

EFECTOS DE *Paenibacillus larvae* Y *Nosema ceranae* EN LAS ABEJAS

M. Sc. Maidelys González Linares¹, Dr. C. Ana Julia Rondón Castillo², M. Sc. Marlene María Martínez Mora³

1, 2, 3 Universidad de Matanzas, Sede “Camilo Cienfuegos”, Vía Blanca Km.3, Matanzas, Cuba. maidelys.gonzalez@umcc.cu

Resumen

En los últimos años, debido a la importante pérdida de colonias de abejas que se ha constatado en muchos países del mundo y el impacto que esto tiene sobre la rentabilidad de las empresas agrícolas, las investigaciones sobre los diferentes patógenos y parásitos de las abejas se han intensificado. El conocimiento de los efectos que estos producen permite diagnosticar su presencia a tiempo para ayudar a minimizar los daños en la colmena, por lo cual se pretende en esta investigación estudiar los efectos de estas especies sobre las abejas. Con este trabajo se pudo identificar que *Paenibacillus larvae* y *Nosema ceranae* son microorganismos que infectan a las abejas, ya sea en su estado larval como en abejas adultas provocándole enfermedades (Loque americana y Nosemosis) de difícil erradicación, las cuales afectan principalmente el intestino de estos insectos incidiendo en su nutrición y ocasionando su muerte prematura.

Palabras claves: Abejas; loque americana; nosema ceranae; nosemosis; panibacillus larvae.

Introducción

Las abejas desempeñan un papel vital en la agricultura y el ecosistema al polinizar cultivos alimentarios y plantas naturales. Además, intervienen en la producción de gran cantidad de productos de interés industrial como la miel, cera, jalea real, propóleos, veneno de abejas, entre otros. Sin embargo, las abejas se enfrentan a varios factores estresantes bióticos y abióticos, incluidas las enfermedades causadas por especies como el ácaro *Varroa destructor*, el pequeño escarabajo de la colmena (*Aethina tumida*), la avispa asiática (*Vespa velutina*), la *Nosema ceranae* y *Nosema Apis*, *Paenibacillus larvae* (Burnham, 2019). También sufren efectos de ciertas sustancias activas presentes en los productos fitosanitarios y biocidas, el cambio climático, la degradación ambiental, la degeneración de los hábitats y la desaparición progresiva de las angiospermas (Huang *et al.*, 2018; García, 2019).

Paenibacillus larvae es una bacteria que afecta a las larvas de las abejas provocándole la loque americana, enfermedad letal y contagiosa de la cría de abejas que se distribuye ampliamente en todo el mundo (Stephan, 2020). Por otra parte, *Nosema ceranae* es un hongo que al infectar a las abejas adultas degenera el tejido digestivo provocando la desnutrición de estas y la reducción de la esperanza de vida (Eiri, 2015). Ambas especies causan un importante impacto negativo sobre la salud de las abejas, el equilibrio de la colmena, la producción de miel, el incremento de los costos de curaciones y control, afectando la rentabilidad de las empresas agrícolas. El conocimiento de los efectos que estos producen en las abejas y un monitoreo adecuado en la colmena, permite diagnosticar su presencia a tiempo para ayudar a prevenir la propagación o controlar la infección entre colonias.

En los últimos años debido a la importante pérdida de colonias que se ha constatado en muchos países del mundo, especialmente en los del Hemisferio Norte, las investigaciones sobre los diferentes patógenos y parásitos de las abejas se han intensificado. (Invernizzi *et al.*, 2011). De ahí que el objetivo del presente trabajo es estudiar los efectos de *Paenibacillus larvae* y *Nosema ceranae* en las abejas.

Desarrollo

Nosema ceranae es un microsporidio parásito intracelular que provoca la enfermedad Nosemosis tipo C en las abejas adultas la cual altera el sistema digestivo de estas, siendo una de las principales amenazas para las poblaciones de abejas melíferas. La figura 1 muestra las células de *Nosema ceranae* observadas en el microscopio (Huang *et al.*, 2018).

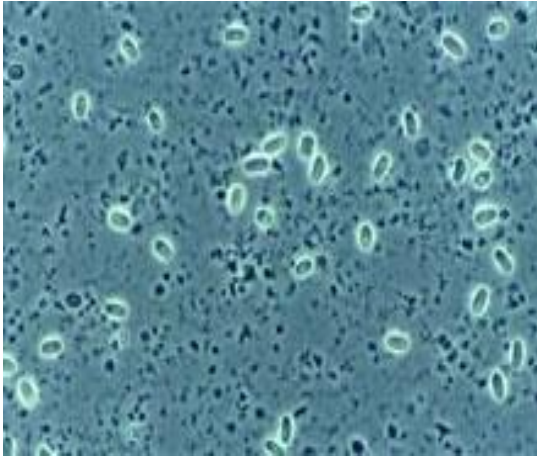


Figura 1. *Nosema ceranae*
 (Tomado de https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Nosema_ceranae)

Cuando una espora de *Nosema ceranae* es ingerida por una abeja, pasa a su interior y llega al intestino. Allí es atacada por los jugos gástricos, que debilitan su cubierta. Al final del intestino esa cubierta está muy debilitada, y permite la salida del núcleo, que se incorpora a una célula del intestino y toma el control de sus sistemas vitales. La célula epitelial se ve obligada a cambiar sus patrones y a dedicarse a fabricar nuevas esporas de *Nosema*. Finalmente, la célula muere, y libera al interior del intestino una gran cantidad de esporas, que infectarán nuevas células intestinales, o saldrán de la abeja con las heces, contagiando a otras abejas. Este proceso se puede observar a continuación en la figura 2.

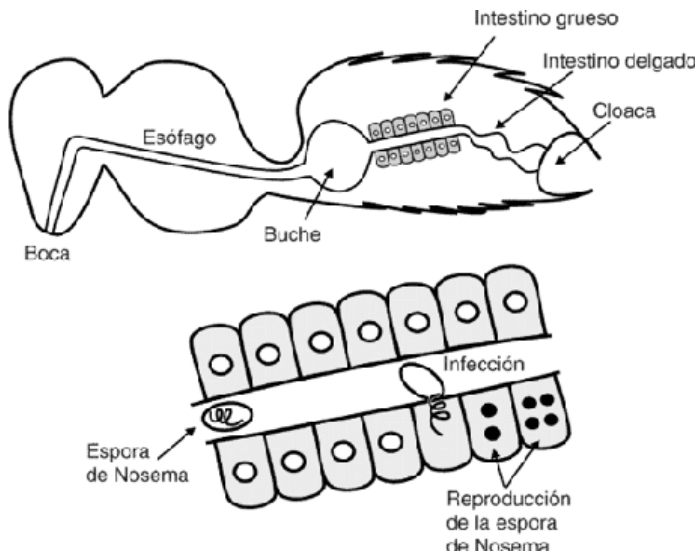


Figura 2 Pared intestinal atacada por *Nosema*. Se aprecian las células atacadas produciendo esporas y la liberación de una de ellas al interior del intestino (Tomada de Mendoza *et al.*, 2014)

La pared interna del intestino de las abejas es la que produce los jugos gástricos, que ayudan a digerir los alimentos, y la que absorbe los nutrientes para pasarlos a los capilares del sistema de distribución al resto del cuerpo, la hemolinfa. Su destrucción, por lo tanto, impide que las abejas digieran los alimentos y asimilen los nutrientes. Esto las coloca en una situación de desnutrición, las debilita, y, finalmente, dependiendo de una serie de factores, puede provocar su muerte. (Mendoza *et al.*, 2014)

La desnutrición obliga a las abejas a consumir totalmente sus reservas de grasa situadas bajo el quinto anillo dorsal del abdomen (tercero a la vista, ya que los dos primeros están encajados dentro del tórax) acortándolo, de ahí que se pueda observar que el abdomen de una parte importante de las obreras no sobresale claramente de las alas y en casos extremos que quede más corto que estas, dando a las abejas apariencia de moscas como se muestra en la figura 3.



Figura 3 Arriba, abeja normal; abajo, abeja con el abdomen anormalmente corto. (Tomado de <https://www.latiendadelapicultor.com/blog/enfermedades-en-la-colmena-la-nosemosis>)

Pero este síntoma puede indicar también una mala nutrición por ataque de *Varroa destructor*, que también consume la grasa corporal de sus víctimas; o una mala nutrición por carencia de reservas, miel o/y polen. Estas causas se pueden diferenciar porque en el primer caso, aparecerá también la cría salpicada, abejas con las alas malformadas, pero habrá reservas de alimentos en los panales, sobre todo de miel. Si la malnutrición está provocada por falta de reservas será fácil apreciar este hecho al revisar los panales de la colmena.

En la figura 4 se observan los resultados de los estudios histológicos realizados por Dussaubat *et al.* (2012) al comparar los intestinos de abejas infectados por este hongo a los siete días de la inoculación. Se aprecia que en los intestinos del control (A y B), la membrana peritrófica (pm) y células epiteliales (ec) son homogéneas, mientras que en las parasitadas (C y D) se observan lesiones celulares debido a la actividad destructiva del hongo.

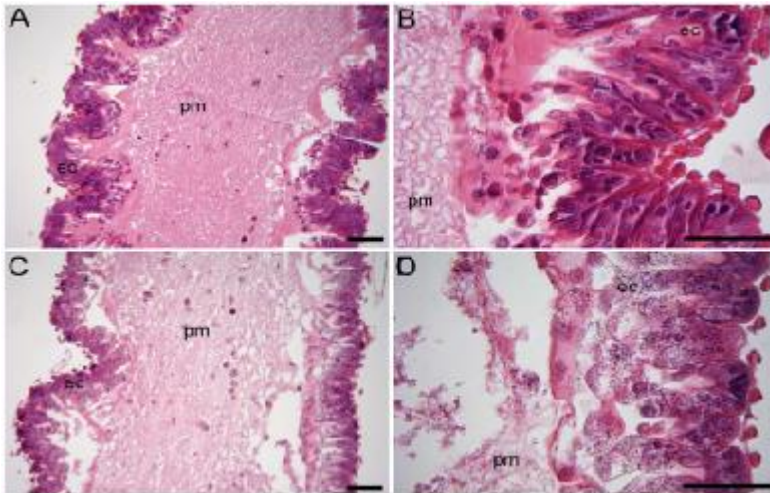


Figura 4 Histología del intestino de abeja melífera 7 días post- infección con *Nosema ceranae*. Control (A, B) e intestino infectado con *N. ceranae* (C, D). (Tomado de Dussaubat *et al.*, 2012).

Estudios realizados plantean que la infección por *Nosema ceranae* se asocia con varios problemas relacionados con la aptitud física, incluido el deterioro de las células epiteliales intestinales (García *et al.*, 2010), la inmunosupresión (Antúnez *et al.*, 2009) y el estrés energético (Mayack *et al.*, 2009). Las abejas han desarrollado muchos mecanismos de defensa para tratar la infección parasitaria, que incluyen una capa de secreción antimicrobiana en el intestino y mecanismos inmunes celulares y humorales. La infección por *Nosema ceranae* da como resultado la regulación de la función génica, tanto a nivel de expresión como a través de cambios en el uso de promotores y variación postraduccional. Los efectos de la infección por *Nosema ceranae* se observan en la expresión de genes involucrados en tres procesos clave: 1) estrés energético que se refleja en niveles elevados de hambre, 2) la modulación de las vías metabólicas, particularmente la función inmune y 3) cambios en el comportamiento mediados a través de la expresión génica alterada relacionada con la higiene o el olfato. Estos cambios observados podrían asociarse con la respuesta del huésped para eliminar la infección y con la alteración de la expresión génica del huésped *Nosema ceranae* infectante para promover su supervivencia. (Badaoui *et al.*, 2017)

Los síntomas que se notan en la colmena afectada son: inquietud en las abejas, disminución de la actividad y debilitamiento. También se ven muchas abejas arrastrándose en el fondo y sobre los marcos, cuando se remueve el techo, fuera de la colmena se observa que las abejas infectadas apenas logran volar unos pocos metros sin posarse; otras veces se arrastran por el suelo o sobre las hojas. El abdomen a menudo está extendido por las materias fecales, y se verá brillante y grasiento (Li *et al.*, 2018). *Nosema* provoca envejecimiento fisiológico, reducción de las glándulas hipofaríngeas y muerte prematura (Mendoza *et al.*, 2014).

Nosema ceranae acorta la esperanza de vida de las abejas adultas y reduce su capacidad de orientación para volver a la colmena. Esto provoca una pérdida constante de población. La colonia, con cada vez menos pecoreadoras, trata de compensarlo haciendo que las nodrizas salgan a pecorear antes de lo que les corresponde por edad y desarrollo fisiológico. La muerte de abejas adultas y el paso prematuro de las nodrizas a pecoreadoras deja a la colmena con un desequilibrio poblacional importante. Este desequilibrio puede observarse en primavera en colmenas afectadas. Se observan cuadros de cría abundante pero pocas abejas sobre ella. Da el aspecto y la sensación de una colmena que ha enjambrado, cuando en realidad no lo ha hecho. Finalmente, el despoblamiento y muerte de la colonia es inminente cuando la reina no es capaz de compensar la pérdida de obreras infectadas (Joost, 2013).

Las reinas pueden infectarse durante la fase de larva a través de la alimentación provocando en ellas posteriormente: fisiología aberrante, lesiones digestivas similares a las de las abejas adultas, sustitución de las reinas infectadas por parte de las abejas de la colonia, cambios en la producción de feromonas, retrasos en el inicio de la puesta tras la fecundación, puede provocar infertilidad. En los zánganos la enfermedad provoca: reducción de la fertilidad, disminución de su tiempo de vida, contaminación del esperma con esporas de *Nosema*, que puede ser transmitido a las reinas durante la cópula.

En estudios realizados por Higes *et al.* (2007) citados por Joost (2013) se muestra que las abejas alimentadas con esporas de *Nosema ceranae* murieron dentro de los ocho días post-infección. Los estudios histológicos realizados después de una semana de la infección artificial, revelaron una clara degeneración en las células del epitelio, reflejado en la presencia de vacuolas en el citoplasma, agregados de lisosomas y ribosomas, ruptura de membranas celulares, núcleo desplazado apicalmente e incluso muerte celular, que eventualmente causarán muerte prematura de abejas por hambruna. Cuando se realizaron estudios histológicos con insectos naturalmente infectados, comprobaron los resultados obtenidos previamente, al observar las mismas alteraciones celulares en abejas moribundas alrededor de la colmena, así como también en reinas, abejas pecoreadoras y nodrizas. (Higes *et al.*, 2008)

Otro efecto individual de *Nosema ceranae* sobre las abejas tiene relación con la respuesta del sistema inmune de la abeja, se aprecia una disminución significativa de la expresión de los genes de la abaecina, himenoptaecina (péptidos antimicrobianos), glucosa dehidrogenasa y vitelogenina, esta última es una proteína relevante en la reproducción y longevidad de las abejas. El decaimiento en la expresión de vitelogenina, es un antecedente consistente con la reducción de la longevidad de aquellas abejas infectadas reportada por otros autores (Nelson *et al.*, 2007 y Remolina *et al.*, 2007, citados por Higes *et al.*, 2010). Mayack y Naug (2009) citados por Higes *et al.* (2010), identificaron efectos sobre el comportamiento de alimentación, probablemente por el estrés energético que significa el hambre para las abejas pecoreadoras y que comprometen su supervivencia. Esto afectaría

también la transición de abeja joven a pecoreadora, porque el proceso de organización social interna también es ayudado por la vitelogenina.

Paenibacillus larvae es un bacilo Gram positivo esporulado, catalasa negativo, anaerobio facultativo, con bajo porcentaje de GC (Guanina y Citosina) y formador de endosporas (García, 2019). En la figura 5 se muestran las bacterias de *P. larvae* al ser observadas en el microscopio con tinciones de Gram y nigrosina. Sus formas vegetativas miden entre 2,3 a 5 micrómetros de largo por 0,5 a 0,6 micrómetros de ancho, móviles mediante flagelos peritricos. Sus esporas son ovuladas, miden 1,3 a 1,5 por 0,6 a 0,7 micrómetros y pueden visualizarse al microscopio sus movimientos brownianos, mediante la técnica de gota pendiente (Hanging drop) modificada, característica que diferencia a las esporas de esta especie de otros bacilos esporulados que afectan las abejas (De la Sota, 2005).

Este es el agente causal de la Loque Americana (L.A), una de las enfermedades más infecciosas, peligrosas, letales y de fácil propagación de *Apis mellifera* (Jończyk *et al*, 2020). Después de la Varroasis es la enfermedad de las abejas que más pérdidas económicas ocasiona en todo el mundo.

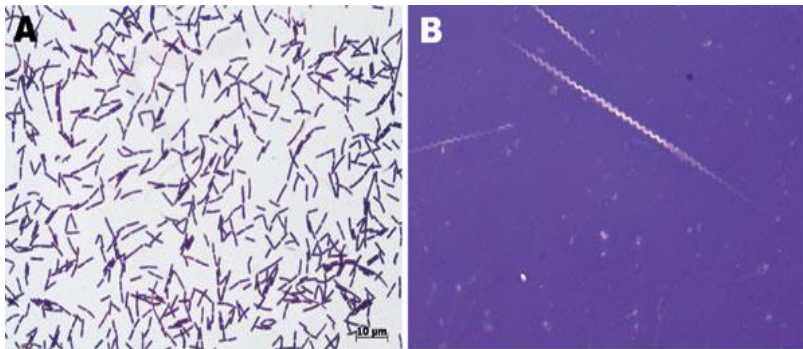


Figura 5. *Paenibacillus larvae* bacterias grampositivas, formadoras de esporas, en forma de bastón (A) (tinción de Gram, aumento original $\times 1000$) con la capacidad de formar látigos gigantes tras la esporulación (B) (tinción de nigrosina, aumento original $\times 1000$). (Tomado de Rieg *et al.*, 2010)

Las esporas de *P. larvae* representan la forma infectiva e ingresan a la colmena por varias vías: abejas pecoreadoras que las traen en sus buches melarios, abejas pilladoras de colmenas infectadas, herramientas del agricultor, por la introducción de panales con crías infectadas, alimentación con miel contaminada y cualquier intercambio de material proveniente de colmenas enfermas. (Stephan, 2020)

Las esporas de *P. larvae* inician el ciclo de la enfermedad cuando son ingeridas por las larvas junto con el alimento. Estas germinan en el intestino larval (pH 6.5) originando células vegetativas flageladas que migran al epitelio intestinal y lo atraviesan en el momento de la metamorfosis. Posteriormente invaden la hemolinfa donde se multiplican y

esporulan nuevamente. La pupa muere por septicemia entre los días 11 y 12 de la eclosión del huevo (De la Sota, 2005). En la figura 6 se presenta el ciclo de contaminación de las larvas con las esporas de *P. larvae* hasta que se produce el colapso de la colonia.

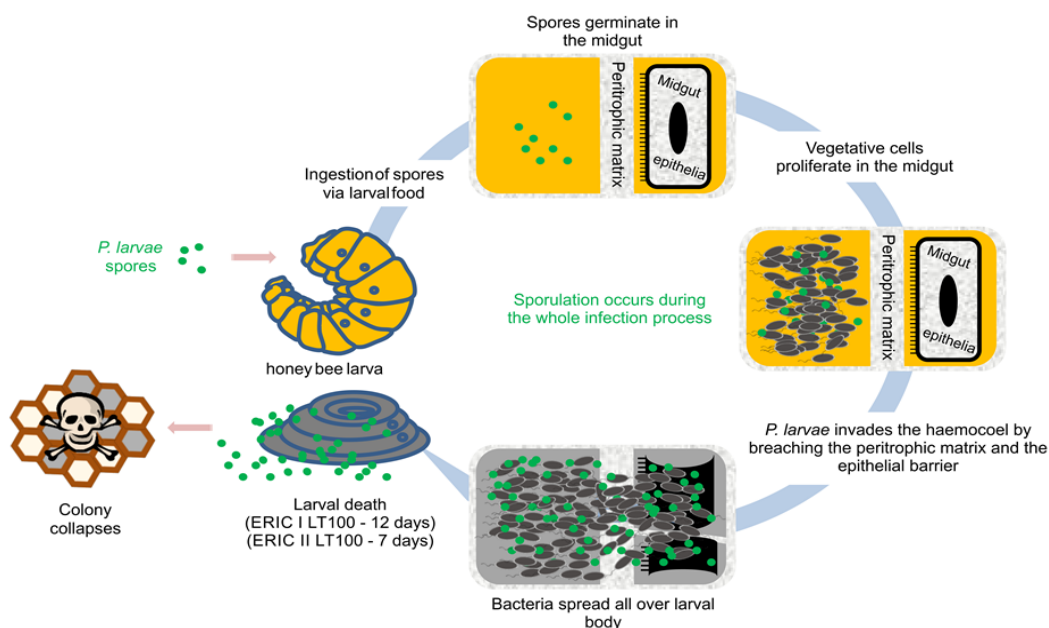


Figura 6. Contaminación de las larvas con esporas de *P. larvae* hasta el colapso de la colonia (Tomado de Djukic *et al.*, 2014).

La susceptibilidad de las larvas a la enfermedad causada por larvas de *P. larvae* disminuye con la edad. Las larvas hasta 12 a 36 horas después de la eclosión son más vulnerables a la infección. Durante este tiempo, para iniciar con éxito la infección, las larvas necesitan consumir una dosis de diez o menos esporas. En un estudio realizado por (Hansen *et al.*, 1999) se demuestra que la dosis infecciosa media necesaria para iniciar la infección en larvas de abejas de 24 a 28 horas de edad es de $8,49 \pm 1,49$ esporas. Las larvas mayores de 48 horas se vuelven más resistentes a la infección por lo que no se observa una correlación significativa entre la dosis y la mortalidad después de este tiempo. La relación entre la dosis y la mortalidad depende en gran medida de la edad de las larvas, la constitución genética y la cepa bacteriana (Jończyk, 2020).

Los panales de crías de las colmenas afectadas presentan características particulares de la enfermedad. La cría es saltada y los opérculos se ven hundidos y roídos (por acción de las abejas limpiadoras que intentan sacar las crías ya muertas), en otras celdas se pueden observar las prepupas que han perdido su posición natural, se ven estiradas y sin brillo, el color varía del blanco brillante original a un amarillo pálido para convertirse más adelante en un material viscoso, pegajoso y amorfo, de color marrón. Los opérculos pierden su color café característico para tornarse castaño oscuro, casi negro (De la Sota, 2005).

En la figura 7 se aprecia las afectaciones de esta bacteria en los panales: una apariencia jaspeada debido a la presencia de crías operculadas sanas, celdas abiertas que contienen los restos de larvas enfermas y celdas vacías. (NC, 2014)

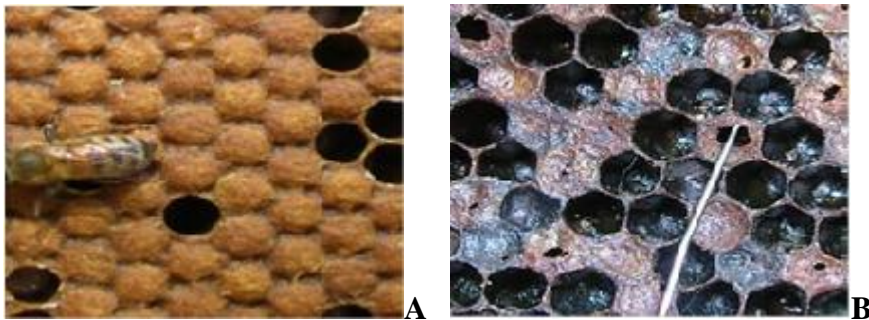


Figura 7 Afectación por *Paenibacillus larvae*. **A:** panal sano y **B:** Panal afectado (Tomado de Antúnez, 2015).

Transcurrido unos 10 a 15 días desde la muerte de la larva, aparecen la característica patognomónica de la enfermedad, un material viscoso que al introducir un palito dentro de la celda que lo contiene y luego al retirarlo se estira hasta una longitud que supera los 2,5 centímetros (De la Sota, 2020) como se observa en la figura 8. Los restos larvales se secan dando lugar a la formación de una escama que se adhiere firmemente al piso y fondo de las celdas. Cada costra puede contener hasta dos billones y medio de esporas. (Delgado, 2011) Cuando las abejas intentan limpiar las celdas, no hacen más que reiniciar el ciclo de la enfermedad, llevando estas esporas de una celda a otra (De la Sota, 2020)



Figura 8 Larvas viscosas, test de viscosidad (Tomada de Pérez *et al.*, 2014)

Otra característica que presenta la colonia enferma es el olor fétido, similar al pegamento de carpintero (cola), que puede detectarse en estado avanzados de la enfermedad, aún antes

de abrir la colmena, pero que no se produce al principio de la misma por lo que en un diagnóstico precoz puede no percibirse. (Calderón *et al.*, 2007)

Según Daisley (2020), *P. larvae* puede matar a la cría a través de la secreción de metabolitos secundarios (que tienen propiedades antimicrobianas para contrarrestar a los competidores microbianos) y enzimas que degradan la quitina (que permiten la degradación de la matriz peritrófica) que permiten romper el epitelio del intestino medio, invasión del hemocele y descomposición de la larva en una masa viscosa.

Debido a que esta enfermedad provoca la muerte larval, las colmenas afectadas sufren un progresivo despoblamiento, hasta que la reina y las abejas que quedan la abandonan. El despoblamiento de las colmenas no solo origina grandes pérdidas económicas a los apicultores, sino que además los panales infectados quedan expuestos al pillaje por abejas de otras colmenas del apiario, favoreciendo la diseminación de la enfermedad. (Antúnez *et al.*, 2015) Por las características propias de la enfermedad, una vez que se detecta en una región es muy difícil que pueda erradicarse por completo de dicha zona (García, 2019).

Conclusiones

A partir de este trabajo se pudo identificar que *Paenibacillus larvae* y *Nosema ceranae* son microorganismos que infectan a las abejas, ya sea en su estado larval como en abejas adultas provocándole enfermedades (Loque americana y Nosemosis) de difícil erradicación, las cuales afectan principalmente el intestino de estos insectos incidiendo en su nutrición y por tanto en su muerte prematura.

Referencias bibliográficas

ANTÚNEZ, K., D'ALESSANDRO, B., PICCINI, C. y ZUNINO, P. Efecto de diferentes sustancias antimicrobianas, sobre *Paenibacillus larvae larvae*, agente causal de la loque americana. Laboratorio de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Uruguay, 2015.

ANTÚNEZ, K., MARTON-HERNÁNDEZ, R., PRIETO, L., MEANA, A., ZUNINO, P. y HIGES M. Immune suppression in the honey bee (*Apis mellifera*) following infection by *Nosema ceranae* (Microsporidia). *Environ Microbiol*, no 11 vol. 9, 2009.

BADAOU, B., FOUGEROUX, A., PETIT, F., ANSELMO, A., GORNI, C., CUCURACHI, M., CERSINI, A., GRANATO, A., CARDETI, G., FORMATO, G., MUTINELLI, F., GIUFFRÀ, E., WILLIAMS, J. L. y BOTTI, S. RNA-sequence analysis of gene expression from honeybees (*Apis mellifera*) infected with *Nosema ceranae*. *PloS one*, no 12 vol. 3, 2017, e0173438.

BURNHAM, A. J. Scientific Advances in controlling *Nosema ceranae* (Microsporidia) infections in honey bees (*Apis mellifera*). *Front Vet Sci*, no 6 vol. 79, 2019.

CALDERÓN, R. A. y SÁNCHEZ, L.A. Diagnóstico de enfermedades en colmenas de abejas africanizadas en Costa Rica: prevalencia y distribución de septiembre a noviembre del 2007. *Agronomía Costarricense*, no 35 vol. 2, 2011, pp. 49-60.

DAISLEY, B. A., PITEK, A. P., CHMIEL, J. A., AL, K. F., CHERNYSHOVA, A. M., FARAGALLA, K. M., BURTON, J. P., THOMPSON, G. J. y REID, G. Novel probiotic approach to counter *Paenibacillus* larvae infection in honey bees. *The ISME journal*, no 14 vol. 2, 2020, pp. 476–491.

DE LA SOTA, M y BACCI, M. Enfermedades de las abejas, trámites en apicultura. Manual de procedimientos. Dirección nacional de sanidad animal, Buenos Aires, 2005.

DELGADO, M. E. Perspectiva de extractos vegetales para el control del loque americano (*Paenibacillus larvae*) en la larva de las abejas melíferas (*Apis mellifera*). Tesis presentada en opción al Título de doctor. Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, 2012.

DJUKIC, M., BRZUSZKIEWICZ, E., FÜNFHAUS, A., VOSS, J., GOLLNOW, K., POPPINGA, L., LIESEGANG, H., GARCÍA-GONZÁLEZ, E., GENERSCH, E. y DANIEL, R. How to kill the honey bee larva: genomic potential and virulence mechanisms of *Paenibacillus larvae*. *PLoS ONE* no 9 vol. 3, 2014, e90914

DUSSAUBAT, C., BRUNET, J. L., HIGES, M., COLBOURNE, J. K., LOPEZ, J., CHOI, J. H., MARTÍN-HERNÁNDEZ, R., BOTÍAS, C., COUSIN, M., MCDONNELL, C., BONNET, M., BELZUNCES, L. P., MORITZ, R. F., LE CONTE, Y. y ALAUX, C. Gut pathology and responses to the microsporidium *Nosema ceranae* in the honey bee *Apis mellifera*. *PloS one*, no. 7 vol. 5, 2012, pp. e37017.

EIRI, D. M., SUWANNAPONG, G., ENDLER, M. y NIEH, J. C. *Nosema ceranae* Can Infect Honey Bee Larvae and Reduces Subsequent Adult Longevity. *PloS one*, no. 10 vol. 5, 2015, pp. e0126330.

GARCÍA, D. Evaluación del efecto antimicrobiano de un biopreparado probiótico frente a agentes patógenos de *Apis mellifera* L. Tesis presentada en opción al Título de Ingeniera Agrónoma. Universidad de Matanzas, Cuba, 2019.

GARCIA-PALENCIA, P., MARTIN-HERNANDEZ, R., GONZALEZ-PORTO, A.V., MARIN, P., MEANA, A. Y HIGES, M. Natural infection by *Nosema ceranae* causes similar lesions as in experimentally infected caged-worker honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of Apicultural Research*, no. 49 vol. 3, 2010.

HANSEN, H. y BRØDSGAARD, C. J. American foulbrood: a review of its biology, diagnosis and control. *Bee World*, No 80 5–23, 1999.

HIGES, M., GARCÍA-PALENCIA, P., MARTÍN-HERNANDEZ, R. y MEANA, A. Experimental infection of *Apis mellifera* honeybees with *Nosema ceranae* (Microsporidia). J. Invertebr. Pathol, no. 94, 2007, pp. 211-217.

HIGES, M., MARTÍN-HERNÁNDEZ, R., BOTÍAS, C., GARRIDO, E., GONZÁLEZ-PORTO, A., BARRIOS L., DEL NOZAL, M., BERNAL, J., JIMÉNEZ, J., GARCÍAPALENCIA, P. y MEANA, A. How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse. Environmental Microbiology, no.10, 2008, pp. 2659- 2669.

HIGES, M., MARTÍN-HERNÁNDEZ, R. y MEANA, A. *Nosema ceranae* in Europe: an emergent type C nosemosis. Apidologie, no. 41, 2010, pp. 375 – 392.

HUANG, S. K., YE, K. T., HUANG, W. F., YING, B. H., SU, X., LIN, L. H., LI, J. H., CHEN, Y. P., LI, J. L., BAO, X. L. y HU, J. Z. Influence of Feeding Type and *Nosema ceranae* Infection on the Gut Microbiota of *Apis cerana* Workers. mSystems, no. 3 vol. 6, 2018, pp. e00177-18.

INVERNIZZI, C., ANTÚNEZ, K., CAMPA, J.P., HARRIET, J., MENDOZA, Y., SANTOS, E. y ZUNINO, P. Situación sanitaria de las abejas melíferas en Uruguay. Montevideo: Veterinaria, no. 47, vol. 181, 2011, pp. 15-27.

IVARS, J. Enfermedades en la colmena: Nosemosis [en línea]. [fecha de consulta: 15 septiembre 2020] Disponible en: <https://www.latiendadelapicultor.com/blog/enfermedades-en-la-colmena-la-nosemosis>

JOŃCZYK, E., POPIELA, E., OWCZAREK, B., HODYRA-STEFANIAK, K., ŚWITAŁA-JELEŃ, K., ŁODEJ, N., KULA, D., NEUBERG, J., MIGDAŁ, P., BAGIŃSKA, N., ORWAT, F., WEBER-DĄBROWSKA, B., ROMAN, A. y GÓRSKI, A. Phages in Therapy and Prophylaxis of American Foulbrood – Recent Implications From Practical Applications Microbiol, no. 11: 1913, 2020.

JOOST, S.S. Identificación de especies de *Nosema* spp. en colonias de *Apis mellifera* en cuatro zonas geográficas de Chile, mediante técnica de reacción en cadena de la Polimerasa (PCR). Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al título de Ingeniero Agrónomo, Universidad Austral de Chile, Chile, 2013.

LI, W, CHEN, Y. y COOK, S.C. Chronic *Nosema ceranae* infection inflicts comprehensive and persistent immunosuppression and accelerated lipid loss in host *Apis mellifera* honey bees. Int J Parasitol, no. 48, 2018, pp. 433–44.

MAYACK, C. y NAUG, D. Energetic stress in the honeybee *Apis mellifera* from *Nosema ceranae* infection. J Invertebr Pathol. no. 100 vol. 3, 2009.

MENDOZA, Y., HARRIET, J., CAMPA, J., KATZ, H., RAMALLO, G., DÍAZ-CETTI, S. y INVERNIZZI, C. Control de *Nosema ceranae* en colonias de abejas (*Apis mellifera*) en forestaciones de *Eucalyptus grandis*. *Agrociencia Uruguay*, no 1, vol. 17, 2013.

OFICINA NACIONAL DE NORMALIZACIÓN (CUBA) Apicultura – loque americana-diagnóstico de laboratorio. La Habana, Cuba, 2014.

PÉREZ, I y FERNÁNDEZ, P. Antecedentes. Situación actual de la loque americana. Notificación. Sistemas de control de la enfermedad. Jornada de formación "Programa de vigilancia piloto sobre las pérdidas de colonias de abejas" España 3 de julio de 2014.

RETSCHNIG, G., WILLIAMS, G. R., MEHMANN, M. M., YAÑEZ, O., DE MIRANDA, J. R. y NEUMANN, P. Sex-specific differences in pathogen susceptibility in honey bees (*Apis mellifera*). *PloS one*, no. 9 vol. 1, 2014, pp. e85261.

RIEG, S., BAUER, T.M., PEYERL-HOFFMAN, G., HELD, J., WAGNER, D., KERN, W.V. y SERR, A. *Paenibacillus larvae* Bacteremia in Injection Drug Users. Alemania: *Emerging infectious diseases*, no. 3 vol. 16, 2010.

STEPHAN, J.G., DE MIRANDA, J.R. y FORSGREN, E. American foulbrood in a honeybee colony: spore-symptom relationship and feedbacks between disease and colony development. *BMC Ecol*, no. 20, vol. 15, 2020.