UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE CIENCIAS

Propuesta TFG. Curso 2026/2027

GRADO: Grado en Biología

CÓDIGO DEL TFG: 200-176-2026/2027

1. DATOS BÁSICOS DEL TFG:

Título: Efecto de la composición de carbohidratos sobre el crecimiento y la formación de biofilm de Lotmaria passim in vitro

Descripción general (resumen y metodología):

Los insectos polinizadores desempeñan un importante papel en la ecología de los entornos naturales y en la agricultura (Zattara and Aizen, 2021; Bartomeus et al., 2022). En las últimas décadas, las poblaciones de abejas en todo el mundo han experimentado un marcado declive en sus poblaciones (Cox-Foster et al., 2007; Borneck et al., 2010; Dainat et al., 2012) que amenaza los ecosistemas naturales, el sector agrícola y ganadero. Lotmaria passim (Euglenozoa: Kinetoplastea: Trypanosomatidae) es un parásito eucariota flagelado, con un ciclo de vida monoxeno (un solo hospedador) que infecta a las abejas (Schwarz et al., 2015). En infecciones experimentales, L. passim reduce la supervivencia de las abejas (Gómez-Moracho et al., 2020) y ha sido asociado a pérdidas de colonias de abejas durante el invierno (Ravoet et al., 2013). Este parásito coloniza el intestino de las abejas, dónde se diferencia desde su forma promastigote (móvil) a la forma haptomona (sésil) (Buendía-Abad et al., 2022). Durante este proceso, L. passim secreta sustancias poliméricas extracelulares que forman un biofilm en el que quedan embebidas los haptomonas (Carreira de Paula et al., 2024).

La nutrición es un factor clave en las interacciones parásito-hospedador. No obstante, hasta la fecha, no existen estudios que analicen de forma directa los efectos de los componentes nutricionales de la dieta sobre la biología de L. passim y su relación con la infección en Apis mellifera. Recientemente, se ha observado que la tasa de duplicación de L. passim está modulada por el tipo de carbohidrato presente en el medio de cultivo, (Gómez-Moracho et al. en prep.), lo que sugiere que distintos componentes nutricionales afecten al desarrollo del parásito y, en consecuencia, en el progreso de la infección.

El objetivo de este trabajo es estudiar cómo afectan diferentes azúcares, principalmente aquellos que se encuentran en el néctar como glucosa y fructosa (Wright et al., 2018), y sus combinaciones, en el crecimiento de L. passim y la producción de biofilm como indicador de la capacidad de diferenciación del parásito. Para ello, se empleará el medio basal de cultivo Heart Infusion Broth (HI; Condalab, cat. no. 1323), una versión simplificada del medio Brain Heart Infusion (BHI) comúnmente utilizado para cultivar a L. passim en el laboratorio (Buendía-Abad et al., 2021). El medio HI carece de ciertos componentes, como la glucosa, lo que facilita la introducción de modificaciones nutricionales específicas. A partir de este medio, se formularán una serie de medios de cultivo modificados que difieran en la composición de glucosa-fructosa que varíen en ratio (p.ej. 0:1, 1:1, 1:0) y en concentración (p. ej. 0,05 mol/L y 0,1 mol/L).

L. passim se cultivará en placas de 96 pocillos con los medios de cultivo modificados. La tasa de crecimiento se cuantificará mediante tinción con Alamar Blue (Thermo Scientific), registrando la absorbancia con un sistema de imagen Bio-Rad ChemiDoc durante siete días. La producción de biofilm se evaluará mediante tinción con cristal violeta previamente estandarizada en nuestro laboratorio, como indicador del proceso de diferenciación del parásito.

En conjunto, este estudio permitirá comprender cómo la composición de carbohidratos influye en el desarrollo in vitro de L. passim. Estos resultados podrían aportar información relevante sobre los mecanismos que regulan la infección en abejas, contribuyendo así a una mejor comprensión de los factores implicados en el declive de estos polinizadores y al diseño de futuras estrategias para su conservación.

Tipología: Trabajos experimentales, de toma de datos de campo o de laboratorio.

Objetivos planteados:

Evaluar cómo la composición y concentración de carbohidratos (glucosa y fructosa) modulan el desarrollo in vitro de Lotmaria passim, analizando su crecimiento y capacidad de formación de biofilm:

1. Determinar el efecto de diferentes proporciones y concentraciones de glucosa y fructosa sobre la tasa de crecimiento de Lotmaria passim en cultivo.
2. Evaluar la influencia de la composición de carbohidratos en la formación de biofilm como indicador del proceso de diferenciación del parásito.
3. Analizar la relación entre el perfil nutricional, el crecimiento y la formación de biofilm para inferir su posible papel en la colonización intestinal y la infección de Apis mellifera.

Bibliografía básica:

Bartomeus, I. et al., 2022, Base de datos de abejas ibéricas: Ecosistemas, p. 2380, doi:10.7818/ECOS.2380.

Borneck, R., A. Viry, R. Martín-Hernández, and M. Higes, 2010, Honey bee colony losses in the Jura Region, France and related pathogens: Journal of Apicultural Research, v. 49, no. 4, p. 334–336, doi:10.3896/IBRA.1.49.4.06.

Buendía-Abad, M., P. García-Palencia, L. M. de Pablos, J. M. Alunda, A. Osuna, R. Martín-Hernández, and M. Higes, 2022, First description of Lotmaria passim and Crithidia mellificae haptomonad stages in the honeybee hindgut: International Journal for Parasitology, v. 52, no. 1, p. 65–75, doi:10.1016/j.ijpara.2021.06.005.

Buendía-Abad, M., M. Higes, R. Martín-Hernández, L. Barrios, A. Meana, A. Fernández Fernández, A. Osuna, and L. M. De Pablos, 2021, Workflow of Lotmaria passim isolation: Experimental infection with a low-passage strain causes higher honeybee mortality rates than the PRA-403 reference strain: International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife, v. 14, p. 68–74, doi:10.1016/j.ijppaw.2020.12.003.

Carreira de Paula, J., P. García Olmedo, T. Gómez-Moracho, M. Buendía-Abad, M. Higes, R. Martín-Hernández, A. Osuna, and L. M. de Pablos, 2024, Promastigote EPS secretion and haptomonad biofilm formation as evolutionary adaptations of trypanosomatid parasites for colonizing honeybee hosts: NPJ Biofilms and Microbiomes, v. 10, p. 27, doi:10.1038/s41522-024-00492-x.

Cox-Foster, D. L. et al., 2007, A metagenomic survey of microbes in honey bee Colony Collapse Disorder: Science, v. 318, no. 5848, p. 283–287, doi:10.1126/science.1146498.

Dainat, B., J. D. Evans, Y. P. Chen, L. Gauthier, and P. Neumann, 2012, Predictive Markers of Honey Bee Colony Collapse: PLoS ONE, v. 7, no. 2, p. e32151, doi:10.1371/journal.pone.0032151.

Gómez-Moracho, T. et al., 2020, Experimental evidence of harmful effects of Crithidia mellificae and Lotmaria passim on honey bees: International Journal for Parasitology, v. 50, no. 13, p. 1117–1124, doi:10.1016/j.ijpara.2020.06.009.

Ravoet, J., J. Maharramov, I. Meeus, L. De Smet, T. Wenseleers, G. Smagghe, and D. C. de Graaf, 2013, Comprehensive Bee Pathogen Screening in Belgium Reveals Crithidia mellificae as a New Contributory Factor to Winter Mortality: PLoS ONE, v. 8, no. 8, p. e72443, doi:10.1371/journal.pone.0072443.

Schwarz, R. S., G. R. Bauchan, C. A. Murphy, J. Ravoet, D. C. de Graaf, and J. D. Evans, 2015, Characterization of Two Species of Trypanosomatidae from the Honey Bee Apis mellifera : Crithidia mellificae Langridge and McGhee, and Lotmaria passim n. gen., n. sp.: Journal of Eukaryotic Microbiology, v. 62, no. 5, p. 567–583, doi:10.1111/jeu.12209.

Wright, G. A., S. W. Nicolson, and S. Shafir, 2018, Nutritional Physiology and Ecology of Honey Bees: Annual Review of Entomology, v. 63, no. 1, p. 327–344, doi:10.1146/annurev-ento-020117-043423.

Zattara, E. E., and M. A. Aizen, 2021, Worldwide occurrence records suggest a global decline in bee species richness: One Earth, v. 4, no. 1, p. 114–123, doi:10.1016/j.oneear.2020.12.005.

Recomendaciones y orientaciones para el estudiante:

Plazas: 1

2. DATOS DEL TUTOR/A:

Nombre y apellidos: TAMARA GOMEZ MORACHO

Ámbito de conocimiento/Departamento: PARASITOLOGÍA

Correo electrónico: tamara.gomez@ugr.es

3. COTUTOR/A DE LA UGR (en su caso):

Nombre y apellidos:

Ámbito de conocimiento/Departamento:

Correo electrónico:

4. COTUTOR/A EXTERNO/A (en su caso):

Nombre y apellidos:

Correo electrónico:

Nombre de la empresa o institución:

Dirección postal:

Puesto del tutor en la empresa o institución:

Centro de convenio Externo:

5. DATOS DEL ESTUDIANTE:

Nombre y apellidos: PAULA MARTIN MESA

Correo electrónico: paula05@correo.ugr.es