



Comisión Nacional de Investigación
Científica y Tecnológica - CONICYT



COMISIÓN NACIONAL DE INVESTIGACION CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA

VERSION OFICIAL

FECHA: 15/03/2015

N° PROYECTO : 1120924 **DURACIÓN :** 3 años **AÑO ETAPA :** 2014

TÍTULO PROYECTO : DEEP SEA FUNGI AS A SOURCE OF BIOACTIVE METABOLITES

DISCIPLINA PRINCIPAL : QUIMICA DE RECURSOS NATURALES

GRUPO DE ESTUDIO : QUIMICA

INVESTIGADOR(A) RESPONSABLE : MARIO JORGE SILVA OSORIO

DIRECCIÓN :

COMUNA :

CIUDAD : CONCEPCION

REGIÓN : VIII REGION

FONDO NACIONAL DE DESARROLLO CIENTIFICO Y TECNOLOGICO (FONDECYT)

Moneda 1375, Santiago de Chile - casilla 297-V, Santiago 21

Telefono: 2435 4350 FAX 2365 4435

Email: informes.fondecyt@conicyt.cl

INFORME FINAL
PROYECTO FONDECYT REGULAR

MODIFICACIONES ACADÉMICAS

El informe no presenta modificaciones académicas.

PROJECT RESULTS:

Describe the results of your research in reference to its original and/or modified Project objectives.

The maximum extension of this section is 5 pages (Arial or Verdana font, size 10).

Toma de muestras

Se realizó 6 muestreos de sedimento marino y material inorgánico y biológico en la LC Kay-Kay de la Universidad de Concepción y en embarcación artesanal acondicionada para las maniobras de toma y preparación *in situ* de muestras. En el primer muestreo, se tomó sedimento mediante draga tipo Petit Ponar de 1 kg de capacidad para profundidades no superiores a 10 m, en el segundo y tercer muestreo, los sedimentos se tomaron mediante draga Petit Ponar disponible en el barco, de aprox. 10 kg de capacidad a profundidades de hasta 120 m. Los muestreos 4 y 6 se realizaron en embarcación de fibra de vidrio a profundidades no superiores a 30 m y el muestreo 5 en intermareal. Por cada punto de muestreo, se homogenizó el total extraído para obtener una muestra representativa no superior a 600g. Estas muestras fueron mantenidas en cajas termo aisladas y transportadas al laboratorio para ser almacenadas bajo refrigeración a 4°C hasta su tratamiento. El material biológico fue almacenado a -12 ° para su posterior uso.

Aislamiento de cepas fúngicas

De cada muestra, se pesaron 5g y se dejaron secar en placas Petri, en cámara de flujo laminar vertical toda la noche a temperatura ambiente.

Luego las muestras secas se homogenizaron, por separado, en un mortero y se pusieron a baño maría a 55°C durante 6 minutos para eliminar carga bacteriana.

Se prepararon placas Petri con agar en el medio YPM (levadura, peptona, manitol) en agua de mar filtrada y luego se agregó diversas combinaciones de sulfato de estreptomicina, vancomicina, cicloheximida y ac. Nalidixico como restrictores para la obtención ya sea de bacterias u hongos a partir de estas muestras.

Se utilizó el método de timbrado, para el cual se utilizan esponjas estériles, presionando el sustrato y luego la superficie de la placa con medio de cultivo en sentido de las agujas del reloj, generando así una dilución seriada. Las placas se incubaron a 25°C por 7 días.

Los hongos obtenidos fueron transferidos a placas de agar YPM para obtención de cepas puras.

Las cepas puras se almacenaron en medio YPM líquido con adición de glicerol 15% a -18°C.

Los muestreos Nr. 5 (Nov-2014) y Nr. 6 (Dic-2014) están actualmente siendo procesadas para aislar cepas de microorganismos (hongos y bacterias). Del muestreo 5 existen 150 placas y del muestreo 6, 210 placas de las cuales en los próximos días se realizarán los trasposos correspondientes.

Prueba preliminar de actividad antibacteriana

Como actividad rutinaria y con la finalidad de usar prioritariamente las cepas activas, se probó la actividad antibacteriana de las cepas fúngicas obtenidas de los diferentes sedimentos marinos, frente a *Escherichia coli* (25922) y *Staphylococcus aureus* (6538-P), ambas cepas susceptibles. Para ello, se cortaron trozos de micelio de todas las cepas de hongos aisladas utilizando un sacabocado de 7mm de diámetro y se colocaron sobre placas de Petri con medio agar tripticasa de soya (TSA), inoculadas con *E.coli* y *S. aureus* a una concentración de 10⁶ UFC/ml. Las placas se incubaron a 37° C durante 48 horas, luego se observó la presencia o ausencia del halo de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de cada trozo de micelio.

Bajo este formato de trabajo, se obtuvo del muestreo 1 un total de 17 cepas desde las diferentes estaciones, 15 presentaron actividad frente a *S. aureus* y 12 de ellas presentaron actividad frente a *E. coli*. Del muestreo 2 se obtuvo un total de 60 cepas desde las diferentes estaciones, obteniendo 21 cepas activas, del muestreo 3 hasta la fecha se obtuvo un total de 27 cepas desde las diferentes estaciones, obteniendo 19 cepas activas. Del muestreo 4 (17/06/2014) se obtuvo muestras desde 8 sitios, de las cuales se aisló 46 cepas de hongos,

siendo de ellas 14 cepas preliminarmente activas. Estas cepas están siendo trabajadas en cultivos en medio líquido en la actualidad.

Todas las cepas serán codificadas y almacenadas en viales de 5 ml a 4°C en el Cepario del Laboratorio de Química de Productos Naturales, como se ha venido realizando con todas las muestras obtenidas por aislamiento.

Cultivos en medio líquido

Aquellas cepas que presentaron actividad antibacteriana se cortaron trozos de 1cm² de micelio, los que se transfirieron a matraces Erlenmeyer de 500ml con 300ml de medio líquido YPM con agua de mar filtrada, bajo cámara de flujo laminar vertical y se mantuvieron en agitación constante a 200rpm durante 10 días en un agitador orbital a temperatura ambiente.

Para la fermentación se utilizaron reactores de diferentes volúmenes, que incluyeron matraces de 500, 1000, 2000, 5000 ml y un bioreactor con agitación automática y control de aireación de 15 litros. En esta etapa no se utilizó bioreactores de mayor volumen.

Extracción de Compuestos Bioactivos

Para la obtención de moléculas bioactivas, se procedió a separar el micelio de la fase líquida utilizando un filtro de 4 capas de gasa estéril. El micelio obtenido se descartó; a la fase líquida se le agregó 6 g de amberlita y se mantuvo con agitación constante de 200rpm durante 30min. Luego, la amberlita se filtró y se descartó el sobrenadante que contiene los compuestos apolares, que no son relevantes para este estudio. La resina se llevó a una columna de vidrio y con acetona se eluyó los compuestos polares retenidos por esta resina. El extracto cetónico se concentró a sequedad en evaporador rotatorio a 45°C a presión reducida, el sólido obtenido se pesó y se almacenó a 4°C.

Otro formato de extracción, consideró el uso de solventes polares, como acetato de etilo, dada su mejor afinidad con los metabolitos generados por el cultivo de hongos. En este caso, se procedió a separar el micelio de la forma previamente descrita para luego extraer el medio líquido con acetato de etilo hasta agotamiento.

La decisión de usar uno u otro formato, se adopta a partir de una extracción de 10 mL con amberlita o acetato de etilo y verificando el rendimiento obtenido.

Los extractos obtenidos, ya sea por el formato de extracción con resina o con solvente, fueron posteriormente fraccionados por cromatografía en columna de 2 cm de diámetro y 40 cm de largo, con silica gel 60 (0.63-0.200 mm) y se empleó como fase móvil mezclas de acetato de etilo y metanol de polaridad creciente. Las fracciones obtenidas se secan en rotavapor a 45°C a presión reducida, se pesan y se almacenaron a 4°C para las posteriores pruebas de bioactividad y de caracterización química. Todos los fraccionamientos se controlaron por TLC y HPLC

Actividad Biológica (antibacteriana, antifúngica y citotóxica)

Antibacteriana

Para determinar la actividad antibacteriana de los extractos totales y fracciones, se utilizó como criterio inicial la aparición de un halo de inhibición alrededor del disco de papel filtro impregnado con extracto sobre la placa de Petri inoculada con la bacteria. La Dosis mínima inhibitoria se evaluó con compuestos puros.

Los ensayos de actividad antibacteriana consideraron el uso de *Escherichia coli* (ATCC SI) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538-P). En anexo, se detalla información respecto de los resultados obtenidos a partir de estos ensayos. Aquellos extractos que presentaron actividad, fueron seleccionados para su posterior caracterización química, de forma prioritaria y escalando la obtención de mayor cantidad de metabolitos en cultivos líquidos de 15 L.

Citotóxica

Con el fin de determinar la actividad citotóxica de los extractos como un indicador preliminar de una potencial actividad anticancerígena, evaluamos el efecto de la exposición de estos extractos sobre la viabilidad celular en el modelo celular de neuroblastoma de ratón, la línea celular N2a.

La línea celular de neuroblastoma de ratón Neuro 2a (ATCC CCL-131), fue crecida en medio de cultivo RPMI 1640 (Invitrogen) suplementado con un 10% de Suero Bovino fetal SBF (Gibco), amphotericina B (0,25 µg/mL) (Gibco), Penicilina/estreptomicina (100 U/mL / 100ug/mL) (Gibco), Piruvato de sodio (1mM) (Gibco) y glutamina (2mM) (Gibco), fue mantenida a 37°C en una incubadora (Thermo Scientific) con un 5% de inyección de CO₂, condiciones estandarizadas durante el primer año de este proyecto.

Tal como definieramos durante la primera eta de este proyecto entre las metodologías ampliamente utilizadas encontramos el % de viabilidad mediante la técnica colorimétrica determinada mediante el colorante vital MTT 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide – Invitrogen), este ensayo colorimétrico se basa en la capacidad de las deshidrogenasas mitocondriales de las células viables capaces de metabolizar el MTT (color amarillo) a un precipitado de sales de formazán azul, la cuál es disuelto con DMSO y leído utilizando un lecto de microplacas (Synergy Biotek). El % de metabolización de MTT por las células controles corresponden al 100% de células viables y está relacionando la absorbancia a 570nm. Las células que pierden la capacidad de metabolizar MTT son aquellas dañadas por el extracto de hongos marinos.

Inicialmentese evaluó el efecto citotóxico sobre la línea celular de neuroblastoma de ratón (Neuro-2a) por un periodo de 24 horas. En base a estos resultados, se consideró una citotoxicidad positiva aquellos extractos que presentaban una actividad citotóxica mayor o igual al 50% considerando concentraciones menores o iguales a 50 µg/mL. Aquellos extractos positivos al test anterior sobre Neuro-2^a, posteriormente fue evaluado sobre las líneas celulares de cáncer de mama humano (MCF7), osteosarcoma humano (Saos-2), cáncer de próstata humano (LNCaP/C24) y nuevamente se incluyó en Neuro-2a por 24, 48 y 72 horas de exposición.

El extracto Q4, obtenido durante 2012, ha mostrado actividad citotóxica positiva sobre todas las líneas celulares evaluadas (Tabla 1). Es importante destacar que este extracto mostró la mayor capacidad citotóxica de los extractos evaluados hasta el momento. Además muestra la misma tendencia observado en los estudios desde el 2012. Actualmente se trabaja en la obtención de mayor cantidad de compuesto a partir de cultivos líquidos de 15 L. El rendimiento de obtención de los metabolitos activos de esta cepa es muy baja, lo cual incide en pequeñas pérdidas de material con las purificaciones por cromatografía.

Tabla 1. Índice de citotoxicidad 50% (IC₅₀) para el extracto Q4 del año 2012, sobre las cuatro líneas celulares evaluadas en diferentes tiempos de exposición.

Línea celular	IC ₅₀ 24 horas (µg/mL ± SD)	IC ₅₀ 48 horas (µg/mL ± SD)	IC ₅₀ 72 horas (µg/mL ± SD)
Neuro-2a	14,24 ± 3,55	0,79 ± 0,02	1,52 ± 0,11
MCF7	8,91 ± 3,27	1,13 ± 0,21	0,97 ± 0,08
Saos-2	9,14 ± 0,89	0,71 ± 0,15	0,29 ± 0,08
LNCaP/C42	14,43 ± 4,16	5,66 ± 0,51	1,55

Identificación molecular de cepas biológicamente activas

Complementando a las herramientas tradicionales como la microscopía de estructuras reproductivas y vegetativas, la biología molecular ha permitido conocer y comprender la estructura y variabilidad genética de hongos. La técnica más utilizada es la amplificación de segmentos determinados de ADN mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y el análisis de los segmentos obtenidos, entre las variantes más empleadas se encuentra la

amplificación y secuenciación de las regiones correspondientes al espacio transcrito interno (ITS), esta región es muy informativa por su especificidad (Díaz et al., 2005 ; Begerow et al. 2010). La región ITS ha sido determinante para la distinción de hongos a distintos niveles taxonómicos, esto es posible por su secuenciación y posterior análisis filogenético, resultando en un alto poder resolutivo para ubicar especies crípticas (Begerow et al. 2010, Min Lu et al., 2009; Son et al., 2010).

La extracción de ADN genómico se realizó a partir de micelio, según la metodología de CTAB (Doyle & Doyle., 1990). Para la amplificación de la región correspondiente al espaciador interno transcrito (ITS), se utilizaron los primarios (ITS1F-ITS4), descritos por (White et al, 1990). La amplificación del ITS se realizó por medio de Reacción en Cadena de Polimerasa, según las siguientes condiciones: 94°C 4 minutos, seguido de 30 ciclos de (94°C 40 segundos, 60°C 40 segundos, 72°C 1 minutos) y una elongación final de 72°C 10 minutos. Secuenciación del producto de PCR.

Los productos de PCR obtenidos fueron enviados directamente a la empresa MacroGen para su secuenciación. Posteriormente, se evaluó la identidad y cobertura con las secuencias disponibles en la base de datos GenBank, usando el algoritmo BLAST (Altschul et al., 1997) disponible en el sitio Web: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

Cepa	Organismo	% Id Blast	Acceso Genbank or Mycobank (M)	Referencia	Posible género
A11	<i>Emericellopsis minima</i>	99	U57675.1	Mycologia 88, 369-383 (1996)	Emericellopsis sp.
Q4	<i>Acrostalagmus luteoalbus</i>	86	AY555967.1	Mycol. Res. 109 (PT 8), 889-902 (2005)	Acrostalagmus sp.
Q2	<i>Acremonium tubakii</i>	99	CBS 555.74 (M)		Acremonium sp
ITTBB (5)	<i>Eurotium rubrum</i>	98	HM152565.1	Mikrobiologija 80 (5), 707-713 (2011)	Eurotium sp
B2	<i>Stilbella fimetaria</i>	99	FJ430712.1		Stilbella sp

Aislamiento y caracterización de moléculas bioactivas

Los extractos que resultaron ser bioactivos, fueron separados mediante columna cromatográfica rápida, obteniendo un número variable de fracciones (entre 10 y 15). Estas fracciones fueron purificadas mediante cromatografía líquida de alta presión, con detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD) usando un gradiente de agua:acetonitrilo y mediante columna C-18, semi-preparativa. Este modelo de fraccionamiento, se usa habitualmente. Sobre la base de este modelo, se cambian condiciones según las características de cada extracto lo ameriten. El objetivo de esta etapa, es obtener compuestos tan puros como sea posible.

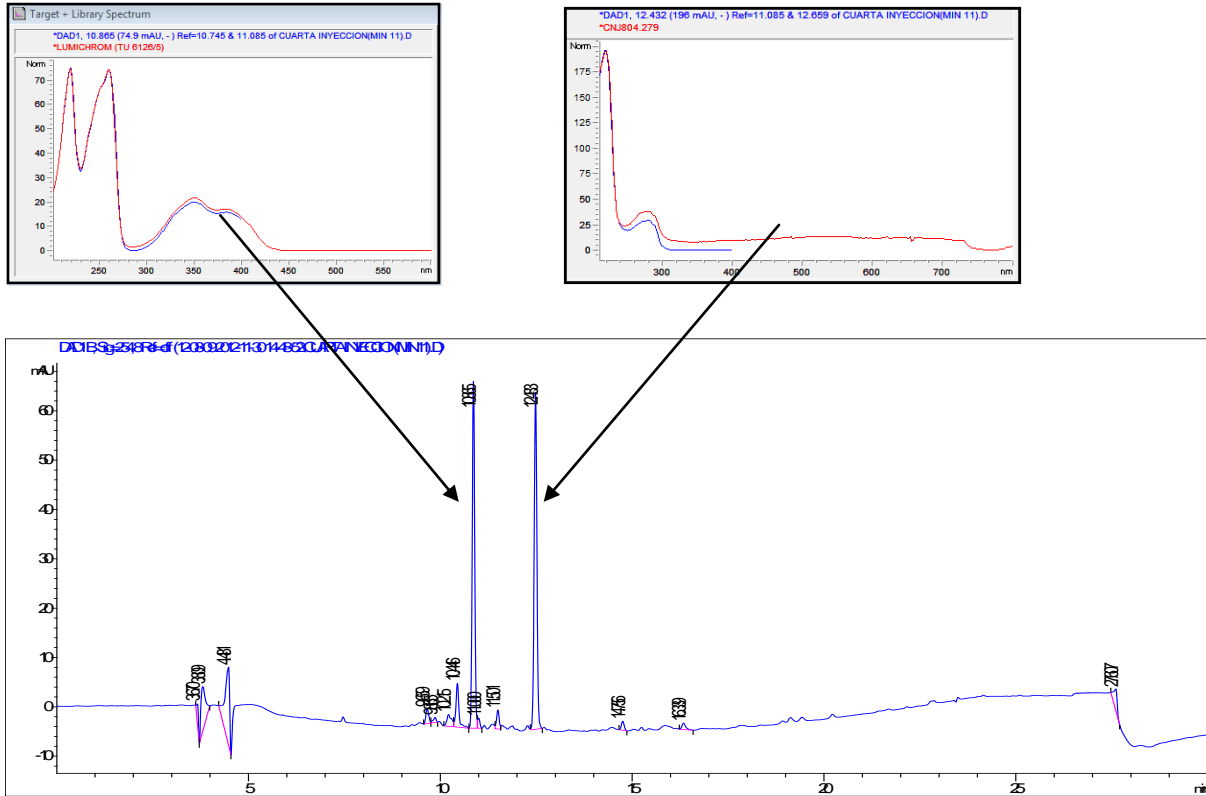
Obtenidos resultados de bioactividad (antibacteriano, citotóxico) relevantes, se procede a caracterizar químicamente estas moléculas, empleando a lo antes mencionado, identificación mediante LC-MS lo cual nos aporta con datos relacionados al peso molecular. A partir de esta información, se realizan los ensayos de NMR (600 Mhz Varian Instrument Co.) tanto de primer orden (NMR 1H , NMR ^{13}C , DEPT 135) como de segundo orden (COSY y HMQC) para definir la estructura química del compuesto bioactivo estudiado. Para tener certeza de la identidad de compuestos evidenciado mediante LC_MS, se usó la herramienta analítica LC-ELSD (*Evaporative light scattering detector*) lo que permite el análisis directo de una mezcla de compuestos, consiguiendo evitar la pérdida de material debido a los métodos de purificación.

Toda la información que se puede recuperar de los diferentes métodos analíticos aquí descritos, se utiliza para caracterizar de forma definitiva los compuestos mediante la ayuda de la base de datos Anti-Marine, la cual aporta información muy clara de compuestos obtenidos de origen marino.

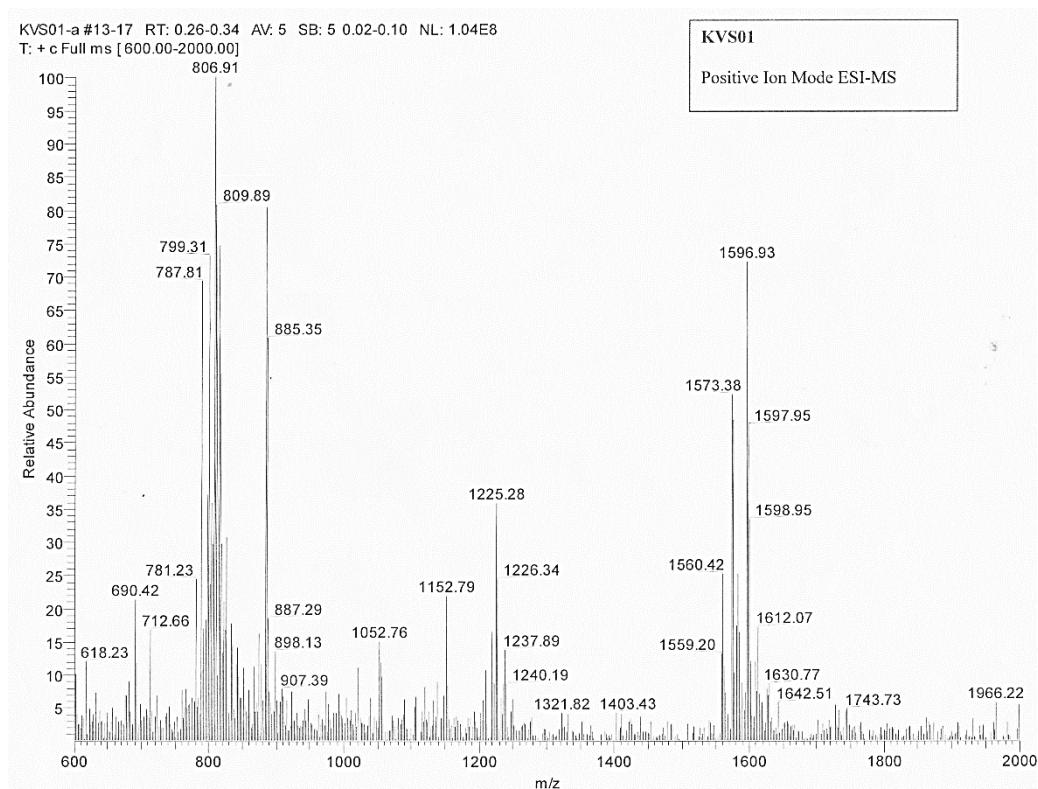
Cromatograma de LC-DAD del compuesto Q4

Muestra: Q4, Fracción 12-13(Parte 4/6); min 11

Fase móvil: Método Gradiente desde (10:90/ACN:H₂O). Flujo: 0.7ml/min; 254 nm



Cromatograma de LC-MS de Emerimicina IV (y aductos)



COOPERACIÓN INTERNACIONAL

N° Proyecto: 1120924
Nombre Colaborador (a) Extranjero (a): IGNACIO FERNANDO SOTTORFF NECULHUEQUE
Afiliación Institucional Actual: UNIVERSITY OF CALIFORNIA, SAN DIEGO
Fechas de estadía **Desde :**01/10/2014 **Hasta :**31/12/2014

Describa las actividades realizadas y resultados obtenidos. Destaque su contribución al logro de los objetivos del proyecto. Si es pertinente, indique las publicaciones conjuntas generadas, haciendo referencia a lo informado en la etapa Productos. Agregue en la etapa anexos la información necesaria.

El Sr. Ignacio Sottorff (M.Sc.), Ingeniero en biotecnología marina y ex alumno de esta Universidad, realizó sus estudios de Master of Sciences en la Universidad de California San Diego, bajo la supervisión directa del Dr. William Fenical. Ignacio se vinculó a este grupo de investigación de forma de traspasar metodologías de trabajo del grupo del Dr. Fenical en este laboratorio. Su participación en las metodologías de aislamiento de cepas de hongos a partir de muestras de fondo marino mas el escalamiento de los ensayos de fermentación en matraces y bioreactores ha sido crucial para el cumplimiento cabal de los objetivos de la investigación.

Asi mismo, esta cooperación ha sido fundamental para mejorar el rendimiento de los análisis de metabolitos mediante LC-MS y LC-DAD, tanto por la automatización conseguida, como por los métodos desarrollados.

En función de la existencia de nuestras bases de datos, como Anti-Marine, la cual cuenta con mas de 40,000 datos, o NIST con mas de 135,000 entradas, mas la destreza adquirida en la elucidación estructural de las moléculas que hemos aislado, fue posible confirmar, con la colaboración del Sr. Sottorff, las estructuras que se informan en los documentos que son resultado de esta investigación.

Desde el 21 al 26 de abril de 2014, recibimos la visita científica del Dr. William Fenical, Director Center for Marine Biotechnology and Biomedicine Scripps Institution of Oceanography, Universidad de California, San Diego. Entre sus actividades en nuestro grupo, el Dr. Fenical realizó una charla dirigida a estudiantes, investigadores y profesores en relación con los avances obtenidos en la investigación de moléculas bioactivas obtenidas de especies de ambiente marino. Este evento conto con una amplia cobertura de prensa, tanto escrita como audiovisual, que permitió maximizar la difusión e impacto de nuestra investigación en colaboración.

Finalmente, entre los meses de junio y agosto de 2014, el Dr. Jaime Cabrera, ex alumno de este laboratorio y doctorado en química por la Universidad de Illinois, colaboró con nuestro grupo y participó activamente de los seminarios de investigación.

PRODUCTOS

ARTÍCULOS

Para trabajos en Prensa/ Aceptados/Enviados adjunte copia de carta de aceptación o de recepción.

N° : 1
Autor (a)(es/as) : R. Ahumada, J. Becerra, M.Silva
Nombre Completo de la Revista : Revista de Biología Marina y Oceanografía
Título (Idioma original) : Variation of sterols and fatty acids as an adaptive response to changes of temperature, salinity and pH of a marine strain of *Epicoccum nigrum* of the Patagonian Fjords of Chile
Indexación : ISI
ISSN :
Año : 2014
Vol. : 49
N° : 2
Páginas : 293-305
Estado de la publicación a la fecha : Enviada
Otras Fuentes de financiamiento, si las hay :

--

Envía documento en papel : no
Archivo(s) Asociado(s) al artículo :
Epicoccum_nigrum_1120924.pdf
http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_articulos/descarga/2993442/1120924/2014/63566/1/

OTRAS PUBLICACIONES / PRODUCTOS

N° : 1
Autor (a)(es/as) : Alexandra Venegas
Título (Idioma original) : Investigador norteamericano dictó charla sobre uso de microorganismos marinos en Biomedicina
Tipo de publicación o producto : Seminario/Taller/Curso
ISBN :
Editor (es) (Libro o Capitulo de libros) :
Nombre de la editorial /Organización : Revista Panorama UDEC
País : CHILE
Ciudad : Concepcion
Fecha : Abril - 2014
Año : 2014
Vol. :
N° :
Páginas :
Otras Fuentes de financiamiento, si las hay :

Envía documento en papel : no
Archivo(s) Asociado(s) al artículo :
investigador-norteameri-Panorama.pdf
http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_otras_publicaciones/descarga/2993442/1120924/2014/18934/1/

CONGRESOS

N° : 1
Autor (a)(es/as) : Tirapegui, F.; Agurto, A.; Oyarzo, MJ.; Rozas, Z.; Hernandez, V.; Silva, M.
Título (Idioma original) : Moléculas bioactivas de hongos provenientes de sedimento marino la Región del Biobío
Nombre del Congreso : VII Simposio Internacional de Química de Productos Naturales y sus Aplicaciones
País : CHILE
Ciudad : Talca
Fecha Inicio : 05/11/2012
Fecha Término : 08/11/2012
Nombre Publicación :

Año :

Vol. :

Nº :

Páginas :

Envía documento en papel : no

Archivo Asociado :

Resumen_Congreso_Talca_-_F_Tirapegui.pdf

http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_congresos/descarga/2993442/1120924/2014/100418/1/

TESIS/MEMORIAS

Nº :

1

Título de Tesis : Obtención y estudio de moléculas bioactivas aisladas de hongos de sedimento marino con potencial uso farmacológico

Nombre y Apellidos del(de la) Alumno(a) : Felipe Tirapegui Gonzalez

Nombre y Apellidos del(de la) Tutor(a) : Mario Silva Osorio

Título Grado : Pregrado

Institución : Universidad de Concepcion

País : CHILE

Ciudad : Concepcion

Estado de Tesis : Terminada

Fecha Inicio : 28/05/2012

Fecha Término : 29/03/2013

Envía documento en papel : no

Archivo Asociado :

Tesis_Tirapegui.pdf

http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_tesis_memorias/descarga/2993442/1120924/2014/51943/1/

Nº :

2

Título de Tesis : Variación estacional de polisacáridos sulfatados presentes en *Nothogenia fastigiata*

Nombre y Apellidos del(de la) Alumno(a) : Marcos Troncoso Valenzuela

Nombre y Apellidos del(de la) Tutor(a) : Mario J. Silva Osorio

Título Grado : Magister

Institución : Universidad de Concepcion

País : CHILE

Ciudad : Concepcion

Estado de Tesis : Terminada

Fecha Inicio : 14/03/2011

Fecha Término : 20/05/2014

Envía documento en papel : no

Archivo Asociado :

PORTADA_TESIS_MAGISTER.pdf

http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_tesis_memorias/descarga/2993442/1120924/2014/51944/1/

N° : 3
Título de Tesis : Obtención de moléculas de actinomicetos de sedimentos marinos en la desembocadura del río Itata, VII región
Nombre y Apellidos del(de la) Alumno(a) : Liliana Lara
Nombre y Apellidos del(de la) Tutor(a) : Mario Silva O.
Título Grado : Magister
Institución : Universidad de Concepcion
País : CHILE
Ciudad : Concepcion
Estado de Tesis : En Ejecución
Fecha Inicio : 04/08/2014
Fecha Término : 21/12/2015
Envía documento en papel : no
Archivo Asociado :
14-03-31-PROYECTO_DE_TESIS.pdf
http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_tesis_memorias/descarga/2993442/1120924/2014/57584/1/

N° : 4
Título de Tesis : Búsqueda de nuevos compuestos bioactivos en Hongos y Actinomycetes marinos con aplicaciones biotecnológicas
Nombre y Apellidos del(de la) Alumno(a) : Andres Perez
Nombre y Apellidos del(de la) Tutor(a) : Mario Silva O.
Título Grado : Pregrado
Institución : Universidad de Concepcion
País : CHILE
Ciudad : Concepcion
Estado de Tesis : Terminada
Fecha Inicio : 28/07/2014
Fecha Término : 06/03/2015
Envía documento en papel : no
Archivo Asociado :
14-07-07-Proy_Tesis-Perez_Andres_2014.pdf
http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_tesis_memorias/descarga/2993442/1120924/2014/57589/1/

N° : 5
Título de Tesis : Busqueda de metabolitos bioactivos de actinomicetos del fondo marino
Nombre y Apellidos del(de la) Alumno(a) : Alejandro Insotroza
Nombre y Apellidos del(de la) Tutor(a) : Mario Silva O.
Título Grado : Pregrado
Institución : Universidad de Concepcion
País : CHILE
Ciudad : Concepcion
Estado de Tesis : En Ejecución
Fecha Inicio : 04/08/2014

Fecha Término :
Envía documento en papel : no
Archivo Asociado :
CCF24112014_0002.pdf
http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_tesis_memorias/descarga/2993442/1120924/2014/57618/1/

Nº : 6
Título de Tesis : Aislamiento, caracterización, hemisíntesis y evaluación biológica de metabolitos provenientes del genero Cortinarius
Nombre y Apellidos del(de la) Alumno(a) : Mitchell Bacho Lemus
Nombre y Apellidos del(de la) Tutor(a) : Aurelio San Martín
Título Grado : Doctorado
Institución : Universidad de Chile
País : CHILE
Ciudad : Santiago
Estado de Tesis : En Ejecución
Fecha Inicio : 31/03/2011
Fecha Término :
Envía documento en papel : no
Archivo Asociado :
15-03-04-Informacion_de_Tesis_y_memorias_-_Mitchell_Bacho.pdf
http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f4_tesis_memorias/descarga/2993442/1120924/2014/60413/1/

ANEXOS

Nº : 1
Archivo Asociado : 15-01-23-Paper_Proyecto_FNC_1120924.pdf
http://sial.fondecyt.cl/index.php/investigador/f5_anexos/descarga/2993442/1120924/2014/57351/

A continuación se detallan los anexos físicos/papel que no se incluyen en el informe en formato PDF.

Resultados de ensayos de citotoxicidad
Resultados de ensayos de caracterización química
Listado de muestreos (punto gps, numero de sitios, muestras)