

# Protistas entomopatógenos asociados a apoideos (Hymenoptera: Apoidea) polinizadores de la región Pampeana

S. Plischuk<sup>1,\*</sup>

(1) Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores – CEPAVE - (CONICET CCT La Plata – UNLP) Calle 2 # 584, (1900) La Plata, Argentina.

\* Autor de correspondencia: S. Plischuk [santiago@cepave.edu.ar]

> Recibido el 16 de noviembre de 2011, aceptado el 16 de enero de 2013

Plischuk, S. (2013). Protistas entomopatógenos asociados a apoideos (Hymenoptera: Apoidea) polinizadores de la región Pampeana. *Ecosistemas* 22(1):89-91. Doi.: 10.7818/ECOS.2013.22-1.20

Por su condición, los insectos sociales tienden a padecer variadas parasitosis. Aquellas causadas por protistas (organismos eucariotas unicelulares, Haussmann et al. 2003), suelen generar dolencias crónicas y debilitantes, con efectos a largo plazo (Lange y Lord, en prensa). Tanto la abeja melífera (*Apis mellifera*) como los abejorros (*Bombus* spp.) son insectos sociales de amplia distribución mundial y gran capacidad polinizadora (Michener 2007), sin embargo existen limitaciones en el conocimiento acerca de sus enfermedades, así como de la transmisión de éstas entre las diferentes especies hospedadoras (Goulson 2003). En Argentina, además de *A. mellifera*, existen diez especies del género *Bombus* (ocho nativas, dos exóticas). Los efectos negativos que los abejorros alóctonos pueden tener sobre las especies nativas son numerosos, siendo la transmisión de patógenos quizá uno de los más significativos (Goulson 2003).

El objetivo central de esta tesis fue la obtención y análisis de información referida a las enfermedades infecciosas de etiología protista que afectan a los principales polinizadores de la superfamilia Apoidea (*A. mellifera* y *Bombus* spp.) en Argentina.

El estudio se efectuó entre marzo de 2006 y febrero de 2010. Se examinaron ca. 400.100 adultos de *A. mellifera* y 581 adultos del género *Bombus* provenientes de 61 localidades del país. Para la prospección y aislamiento de patógenos se utilizaron técnicas de disección y homogenización (Lange y Henry 1996). La detección, observación y caracterización de los patógenos se efectuó mediante microscopio compuesto (X400; X1000). Los análisis moleculares se realizaron siguiendo metodologías de comprobada efectividad (Martín-Hernández et al. 2007; Meeus et al. 2010), en cooperación con el Centro Apícola de Marchamalo, España.

## Resultados

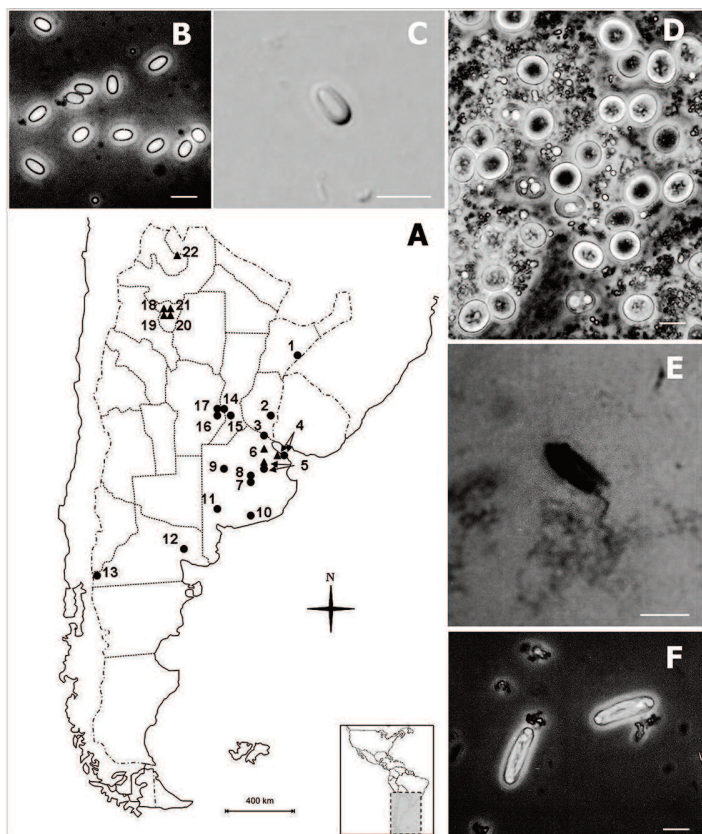
Se detectaron cinco protistas asociados a Apoidea que no habían sido previamente registrados en Argentina: *Nosema ceranae* (Microsporidia), *Nephridiophaga* sp. (Nephridiophagidae), *Malpighamoeba mellificae* (Amoebozoa), *Crithidia bombi* (Euglenozoa) y *Apicystis bombi* (Apicomplexa). Las tres primeras especies se hallaron en *A. mellifera*, mientras que *N. ceranae*, *C. bombi* y *A. bombi* fueron detectadas en especies de *Bombus*.

## *Nosema ceranae*

Mediante análisis moleculares se determinó la presencia de *N. ceranae* (Código de acceso NCBI GenBank EU025027) (Fig. 1B) en *A. mellifera*, aislándose de 20 muestras provenientes de 15 localidades (Fig. 1A). No se hallaron casos de *Nosema apis*, especie que se consideraba común en nuestro país. También se registró la presencia de *N. ceranae* (FJ227957) en 49 individuos de tres especies de *Bombus* (*B. atratus*, *B. morio* y *B. bellicosus*) colectados en 8 localidades (Fig. 1A). Considerando que la presencia de *N. ceranae* en *A. mellifera* se asocia a una considerable virulencia (Higes et al. 2007), su hallazgo sugiere intensificar los monitoreos en apiarios del país, así como tomar los mayores recaudos sanitarios posibles. Respecto de la detección de *N. ceranae* en abejorros, la patología observada en los individuos infectados indica que estaría actuando como un importante factor de perjuicio para estos insectos. *Nosema ceranae* es ahora el segundo microsporidio conocido a nivel mundial, además de *Nosema bombi* (no registrado en Argentina), capaz de parasitar especies del género *Bombus* (Schmid-Hempel 2001; Larsson 2007). También se reporta el hallazgo más austral de este microsporidio (General Conesa, provincia de Buenos Aires), el cual se creía establecido básicamente en climas templado-cálidos. Teniendo en cuenta la gran cantidad de apiarios emplazados en el país y que las especies de *Bombus* afectadas también presentan una amplia distribución (Abrahamovich et al. 2007), la interacción entre *Apis*, *Bombus* y *N. ceranae* podría ser estable, y el rol de *Bombus* como agente dispersor de la enfermedad no debe ser desestimado. En este contexto, la apicultura, la agricultura y el comercio de especies polinizadoras podrían dar lugar a una propagación aún mayor de este microsporidio. Una dificultad latente para el apicultor residirá en prevenir las infecciones de sus colmenas en territorios con abundancia de *Bombus* y alternativamente, si la virulencia de *N. ceranae* en abejorros es acentuada como en *A. mellifera*, cabría esperar importantes declinamientos poblacionales de estos polinizadores.

## *Nephridiophaga* sp.

*Nephridiophaga* sp. (Fig. 1C) se observó en los túbulos de Malpighi de abejas obreras de la localidad de Saavedra (provincia de



**Figura 1.** A. Localidades con hallazgos de protistas en *Apis mellifera* (*Circulos*) y *Bombus* spp. (Triángulos) de Argentina. 1: Paso de los libres; 2: Federación; 3: Tigre; 4: La Plata; 5: Lobos; 6: San Miguel; 7: Olavarría; 8: Sierra Chica; 9: Pehuajó; 10: San Cayetano; 11: Saavedra; 12: General Conesa; 13: San Carlos de Bariloche; 14: Armstrong; 15: Villa Eloísa; 16: Cruz Alta; 17: General Roca; 18: Famallá; 19: La Reducción; 20: Manantial; 21: Tafi viejo; 22: Calilegua (Hallazgos de *N. ceranae*: todas las localidades, excepto 6 y 13; Hallazgos de *Nephridiophaga* sp.: 11; Hallazgos de *Malpighamoeba mellifica*: 11 y 13; Hallazgos de *Crithidia bombi* y *Apicystis bombi*: 13); B. Esporos de *Nosema ceranae*; C. Esporo de *Nephridiophaga* sp.; D. Quistes de *Malpighamoeba mellifica*; E. *Coanomastigota* de *Crithidia bombi*; F. Ooquistes de *Apicystis bombi*. (B, C, D, F: Contraste de fases; E: Giemsa; Escalas: 5 μ)

Buenos Aires) (Fig. 1A). Se lo registró en coinfección con *N. ceranae*, así como en forma individual. Este hallazgo permitirá iniciar una profundización en el conocimiento tanto de su filogenia como de la interacción con su hospedador. Aunque debido a su restringida distribución parecería no estar generando problemas sanitarios en la apicultura argentina, su similitud morfológica con otras especies vinculadas a *A. mellifera*, como *N. ceranae* y *N. apis*, podría generar diagnósticos erróneos en análisis poco minuciosos, atribuyendo la presencia y las patologías propias de *Nephridiophaga* sp. a otros agentes etiológicos. Los datos obtenidos sugieren que el organismo hallado sería *Nephridiophaga apis*, especie tipo del género y cuyo único registro se restringe a la descripción original en la región de los Balcanes (Ivanić 1937).

### **Malpighamoeba mellifica**

Esta ameba (Fig. 1D) fue aislada de abejas obreras de las localidades de San Cayetano (Buenos Aires) y San Carlos de Bariloche (Río Negro) (Fig. 1A), registrándose también en forma individual y conjuntamente con *Nosema* sp. Bajo ningún concepto se deberían minimizar estos primeros hallazgos de *M. mellifica*, patógeno que podría constituir otra amenaza para la apicultura. Si bien tanto su prevalencia como su distribución aparentan ser acotadas, no se descarta que podría incidir en la sanidad de los apiarios de ambas localidades donde se la ha detectado. En ese sentido, serán necesarios muestreos más numerosos y espacial-

mente más abarcativos a fin de monitorear su real distribución y potencial daño en colmenares argentinos.

### **Crithidia bombi y Apicystis bombi**

Teniendo como hospedador a la especie invasora *Bombus terrestris*, se constató la presencia de *Crithidia bombi* (Fig. 1E) y *Apicystis bombi* (Fig. 1F), protistas no registrados previamente en Sudamérica. Ambas especies fueron detectadas en muestras de San Carlos de Bariloche (Fig. 1A), hallándose 24 casos de *C. bombi* (21 obreras, 3 machos, 1 reina) y 4 casos de *A. bombi* (1 obrera, 3 machos). Solo en una obrera se constató coinfección. Considerando a la capacidad de dispersión de *B. terrestris* y su interacción con otros abejorros (Nagamitsu et al. 2007), así como el amplio rango hospedador de estos protistas (Lipa y Triggiani 1996; Schmid-Hempel 2001; Goulson 2003; Ruiz-González y Brown 2006), cabría esperar hallazgos de *C. bombi* y *A. bombi* infectando especies nativas de *Bombus* o de otros apoideos en nuestro país.

Esta contribución aporta datos referidos a la presencia y espectro hospedador de protistas patógenos en polinizadores de Argentina. Dichos datos deben analizarse en vista de potenciales importaciones comerciales de *Bombus* exóticos, a fin de evitar complicaciones asociadas a la introducción de organismos alóctonos ya observadas (e.g., Pimentel 2002; Vilà et al. 2006) en otras regiones de la Tierra.

### **Agradecimientos**

Este estudio se llevó a cabo gracias al financiamiento de la Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires (CIC) y el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de Argentina (CONICET). Un especial agradecimiento a todos los apicultores y colegas por sus valiosos aportes.

### **Referencias**

- Abrahamovich, A.H., Díaz, N.B., Lucía, M. 2007. Identificación de las "abajas sociales" del género *Bombus* (Hymenoptera, Apidae) presentes en la Argentina: clave pictórica, diagnosis, distribución geográfica y asociaciones florales. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata* 106(2):165-176.
- Goulson, D. 2003. Effects of introduced bees on native ecosystems. *Annual Review of Ecology and Systematics* 34:1-26.
- Hausmann, K., Hülsmann, N., Radek, R. 2003. *Protistology*. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung. Stuttgart, Alemania.
- Higes, M., García-Palencia, P., Martín-Hernández, R., Meana, A. 2007. Experimental infection of *Apis mellifera* honey bees with the Microsporidia *Nosema ceranae*. *Journal of Invertebrate Pathology* 94:211-217.
- Ivanić, M. 1937. Die Entwicklungsgeschichte und die Parasitäre Zerstörungssarbeit einer in den Zellen der Malpigischen Gefäße der Honigbiene (*Apis mellifica*) schmarotzenden Haplosporidie *Nephridiophaga apis* n. g., n. sp. *La Cellule* 45:291-324.
- Lange, C.E., Henry, J.E. 1996. Métodos de estudio y producción de protistas entomopatógenos. En: Lecuona R.(ed.), *Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de plagas*. pp. 169-176, M. Mas, Buenos Aires, Argentina.
- Lange, C.E., Lord, J. En prensa. Protistan entomopathogens. En: Vega, F., Kaya, H. (eds.), *Insect Pathology*, 2<sup>nd</sup> ed, Elsevier, London, UK.
- Larsson, J.I.R. 2007. Cytological variation and pathogenicity of the bumble bee parasite *Nosema bombi* (Microspora, Nosematidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 94:1-11.
- Lipa, J.J., Triggiani, O. 1996. *Apicystis* gen. nov. and *Apicystis bombi* (Liu, Macfarlane and Pengelly) comb. nov. (Protozoa: Neogregarinida), a cosmopolitan parasite of *Bombus* and *Apis* (Hymenoptera: Apidae). *Apidologie* 27:29-34.
- Martín-Hernández, R., Meana, A., Prieto, L., Martínez Salvador, A., Garrido-Bailón, E., Higes, M. 2007. Outcome of Colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae*. *Applied and Environmental Microbiology* 73:6331-6338.
- Meeus, I., de Graaf, D.C., Jans, K., Smaghe, G. 2010. Multiplex PCR detection of slowly-evolving trypanosomatids and neogregarines in bumblebees using broad-range primers. *J. Appl. Microbiol.* 109(1):107-115
- Michener, C.D. 2007. *The Bees of the World*. The Johns Hopkins University Press. Baltimore, USA.
- Nagamitsu, T., Kenta, T., Inari, N., Horita, H., Goka, K., Hiura, T. 2007. Foraging interactions between native and exotic bumblebees: enclosure experiments using native flowering plants. *Journal of Insect Conservation* 11:123-130.

- Pimentel, D. 2002. *Biological Invasions. Economics and Environmental Costs of Alien Plant, Animal, and Microbe Species*. CRC Press. Boca Raton, USA.
- Ruiz-Gonzalez, M.X., Brown, M.J.F. 2006. Honey bee and bumblebee trypanosomatids: specificity and potential for transmission. *Ecological Entomology* 31:616–622.
- Schmid-Hempel, P. 2001. On the evolutionary ecology of host–parasite interactions: addressing the question with regard to bumblebees and their parasites. *Naturwissenschaften* 88:147–158.
- Vilà, M., Bacher, S., Hulme, P., Kenis, M., Kobelt, M., Nentwig, W., Sol, D., Solarz, W. 2006. Impactos ecológicos de las invasiones de plantas y vertebrados terrestres en Europa. *Ecosistemas* 15(2):13–23.

## SANTIAGO PLISCHUK

### Protistas entomopatógenos asociados a apoideos (Hymenoptera: Apoidea) polinizadores de la región Pampeana

Tesis Doctoral

Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires. Argentina.

Diciembre de 2010.

Dirección: Carlos E. Lange y Alda González.

#### Publicaciones resultantes de la tesis

- Plischuk, S., Martín-Hernández, R., Prieto, L., Lucía, M., Meana, A., Abrahamovich, .H., Lange, C.E., Higes, M. 2009. South American native bumblebees (Hymenoptera: Apidae) infected by *Nosema ceranae* (Microsporidia), an emerging pathogen of honey bees (*Apis mellifera*). *Environmental Microbiology Reports* 1(2):131–135.
- Plischuk, S., Lange, C.E. 2009. Invasive *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) parasitized by a flagellate (Euglenozoa: Kinetoplastea) and a neogregarine (Apicomplexa: Neogregarinorida). *Journal of Invertebrate Pathology* 102:263–265.
- Plischuk, S., Lange, C.E. 2010. Detección de *Malpighamoeba mellificae* (Protista: Amoebozoa) en *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) de Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 69(3–4):299–303.
- Plischuk, S., Meeus, I., Smaghe, G., Lange, C.E. 2011. *Apicystis bombi* (Apicomplexa: Neogregarinorida) parasitizing *Apis mellifera* and *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) in Argentina. *Environmental Microbiology Reports* 3(5):565–568.
- Plischuk, S., Lange, C.E. 2011. Registro de *Nephridiophaga* sp. (Protista: Nephridiophagidae) en *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) del Sur de la región Pampeana. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 70(3–4):357–361