8,00	8,00
30/08/05	Taxe Séjour	2	0,30	0,30	N	S		0,6	0,6	0,6
	Standard 2P N°202	1	45,50	48,00	N	C		45,50	48,00	48,00
	Déjeuner	1	3,34	4,00	N	R		6,69	8,00	8,00
31/08/05	Taxe Séjour	2	0,30	0,30	N	S		0,6	0,6	0,6
	Standard 2P N°202	1	45,50	48,00	N	C		45,50	48,00	48,00
	Déjeuner	1	3,34	4,00	N	R		6,69	8,00	8,00
01/09/05	Taxe Séjour	2	0,30	0,30	N	S		0,6	0,6	0,6
	Standard 2P N°202	1	45,50	48,00	N	C		45,50	48,00	48,00
	Déjeuner	1	3,34	4,00	N	R		6,69	8,00	8,00
02/09/0	Taxe Séjour	2	0,30	0,30	N	S		0,6	0,6	0,6
	Standard 2P N°202	1	45,50	48,00	N	C		45,50	48,00	48,00
	Déjeuner	1	3,34	4,00	N	R		6,69	8,00	8,00
03/09/05	Taxe Séjour	2	0,30	0,30	N	S		0,6	0,6	0,6
	Standard 2P N°202	1	45,50	48,00	N	C		45,50	48,00	48,00
	Déjeuner	1	3,34	4,00	N	R		6,69	8,00	8,00
04/05/09	Taxe Séjour	2	0,30	0,30	N	S		0,6	0,6	0,6
	Standard 2P N°202	1	45,50	48,00	N	C		45,50	48,00	48,00
	Déjeuner	1	3,34	4,00	N	R		6,69	8,00	8,00

Mode de règlement :	Montant :
Espece	452,8

GESTAL SAS
Siège social : 6/8 rue du Bois Briard
91080 COURCOURONNES
Capital : 148.400 €
RCS : 330-052-388
N°NAF : 741 J
TVA intra communautaire n° : FR 09 350 052 338
Classification tourisme : 0
N° d'habilitation tourisme :
Le gérant de l'hôtel vous souhaite la bienvenue

Total TTC EURO 452,80
Total TTC FF 2970,16

Montant réglé : 452,8

Signature :



Nous n'accordons pas de crédit anticipé

TICKET CARTE DE PAIEMENT

Réservation & Information
www.etaphotel.com

FACTURE N°

16

SARL HOTEL BRISTOL NORD

M PATRICIO 2, rue de Dunkerque - 75010 PARIS 10^e DOIT

VILLALOBOS

Tél : 01 46 07 90 24

Fax : 01 40 37 51 58

PAYABLE A

TVA FR 92 348 295 890 - SIRET 348 295 890 00019

le 5/09 2005

€

EXACOMPTA

1 Nuit

Regle en espce

41€

20

Table 10

1 Pression.	8€ 30
1 Sour	8€
1 Fondant chocolat.	3€ 50
	13€ 80

LE NEGRESKO

SNACK - RESTAURANT
SALON DE THE
☎ 04 91 227 103

 **The Red Line**

COMERCIAL EA'S LTDA.
 RUT.: 77.340.760 - 8
 Confitería - Cigarrillos
 Helados - Bebidas - Conservas
 Vinos y Licores
 Artículos Fines para Regalo
 C. Matriz: Aeropuerto A. Merino
 Benítez s/Nº - Locales 338 - 339
 Fonos: 690 1418 - 690 1086
 Salón Internacional - Pudahuel
 Sucursal 1: Aeropuerto A. Merino
 Benítez - Local C 34
 Fono: 690 1329
 Salón Internacional - Pudahuel
 Sucursal 2: Aeropuerto A. Merino
 Benítez - Local C 108 A y B
 Fono: 690 1343
 Salón Internacional - Pudahuel

Nº 285283

DIA	MES	ANO
25	8	05
Boleta de Ventas y Servicios		
\$ 490		

Imp. Magosa Limitada
 IF.: 7371345, RUT.: 77.681.460-2
 Lustra 1324 - 1366 - Indep.
 DUPLICADO - CLIENTE

ZOUAGHI CACHER

2A BOULEVARD LATIL
 13008 MARSEILLE

TIC# 3359 BALANCE# 1 ST
 EMP. # 2 ALAIN
 26.08.05 (UE.) 7:26

kg	EUR / kg	EUR
----	----------	-----

HALLUT PAIN DE CHABAT
 3 X 1.50 4.50

TOTAL 4.50
 1 PIECES (29.52 F)

MERCI DE VOTRE VISITE
 A BIENTOT
 TEL : 04-91-80-01-20

MISTIGRIFF



TERVANO MARSEILLE
 314-330, avenue du Prado
 Marseille
 13008
 France
 04.91.32.62.00
 27/08/05 13:40:12
 Bonjour

Prix en Euros

BROSSE A DENT
 39807\1 X 1 = 1.99 E

TOTAL 1,99 E
 TVA 19,60% 0,33 E

Espèces 2,00 E
 RENDU -0,01 E

Merci de votre fidélité. A bientôt.

00775:000212338 MA004
 1 PCE, *

ANIMATION GLE
 1120 BATHENE
 MARSEILLE
 TEL: 01.91. 9.87

13€ 60

LE PETIT PLAT

285, AVENUE DU PRADO
13008 MARSEILLE
tel: 04.91.79.44.71
SIRET: RCS B 428 664 296

mercredi 31 août 2005

Table: 330

QTE	ARTICLE	PRI
1	MENU DU JOUR	9,50
1	PLAT DU JOUR	8,50
1	PANACHE	2,60
1	CAFE	1,60

Total: 22,20 E

Soit en Franc: 145,62 F

Dont TVA: 3,64 E

Nombre de couvert: 2

19,6: 19,60 7 3,64 E 18,56 E

Merci de votre visite

A bientôt...

CAFE MAULIO BAR-RESTAURANT-SNACK-LOTO

1, AV. DU PRADO
13006 MARSEILLE
04.91.79.68.27.

VENDEUR 1

1	SCHWEPES	2.80
1	ORANGINA	2.80

TOTAL 5.60

TVA 19.6	0.92	
ESPECE		5.60

MERCREDI
31-10-2005 12:43:34 CAI 2 1A NOTE 81

MERCI DE VOTRE VISITE

BRASSERIE L'ANNEXE

38 A, Place Friars
13001 MARSEILLE
TEL 04-91-33-07 25
Siret 443 988 159

mercredi 31 août 2005

Table: 1

QTE	ARTICLE	PRIX
1	Repas complet	19,50 E

TOTAL : 19,50 E

IVA: 19,60 % 3,20 F

Merci de votre visite
A bientôt...

FACTURE N° 12

M

DOI'

GHOMMRASSEN
Restaurant - Pâtisserie

Salon de Thé

PAYABLE A 21, Bd Dugommier - 13001 MARSEILLE
Tel : 91 66 10 02

le 21/09 2005

EXACOMPTA			Repas Comple	18.50 22.50	€
-----------	--	--	-----------------	----------------	---

LA CUISINE AU BEURRE
72 QUAI DU PORT
13000 MARSEILLE
TEL 04 91 91 63

REG 04-09-20

MOULES	TI	12.40
MOULES	TI	12.40
VIN	TI	15.00
	X	
		1.00
	TI	4.00
APERITIF	TI	3.00
APERITIF	TI	3.30
BOISS CH	TI	1.80
BOISS CH	TI	1.80
HORS TAXE		45.74
TVA 1		8.96
ESPECES		54.70

LE SUFFREN

31, Quai des Belges
13001 MARSEILLE
TEL: 04.91.333.666-FAX: 04.91.716.084
RCS: B 343 206 983 00 29

dimanche 4 septembre 2005

Table :
Garçon: FRANCOIS
Heure: 16:29:09

QTE	ARTICLE	PRIX
1	COCA	3.10 E
TOTAL : 3,10 E		

Dont TVA : 0,51 E

TVA: 19,60 % 0,51 E

1 ESPECES

3,10 E

Total règlement : 3,10 E

les chèques ne sont plus acceptés
Merci de votre visite
A bientôt...

LA TERRASSE
Brasserie - Restaurant
 66, Quai du Port - 13002 Marseille
 Tél: 04 91 90 70 09
 RCS MARSEILLE B 413 819 988

Date : 04/09/2005 - 17:06
 Ticket n° : 66

Qté	Désignation	Prix
2	CAFE	3.60
1	SODAS	3.50
1	SUPL. SIROP	0.40
NET TTC EUR		7.50
H.T. 6.27 x TVA à 19,60 % =		1.23

Espèces 7.50
 Service : LIONEL
 MERCI DE VOTRE VISITE
 A BIENTOT

PUB L'OMALLEYS
 9 QUAI DE RIVE NOUVE - VIEUX PORT
 13007 MARSEILLE

PUB L'OMALLEYS
 9 QUAI DE RIVE NOUVE
 13007 MARSEILLE
 TEL : 04 91 33 6 550

04/09/2005 17:06 66 66

04/09/2005

PUB L'OMALLEYS 1.00
 04/09/2005 17:06 66 66
 04/09/2005 17:06 66 66

04/09/2005 17:06 66 66
 04/09/2005 17:06 66 66
 04/09/2005 17:06 66 66

04/09/2005 17:06 66 66

04/09/2005 17:06 66 66

BUFFALO GRILL

 * S. A. LECURUEUX *
 * 9 BOULEVARD DE DEMAIN *
 * TEL 01.40.16.47.81 *
 * RCS PARIS B 692 027162 *

Table 104 Le 05/09/05
 Serveur 02 1 couvert
 PLAT QTE P.U. MONTANT
 PONY EXPRESS BISON
 1 9,00 9,00
 PRESSION 25 CL
 1 3,40 3,40

CAFE GOURMAND
 1 0,00 0,00

TOTAL A PAYER: 12,40
 dont TVA 19,60% 2,40
 dont service 1,43
 ticket numero M-0000051
 *** MERCI, AU REVOIR ***

Brasserie Le COQ
 2 Place Du Trocadero
 75116 Paris
 Reservation au 01.47.27.83.52
 Service Continu

KOUMAR B.

2 CHARLIS TOLL 12.00

HT	Serv. Compris	TVA	TTC
TVA 19.6%	10.03	1.97	12.00
Dont Serv:	1.31		

TOTAL 12.00
 ESPECES 12.00

LUNDI 05-09-2005 18:32:16
 Gle 6-Serveur: 6-CAISSE 1-000003/1

Prix Nets En Euros
 Sur Le H
 STRET EN COURS

AUTOGRILL CAFES DEBOUT AEROPORT MARSEILLE PROVENCE TEL : 04.42.10.29.80

VERONIQUE

VITTEL 50 CL VAE 2.50
 BROWNIE VAE 2.20

TOTAL Euro 4.70
 30.83 Frs

TVA 5.50%	HT	TVA	TTC
	4.45	0.25	4.70
	29.19Frs	1.64Frs	30.83Frs

REGLEM. EURO 4.70

LUNDI
 05-09-2005 09:24:54 CRI 1104K*NOTE 000178/1

RCS MARSEILLE 452 565 864
 TVA INTRA COMMUNAUTAIRE FR 50 452 565 864
**MERCI DE VOTRE VISITE
 BON VOYAGE**

Café Bar
Restaurant Asiatique

Pavillon des Bambous

名流居

16, rue de Lafayette

75009 PARIS

Tél: 01.42.47.18.15

Fax: 01.42.47.18.17

N° IVA: FR 66 450 749 221

TABLE: 13 / 1 Le 06/09/2005

* NOTE *

Code	Désignation	Qté	Mont
311	RIZ CANTONNAIS	1	4.50
V44	COCA/COCA LIGHT/PERRIE	1	3.00

S/TOTAL 7.50

Dont IVA 19.60% : 1.25

***TOTAL 7.50

VOUS REMERCIE ET A BIEN! !

MARCHE DE LA GARE

8 RUE DE DUNKERQUE

75010 PARIS

Tel. 0144530136

010024 HARIBO MINI RAD

1.25

NET A PAYER

1.25

REGLE EN EUROS

2.00

A RENDRE EN EUROS

0.75

06/09/2005 19:14:47 363770C2

Merci de votre visite

DELAI DE RECLAMATION 48 H

OUVERT 7J/7 DE 8H A 20 H

Δ RTENTAT

ITEM

Pasajes Terrestres Nacionales

(Santiago-Valparaíso-Santiago)

***** TUR BUS *****
 EXIJA Y CONSERVE
 SU BOLETO.
 Cond: 03747 Bus: 0940

25/08/2005 10:53
 Ruta: SANTIAGO-HPTO
 Ida 039-075041

Efectivo \$1300

32071571
 SERIE F Pullman Bus
 PASAJERO
 DESDE 7/09/04 HASTA 7/09/04
 RUTA SANTIAGO - HPTO
 TARIFFA 0
 FECHA 7/09/04
 CONSERVE SU BOLETO

ELL BO LE TO
 RECONOCE

BOLETO DE VIAJE
 CON VALOR DE \$1300

Pista: 1

Emisor: 039-075041
 Destino: SANTIAGO

Clase: 1
 Tipo: 1

BOLETO DE VIAJE 039-075041

A.

Nº 081358
RILEC
 Transporte Venta de Combustible
 y lubricantes Ltda.
 RUT: 77.900.080-3
 Transporte de carga por carretera
 Est. de Combustible
 Estación de Servicios
 c. Matiz: Vianelo 180 - Oficina 416
 VIÑA DEL MAR
 Suc. Av. La Paz 547 - Forestal
 VIÑA DEL MAR
 Suc. Av. Central 388 - Vía Linda Sur
 Nueva Aurora - VIÑA DEL MAR
 Suc. Av. Obispo Valdeaz 820 - Piedad de
 Pehuelas - VALPARAISO
 Suc. Frutillar 875 C Páceres
 VALPARAISO
 BOLETA DE VENTA Y SERVICIOS
 DUPLICADO: CUENTE
TOTALS 5000
 07 09 05
 CRISTIAN PEREZ - RUT: 14.195.822-4
 CLAVE 421 FON: 413994 VALPO.

Soc. Conc. Rutas del Pacifico S.A.
 Santiago - Valparaíso
 R.U.T. Nº 96.873.140-8

Pista: VIA 9
 Estación: TRONCAL ZAPAIA
 Categoría: AUTO, CMTA
 Valor: 1200 Pesos
 Forma de pago: EFECTIVO
 Peajista: JOSE BALLADARES
 Fecha: 07/09/2005 13:03



15291583670698134278

BUEN VIAJE

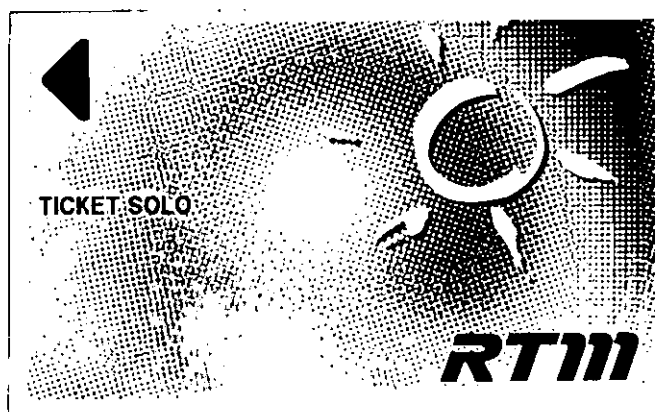
RepH 4387
PARKING
 CHILE
 Boleta de Ventas y Servicios
 07-05 10:48 CH27 EH 32 TxnH 4387
 Nº 14533920
 09-07-05 09:11 Ent 09-07-05 10:48 Sal
 RepH 055031
 EFECT PAG \$ 700.00-

DUPLICADO: CLIENTE

Sucursales:
 Aeropuerto Comodoro Arturo Merino Benítez
 Pudahuel - Santiago - Fono: 601 1076 - Fax: 601 1008
 Mariano Sánchez Fontecilla 310 - Las Condes - Santiago - Fono: 334 7908
 Avda. Manquehue Sur 329 - Las Condes - Santiago - Fono: 248 1738
 Alonso de Córdova 5151 - Subterráneo - Las Condes - Santiago
 Eyzaguirre 1251 - Santiago - Santiago

ITEM

Pasajes Terrestres Internacionales
(Aeropuesrtos y movilización local)



RDT 13
AEROPORT MARSEILLE
BP 35 13727 MARIGNANE

R D T 1 3
AEROPORT MARSEILLE PCE
BP 35 13727 MARIGNANE
MERCI
BON VOYAGE

05SEP/2005

<02>

AEROPORT 8.50
ESPECES 8.50
HT 5.5 % 8.06
TVA 5.5% .44
QUANTITE 1
#001-000081 08:18R
B

15:15 D
02A 1844 D 26-08-2005
MARSEILLE €8.50
TVA 5.5% €0.44
FF F2.89
ESPECES €8.50
FF F55.76

1EURO = 6.55957 FF

MERCI DE VOTRE VISITE
VOYAGE

RATP

Ligne 4

Gare d'Orléans

2108A1

RECU

Session : 3

06/09/2005 19:25:43

1 Billet 2c 1c

De PARIS

à AEROPORTS CDG

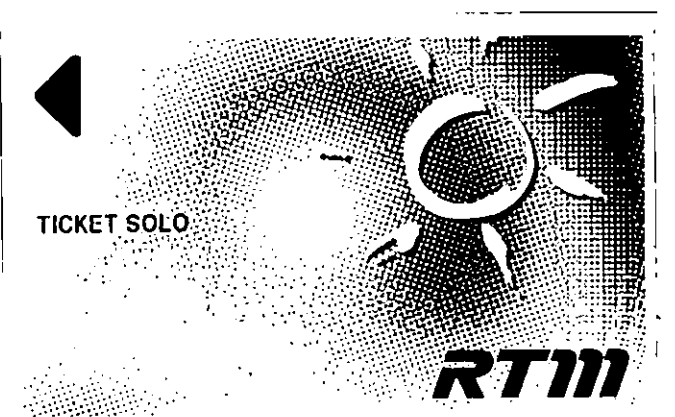
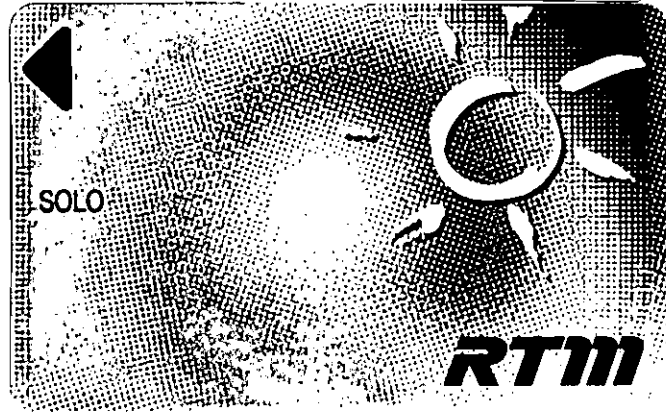
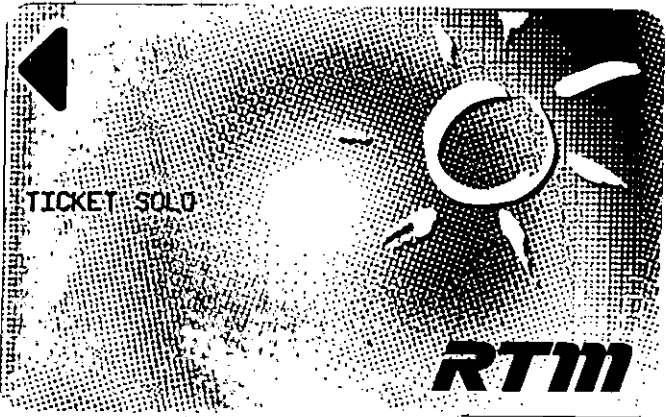
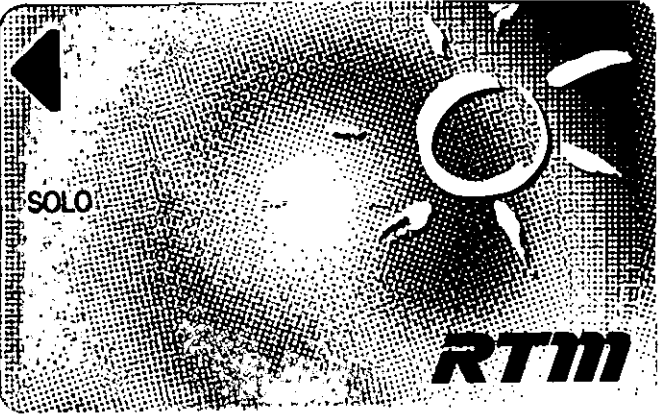
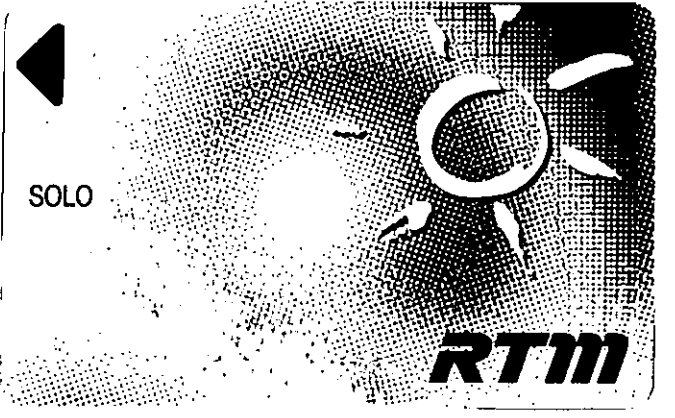
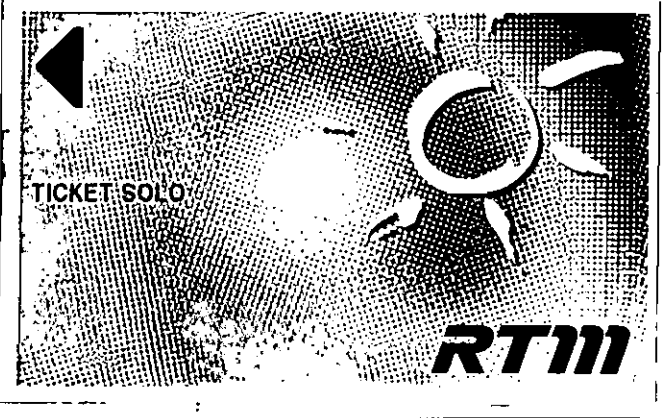
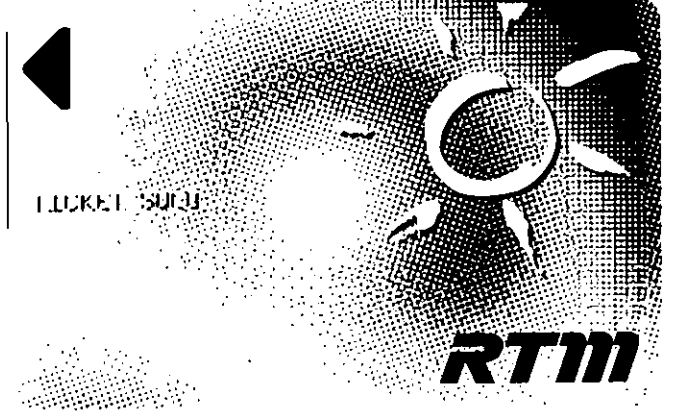
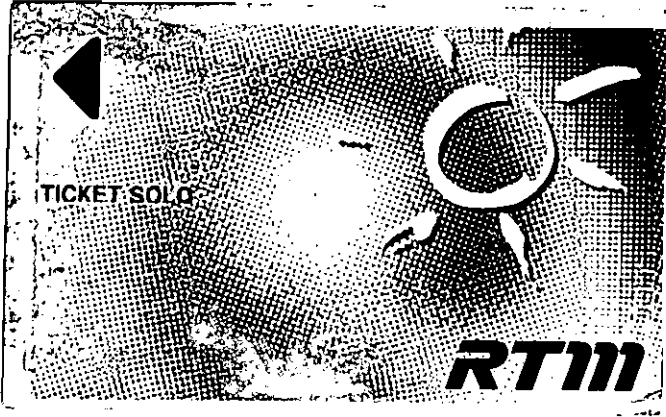
8,00€

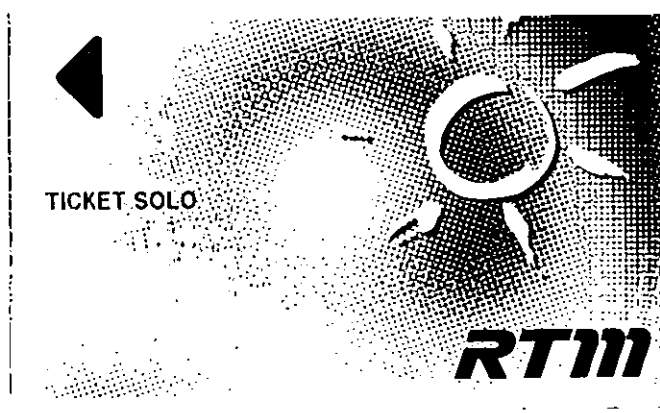
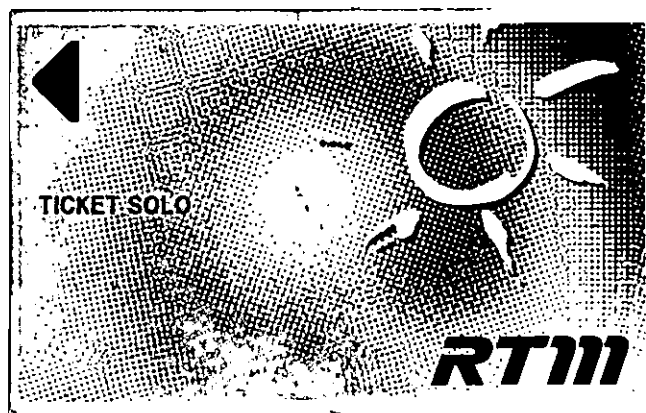
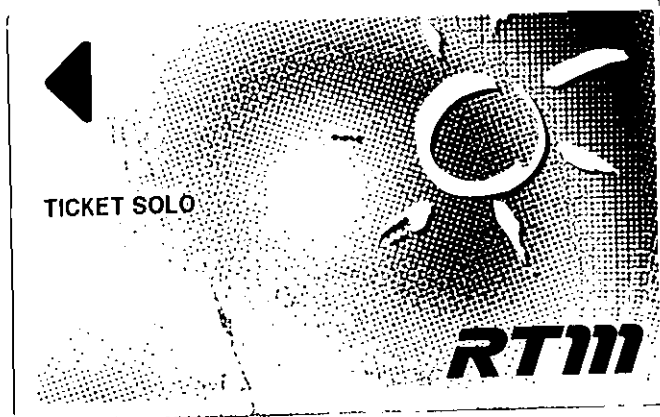
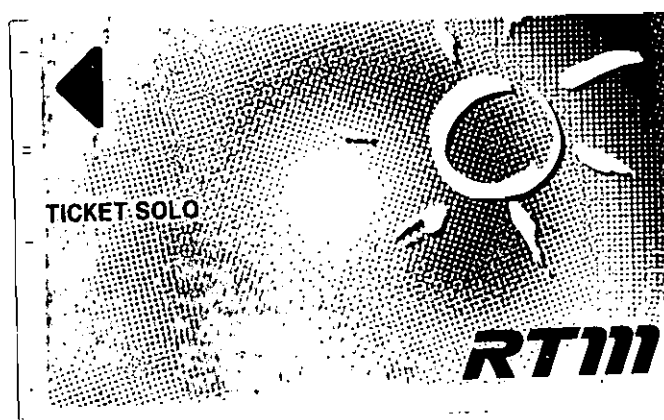
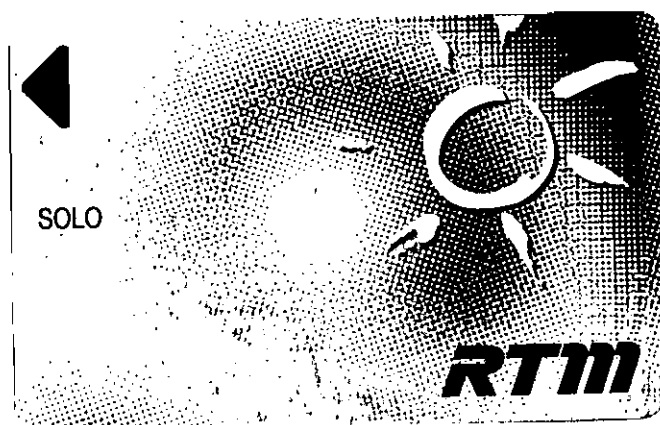
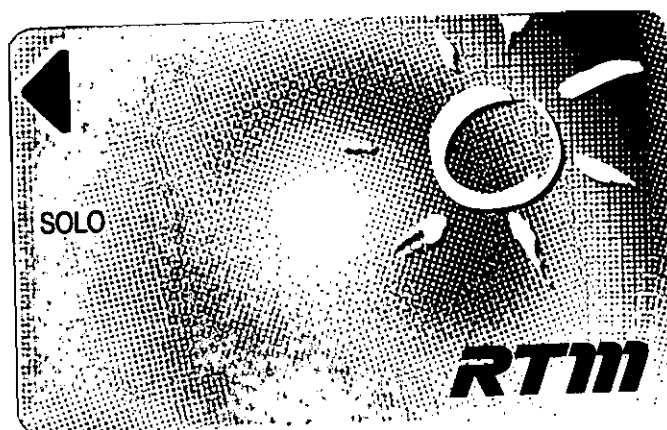
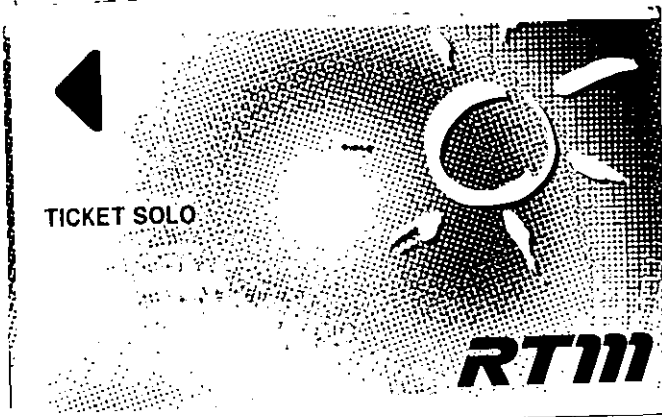
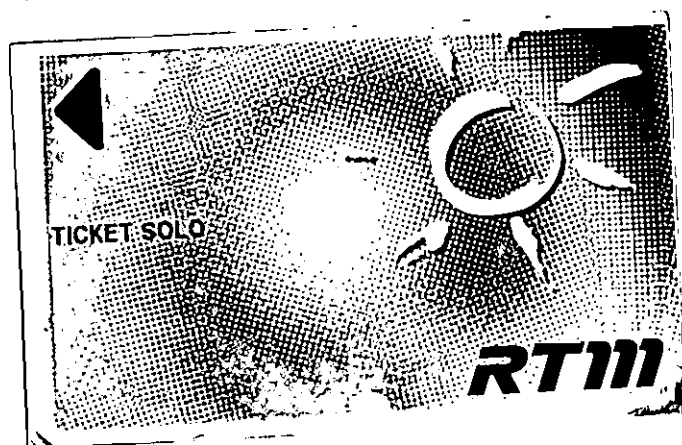
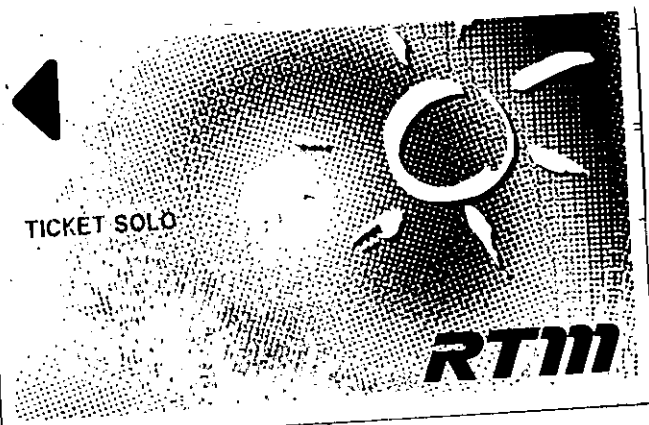
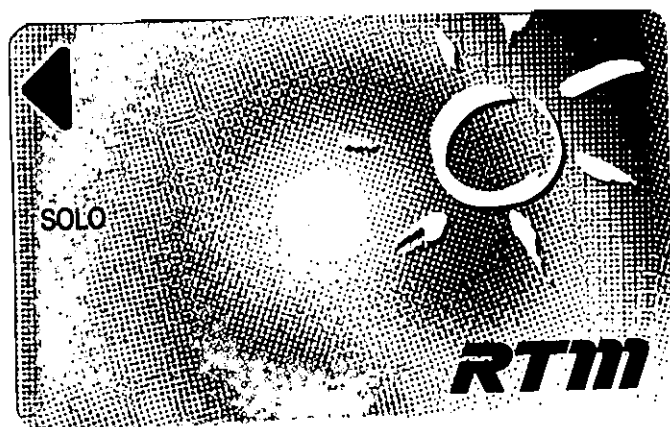
ESPECES 20,00€
Montant encaissé 20,00€
Montant rendu 12,00€
TVA : 5,50% 0,42€
TVA : 0,00% 0,00€

Montant total HT 7,58€

Montant total TTC 8,00€

MERCI DE VOTRE VISITE - A BIENTOT





ITEM

Material Recolectado

(Resúmenes y otros)



TargetTron

Gene Knockout System

Genetic Engineering that is Right on Target!

The TargetTron™ Gene Knockout System is a revolutionary method for rapid and specific disruption of genes in prokaryotic organisms. Utility of the technology has been demonstrated for prokaryotic genetic engineering, systems biology and functional genomics approaches.

The method exploits the retrohomologous ability of group II introns and utilises a simple PCR step to "re-target" the TargetTron™ group II intron for specific insertion into the host genome. Gene knockout using the TargetTron™ system has been validated in a broad range of bacterial strains such as *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Lactococcus lactis*, *Clostridium perfringens*, *Shigella flexneri* and *Salmonella typhimurium*.

Features

- Targeted and permanent gene disruption
- Simple, streamlined protocol; Knockouts in 3 days or less
- Minimal screening to isolate mutants
- No cell conjugation or specific host factor requirements
- >90% successful targeted insertion

Ordering Information

Prod. No.	Description	Pack Size	Price €
0100	TargetTron™ Gene	3 each	300.00
	Knockout	10 each	750.00

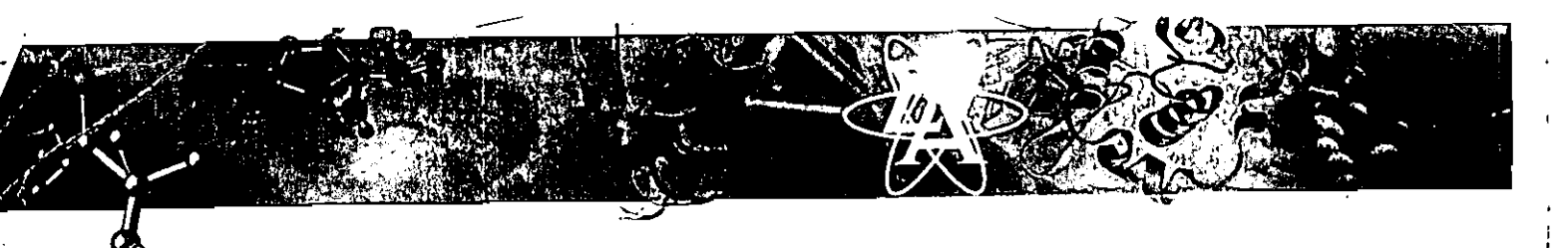
For further details please see the article on pages 4-5 or visit our website at sigma-aldrich.com/targettron

SIGMA ALDRICH FLUKA LANCET BURELCO BOTTLE

sigma-aldrich.com

LEADERSHIP IN LIFE SCIENCE, HIGH TECHNOLOGY AND SERVICE

SIGMA-ALDRICH



Sigma-Aldrich &

PSEUDOMONAS 2005



10th INTERNATIONAL CONGRESS ON PSEUDOMONAS

A multidisciplinary exploration of current Pseudomonas Research

Palais des Congrès - Marseille
France - August 27-31, 2005

Sigma-Aldrich is proud to take part as sponsor in this International congress: please feel free to discover top products and tools connected to your scientific focus

Genetic Engineering that is Right on Target !

* The TargeTron™ Gene Knockout System is a revolutionary method for rapid and specific disruption of genes in prokaryotic organisms. The method exploits the retrohoming ability of group II introns and utilizes a simple PCR step to "re-target" the TargeTron group II intron for specific insertion into the host genome.

Microbial ORFmer Arrays - Pseudomonas aeruginosa ORFmers

* *P. aeruginosa* ORFmer PCR* primer pairs have been designed to amplify all of the putative open reading frames (ORFs) in *P. aeruginosa* (strain PA01). The entire genome contains 5,570 protein coding genes.

Custom Oligo library for Pseudomonas

- * Are you willing to study the whole pseudomonas Transcriptome ?
- * Sigma-Genosys is ready to design and manufacture long and modified oligos ready to be spotted on slide

Enjoy your congress for all your questions please ask for

Jean-Frédéric LOUBEREAU

Biotech Sales development Specialist

**I am attending the Congress on Monday and Tuesday
August 29-30th**

jloubere@europe.sial.com

sigma-aldrich.com

LEADERSHIP IN LIFE SCIENCE, HIGH TECHNOLOGY AND SERVICE


SIGMA-ALDRICH

Disruption of Bacterial Genes Using Retargeted Group II Introns

Kevin Kayser, Greg Davis, Melissa Spears, Erik Eastlund, Ernie Mueller, Brian Ward

SIGMA-ALDRICH

Introduction

The Targetron™ Gene Knockout System is a novel prokaryotic functional genomics tool based on the group II intron from *Lactococcus lactis*. Like conventional transposon mutagenesis, group II introns inactivate genes by insertion. However, recent advances in group II intron research have enabled insertion to be site-specific, allowing knockout of virtually any desired DNA target.^{1,2,3,4} Features of the group II retrohoming mechanism make it attractive for genetic manipulation. First, retrohoming is highly efficient and specific. Retrohoming frequencies can approach 100% and are six orders of magnitude higher than the frequency of ectopic integration. Second, the introns are minimally dependent on host factors, making them applicable to a broad range of bacteria. To date, the Targetron system has been validated in *E. coli*,¹ *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Shigella flexneri*, *Salmonella typhimurium*,² and *Lactococcus lactis*.³

The Targetron system has many features that make it attractive for metabolic engineering and systems biology research. In addition to site-specific knockouts, random chromosomal insertion libraries can be created. Using this approach, essential and non-essential genes can be rapidly identified by PCR and sequencing. More importantly, once a desired random insertion is identified by PCR, the gene-specific intron sequence can be cloned and used to recreate the site-specific knockout in hosts with alternative genetic backgrounds. This eliminates the need for maintaining large clone libraries to isolate random insertion events and the need for phage-based transfer of mutations between strains.

Controlling Site-Specific Group II Intron Insertion

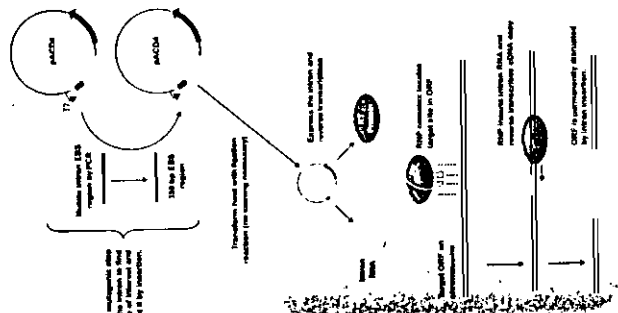


Figure 1. The DNA binding specificity of the U118 group II intron is determined primarily by the EBS regions encoded on the RNA portion of the retrotransposon. The amino acid sequence of the EBS regions of the U118 group II intron is shown. The EBS regions are numbered 1 through 10. The EBS regions are numbered 1 through 10. The EBS regions are numbered 1 through 10.

Expanding the Host Range for Bacterial Functional Genomics

- Excellent method for bacteria with no existing genetic tools for targeted gene knockouts.
- Knock out genes without inserting an antibiotic selection marker¹ and expedite creation of multiple knockouts.
- Minimally dependent on host factors allowing application to many bacterial genera.

Adapting the Targetron System to Any Bacterial Host

- Requirements: (1) selectable host plasmid (2) host promoter

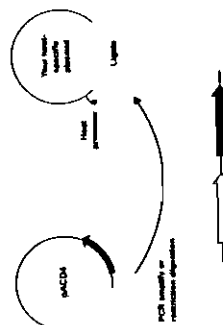


Figure 2. The two major requirements for adapting the Targetron system to an alternative host strain are (1) a host plasmid with an appropriate replicon origin and (2) a host promoter. The Targetron system is adapted to a new host by inserting the Targetron construct into the host plasmid. The Targetron construct is inserted into the host plasmid. The Targetron construct is inserted into the host plasmid.

When Selection is Needed: Retrotransposition-Activated Selectable Markers (RAM)

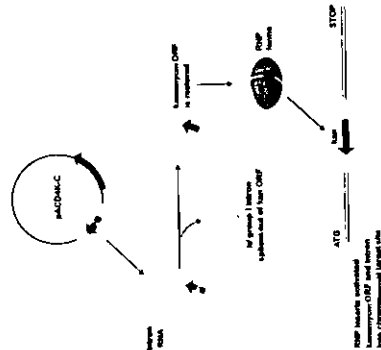


Figure 3. Since the Targetron system creates insertions via an RNA intermediate, it allows the use of RAM markers (retrotransposon-activated selectable markers). The amino acid sequence of the EBS regions of the U118 group II intron is shown. The EBS regions are numbered 1 through 10. The EBS regions are numbered 1 through 10.

Creation of Random Chromosomal Insertion Libraries

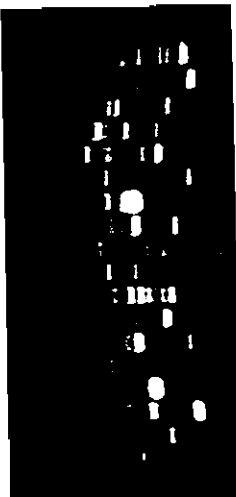


Figure 7. Random group II intron insertions throughout the *E. coli* genome. A random insertion library was created by randomizing the EBS targeting regions of the U118 group II intron. Several gene-specific primers were designed at evenly spaced intervals around the *E. coli* genome. Each gene-specific primer was used with an intron-specific primer to amplify and detect intron insertions.

Conclusions

- The system allowed for rapid, site-specific mutagenesis in various domains of the partially essential RNase E ORF. Most insertional mutants were isolated within 3 days lab work.
- Insertion frequencies are frequently high enough to allow isolation of insertional mutants without the assistance of antibiotic selection.¹
- Since it is minimally dependent on host factors, the Targetron system can be applied to a broad variety of bacteria.^{1,2}

References

- (1) Frazer, C.L.; San Filippo, J.; Lambowitz, A.M.; Milk, D.A. Genetic Manipulation of *Lactococcus lactis* by Using Targeted Group II Introns: Generation of Stable Insertions without Selection. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003, 69 (2), 112–117.
- (2) Karberg, M.; Guo, H.; Zhong, J.; Coon, R.; Perutka, J.; Lambowitz, A.M. Group II Introns as Controllable Gene Targeting Vectors for Genetic Manipulation of Bacteria. *Nat. Biotechnol.* 2001, 19 (12), 1162–1167.
- (3) Perutka, J.; Wang, W.; Goretzky, D.; Lamowitz, A.M. Use of Computer-Designed Group II Introns to Disrupt *Escherichia coli* Dehydratase Protein and DNA Helicase Genes. *J. Mol. Biol.* 2004, 336 (2), 421–439.
- (4) Zhong, J.; Karberg, M.; Lambowitz, A.M. Targeted and Random Bacterial Gene Disruption Using a Group II Intron (Targetron) Vector Containing a Retrotransposon-Activated Selectable Marker. *Mol. Cell. Probes* 2003, 17 (6), 1656–1664.

Acknowledgements

We thank Alan Lambowitz and colleagues at the University of Texas, Austin, for technical advice and support throughout our development of the Targetron Gene Knockout System.

Related Sigma Products

Product Name	Product #
Targetron™ Gene Knockout System	TAQ100
JumpStart™ REDIaq™ ReadyMix	PQ982
Quick-Link™ DNA Ligation Kit	UGZ
GenElute™ PCR Clean-up Kit	NA1020
SYBR® Green Quantitative RT-PCR Kit	QR0100

Web site: www.sigma-aldrich.com/targetron

Targetron is a trademark of Sigma, LLC. The product and its use are the subject of one or more U.S. patents. Sigma-Aldrich Corporation, 2909 Lakeside Avenue, St. Louis, MO 63103. © 2004 Sigma-Aldrich Corporation. All rights reserved.

Increased mRNA Levels Due to Intron Disruption of RNase E

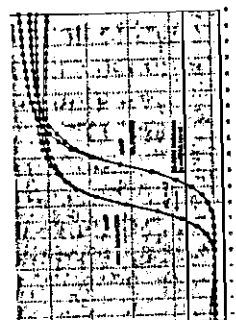


Figure 6. Relative levels of *rpoD* mRNA in *E. coli* BL1013 and an *rpoD* intron 1259 insertion mutant as measured by quantitative RT-PCR. Data shown for mutant and BL1013 are in duplicate. The *rpoD* intron 1259 insertion resulted in a 25-fold increase in *rpoD* mRNA levels.

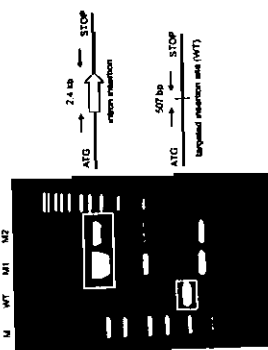


Figure 5. Targeted insertion into the RNase E ORF at nucleotide 1259. WT, colony PCR across the intron insertion site in wild-type BL1013; M1 and M2, colony PCR of two colonies showing group II intron insertion. The intron insertion site was also confirmed at nucleotide 2256 (endlease region), 2520A (PMPase region), and 2555A (PMPase region).

ITEM

Costos

Material de Apoyo

Convocatoria Actividad de Difusión

REPRODUCCIONES GRÁFICAS LTDA.

Fotocopias - Librería - Diseño Gráfico - Internet

1 Poniente 845, Loc. 102 - Edificio Emporium
Fono: 695 516 - Fax: 697 167
Viña del Mar
E-mail: orbegrafico@terra.cl

R.U.T.: 76.218.610-1

FACTURA

0000722

Gráfico

S.L. - VIÑA DEL MAR
FECHA VIGENCIA EMISION
HASTA 31.Diciembre.2006

Fecha: 24 de Agosto de 2005

Señor(es): Univ Eee Federico Suez Marina

Dirección: Av. España 1680

Ciudad: Valparaíso.

Guía de Despacho:

R.U.T.: 81.668.700-4

Giro:

Condiciones de Venta:

Por lo siguiente:

DEBE

CANTIDAD	DESCRIPCION	VALOR UNIT.	TOTAL
	Impresión en papel glossy		28.000
24 AGO 2005 Recibo Conforme El acuse de recibo que se declara en este acto, de acuerdo a lo dispuesto en la letra b) del Art. 4º, y la letra c) del Art. 5º de la Ley 19.983, acredita que la entrega de mercaderías o servicio(s) prestado(s) ha(n) sido recibido(s) en total conformidad.			
FORMA DE PAGO: EFFECTIVO ☐ DOCUMENTO ☐ DOCTO. N° _____ Cancelado: _____ de _____ de 20 _____			Sub - Total \$ 23529 % I.V.A. \$ 4471 TOTAL \$ 28000.

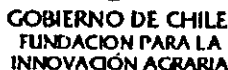
ART. 180 DEL CODIGO DE COMERCIO: No reclamándose sobre el contenido de la factura dentro de los 8 días siguientes a la entrega de ella, se tendrá por irrevocablemente aceptada.

Las Facturas no pagadas a su vencimiento devengarán el interés convencional máximo permitido por la ley.

ORIGINAL: CLIENTE

No 08-27-2005
Venta y Arriendo de
Equipos de Oficina y Centro
de Copiado
Elizabeth Fátima
Suez Juri
Rut: 6.775.387-9
Av. Brasil N° 2965
Fono: 21 63 07
VALPARAISO

BOLETA DE VENTAS Y SERVICIOS
\$5300
DÍA MES AÑO
IMPRESA LA NUEVA MINERVA
AV. PORTALES N° 6 - FONO 231719
L. VANNIR, RUT: 2.753.523-2
VALPARAISO



POTENCIAL DE DEGRADACIÓN DE LOS HERBICIDAS S-TRIAZINAS

Candidato a Doctor en Biotecnología UTFSM-PUCV

Viernes 23 de Septiembre - U. del Mar

Hora: 13:00 hrs

Simazine is an important member of *s*-triazine herbicides widely used in Chile for controlling broad-leaved weeds. *Pseudomonas* sp. strain P41 is a native bacterium isolated from Chilean soils by enrichment using simazine as sole nitrogen source. *Pseudomonas* sp. P41 is able to degrade efficiently simazine and atrazine. Unlike other *s*-triazine degrading strains, *Pseudomonas* sp. P41 is amenable to genetic manipulation, supporting stable insertion of foreign gene into the genome. All catabolic genes of the upper (*atzA*, *atzB* and *atzC*) and lower (*atzD*, *atzE*, and *atzF*) pathways for atrazine utilization were detected by PCR. A LysR-like regulator of the pathway was identified by sequence analysis. Resting cells assays showed that simazine degradation in strain P41 was controlled by availability of additional nitrogen sources, as previously determined for *Pseudomonas* sp. strain ADP (1). Preferential nitrogen sources, such as ammonia, repressed the simazine degradation pathway in this strain, while limiting nitrogen conditions induce simazine utilization. RT-PCR experiments showed that the genes of the upper pathway are constitutively expressed. *AtzDEF* operon was regulated by nitrogen sources availability as simazine and cyanuric acid. Additional regulation experiments confirmed these results. *Pseudomonas* sp. strain P41 showed several differences in regulation of *s*-triazines degradation in comparisons to *Pseudomonas* sp. strain ADP (1). Notably, *Pseudomonas* sp. P41 exhibited significant *s*-triazine degradation in the presence of nitrate. This is particularly interesting, since in fertilized agricultural soils the simultaneous presence of nitrate and herbicides has been determined. Studies of simazine degradation by *Pseudomonas* sp. strain P41 in nitrate-amended soil microcosms are currently in progress.

[illegible]

1-	Barbara Salazar Camposano	13.766.346-5
2-	Hugo Quiroga Rivas	15.070.586-K
3-	Belen Salgado	13.747.583-9
4-	Franco Uribe Luna	15.660.106-3
5-	Bruno Lencioni	15.636.222-0
6-	Enik Vega	15.052.644-2
7-	M ^a Jose Alvaruk	13.766.941-7
8-	Claudia Bustamante Alvarado	13.990.248-3
9-	Fabiola Ivanier Ancia	13.852.311-K
10-	CARLOS MORENO REYES	14.776.16-9
11-	Karin Ibarra Estay	14.511.452-3
12-	Maria Belmer Marmola	17.195.121-9
13-	ROSA GOMEZ VALDIVIA	9.023.741-9
14-	Rodrigo de la Barrera Contreras	13.636.187-2
15-	Sergio Bravo Collo	14.120.934-5
16-	Angel PEREZ PRADO	13.367.203-0
17-	Sergio Uguin B.	15.062.898-2
18-	Christian Cruz Keya	13.915.062-6
19-	HENRIQUEZ ROBLES	13.635.330-6
20-	JAVIER CRICKTON D	13.332.685-5
21-	DAEDO EDEDO TI.	15.375.915-4
22-	Francisco Collins D	13.990.226-2
23-	Katherine Hernandez S.	15.064.060-1
24-	VICKY PUENTES A.	10.432.167-4
25-	GIORGIO SANGUINETI	13.461.923-1
26-	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	
27-	SEBASTION OLIVER DE NOUILLON	14.475.148-8
28-	Cristobal Guehina N	13.333.272
29-	ANONZA Lillo	13.741.561-5
30-	Marlina Prado L	13.699.014-8
31-	Hector Perez Figueroa	13.750.717-K
32-	Claudia Miranda J	13.544.968-2
33-	Antonella Rocio Aguilera J	13.544.373-5
34-	Catalina Miranda Diaz	15.100.684-1
35-	Suan Claudio Moya Valck	13.379.624-4
36-	Carlos Salgado	13.311.521-K
37-	Lisian Divanes Jarama	15.324-3
38-	Victoria Diaz Jimenez	15.647.063-5

EN EL MARCO DE PROGRAMAS DE FORMACION

CONVICTO A DOCTOR EN PROFESORADO DE LENGUA

DE: BASTIEN ALVARADO, MSc.

LOS HERBICIDAS 2-INTENSIVAS

BOLENCIAT DE DEGRADACION DE

UNIVERSIDAD DEL MAR
ESCUELA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

SRES: FONDO DE INNOVACIÓN AGRARIA
Presente

CERTIFICADO

A través de la presente, informo a Ud. que el Sr. Patricio Villalobos realizó su exposición sobre el trabajo financiado por FIA, denominado, " Potencial de degradación de los herbicidas S – Triazinas". A un grupo de 38 alumnos de quinto año de Agronomía. Su presentación resultó muy motivante en una Escuela cuyo énfasis en la Agricultura limpia.

Agradecemos su consideración,

Atentamente,



Ing. Agr. M.Sc. Rosa Arancibia C
Coordinación docente
Escuela de Agronomía
Universidad del Mar.



Valparaíso, 23 de septiembre, 2005



DOCTORADO EN BIOTECNOLOGÍA
PROGRAMA DE SEMINARIOS
2º Semestre 2005

Fecha/Hora	Título	Expositor	Lugar
29 Sep / 17:30	Biodegradación de s-triazinas desde sus bases moleculares a estudios de campo.	Srta. Verónica Morgante	UTFSM Auditorio Principal, Edificio A
	Producción en masa de nemátodos aislados de suelos contaminados con metales pesados para su utilización en una metodología de remediación biológica integral	Sr. Patricio Araneda H.	
6 Oct / 17:30	Biotransformación de terpenoides y derivados in situ en tejidos vegetales mediante hidroxilasas del hongo <i>Gibberella fujicuroi</i>	Srta. Marcela Carvajal T.	PUCV Sala Multimedia, Escuela de Ingeniería Bioquímica General Cruz 34
	Regulación de la degradación de herbicidas en bacterias. En el Marco de Proyecto FIA en el trabajo presentado en el Congreso Bianual de Pseudomonas 2005, Marseille -Francia	Sr. Patricio Villalobos B.	
13 Oct/ 17:30	Regulación de expresión génica en bacterias	Dr. Pablo Santero U. Pablo de Olavide Sevilla, España	UTFSM Auditorio Principal, Edificio A
27 Oct/ 17:30	Construcción y expresión in vitro de péptidos antimicrobianos recombinantes a partir de moléculas del sistema inmune de invertebrados para su potencial aplicación en el control de agentes patógenos	Sr. Mauricio Díaz R.	PUCV Sala 1-23 Casa Central
10 Nov / 17:30	Por definir	Josef Lopez Depto Ing Química U Autónoma de Barcelona	UTFSM Auditorio Principal, Edificio A
24 Nov / 17:30	Técnicas de cultivo de nematodos a gran escala	Mayra de la Torre U Autónoma de Sonora México	PUCV Sala 1-23 Casa Central
15 Dic /17:30	Por definir	Fanny Guzman (Inv S M)	

Nómina de invitados segunda Charla, realizada el día 06 de Octubre de 2005 . La invitación fue realizada vía email por la dirección del programa de doctorado en Biotecnología UTFSM-PUCV . Para los invitados del Departamento de química, fue entregada una invitación persona a persona.

1. Manuel Young-usm	manuel.young@usm.cl	Académico Centro Biotecnología UTFSM
2. Sergio Marshall G.	smarshall@ucv.cl	Académico Fac Biología PUCV
3. Juan Carlos Gentina	jgentina@ucv.cl	Académico Escuela Ing. Bioquímica
4. Germán Aroca A.	garoca@ucv.cl	Académico Escuela Ing. Bioquímica
5. Maria C.Schiappacasse	mschiapp@ucv.cl	Académico Escuela Ing. Bioquímica
6. Claudia Altamirano	claudia.altamirano@ucv.cl	Académico Escuela Ing. Bioquímica
7. Maria Elvira Zúñiga Hansen	mzuniga@ucv.cl	Académico Escuela Ing. Bioquímica
8. Fernando Acevedo B.	facevedo@ucv.cl	Académico Escuela Ing. Bioquímica
9. Rolando Chamy M.	rchamy@ucv.cl	Académico Esc Ingeniería Dr. En Química.
10. Cristian Acevedo	cristian.acevedo@usm.cl	Ingeniero en Alimentos
11. Victor Polanco	vjano22@yahoo.com	Bioquímico Doctorante UTFSM
12. Veronica Morgante	veronica.morgante@alumnos.utfsm.cl	Microbiólogo. Doctorante UTFSM
13. May Lin Almendra	mavlinalmendras@yahoo.com	Doctorante UTFSM
14. Liza Laroze	lizalarozen@yahoo.es	Doctorante UTFSM
15. Christian Mandiola	christian.mandiola@mail.ucv.cl	Bioquímico Doctorante UTFSM
16. Valeria Latorre	vakalare1@yahoo.com	Académico U.de Magallanes Doctorante UTFSM
17. Marcela Carvajal	marcela.carvajal@usm.cl	Doctorante UTFSM
18. Patricio Araneda	p.araneda@ecotecnos.cl	Bioquímico Doctorante UTFSM
19. Carolina Sanchez	carolina.sanchez@usm.cl	Bioquímico Doctorante UTFSM
20. Jorge Farias	jorge.farias@alumnos.utfsm.cl	Doctorante UTFSM. Académico U. Arturo Prat
21. Paula Barrios	paula.barrios@usm.cl	Bioquímico. Investigaciones de Chile
22. Mauricio Diaz	mauricio.diaz@alumnos.utfsm.cl	Bioquímico Doctorante UTFSM
23. Claudio Jofre contreras	claudiojofrecontreras@hotmail.com	Doctorante UTFSM
24. Johana Urta Hernández	johana.urta@vtr.net	Doctorante UTFSM
25. Carolina Pizarro	cpizarrot@terra.cl	Bioquímico Doctorante UTFSM
26. Cecilia caneo	cecilia.caneo@usm.cl	Doctorante UTFSM
27. Maria Eugenia Flores	maria.flores@usm.cl	Ing, Químico UTFSM
28. Maritza Piovano	maritza.piovano@usm.cl	Ing, Químico UTFSM
29. Myriam González	myriam.gonzález@usm.cl	Licenciada en Química
30. María Elena Ortiz	maria.ortiz@usm.cl	Ing. Químico UTFSM Ingeniero Ej, Química UTFSM

31. Maritza Sanguinetti	mrirtza.sanguinetti@usm.cl	Prevención de Riesgos
32. Beatriz Vivanco	beatriz.vivanco@usm.cl	Técnico Químico
33. Francisco Romero	francisco.romero@usm.cl	Ingeniero Civil Químico.
34. Michael Seeger P.	<u>michael.seeger@usm.cl</u>	<u>Académico UTFSM</u>
35. Patricio Reveco	patricio.reveco@usm.cl	Académico Depto Química UTFSM
36. Arie Aizman	arie.aizman@usm.cl	Académico Depto Química UTFSM
37. Francisco Cereceda	francisco.cereceda@usm.cl	Académico Depto Química UTFSM
38. Mario Ollino	<u>mario.ollino@usm.cl</u>	Académico Depto Química UTFSM
39. Juan Garvarino	<u>juan.garvarino@usm.cl</u>	Académico Depto Química UTFSM
40. Erika Valdés	<u>erika.valdes@usm.cl</u>	Académico Depto Química UTFSM
41. Marcela Hernández	mate_hg@yahoo.es	<u>Biologo Marino. Asistente Dpto Química UTFSM</u>
42. Loreine Agulló	<u>loreineagullo@yahoo.com</u>	<u>Bioquímico. Dpto Química UTFSM</u>
43. Macarena Cordova	macarenacordova@yahoo.com	<u>Bioquímico. Dpto Química UTFSM</u>
44. Lorena Álvarez	lorenaangelica@yahoo.com	<u>Marter en Ing. Bioquímica. PUCV</u>
45. Zhenia Milán	z_milan_2000@yahoo.com	<u>Dr. en Cs. Técnica (Cuba). PUCV</u>
46. Isabel Jimenez	Fono 654329	Analista Químico UTFSM.
47. Jacqueline Souza	<u>jacquesouzat@hotmail.com</u>	<u>Analista Químico</u>

NOTA: El nombre de los invitados que participaron del seminario se indican con negritas y subrayado.

Seminario

POTENCIAL DE DEGRADACIÓN DE LOS
HERBICIDAS S-TRIAZINAS

Patricia Villalobos, MSc.

Candidato a Doctor en Biotecnología UTFSM-PUCV,

Tiene el agrado de invitarle a este seminario para dar a conocer su trabajo, experiencias y resultados obtenidos a través de la asistencia al y 10th International Congress - on Pseudomonas 2005, realizado en Marseille, France.

La participación a tal evento contó con el apoyo del Programa de Formación de la Fundación para la Innovación Agraria (FIA).

Viernes 11 Noviembre

Sala de seminarios II, Depto de Procesos Químicos

Universidad Federico Santa María, a las 11:45 horas.

Agradecemos su asistencia y la difusión de esta invitación.



Seminario

DEGRADACIÓN BACTERIANA DE HERBICIDAS DE USO EN CHILE

Sr. Patricio Villalobos, MSc., Candidato a Doctor en Biotecnología UTFSM-PUCV, y participante del 10th International Congress – on Pseudomonas 2005, realizado en Marseille, France el pasado mes de Agosto, tiene el agrado de invitarle a un seminario para dar a conocer su trabajo, experiencias y resultados obtenidos a través de la asistencia a dicho congreso. La participación a tal evento contó con el apoyo del Programa de Formación de la Fundación para la Innovación Agraria (FIA).

Día: Viernes 11 de Noviembre, **Lugar:** salón auditorium II, Departamento de Procesos Químicos, de la Universidad Federico Santa María. **Hora:** 11:45 horas.

Le rogamos confirmar su asistencia a patricio.villalobos@usm.cl.

Agradecemos su asistencia y la difusión de esta invitación a los interesados que usted conozca.



Seminario

DEGRADACIÓN BACTERIANA DE HERBICIDAS DE USO EN CHILE

Sr. Patricio Villalobos, MSc., Candidato a Doctor en Biotecnología UTFSM-PUCV, y participante del 10th International Congress – on Pseudomonas 2005, realizado en Marseille, France el pasado mes de Agosto, tiene el agrado de invitarle a un seminario para dar a conocer su trabajo, experiencias y resultados obtenidos a través de la asistencia a dicho congreso. La participación a tal evento contó con el apoyo del Programa de Formación de la Fundación para la Innovación Agraria (FIA).

Día: Viernes 11 de Noviembre, **Lugar:** salón auditorium II, Departamento de Procesos Químicos, de la Universidad Federico Santa María. **Hora:** 11:45 horas.

Le rogamos confirmar su asistencia a patricio.villalobos@usm.cl.

Agradecemos su asistencia y la difusión de esta invitación a los interesados que usted conozca.



Seminario

DEGRADACIÓN BACTERIANA DE HERBICIDAS DE USO EN CHILE

Sr. Patricio Villalobos, MSc., Candidato a Doctor en Biotecnología UTFSM-PUCV, y participante del 10th International Congress – on Pseudomonas 2005, realizado en Marseille, France el pasado mes de Agosto, tiene el agrado de invitarle a un seminario para dar a conocer su trabajo, experiencias y resultados obtenidos a través de la asistencia a dicho congreso. La participación a tal evento contó con el apoyo del Programa de Formación de la Fundación para la Innovación Agraria (FIA).

Día: Viernes 11 de Noviembre, **Lugar:** salón auditorium II, Departamento de Procesos Químicos, de la Universidad Federico Santa María. **Hora:** 11:45 horas.

Le rogamos confirmar su asistencia a patricio.villalobos@usm.cl.

Agradecemos su asistencia y la difusión de esta invitación a los interesados que usted conozca.

ITEM

Otros



EMBO

CNRS
CENTRE NATIONAL
DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

PSEUDOMONAS

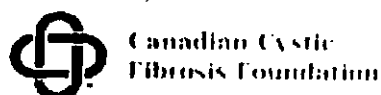
10th International Congress

Abstract Book



August 27-31, 2005

Marseille (France)



Methylobacterium chloromethanicum.

The *ligM* and *folD* promoter regions were cloned into a promoter probe vector, and their promoter activities were examined in SYK-6. The *ligM* promoter activity was enhanced approximately 3-fold when the cells were incubated in the presence of vanillate. On the other hand, the *folD* was suggested to be transcribed constitutively.

References : Abe, T., E. Masai, K. Miyauchi, Y. Katayama, M. Fukuda. 2005. J. Bacteriol. 187:2030-2037.

Affymetrix DNA microarrays were used PAO1 to PHMB. PAO1 was grown in the presence of 40ppm PHMB and gene expression rate without PHMB. A number of genes were up-regulated in the presence of biocide.

SESSION V : PHYSIOLOGY AND METABOLIC

(P124)

Simazine degradation by *Pseudomonas* sp. strain P41 isolated from herbicide-treated agricultural soils in Chile

Villalobos P.⁽¹⁾, García-González V.⁽²⁾, Govantes F.⁽²⁾, Santero E.⁽²⁾ and Seeger M.⁽¹⁾.

⁽¹⁾Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile. ⁽²⁾Centro Andaluz de Biología del Desarrollo y Departamento de Ciencias Ambientales, Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, Spain.

*Patricio.villalobos@usm.cl

Simazine is an important member of *s*-triazine herbicides widely used in Chile for controlling broad-leaved weeds. *Pseudomonas* sp. strain P41 is a native bacterium isolated from Chilean soils by enrichment using simazine as sole nitrogen source. *Pseudomonas* sp. P41 is able to degrade efficiently simazine and atrazine. Unlike other *s*-triazine degrading strains, *Pseudomonas* sp. P41 is amenable to genetic manipulation, supporting stable insertion of foreign gene into the genome. All catabolic genes of the upper (*atzA*, *atzB* and *atzC*) and lower (*atzD*, *atzE*, and *atzF*) pathways for atrazine utilization were detected by PCR. A LysR-like regulator of the pathway was identified by sequence analysis. Resting cells assays showed that simazine degradation in strain P41 was controlled by availability of additional nitrogen sources, as previously determined for *Pseudomonas* sp. strain ADP (1). Preferential nitrogen sources, such as ammonia, repressed the simazine degradation pathway in this strain, while limiting nitrogen conditions induce simazine utilization. RT-PCR experiments showed that the genes of the upper pathway are constitutively expressed. *AtzDEF* operon was regulated by nitrogen sources availability as simazine and cyanuric acid. Additional regulation experiments confirmed these results. *Pseudomonas* sp. strain P41 showed several differences in regulation of *s*-triazines degradation in comparisons to *Pseudomonas* sp. strain ADP (1). Notably, *Pseudomonas* sp. P41 exhibited significant *s*-triazine degradation in the presence of nitrate. This is particularly interesting, since in fertilized agricultural soils the simultaneous presence of nitrate and herbicides has been determined. Studies of simazine degradation by *Pseudomonas* sp. strain P41 in nitrate-amended soil microcosms are currently in progress.

I. García-González et al., 2005. J. Bacteriol. 187: 155

Mutagenesis strategies to alter HbpR regulatory protein

Vogne C¹ and van der Meer JR.
Department of Fundamental Microbiology,
Lausanne, Switzerland.
E-mail : christelle.vogne@unil.ch

Pseudomonas azelaica HBP1 is a hydroxybiphenyl (2-HBP), as sole carbon source. Its metabolism depends on three enzymes. Detection of 2-HBP by *P. azelaica* is achieved by HbpR. The gene encoding the HbpR protein. This protein, which belongs to the σ 54 family, activates transcription from two sigma-54 dependent promoters in the presence of 2-HBP. HbpR has a modular architecture: a perception A-domain linked by a short linker to a carboxy-terminal D-domain containing a DNA-binding site. Between the A-domain and 2-HBP is a C-domain localised ATPase activity. The D-domain in the regulatory protein HbpR contains an effector-binding site and a wide range of mutations modeled in its tertiary structure by a linker domain gene region corresponding to the effector-binding site were created by site directed mutagenesis. A plasmid containing an HbpR-regulatory protein gene was tested for their inducibility. The mutants were related to the bioinformatic analysis. The protein was purified as an N-terminal HIS-tagged protein. Microscopy in the presence or absence of 2-HBP revealed that HbpR binds to the DNA.

Reference:

Characterization of HbpR binding by site-directed mutagenesis of the effector domain. Tropel D, van der Meer JR.

SESSION V : PHYSIOLOGY AND METABOLIC

