

PROYECTO FONDEF DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO

INFORME FINAL

TITULO DEL PROYECTO: DESARROLLO DE UNA PLATAFORMA GENOMICA EN SALMON COHO, PARA LA IMPLEMENTACION DE PROGRAMAS DE MEJORA MIENTO GENETICO SUSTENTABLE EN CHILE

CÓDIGO DEL PROYECTO: ID14I10090

FECHA DE EMISION: 21/11/2017

FIRMA DEL (DE LA) DIRECTOR(A) DEL PROYECTO
VICTOR AGUSTIN MARTINEZ MONCADA

I. Acta De Término Del Proyecto

1.1 Identificación del proyecto

TITULO DEL PROYECTO	DESARROLLO DE UNA PLATAFORMA GENOMICA EN SALMON COHO, PARA LA IMPLEMENTACION DE PROGRAMAS DE MEJORA MIENTO GENETICO SUSTENTABLE EN CHILE
CÓDIGO FONDEF	ID14I10090
DIRECTOR(A) DEL PROYECTO	VICTOR AGUSTIN MARTINEZ MONCADA
INSTITUCIÓN(ES) BENEFICIARIA(S)	UNIVERSIDAD DE CHILE
EMPRESA Y OTRAS ENTIDADES ASOCIADAS	WASHINGTON STATE UNIVERSITY UNIVERSITY OF WASHINGTON PACIFIC STAR S.A. INTESAL SALMONES MULTIEXPORT LTDA. TROUTLODGE CHILE S.A. AQUAGEN SALMONES HUMBOLDT

1.2 Ejecución del proyecto

FECHA DE TOMA DE RAZON POR LA CONTRALORÍA GENERAL DE LA REPÚBLICA	29/12/2014
DURACIÓN CONTRACTUAL	24
FECHA EFECTIVA DE INICIO	20/03/2015
FECHA EFECTIVA DE TÉRMINO	19/03/2017
DURACIÓN EFECTIVA	24

1.3 Plan de Continuidad

Nombre Institución Beneficiaria	Nombre Representante Legal	Firma
UNIVERSIDAD DE CHILE	FLAVIO ANDRÉS SALAZAR ONFRAY	Firma Electrónica

1.4 Tabla de Conformidad

Nombre Institución Empresa u Otra Entidad Socia	Nombre Representante Legal	Documento conformidad
WASHINGTON STATE UNIVERSITY		
UNIVERSITY OF WASHINGTON		
PACIFIC STAR S.A.	CARLOS SILVA	
INTESAL		
SALMONES MULTIEXPORT LTDA.	ARTURO CLEMENT	
TROUTLODGE CHILE S.A.	RODRIGO FERNANDO TORRIJO OLMO	
AQUAGEN		
SALMONES HUMBOLDT		

II. Informe Ejecutivo

2.1 Resumen Ejecutivo

Versión en Castellano

Una de las actividades de mayor crecimiento de nuestro país ha sido el cultivo de salmones, llegando actualmente a estar posicionado prácticamente como el segundo productor de salmones del mundo. Sin embargo, el éxito de esta industria, como todos los sistemas de cultivo intensivo de animales, depende en una medida importante del control de las enfermedades infecciosas. Existe un gran interés en la utilización de herramientas genómicas para el desarrollo de programas de mejoramiento genético sustentable, especialmente en lo que se refiera al manejo genético de la resistencia a enfermedades. En salmón Coho, la Piscirickettsiosis (SRS) son las enfermedades con mayor prevalencia y mortalidad en nuestro país, a lo largo del ciclo productivo del salmón. Las mortalidades dependiendo del stock y cepa pueden ser cercanas al 80%, generando grandes pérdidas económicas importantes en el sector. Debido a que la replicación de *Piscirickettsia* se realiza intra-celularmente, se cuestiona la efectividad de los antibióticos cuando los peces ya presentan signos clínicos a esta enfermedad. Todo esto redundaría en la sustentabilidad de nuestra producción. Por otro lado, la eficiencia en terreno de las vacunas comerciales no ha sido la esperada. Aunque existe información acerca de aspectos biológicos de estos patógenos, aún no se conoce claramente cuál es la respuesta inmune del hospedador a la infección. Siendo, la respuesta inmune del pez un área de estudio que aún está poco explorada, se hace más difícil entender cómo se defiende el pez frente a una infección. Por este motivo, resulta interesante abordar el problema de otro punto de vista que podría dar una solución más directa al control de la enfermedad, considerando el uso de herramientas genómicas a gran escala, las cuales permiten determinar los factores asociados a la resistencia. Más aún, existe reducida información acerca de las zonas del genoma de los salmones que influyen en la expresión cuantitativa de la resistencia a estos patógenos, en lo que se denomina genes de efecto cuantitativo o QTL. Esta información en conjunto con estudios de genómica funcional a través de secuenciamiento a gran escala, permitió conocer más a fondo, aquellos genes que están asociados más directamente en la expresión final de la resistencia genética a los patógenos. No obstante, lo anterior, una de las especies con un escaso desarrollo en esta área es el salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) aunque esta especie representa un porcentaje significativo de las exportaciones de salmonidos en Chile. Más aún, el estudio de enfermedades emblemáticas, tales como BKD, SIC y Piscirickettsiosis, desde un punto de vista genético, ha sido escasamente estudiado. Por otro lado, debido a la escasa variabilidad de las poblaciones introducidas hace más de 3 décadas, desde Japón y Estados Unidos, el manejo de estas poblaciones desde un punto de vista genético-genómico es esencial, para poder manejar eficientemente las tasas de consanguinidad en las poblaciones comerciales. Este proyecto incorporó la genómica como herramienta tecnológica, en salmón Coho, considerando la utilización de secuenciamiento a gran escala y el desarrollo reciente de 2 especies de salmonidos, *Oncorhynchus mykiss* (trucha arco-iris) y *Salmo salar* (Salmón del Atlántico), los cuales tienen desarrollado la secuencia del genoma en forma extensa. Se utilizó la flexibilidad biológica de los salmonidos, debido a lo cual es posible contar con DNA proveniente de individuos haploides (que solo presentan material genético materno) siendo posible de esta forma, depurar las regiones duplicadas del genoma y contar con mayor cobertura en regiones teloméricas, al momento de detectar y definir polimorfismos del tipo SNP (polimorfismos de una sola base). Esto se realizó utilizando una estrategia que reduzca la representación del genoma, con el objetivo de reducir la complejidad del genoma del salmón Coho. Además, se utilizó información del transcriptoma la cual permitió conocer los genes que se expresan en condiciones productivas y experimentales luego del desafío con *Piscirickettsia salmonis*. Esta información permitió conocer los genes que explican la resistencia genética a estas enfermedades, considerando los genes que se expresan diferencialmente bajo RNAseq y los SNPs presentes en regiones codificantes, asociados a esta enfermedad. Para estudiar la estructura y variabilidad del genoma se generó por primera

vez la secuencia borrador del genoma de esta especie. Esta secuencia fue generada en base al secuenciamiento de un macho, cuyo DNA fue de calidad adecuada para la generación de distintos tipos de librerías, tanto “mate-pair” como “pair-end”. Esto generó una adecuada variabilidad del genoma secuenciado entre las distintas librerías lo cual permitió la generación de un ensamble de alta calidad mediante distintos algoritmos. Además, se consideró la información de 20 individuos, los cuales se secuenciaron en forma masiva considerando todo el genoma, con lo cual se pudo Toda esta información se incorporó en un Chip de genotipado (de más de 220 mil marcadores) bajo la plataforma Affymetrix. De esta forma, se validó estos marcadores considerando poblaciones comerciales que actualmente están siendo manejadas, en programas de mejoramiento genético de esta especie, en una etapa piloto. Finalmente, la información generada en este proyecto permitirá conocer más a fondo la estructura y función del genoma de los salmones Coho dando importantes avances en la asociación entre los genes y la resistencia genética a enfermedades, así como también mediante el uso de selección genómica será posible manejar las tasas de consanguinidad de maneras eficaces. Así se podrá incorporar esta herramienta de análisis molecular a los programas de mejoramiento genético, con el fin de seleccionar reproductores que posean genes más resistentes a estas enfermedades, con el consiguiente beneficio asociado a un menor uso de antimicrobianos y a un mayor bienestar animal. Esta información podrá ser transferida en el corto plazo a las empresas asociadas, con el fin de desarrollar programas de mejoramiento sustentables, que permitan acelerar el progreso genético en relación al obtenido utilizando mejoramiento genético convencional. Este proyecto plantea las siguientes hipótesis científicas y tecnológicas. La hipótesis principal de este proyecto está relacionada con la existencia de variabilidad genética que puede ser descrita en base a la segregación de marcadores asociados al cambio de una base nucleotídica (SNP), los cuales permiten describir tanto procesos poblacionales (consanguinidad), como la existencia de genes que explican variación genética cuantitativa. Mediante el uso de secuenciamiento a gran escala será posible encontrar SNP en regiones genómicas que están asociadas a regiones flanqueantes a sitios de restricción, siendo posible a través de la variación observada (loci heterocigotos) de estos marcadores, la exclusión de genes paralogos en esta especie, los cuales son producto del proceso de diploidización de salmónidos. La resistencia genética a Piscirickettsiosis está mediada por procesos biológicos que están influenciados por genes de inflamación, así como de transporte de membranas e inmunidad adaptativa. Existe variabilidad asociada a regiones codificantes del genoma del Salmon Coho, las cuales están asociadas a distintos grados de susceptibilidad a Piscirickettsiosis. Existe suficiente variabilidad genómica anotada en el chip Affymetrix de salmón Coho que puede ser utilizada para estudios de asociación y selección genómica en esta especie.

Versión en Ingles

One of the fastest growing activities of our country has been the cultivation of salmon, and it is now practically positioned as the second largest producer of salmon in the world. However, the success of this industry, like all animal-intensive farming systems, depends to a significant extent on the control of infectious diseases. There is great interest in the use of genomic tools for the development of programs for sustainable genetic improvement, especially with regard to the genetic management of disease resistance. In Coho salmon, Piscirickettsiosis (SRS) are the diseases with the highest prevalence and mortality in our country, throughout the productive cycle of salmon. Mortalities depending on the stock and strain may be close to 80%, generating large economic losses in the sector. Because replication of Piscirickettsia is performed intra-cellularly, the effectiveness of antibiotics is questioned when fish already present clinical signs of this disease. All this leads to the sustainability of our production. On the other hand, the field efficiency of commercial vaccines has not been as expected. Although there is information about the biological aspects of these pathogens, the host's immune response to infection is still unclear. Being, the immune response of the fish an area of study that is still little explored, it becomes more difficult to understand how the fish is defended against an infection. For this reason, it is interesting to address the problem from another point of view that could give a more direct solution to disease control, considering the use of large-scale genomic tools, which allow determining factors associated with resistance. Moreover, there is little information about

the areas of the genome of salmon that influence the quantitative expression of resistance to these pathogens, in what are called quantitative effect or QTL genes. This information in conjunction with functional genomics studies through large-scale sequencing, allowed to know more fully those genes that are most directly associated in the final expression of genetic resistance to pathogens. However, one of the species with poor development in this area is Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) although this species represents a significant percentage of salmon exports in Chile. Moreover, the study of emblematic diseases, such as BKD, SIC and Piscirickettsiosis, from a genetic point of view, has been scarcely studied. On the other hand, due to the scarce variability of the populations introduced more than 3 decades ago, from Japan and the United States, the management of these populations from a genetic-genomic point of view is essential, in order to be able to efficiently handle inbreeding rates in Commercial populations. This project incorporated genomics as a technological tool in Coho salmon, considering the use of large-scale sequencing and the recent development of 2 species of salmonids, *Oncorhynchus mykiss* (arctic char) and *Salmo Salar* (Atlantic salmon), which have developed the genome sequence extensively. The biological flexibility of the salmonids was used, because it is possible to have DNA from haploid individuals (which only have maternal genetic material), thus being able to debug duplicate regions of the genome and to have greater coverage in telomeric regions, At the time of detecting and defining polymorphisms of the type SNP (polymorphisms of a single base). This will be done using a strategy that reduces genome representation, in order to reduce the complexity of the Coho salmon genome. In addition, transcriptome information was used which allowed to know the genes that are expressed in productive and experimental conditions after the challenge with *Piscirickettsia salmonis*. This information allowed to know the genes that explain the genetic resistance to these diseases, considering the genes that are differentially expressed under RNAseq and the SNPs present in coding regions, associated with this disease. To study the structure and variability of the genome, the first genome sequence of this species was generated. This sequence was generated based on the sequencing of a male, whose DNA was of adequate quality for the generation of different types of libraries, both mate-pair and pair-end. This generated an adequate variability of the genome sequenced between the different libraries, which allowed the generation of a high quality assembly through different algorithms. In addition, the information of 20 individuals was considered, which were sequentially massive considering the whole genome, which was able to All this information was incorporated in a Chip of genotyping (of more than 220 thousand markers) under the platform Affymetrix. In this way, these markers were validated considering commercial populations that are currently being managed, in breeding programs of this species, in a pilot stage. Finally, the information generated in this project will allow us to know more about the structure and function of the genome of Coho salmon giving important advances in the association between genes and genetic resistance to diseases, as well as through the use of genomic selection will be possible Manage inbreeding rates effectively. In this way, this molecular analysis tool can be incorporated into genetic improvement programs, in order to select broods that possess genes that are more resistant to these diseases, with the consequent benefit associated with less use of antimicrobials and greater animal welfare. This information may be transferred in the short term to the associated companies in order to develop sustainable breeding programs that will accelerate the genetic progress in relation to that obtained using conventional genetic breeding. This project raises the following scientific and technological hypotheses. The main hypothesis of this project is related to the existence of genetic variability that can be described based on the segregation of markers associated to the change of a nucleotide base (SNP), which allow to describe both population processes (consanguinity) and the existence Of genes that explain quantitative genetic variation. By using large-scale sequencing it will be possible to find SNPs in genomic regions that are associated with regions flanking at restriction sites, being possible through the observed variation (heterozygous loci) of these markers, the exclusion of paralogous genes in this species, Which are products of the process of diploidization of salmonids. The genetic resistance to Piscirickettsiosis is mediated by biological processes that are influenced by inflammation genes, as well as membrane transport and adaptive immunity. There is variability associated with coding regions of the Salmon Coho genome, which are associated with different degrees of susceptibility to Piscirickettsiosis. There is sufficient genomic variability noted on the Affymetrix Coho salmon chip that can be used for association studies and genomic selection in this species.

2.2 Cuadro De Sintesis de Resultados y Objetivos

Objetivos Generales	
Nombre Objetivo	OBJETIVO GENERAL
Descripción	Esta propuesta tiene como objetivo el desarrollo de una plataforma de genómica que permita el genotipado a gran escala en salmón Coho con el objetivo de generar programas sustentables en esta especie, asociados a la resistencia genética a enfermedades y manejo de la consanguinidad.
Objetivos Específicos	
Nombre Objetivo	OBJETIVO ESPECIFICO
Descripción	Secuenciar regiones aleatorias del genoma del salmón Coho a través de la estrategia “de representación reducida del genoma “ en genomas haploides y diploides de salmón Coho, determinando variantes del tipo SNP.
Nombre Objetivo	OBJETIVO ESPECIFICO
Descripción	Secuenciar el RNA mensajero de individuos resistentes y susceptibles, a <i>Piscirickettsia salmonis</i> caracterizando el transcriptoma en salmon Coho.
Nombre Objetivo	OBJETIVO ESPECIFICO
Descripción	Determinar genes que se expresan diferencialmente entre individuos susceptibles y resistentes asociados a la <i>Piscirickettsiosis</i> en salmón Coho.
Nombre Objetivo	OBJETIVO ESPECIFICO
Descripción	4. Secuenciar el RNA mensajero de individuos resistentes y susceptibles, caracterizando el transcriptoma asociado a la resistencia al síndrome icterico del salmón Coho.
Nombre Objetivo	OBJETIVO ESPECIFICO
Descripción	5. Determinar genes que se expresan diferencialmente entre individuos susceptibles y resistentes asociados al síndrome icterico.
Nombre Objetivo	OBJETIVO ESPECIFICO
Descripción	Determinar polimorfismos de una base (SNP) en regiones flanqueantes a sitios de restricción excluyendo SNP paralogos que se encuentren en regiones duplicadas del genoma del salmón.
Nombre Objetivo	OBJETIVO ESPECIFICO
Descripción	Determinar polimorfismos de una base (SNP) segregantes en regiones genómicas codificantes asociadas a regiones que se espesaron de acuerdo a <i>Piscirickettsiosis</i> y Síndrome Ictérico del salmón.
Nombre Objetivo	OBJETIVO ESPECIFICO
Descripción	Generación de una plataforma de genotipado que permita la genotipificación a gran escala del genoma del salmón Coho, para la detección de genes asociados a resistencia a enfermedades, estructura poblacional y selección genómica.

RESULTADO

Tipo	Resultado de Producción
Nombre	GENES ASOCIADOS A LA RESISTENCIA A P. SALMONIS EN SALMON COHO
Descripción	Se por medio de secuenciamiento a gran escala de RNAm (RNAseq) se determinará un set de genes que estarían vinculados a la resistencia a P. salmonis en Salmón Coho

Descripción del Logro	SE obtuvo un conjunto de genes que se expresan diferencialmente entre animales susceptibles y resistentes a SRS. Entre ambos grupos se observo 6458 genes diferencialmente expresados. Segun su ontologia se obtuvo quimioquinas, reguladores oxidativos, modificadores de la matriz extracelular, y moduladores de la respuesta inmune.
-----------------------	--

Referencia Bibliográfica	
--------------------------	--

RESULTADO	
------------------	--

Tipo	Resultado de Producción
Nombre	GENES ASOCIADOS AL SINDROME ICTERICO EN SALMON COHO
Descripción	Se determinará los genes del salmon coho que consistentemente este sobrepresados en hígado de individuos con signos clinicos del síndrome (coloración amarilla en ventral). Se observara secuencias producto de contaminación en el secuenciamiento de RNAm del huésped.

Descripción del Logro	Se obtuvo, genes asociados a crecimiento bacteriano para entender procesos de virulencia en la bacteria.
-----------------------	--

Referencia Bibliográfica	
--------------------------	--

RESULTADO	
------------------	--

Tipo	Resultado de Producción
Nombre	SNPs validados en la secuencia del salmon coho.
Descripción	Se procedió a aislar del genoma del salmón coho SNPs (variantes al nivel de un solo nucleótido), en forma masiva considerando información del genoma de la especie. Estos SNPs fueron validados in silico considerando distintas plataformas bioinformaticas.

Descripción del Logro	Se obtuvo por primera vez un set de marcadores en la especie los cuales han sido enviados affymetrix para que puedan ser incluidos en el arreglo de genotipado. No hay producto igual a nivel mundial con 220k SNPs. Esta plataforma, base del proyecto será utilizada para poder generar distintos productos anexos para el mejoramiento genetico de la especie.
-----------------------	---

Referencia Bibliográfica	
--------------------------	--

RESULTADO	
------------------	--

Tipo	Resultado de Protección
Nombre	Snps en genes que explican la resistencia a enfermedades
Descripción	SNPs en regiones codificantes serna protegidos mediante secreto industrial y no estarán disponibles como marcadores en el chip (no se incluiran en el listado de SNP a comunicar)

Descripción del Logro	Se obtuvo 20000 SNPs en transcritos asociados a genes que se expresan en condiciones de resistencia a P. salmonis
-----------------------	---

RESULTADO	
------------------	--

Tipo	Resultado de Producción Científica (Ex "Otros")
Nombre	ISGA 2015. Genetics in aquaculture congress.

Descripción	El objetivo de la asistencia a este evento fue presentar resultados preliminares asociados a la búsqueda de SNPs no paralogos mediante el secuenciamiento masivo de animales haploides y considerando representación reducida del genoma.
-------------	---

Descripción del Logro	Se presento resultados preliminares de secuencias de haploides en congreso ISGA 2015
-----------------------	--

Referencia Bibliográfica	
--------------------------	--

RESULTADO

Tipo	Resultado de Producción Científica (Ex "Otros")
Nombre	Asistencia a congreso PAG 2016 enero
Descripción	Se presentaron resultados de SNPs obtenidos desde animales cuyo transcriptoma fue secuenciado y considerando representación reducida del genoma. Se descubrió mas de 30 mil SNPs en 20 individuos.

Descripción del Logro	Se presento poster en congreso PAG 2016, considerando resultados de RRSEQ
-----------------------	---

Referencia Bibliográfica	
--------------------------	--

RESULTADO

Tipo	Resultado de Formación de Capacidades (Ex "Otros")
Nombre	formacion de un PPost-doc en genomica de salmon coho
Descripción	Se formará un postdoc en genomica de salmon coho asociado a SRS y síndrome icterico

Descripción del Logro	Se formo al doctor Cristian Bravo en genomica animal
-----------------------	--

RESULTADO

Tipo	Resultado de Formación de Capacidades (Ex "Otros")
Nombre	Pasantia de laboratorio estudiante de doctorado de la universidad Life sciences
Descripción	La estudiante de la Universidad de Life Sciences en Noruega estuvo en el laboratorio para cumplir con una pasantia relacionada con cultivos celulares de salmon y crecimiento de P. salmonis in vitro.

Descripción del Logro	Se desarrollo un apasantia de la estudiante karla meza donde el princiupal objetivo fue generar cultivos que pudiesen permitir el desarrollo de desafios in vivo, parte integarl de su tesis de doctorado en Noruega,
-----------------------	---

RESULTADO

Tipo	Resultado de Formación de Capacidades (Ex "Otros")
Nombre	Pasantia de laboratorio para el desarrollo de cultivos celulares y cultivos PS
Descripción	La estudiante de doctorado de la escuela de Veterinaria Karla Meza, procedio a realizar una estadía en nuestro laboratorio con el objetivo de generar las capacidades de cultivo de la bacteria Piscirickettsia salmonis (PS). En estos momentos esta comenzando su tesis de doctorado. Se procedió a generar un convenio de trabajo ademas con VESO vikan.

Descripción del Logro	La estudiante KARLA MEZA esta en Noruega cursando estudios de desafíos a la bacteria. En particular utilizando nuestro aislado de P. salmonis. esperamos continuar la colaboración considerando una caracterización genómica de distintos aislados.
-----------------------	---

RESULTADO DE PRODUCCIÓN

Categoría	Cantidad Comprometida	Cantidad Lograda
Producto	2	2
Proceso	1	1

RESULTADO DE PROTECCIÓN

Categoría	Cantidad Comprometida	Cantidad Lograda
Secreto Industrial	1	1

RESULTADO DE PRODUCCIÓN CIENTÍFICA (EX "OTROS")

Categoría	Cantidad Comprometida	Cantidad Lograda
Evento	2	2

RESULTADO DE FORMACIÓN DE CAPACIDADES (EX "OTROS")

Categoría	Cantidad Comprometida	Cantidad Lograda
Capacidades profesionales desarrolladas o fortalecidas	1	1
Capacidades de formación de redes o de equipos de trabajo	2	2

2.3 Informe financiero a la fecha de término

	Montos Comprometidos según Convenio por fuente de financiamiento	Monto Girado por Fondef	Gastos financiados por fuente de financiamiento	%
FONDEF	149.959.000	149.959.000	148.126.785	32,45 %
FONDEF	149.959.000	149.959.000	148.126.785	16,22 %
Institución(es) Beneficiaria(s)				
UNIVERSIDAD DE CHILE	258.360.000	No Aplica	258.360.000	56,6 %
UNIVERSIDAD DE CHILE	258.360.000	No Aplica	258.360.000	28,3 %
Empresas y otras Entidades Asociadas	50.000.000	No Aplica	50.000.000	5.48 %
Totales	458.319.000	149.959.000	456.486.785	50 %

Monto por Reintegrar				
Monto Reintegrado a FONDEF		(1.832.215)		
Costo Final del Proyecto		911.141.355		

2.4 Autoevaluación de la Ejecución del Proyecto

El(la) Representante Institucional de cada Institución Beneficiara
--

UNIVERSIDAD DE CHILE

La Universidad en pos del desarrollo del país ha cumplido con éxito esta iniciativa, para promover el desarrollo sustentable de la producción de salmón.
--

El(la) Director(a) del proyecto

El proyecto técnicamente fue muy exitoso. Durante esta primera etapa se pudo obtener un genoma de referencia y el descubrimiento de un gran número de SNPs para ser incorporados en un arreglo. Este arreglo de genotipado de más de 200 mil marcadores fue muy eficiente en el descubrimiento de regiones que explican en forma significativa la resistencia a SRS. El proyecto fue muy exitoso y efectivo al momento de poder obtener los resultados definidos en la propuesta.

2.5 Propuesta de Continuidad de la(s) Institucion(es) Beneficiaria(s)

Se esta gestionado con la empresa Los fiordos la continuidad de la segunda del proyecto.