

## **INFORME CIENTIFICO DE BECA**

Legajo N°:

**BECA DE ESTUDIO**

**PERIODO** 01/04/2014 al 31/03/2015

**1. APELLIDO:** PORRINI

**NOMBRES:** LEONARDO PABLO

**Dirección Particular: Calle:** N°:

**Localidad:** MAR DEL PLATA **CP:** 7600 **Tel:**

**Dirección electrónica (donde desea recibir información):** leoporrini@gmail.com;  
lporrini@mdp.edu.ar

**2. TEMA DE INVESTIGACIÓN** (Debe adjuntarse copia del plan de actividades presentado con la solicitud de Beca)

“Distribución territorial y análisis de virulencia sobre la abeja melífera del entomopatógeno *Nosema* spp. en la República Argentina”

**3. OTROS DATOS** (Completar lo que corresponda)

**BECA DE ESTUDIO: 1º AÑO:** *Fecha de iniciación:* 01/04/2014

**2º AÑO:** *Fecha de iniciación:*

**BECA DE PERFECCIONAMIENTO: 1º AÑO:** *Fecha de iniciación:*

**2º AÑO:** *Fecha de iniciación:*

**4. INSTITUCIÓN DONDE DESARROLLA LOS TRABAJOS**

*Universidad y/o Centro:* Universidad Nacional de Mar del Plata

*Facultad:* Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

*Departamento:* Departamento de Biología

*Cátedra:*

*Otros:*

*Dirección: Calle:* Funes N°: 3350

*Localidad:* Mar del Plata **CP:** 7600 **Tel:** 4752426 int 450

**5. DIRECTOR DE BECA**

*Apellido y Nombres:* Eguaras, Martín Javier

*Dirección Particular: Calle:* Funes N°: 3350

*Localidad:* Mar del Plata **CP:** 7600 **Tel:** 4752426 int 450

*Dirección electrónica:* mjeguaras@gmail.com

**6. EXPOSICIÓN SINTÉTICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO.** (Debe exponerse la orientación impuesta a los trabajos, técnicas empleadas, métodos, etc., y dificultades encontradas en el desarrollo de los mismos, en el plano científico y material).

La nosemosis afecta a los individuos adultos (imago) de *Apis mellifera* que ingieren el inóculo infeccioso durante las tareas de limpieza de la colmena en los primeros días de vida. Constituye una patología crónica que produce cuadros de desnutrición, envejecimiento fisiológico con consecuentes alteraciones comportamentales que derivan en la muerte prematura. La patología se caracteriza por la producción de enormes masas de esporos resistentes que son ampliamente dispersados dentro de la colonia y en el ambiente natural por medio de las heces. Cuando la colonia posee una alta tasa de prevalencia en sus individuos, la cronicidad del microparásito genera la pérdida en corto plazo de importantes cantidades de individuos de una misma franja etaria.

Un aspecto esencial para comprender los posibles efectos de la parasitosis radica en el desconocimiento existente sobre la distribución de *N. apis* y *N. ceranae* en el territorio nacional. Asimismo, a nivel mundial, son actualmente discutidos los datos de virulencia de diferentes aislados sobre la abeja melífera

La diferenciación fenotípica de las especies causantes de la nosemosis solo puede realizarse analizando cortes de esporos bajo microscopio de transmisión, dado que los esporos infecciosos resultan indiferenciables bajo microscopio óptico.

Cuando se trabaja con un número importante de muestras la caracterización genética resulta la herramienta más práctica y confiable para realizar la diferenciación específica.

a) Obtención de muestras:

Se obtuvieron muestras de abejas, conservadas en etanol, frescas y desecadas, remitidas al laboratorio a través de diversas redes de apicultores organizados por entidades gubernamentales y cooperativas apícolas independientes de diversos puntos del país. Se recibieron 60 muestras de apiarios establecidos en cada una de las 6 áreas biogeográficas territorialmente mayoritarias: Región Patagónica, R. del Monte, R. del Espinal, R. Pampeana, R. Chaqueña y R. Paranaense. Las abejas conservadas en etanol se procesaron para obtener un homogenato limpio de esporos de *Nosema* spp. No se presentaron mayores problemas en cuanto a la obtención del homogenato.

b) Extracción, amplificación de ADN, visualización, secuenciación y análisis:

La extracción de ADN del homogenato se realizó mediante un kit comercial (High Pure PCR Template Preparation kit. Roche. Cat. Nro. 11796828001). Con el fin de determinar la presencia de *Nosema apis* y *Nosema ceranae* se procedió a la amplificación de los extractos siguiendo el protocolo propuesto. Los productos de amplificación se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa 2%, realizando las corridas en presencia de un marcador de peso molecular, a 110V. Luego se realizó una tinción con bromuro de etidio y una posterior visualización por exposición a luz UV. Para confirmar la identidad de los productos amplificados, los productos obtenidos se enviaron a INTA Castelar para su secuenciación. La técnica se desarrolló sin inconvenientes. Si bien en ninguno de los extractos se detectó la presencia de *Nosema apis*, se realizaron ensayos para corroborar el poder de detección de la técnica a partir de aislados que presentaban coinfección con *Nosema ceranae*.

c) Análisis de virulencia:

Para el análisis de virulencia se seleccionaron muestras de esporos de *Nosema ceranae* de tres regiones distintas, las cuales fueron posteriormente procesadas para

obtener esporos infectivos viables. Conjuntamente abejas del híbrido local de *Apis mellifera*, fueron obtenidas de colmenas sanas del apiario experimental del Laboratorio de Artrópodos (38° 10'06" S, 57°38'10" W). Una vez emergidas de los cuadros de cría se inocularon con dosis individuales de 100.000 esporos frescos de las cepas de *N. ceranae* aisladas, o una solución sin esporos para el tratamiento control. La administración se realizó según se detalla en previos trabajos. Las abejas que consumieron la totalidad del inóculo fueron confinadas en grupos de 30 abejas (3 réplicas/tratamiento). Cinco abejas se retiraron de cada réplica a los 6 días post infección para la determinación de expresión de Vitelogenina (Vg), mientras que las restantes se destinaron a la medición de mortalidad y desarrollo individual del parásito en ventrículo. Se utilizaron para el ensayo contenedores para confinar abejas e incubadoras acondicionadas a 30°C y 70% de humedad relativa. Para simular las condiciones de desarrollo en la colonia, las abejas se alimentaron con polen fresco ensilado caracterizado a nivel de familia. Diariamente fueron cuantificadas las abejas muertas y se confeccionaron curvas de mortalidad con el test estadístico Geham-Beshlow y un modelo lineal generalizado. Las comparaciones posteriores entre valores de desarrollo del parásito entre tratamientos se realizaron mediante un test de ANOVA en R. En principio, debido a que solamente se encontró la presencia de *Nosema ceranae* en los extractos, los ensayos de virulencia se orientaron a comparar el grado de virulencia entre regiones distantes. Para esto se seleccionaron muestras de tres provincias distintas (Misiones, Buenos Aires, Río Negro).

## **7. TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN REALIZADOS O PUBLICADOS EN EL PERIODO.**

**7.1. PUBLICACIONES.** Debe hacerse referencia, exclusivamente a aquellas publicaciones en la cual se halla hecho explícita mención de su calidad de Becario de la CIC. (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Toda publicación donde no figure dicha aclaración no debe ser adjuntada. Indicar el nombre de los autores de cada trabajo, en el mismo orden que aparecen en la publicación, informe o memoria técnica, donde fue publicado, volumen, página y año si corresponde; asignándole a cada uno un número. En cada trabajo que el investigador presente -si lo considerase de importancia- agregará una nota justificando el mismo y su grado de participación.

**7.2. PUBLICACIONES EN PRENSA.** (Aceptados para su publicación. Acompañar copia de cada uno de los trabajos y comprobante de aceptación, indicando lugar a que ha sido remitido. Ver punto 7.1.)

**7.3. PUBLICACIONES ENVIADAS Y AUN NO ACEPTADAS PARA SU PUBLICACIÓN.** (Adjuntar copia de cada uno de los trabajos. Ver punto 7.1.)

**7.4. PUBLICACIONES TERMINADAS Y AUN NO ENVIADAS PARA SU PUBLICACIÓN.** (Adjuntar resúmenes de no más de 200 palabras)

**7.5. COMUNICACIONES.** (No consignar los trabajos anotados en los subtítulos anteriores)

**7.6. TRABAJOS EN REALIZACIÓN.** (Indicar en forma breve el estado en que se encuentran)  
Titulo: Análisis de virulencia de aislados de *Nosema ceranae* de diferentes regiones de Argentina. Ampliando la cantidad de muestras a nivel nacional para finalizar el proceso de experimentación.

## **8. OTROS TRABAJOS REALIZADOS.** (Publicaciones de divulgación, textos, etc.)

### **8.1. DOCENCIA**

### **8.2. DIVULGACIÓN**

**Se realizó la confección de tripticos con el fin de informar el estado de la parasitosis, su extensión en el territorio argentino y los avances en su investigación. Se adjunta triptico con la documentación**

### **8.3. OTROS**

## **9. ASISTENCIA A REUNIONES CIENTÍFICAS.** (Se indicará la denominación, lugar y fecha de realización y títulos de los trabajos o comunicaciones presentadas)

1.

Modalidad: Poster

Evento: IX Encuentro Biólogos en Red 2014

TITULO: CONTROL FARMACOLÓGICO DE *Nosema ceranae* EN MINICOLONIAS DE ABEJAS

AUTORES: Porrini, M.P.; Defeudis, L. ; Garrido, P.M.; Cuniolo A.; Porrini L.P.; Eguaras, M.J.

2.

Modalidad: Poster

Evento: Congreso Argentino de Entomología CAE, 2015

TITULO: VIRULENCIA DE AISLADOS DE NOSEMA CERANAE OBTENIDOS DE TRES REGIONES DEL TERRITORIO ARGENTINO

AUTORES: Porrini, Leonardo P.; Porrini, Martín P.; Garrido, P. Melisa; Paz, Jesica ; Müller, P. Fernando ; Fernandez Iriarte, Pedro; Chiosso Carlos; Eguaras, Martín J.

3.

Modalidad: Poster

Evento: Congreso Argentino de Entomología CAE, 2015

TITULO: PRIMER REPORTE DE NOSEMA CERANAE (MICROSPORIDIA: NOSEMATIDAE) EN APIARIOS PRODUCTIVOS DEL TERRITORIO MISIONERO

AUTORES: Porrini, Martín P.; Garrido, P. Melisa; Porrini, Leonardo P.; Müller, P. Fernando ; Fernandez Iriarte, Pedro; Paz, Jesica; Eguaras, Martín J.

## **10. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC.** (Señalar características del curso o motivo del viaje, duración, instituciones visitadas y si se realizó algún entrenamiento)

1. Curso de postgrado: Quimiometría. Octubre 2014. Universidad Nacional de Mar del Plata.

2. Curso de postgrado: Genética de la conservación. Diciembre 2014. Universidad Nacional de Mar del Plata. Curso de postgrado: Quimiometría.

3. Curso de postgrado: Semioquímicos II. Marzo 2015. Universidad Nacional de Mar del Plata

## **11. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO**

## **12. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO**

## **13. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES** (Bajo este punto se indicará todo lo que se considere de interés para la evaluación de la tarea cumplida en el período)

**14. TITULO DEL PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PERIODO DE PRORROGA O DE CAMBIO DE CATEGORÍA** (Deberá indicarse claramente las acciones a desarrollar)

---

**Condiciones de Presentación**

A. El Informe Científico deberá presentarse dentro de una carpeta, con la documentación abrochada y en cuyo rótulo figure el Apellido y Nombre del Becario, la que deberá incluir:

- a. Una copia en papel A-4 (puntos 1 al 14).
- b. Las copias de publicaciones y toda otra documentación respaldatoria, deben agregarse al término del desarrollo del informe
- c. Informe del Director de tareas con la opinión del desarrollo del becario (en sobre cerrado).

---

**Nota:** El Becario que desee ser considerado a los fines de una prórroga, deberá solicitarlo en el formulario correspondiente, en los períodos que se establezcan en los cronogramas anuales.

.....  
Firma del Director

.....  
Firma del Becario