



INFORME CIENTIFICO DE BECA

Legajo N°:

TIPO DE BECA DOCTORAL

PERIODO 1° AÑO

1. DATOS PERSONALES

APELLIDO: GENCHI GARCÍA

NOMBRES: María Laura

Dirección Particular: Calle:

Localidad: La Plata CP: 1900 Tel:

*Dirección electrónica (donde desea recibir información, que no sea "Hotmail"):
ml.genchigarcia@gmail.com*

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

Determinación de introgresión de genes africanos en abejas melíferas (*Apis mellifera*) de la provincia de Buenos Aires. Estudio de la toxicidad frente a agroquímicos y resistencia a enfermedades.

PALABRAS CLAVE (HASTA 3) *Apis mellifera Africanización Genética*

3. OTROS DATOS (Completar lo que corresponda)

BECA DOCTORAL 1° AÑO (ex ESTUDIO 1° AÑO): *Fecha inicio: 01/04/2016*

BECA DOCTORAL 2° AÑO (ex ESTUDIO 2° AÑO): *Fecha inicio:*

BECA DOCTORAL 3° AÑO (ex PERFECCIONAMIENTO 1° AÑO): *Fecha inicio:*

BECA DOCTORAL 4° AÑO (ex PERFECCIONAMIENTO 2° AÑO): *Fecha inicio:*

4. INSTITUCION DONDE DESARROLLA LA TAREA

Universidad y/o Centro: Instituto Multidisciplinario de Biología Celular

Facultad: -

Departamento: -

Cátedra: -

Otros: Laboratorio de Genética Molecular Poblacional

Dirección: Calle: 526 e/ 10 y 11 N°: s/n

Localidad: La Plata CP: 1900 Tel: (0221)4212112

5. CARGO UNIVERSITARIO (si existe, especificar categoría, dedicación, condición de ordinario, regular o interino):

Ayudante Diplomado Interino "Ad honorem" con dedicación simple de la Cátedra de Histología y Embriología Animal de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de la Universidad Nacional de La Plata.

6. CARGOS EN OTRAS INSTITUCIONES:

-

7. DIRECTOR DE BECA



Apellido y Nombres: BRAVI, Claudio Marcelo

Dirección Particular: Calle:

Localidad: La Plata CP: 1900 Tel:

Dirección electrónica: cmbravi@yahoo.com.ar

8. RESUMEN DE LA LABOR QUE DESARROLLA

Descripción para el repositorio institucional. Máximo 150 palabras.

Actualmente se desarrolla el relevamiento de distintas poblaciones de abejas melíferas (*Apis mellifera*) pertenecientes a las regiones de mayor producción apícola de la provincia de Buenos Aires para la caracterización genética de linajes maternos por técnicas de PCR-RFLP a partir de la utilización de ADN mitocondrial. Además, se evalúa la inocuidad de plaguicidas de uso agrícola como glifosato, neonicotinoides, imidacloprid, tiametoxam y clorpirifos para los distintos haplotipos y, la respuesta diferencial frente a las enfermedades virales más prevalentes en la provincia, el microsporidio *Nosema sp.* y el ácaro *Varroa*, frecuentes entre las poblaciones de abejas. Finalmente se propone extender a los productores los resultados del estudio para posibilitar la resolución de problemas regionales puntuales y generar con los datos recabados, estrategias factibles de aplicación para disminuir el riesgo de invasión y colonización de las abejas africanizadas, posibilitando herramientas que mejoren la producción y permitan, a su vez, la conservación de la diversidad de abejas melíferas de la provincia.

9. EXPOSICION SINTETICA 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. Si corresponde, explicita la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.

Durante el período informado, de la Beca Doctoral 2016, se realizaron tareas enmarcadas en el plan de tesis doctoral aprobado por la Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Los objetivos planteados incluyen un relevamiento de las poblaciones de abejas, tanto productoras como silvestres, en distintas zonas de la provincia de Buenos Aires y en las provincias argentinas con mayor producción apícola, con el propósito de determinar introgresión de genes africanos y la distribución de los haplotipos encontrados en las principales zonas productoras que permitirá realizar comparaciones con los datos bibliográficos. Por otra parte, la detección de enfermedades, principalmente los virus más prevalentes en la provincia, permitirá estudiar la posible relación entre los haplotipos encontrados y las distintas infecciones y, la determinación de toxicidad de los plaguicidas y pesticidas más usados en la agricultura permitirá evaluar resistencia diferencial para los haplotipos mitocondriales hallados.

Se colectaron 85 muestras en diferentes colmenares de la provincia de Buenos Aires, de forma aleatoria, bajo las normas reglamentarias y protocolizadas indicadas por los organismos oficiales e internacionales. Se trabajó con la colaboración de la Unidad de Coordinación Apícola de la Provincia de Buenos Aires, el SENASA y productores. Para la sistematización del muestreo se utilizó la Regionalización propuesta por la Unidad de Coordinación Apícola, Ministerio de Asuntos Agrarios de la Provincia de Buenos Aires, a saber, Cuenca del Salado, Metropolitana, Delta, Norte, Noroeste, Sudoeste y Sudeste. Las colmenas que han sido muestreadas provienen de las Zonas Cuenca del Salado, Noroeste y Sudoeste. Todas las muestras han sido caracterizadas genéticamente y determinada la presencia de virus. Se testearon tres métodos de conservación de muestras, hallados en la bibliografía consultada. En etanol 96% y -20°C, que es el método más ampliamente citado, han sido conservadas 36 muestras, 5 han sido sometidas a una mezcla de Metanol- Etanol a -20°C y las restantes fueron congeladas y conservadas a -20°C. El primer y segundo grupo de muestras pudieron ser analizados genéticamente sin mayores inconvenientes, sin embargo, al momento de la puesta a punto de las técnicas de detección de virus, que se detalla más adelante, no ha sido posible su utilización, determinando de esta forma que las

muestras serán tomadas y congeladas vivas y luego conservadas a -20°C para permitir la aplicación de todas las técnicas pertinentes al plan de trabajo propuesto.

Para la extracción de ADN se hallaron inconvenientes en torno al rendimiento de la técnica de extracción propuesta en el plan de beca, extraída de la bibliografía consultada. Por este motivo han sido testeados tres protocolos de extracción, con el propósito de hallar la técnica que mejor se adecuara al modelo utilizado y que optimizara tiempo y recursos. Inicialmente se realizaron las extracciones de ADN de 44 muestras a partir del protocolo propuesto en el plan y se realizaron modificaciones en el proceso de extracción y en el material utilizado, para aumentar el rendimiento, pero no se obtuvieron resultados favorables.

Las extracciones posteriores, se realizaron a partir del tórax completo homogeneizando el tejido con un buffer de digestión (100mM ClNa, 50mM Tris-HCl, 1% SDS y 50mM EDTA pH 8) y ProteinasaK (150ug/ml), posteriormente se incubaron 2 horas a 50°C y overnight a 37°C . Luego se agregó LiCl 5M y se mezcló por inversión durante 1 minuto, agregando seguidamente SEVAG (cloroformo-alcohol iso-amílico 24:1) y colocando las muestras en un agitador por 30 minutos. Luego se centrifugó durante 15 minutos y al sobrenadante se le agregaron dos volúmenes de isopropanol frío, agitando por inversión y centrifugando nuevamente por 15 minutos. Luego se lavó el pellet con etanol 70%, se centrifugó y se extrajo el sobrenadante. Los tubos fueron tapados con Parafilm perforado y secados en bloque térmico. Luego se resuspendieron las muestras en 100ul de TE (10mM Tris, 1mM EDTA pH 8) y se conservaron a -20°C hasta su uso. Este protocolo ha sido utilizado sobre 10 muestras y no exhibió diferencias de rendimiento con el protocolo anteriormente mencionado.

Posteriormente, se probaron extracciones para 38 muestras, a partir de Quick-DNA®, purificación de DNA (Kalium Technologies) que contiene una mezcla de fenol-cloroformo-isoamílico 25:24:1 v/v. Las muestras fueron homogeneizadas y digeridas con ProteinasaK y con un buffer de digestión. Luego se añadió a la muestra 1ml de Quick-DNA®, se lo incubó durante 10 minutos a 25°C y 550rpm y se centrifugó a 15000g durante 5 minutos. Se repitió la extracción y se transfirió la fase acuosa a un nuevo tubo en el que se añadieron 20ul de NaCl 5M y 1 ml de isopropanol. Se mezcló por inversión y se incubó a -20°C por 30 minutos. Posteriormente se centrifugó a 15000g durante 5 minutos, se descartó el sobrenadante y se dejó secar el pellet. Se resuspendió el ADN en 100ul de TE y se almacenó a -20°C para su conservación y utilización. No hubo diferencias significativas en el rendimiento en comparación con los dos protocolos anteriores.

Otros protocolos descriptos, que incluían la utilización de Chellex, fueron desestimados debido a que luego de la extracción, no puede conservarse el ADN extraído.

Finalmente, se diseñó un nuevo protocolo a partir de la utilización de DNAzol® que exhibió mayor rendimiento. La extracción del ADN total se realizó utilizando únicamente la musculatura del tórax de un individuo por muestra, descartando la quitina. El tejido fue homogeneizado con 200ul de DNAzol® y posteriormente incubada durante 20 minutos a 37°C . Luego se centrifugó a 10000rpm durante 5 minutos y al sobrenadante se le agregaron 300ul de DNAzol®, se homogeneizó con pipeta y se centrifugó nuevamente a 13000rpm durante 10 minutos. Al sobrenadante se le añadió un volumen igual de isopropanol, se mezcló por inversión y se lo incubó a -20°C durante 30 minutos. Luego se centrifugó durante 20 minutos a igual velocidad y se realizaron sucesivos lavados del pellet con etanol 70% fresco y frío, se dejó secar el pellet, se resuspendió en 100ul de TE, se incubó durante 20 minutos a 65°C y 500rpm, luego a 4°C overnight y se conservó a -20°C para su posterior utilización.

Una vez obtenido el ADN total, se utilizó la técnica de PCR-RFLP para la determinación genética de linajes maternos, analizando la variación de patrones de restricción de un fragmento mitocondrial de 485bp del citocromo b producto de la digestión enzimática con BglII. Esta enzima permite la distinción entre poblaciones con introgresión de genes africanos y aquellas que no presentan dicho proceso. El protocolo puesto a punto y utilizado para la discriminación entre haplogrupos africanizados y no africanizados consiste en la utilización de los primers (5'-TATGTACTACCATGAGGACAAATATC-3' y 5'-ATTACACCTCCTAATTTATTAGGAAT-3') para la amplificación de una región correspondiente al citocromo b. Las temperaturas del protocolo de ciclado fueron ajustadas

de acuerdo a las temperaturas de melting de los primers. Una vez obtenido el amplicón correspondiente a la zona deseada, se realizó una digestión enzimática con BglIII incubando las muestras junto con la enzima a 37°C overnight. Posteriormente, se observaron las variaciones en los patrones mediante electroforesis en geles de agarosa al 1% y 2%, teñidos con gelRed®. Cuatro muestras pertenecientes a las zonas de Cuenca del Salado y Noroeste han resultado positivas para introgresión de genes africanos. Las muestras que resultaron negativas para africanización, deberán ser determinadas a partir de la utilización de las enzimas Dral y HinfI para las que se ha diseñado un protocolo que combina la utilización de ambas enzimas. Este nuevo protocolo puede suplir a los primers correspondientes al fragmento COI-COII que no han amplificado y se correspondían con la utilización de la enzima HinfI. Si bien aún no ha sido puesto a punto, permitirá discriminar los linajes maternos a los que pertenecen las muestras que no exhiban introgresión de genes africanos.

Por otra parte, se realizó la identificación del virus DWV mediante una técnica de extracción y purificación de ARN viral con Trizol®. Por cada muestra, 15 abejas fueron homogeneizadas con PBS y centrifugadas por 15 minutos. Luego se realizó la extracción a partir de una mezcla del sobrenadante, Trizol® y cloroformo. Se centrifugó, se tomó el sobrenadante, se agregó un volumen de isopropanol y se llevó a -70°C por 15 minutos. Se centrifugó nuevamente y se lavó el pellet con etanol 70%. Posteriormente, se resuspendió el ARN viral en 50µl de agua libre de nucleasas y a partir de ese molde se realizó la transcripción reversa, utilizando la enzima MML-V (transcriptasa reversa) y random primers (hexámeros) con el fin de sintetizar el ADN complementario (cDNA). Luego, se realizó una reacción de PCR utilizando primers específicos para el virus DWV y se analizaron los resultados en un gel de electroforesis de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio y expuesto a luz UV. Por otra parte, ha sido detectada la presencia de otros virus en las muestras, a partir de la utilización de una múltiplex-PCR que discrimina la presencia de los virus IAPV (Israeli Acute Paralysis Virus), SBV (Sacbrood Virus), ABPV (Acute Bee Paralysis Virus), BQCV (Black Queen Cell Virus), KMV (Kashmir Bee Virus), CBPV (Chronic Bee Paralysis Virus), siendo los más prevalentes en la provincia de Buenos Aires DWV e IAPV. Del total de muestras analizadas, 28 han resultado negativas para todos los virus y 5 positivas, 1 para DWV, 1 para SBV y 3 para IAPV, mientras que las muestras conservadas en alcoholes no han podido ser analizadas, por impedimento del método de conservación. Además, el protocolo presentado en el plan de trabajo ha tenido que ser modificado para obtención de mejores resultados, disminuyendo las cantidades de molde utilizado en cada reacción.

Para los estudios de toxicidad frente a agroquímicos se ha diseñado la metodología de trabajo, de acuerdo a los protocolos más ampliamente utilizados en la bibliografía consultada, con el propósito de evaluar la inocuidad de los herbicidas y plaguicidas de uso extensivo en los diversos haplotipos de abejas encontrados en el muestreo. El método de estudio consiste en la realización de 10 réplicas por cada tratamiento incluyendo un control. Cada réplica consiste en una cápsula de Petri con una solución acuosa del agroquímico a testear en la concentración de uso recomendada por el fabricante, en la que se ubican 5 abejas adultas. Las cápsulas se incubaban a 25°C con 75% de humedad y un fotoperíodo de 12 horas. La mortalidad será testeada a las 24, 48 y 72 horas por conteo de abejas muertas en cada réplica y a partir de los resultados, se calculan los valores de dosis letal media para cada producto, a través del modelo de regresión de probit y efectuando las correcciones de mortalidad de Abbott, siempre en relación con un experimento control.

La provincia de Buenos Aires concentra cerca del 50% de la producción apícola Argentina, la cual posee gran importancia económica, social y ecológica. Las abejas cumplen un importante rol como polinizadores tanto de especies silvestres como cultivadas de gran importancia económica, de las que otros organismos dependen y su disminución amenaza estas actividades poniendo en peligro la biodiversidad, el alimento y la producción. Sin embargo, en estos últimos años, la actividad apícola en nuestro país ha sufrido un retroceso que se podría relacionar al Síndrome de Despoblamiento de Colmenas, debido a factores múltiples y sinérgicos. Por un lado, la expansión de la frontera agrícola y la utilización desmedida de agroquímicos cada vez más específicos, pero con mayor toxicidad para las

abejas, lleva a una merma de producción y pone en juego la vida de las colonias. Además, el cambio climático, períodos de sequía extensos y altas temperaturas generan el despoblamiento y desaparición de las colmenas, contribuyendo así al perjuicio de la producción. Por ello, resulta de especial interés el estudio de poblaciones locales mediante caracterización molecular que contribuye a identificar las líneas mejor adaptadas a las condiciones de flora regional importantes para la producción y para preservar los linajes existentes en cada zona. En este sentido, el conocimiento de los haplotipos mitocondriales de las poblaciones de abejas presentes en la provincia, la determinación de presencia o ausencia de las enfermedades más prevalentes en cada zona y la resistencia a herbicidas y pesticidas de mayor uso en agricultura resultan de gran importancia para contribuir con las posibles soluciones a esta problemática.

10. TRABAJOS DE INVESTIGACION REALIZADOS O PUBLICADOS EN ESTE PERIODO.

10.1 PUBLICACIONES. *Debe hacer referencia exclusivamente a aquellas publicaciones en la cual se haya 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 mención no debe ser adjuntada ya que no será tomada en consideración. A cada trabajo asignarle un número e indicar el nombre de los autores, en el mismo orden en que aparecen en la publicación, informe o memoria técnica, lugar donde fue publicado, volumen, página y año si corresponde. En cada trabajo que el becario presente -si lo considerase de importancia- agregará una nota justificando el mismo y su grado de participación. Asimismo, en cada caso deberá indicar si el trabajo se encuentra depositado en el repositorio institucional CIC-Digital.*

Genchi García, ML. 2016. Africanización en Apis mellifera, estudio de toxicidad y enfermedades. Póster. III Congreso Internacional Científico y Tecnológico de la Provincia de Buenos Aires.

10.2 TRABAJOS EN PRENSA Y/O ACEPTADOS PARA SU PUBLICACIÓN. *Debe hacer referencia exclusivamente a aquellos trabajos en los que haya hecho explícita mención de su calidad de Becario de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Todo trabajo donde no figure dicha mención no debe ser adjuntado porque no será tomado en consideración. A cada trabajo, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden en que aparecen en la publicación y el lugar donde será publicado. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparecerá en la publicación. La versión completa de cada trabajo se presentará en papel, por separado, juntamente con la constancia de aceptación. En cada trabajo, el becario deberá aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del mismo y, para aquellos en los que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación.*

10.3 TRABAJOS ENVIADOS Y AUN NO ACEPTADOS PARA SU PUBLICACION. *Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo, indicando el lugar al que ha sido enviado. Adjuntar copia de los manuscritos.*

"Detection of honey bee viruses in Argentinean stingless bees (Hymenoptera: Apidae)"
Alvarez, Leopoldo; Reynaldi, Francisco; Ramello, Pablo; Genchi Garcia, María;
Sguazza, Guillermo; Lucia, Mariano. Enviado a Austral Entomology.

Meliponini es un grupo de abejas eusociales principalmente tropical. En Argentina se han encontrado 37 especies, mayormente en la provincia de Misiones. Pueden anidar en una gran variedad de sitios, dentro de huecos de árbol, cavidades formadas entre rocas, en construcciones humanas o en las cavidades subterráneas. Varios enemigos naturales son asociados con las abejas sin aguijón, incluyendo los virus. En este estudio, se estudiaron 33 colonias que pertenecen a seis especies de abejas sin aguijón en áreas donde no existen colmenas comerciales. Nuestros resultados demostraron la

presencia de DWV en *Tetragonisca fiebrigi* y ABPV en los individuos de *Plebeia emerinoidea*.

"An update of Africanization in honeybees (*Apis mellifera*) populations in Buenos Aires, Argentina" Genchi García, María Laura; Reynaldi, Francisco José; Bravi, Claudio Marcelo. Enviado a *Journal of Apicultural Research*.

Las poblaciones de abejas melíferas europeas y africanas han estado separadas e influenciadas por distintos ambientes. Por ello, *Apis mellifera* es la única especie de abejas que evolucionó en Europa, Medio Oriente y África, donde pueden reconocerse varias subespecies. La introducción de *Apis mellifera scutellata*, en Brasil en 1950 resultó en la expansión de la abeja africana a lo largo de Centroamérica y Sudamérica. El objetivo del presente estudio fue determinar la prevalencia y distribución geográfica de las abejas africanizadas en la provincia de Buenos Aires (Argentina), utilizando un polimorfismo mitocondrial de la región del citocromo b. Fueron muestreadas 430 colonias entre 2013 y 2014, de las cuales 18 (4,2%) resultaron positivas para africanización. Nuestros resultados confirman que los haplotipos europeos son los más prevalentes en la provincia de Buenos Aires. El proceso de introgresión de genes africanos en esta región se ha mantenido estable desde 2005.

10.4 TRABAJOS TERMINADOS Y AUN NO ENVIADOS PARA SU PUBLICACION. *Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo.*

-

10.5 COMUNICACIONES. *Incluir únicamente un listado y acompañar copia en papel de cada una. (No consignar los trabajos anotados en los subtítulos anteriores).*

-

10.6 INFORMES Y MEMORIAS TECNICAS. *Incluir un listado y acompañar copia en papel de cada uno o referencia de la labor y del lugar de consulta cuando corresponda. Indicar en cada caso si se encuentra depositado en el repositorio institucional CIC-Digital.*

-

11. PUBLICACIONES Y DESARROLLOS EN:

11.1 DOCENCIA

-

11.2 DIVULGACIÓN

Entrevista sobre africanización, toxicidad y enfermedades en abejas. 2016. Radio. Radio Provincia FM - Ciento por Ciencia.

Estudios genéticos en abejas buscan mejorar la producción. 2016. Entrevista sobre el tema de tesis. Prensa escrita. Revista Ciencia y Tecnología en la provincia de Buenos Aires. http://www.cic.gba.gob.ar/?page_id=548

11.3 OTROS

-

En cada caso indicar si se encuentran depositados en el repositorio institucional CIC-Digital.

12. PARTICIPACION EN REUNIONES CIENTIFICAS. *Indicar la denominación, lugar y fecha de realización, tipo de participación que le cupo, títulos de los trabajos o comunicaciones presentadas y autores de los mismos.*

III Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de la provincia de Buenos Aires. La Plata, Buenos Aires, Argentina. 01 de Septiembre de 2016. Becario CIC. Exposición de póster: Africanización en *Apis mellifera*, estudio de toxicidad y enfermedades. Genchi García ML.

13. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC. *Señalar características del curso o motivo del viaje, período, instituciones visitadas, etc, y si se realizó algún entrenamiento.*

"Estadística Avanzada para Ciencias Biológicas y del Ambiente utilizando R" Curso de Postgrado dictado en la Facultad de Ciencias Naturales y Museo por el Dr. Luis Castro, con una duración de 48 horas, entre los días 18 y 22 de Abril de 2016. Aprobado.

"Filosofía y Lógica de la Biología Evolutiva" Curso de Postgrado dictado en la Facultad de Ciencias Naturales y Museo por el Dr. Néstor J. Cazzaniga, con una duración de 40 horas, entre los días 6 y 10 de Junio de 2016. Aprobado.

"Micopatología de insectos. Perspectivas del uso de los hongos entomopatógenos para control microbiano de insectos" Curso de Postgrado dictado en la Facultad de Ciencias Naturales y Museo por la Dra. Claudia López Lastra con una duración de 50 horas, entre los días 16 y 21 de Mayo del 2016. Aprobado.

14. SUBSIDIOS RECIBIDOS EN EL PERIODO. *Indicar institución otorgante, fines de los mismos y montos recibidos.*

Participa en calidad de Integrante Becario del Proyecto de Investigación y Desarrollo 11220150100726CO titulado "Detección e importancia epizootiológica de los principales virus que afectan abejas silvestres (Hymenóptera: Apoidea) de la Región Pampeana" bajo la dirección del Dr. Francisco J. Reynaldi durante el período 7/2016 - 12/2017. El objetivo del proyecto es la detección de los principales virus que afectan a las abejas silvestres (Hymenoptera: Apoidea) que pueden tener implicancia sobre las abejas destinadas a la producción. Se desarrollará en la República Argentina, más particularmente en la Región Pampeana. Otorgado por el CONICET. \$300000,00.

15. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO.

Mejor Póster de Becario. Área de Ciencias Agrícolas, Producción y Salud Animal. III Congreso Internacional Científico y Tecnológico de la Provincia de Buenos Aires. Septiembre 2016.

16. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO. *Indicar el porcentaje aproximado de su tiempo que le han demandado.*

Ayudante Diplomado Simple "Ad Honorem" Interino en la Cátedra de Histología y Embriología Animal de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, a partir del 1 de Abril de 2016. Con una carga horaria de 19 horas semanales.

17. 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.*

Participación en calidad de integrante de equipo del Instituto Multidisciplinario de Biología Celular de la XIV Semana Nacional de la Ciencia, la Tecnología y el Arte Científico. Septiembre de 2016.

Se encuentra cursando la Carrera de Postgrado de Especialización en Docencia Universitaria en la Universidad Nacional de La Plata. Desde el 10 de Julio de 2015 a la fecha.

Charla sobre Ciencias Naturales, orientaciones de las carreras de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de La Plata y visita guiada al Museo de Ciencias Naturales de La Plata para 6to grado, 1er y 2do año del Instituto Winter Garden de San Fernando, provincia de Buenos Aires.

18. DESCRIPCIÓN DEL AVANCE EN LA CARRERA DE DOCTORADO.

Debe indicarse los logros alcanzados en la carrera de Doctorado en relación a los requisitos particulares de la misma (cursos, seminarios, trabajos de campo, etc), así como el porcentaje estimado de avance en la tesis.

Dentro de los requisitos de la carrera del Doctorado en Ciencias Naturales, se encuentra la presentación y aprobación de un trabajo de tesis que represente un aporte individual y original al conocimiento del tema desarrollado. El plan de tesis propuesto concuerda con los objetivos y las tareas de la Beca solicitada, siendo el porcentaje de avance, al momento, de un 15%. Además se deberá reunir un mínimo de 30 créditos por la aprobación de materias, cursos, seminarios de Posgrado o pasantías de investigación, de los cuales se encuentran cursados y aprobados 9, correspondientes a cursos de postgrado realizados durante este período.

19. TÍTULO Y PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PRÓXIMO PERÍODO. *Deberán indicarse claramente las acciones a desarrollar.*

Determinación de introgresión de genes africanos en abejas melíferas (*Apis mellifera*) de la provincia de Buenos Aires. Estudio de la toxicidad frente a agroquímicos y resistencia a enfermedades.

En el período de prórroga se propone la continuación de la colección de muestras bajo las normas reglamentadas y protocolizadas indicadas por los organismos oficiales e internacionales, congeladas vivas y conservadas a -20°C hasta su procesamiento. La determinación genética de las zonas aún no estudiadas de la provincia se realizará utilizando la técnica de extracción de ADN informada para este período de Beca y se continuará con la detección de africanización a partir de PCR-RFLP por medio de la utilización de la enzima de restricción BglIII. Se pondrá a punto la técnica diseñada en este período que incluye la utilización de las enzimas Dral y HinfI para discriminar distintos linajes entre los haplotipos mitocondriales no africanizados. Además, se compararán los resultados obtenidos con técnicas de determinación de africanización morfológicas utilizando morfometría de alas con el fin de complementar los resultados obtenidos por los estudios moleculares realizados.

Para el estudio relacionado a enfermedades, continuarán utilizándose las técnicas de extracción y purificación de ARN viral con Trizol para la síntesis del ADN complementario por transcripción reversa y la posterior realización de una reacción de PCR que permita determinar la presencia de los siguientes virus: DWV, IAPV, SBV, ABPV, BQCV, KMV y CBPV. Por otra parte, proponemos la determinación de presencia de otras enfermedades como Nosema y Varroa que son muy comunes entre las poblaciones de abejas. La detección de Nosema sp. se realizará tomando los intestinos de 35 abejas macerándolos con PBS y observando el homogenado sobre una cámara de Neubauer en un microscopio de campo claro para determinar la presencia o ausencia de esporas y poder contabilizarlas en cada muestra. Para la detección del ácaro Varroa se realizará la separación de entre 150 y 300 abejas de cada muestra y se tratarán con soluciones que permitan la disminución de la tensión superficial para permitir el desprendimiento de los ácaros de la cutícula de las abejas, luego se pasará la muestra por un doble tamiz de diferente diámetro de malla, uno que no permita el pasaje de las abejas y otro que retenga a los ácaros. En caso de ser positivo para varroosis se realizará un conteo de ácaros por muestra.

El estudio de toxicidad se realizará de acuerdo al protocolo detallado en el informe de este período, para evaluar la inocuidad de los agroquímicos glifosato, tiametoxam, imidacloprid, clorpirifos y neonicotinoides frente a los diversos haplotipos de abejas hallados en la provincia. La determinación de la toxicidad de cada producto se realizará sobre abejas adultas a partir de la contabilización de las abejas muertas a las 24, 48 y 72 horas de comenzado el tratamiento. Se calculará la dosis letal media a través del modelo de regresión y se comparará con los controles utilizados.



Firma del Director

Firma del Becario

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:
- Una copia en papel A-4 (puntos 1 al 14).
 - Las copias de publicaciones y toda otra documentación respaldatoria, deben agregarse al término del desarrollo del informe
 - 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.