

Control de *Nosema ceranae* en colonias de abejas (*Apis mellifera*) en forestaciones de *Eucalyptus grandis*

Mendoza Yamandú¹, Harriet Jorge², Campa Juan², Katz Helena², Ramallo Gustavo¹, Díaz-Cetti Sebastián¹, Invernizzi Ciro³

¹Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. Ruta 11 km 50, 70000, Colonia, Uruguay. Correo electrónico: ymendoza@inia.org.uy

²Dirección de Laboratorios Veterinarios, Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Ruta 8 km, 17.500, 12100, Montevideo, Uruguay

³Facultad de Ciencias, Universidad de la República. Iguá 4225, 11400, Montevideo, Uruguay.

Recibido: 30/8/11 Aceptado: 29/6/12

Resumen

La nosemosis es una enfermedad causada por los microsporidios *Nosema Apis* y *Nosema ceranae* que afecta las funciones digestivas de las abejas melíferas (*Apis mellifera*). *N. ceranae* fue descrito en *A. mellifera* en el año 2005 y ha sido asociado a una elevada mortandad de colonias en algunos países del hemisferio norte. En Uruguay *N. ceranae* está presente en todo el territorio, mientras que es muy difícil encontrar a *N. apis*. La nosemosis se presenta indefectiblemente en las colonias que se trasladan a las forestaciones de *Eucalyptus grandis* y puede ser la causa de las elevadas pérdidas registradas allí durante el invierno. En un apiario emplazado en una forestación de *E. grandis* se evaluó el efecto de dos dosis de fumagilina (400 y 200 mg/colonia) y del propóleo (3 g/colonia) sobre la infectación por *N. ceranae* y el desarrollo poblacional en primavera. Se encontró que las colonias que recibieron 400 mg de fumagilina resultaron menos infectadas por *N. ceranae* que las del grupo control ($P < 0,01$), mientras que en las colonias que recibieron 200 mg de fumagilina la diferencia se dio con un nivel de significancia marginal ($P = 0,09$). Las colonias que recibieron extracto de propóleo no se diferenciaron de las del grupo control en el nivel de nosemosis ($P > 0,10$). En primavera las colonias que recibieron 400 mg de fumagilina presentaron una mayor población que las de los demás grupos ($P < 0,01$). Este estudio muestra que la infectación por *N. ceranae* incide en la mortandad y tamaño de las colonias durante el invierno.

Palabras clave: *Apis mellifera*, *Nosema ceranae*, fumagilina, propóleo

Summary

Control of *Nosema ceranae* in Honey Bees (*Apis mellifera*) Colonies in *Eucalyptus grandis* Plantations

Nosema disease is caused by the microsporidia *Nosema apis* and *Nosema ceranae* which affects the digestive functions of the honey bees (*Apis mellifera*). *N. ceranae* was described in *A. mellifera* in 2005 and it is associated with a high mortality of colonies in some northern hemisphere countries. In Uruguay *N. ceranae* is present throughout the whole territory, while *N. apis* is not easily found. Inevitably, *Nosema* disease is present in the colonies that are moved to the *Eucalyptus grandis* plantations, and may be the cause of high colony losses recorded there during winter. The effect of two doses of fumagillin (400 and 200 mg/colony) and propolis (3 g/colony) over *N. ceranae*, and the spring population development was evaluated in an apiary located in an *E. grandis* plantation. Colonies that received 400 mg of fumagillin were less infected by *N. ceranae* than the colonies from the control group ($P < 0.01$), whereas for the colonies that received 200 mg of fumagillin the differences ($P = 0.09$) were marginal. Colonies that have received propolis extract did not differentiate from control colonies ($P > 0.10$). The colonies that received 400 mg of fumagillin showed a larger population in spring than any colony from the other groups ($P < 0.01$). This study shows that *N. ceranae* infection affects the mortality and size of the colonies in winter.

Key words: *Apis mellifera*, *Nosema ceranae*, fumagillin, propolis

Introducción

La nosemosis es una enfermedad de las abejas melíferas (*Apis mellifera*) cuyos agentes causales son los microsporidios *Nosema apis* y *Nosema ceranae*. Ambas especies de *Nosema* se reproducen en las células epiteliales del ventrículo de las abejas afectando las funciones digestivas, lo que conduce a desnutrición, envejecimiento fisiológico, reducción de las glándulas hipofaríngeas y muerte prematura (Bailey y Ball, 1991; Fries, 1997; 2010). Mientras *N. apis* fue descrito a principios del siglo pasado, *N. ceranae*, cuyo hospedero original es la abeja asiática *Apis cerana* (Fries *et al.*, 1996), fue encontrado en *A. mellifera* en España en el año 2005 (Higes *et al.*, 2006). Actualmente *N. ceranae* se encuentra ampliamente distribuido en el mundo (Higes *et al.*, 2006; Klee *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2008; Higes *et al.*, 2009; Invernizzi *et al.*, 2009; Giersch *et al.*, 2009; Fries, 2010).

Desde su descubrimiento *N. ceranae* ha acaparado la atención de investigadores y apicultores pues podría ser una de las causas de la elevada mortandad de colonias ocurridas en los últimos años en Europa y Estados Unidos (Stokstad, 2007; van Engelsdorp *et al.*, 2009; Neumann y Carreck, 2010; Potts *et al.*, 2010). En este sentido, se ha encontrado que *N. ceranae* sería más virulento que *N. apis* (Higes *et al.*, 2007; Martín-Hernández *et al.*, 2007; Paxton *et al.*, 2007; Higes *et al.*, 2008). Recientemente, Bromenshenk *et al.* (2010) encontraron que la coinfección de las abejas con *N. ceranae* y un virus iridiscente de invertebrados (IIV), reportado por primera vez en abejas melíferas, podría explicar la muerte por despoblamiento de colonias en Estados Unidos, fenómeno que en ese país se conoce como Colony Collapse Disorder (CCD). Sin embargo, varios estudios desestiman que *N. ceranae* sea el causante de pérdidas masivas de colonias (Cox-Foster *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2008; Gómez Pajuelo *et al.*, 2008; Invernizzi *et al.*, 2009; Mayack y Naug, 2009; Forsgren y Fries, 2010).

La nosemosis es reconocida en Uruguay desde la década de 1940, y al igual que en otros países, hasta hace pocos años se creyó que el parásito responsable era *N. apis* (Invernizzi *et al.*, 2011a). Sin embargo, recientemente Invernizzi *et al.* (2009) encontraron únicamente a *N. ceranae* en muestras de abejas infectadas representativas de todas las regiones del país. En este estudio también se reportó la presencia de *N. ceranae* en una muestra de abejas obtenida antes de 1990, siendo este el registro más antiguo de esta especie que se conoce en el mundo (Paxton, 2010).

En los últimos años se han realizado análisis moleculares de numerosas muestras de abejas de diferentes zonas del país detectando solamente a *N. ceranae*, con la única excepción de una muestra proveniente del departamento de Canelones donde *N. apis* se encontraba coinfectando la colonia junto con *N. ceranae*. En base a estos resultados, actualmente se asume que en Uruguay la nosemosis tiene como principal agente causal a *N. ceranae* (Invernizzi *et al.*, 2011a).

En Uruguay la Nosemosis se presenta indefectiblemente en las colonias que se trasladan a las plantaciones comerciales de *Eucalyptus grandis* durante el periodo de floración entre febrero y mayo. En este sentido, Invernizzi *et al.* (2011b) encontraron que colonias libres de nosemosis trasladadas a una forestación de *E. grandis* al comienzo de la floración presentaban sin excepción la enfermedad al tercer día de instaladas con un promedio de 27,6% de pecoreadoras infectadas. Al final del periodo de floración el promedio de pecoreadoras infectadas alcanzó el 90,8%. Los autores plantean que la nosemosis estaría implicada en la elevada mortandad de colonias que suelen encontrar los apicultores cuando dejan los apiarios en las forestaciones durante la invernada.

El antibiótico fumagilina, que fue el único producto empleado para controlar el parásito histórico *N. apis* (Fries, 1997), también es eficiente frente a *N. ceranae* (Williams *et al.*, 2008; 2011; Higes *et al.*, 2011). De todos modos, Higes *et al.* (2011) encontraron que la estabilidad de la fumagilina es afectada por muchos factores y que su eficiencia depende del vehículo utilizado en las aplicaciones, concentración y el número de dosis que reciben las colonias. El uso de la fumagilina no es legal en los países europeos (Fries, 2010) y en Uruguay está restringido a los criaderos de reinas (MGAP, 2010).

El propóleo es una resina que las abejas colectan de diferentes tipos de plantas y utilizan para tapar huecos y grietas del nido, reforzar la base de los panales, y cubrir con una fina capa las paredes del nido y de los panales (Seeley y Morse, 1976). Las propiedades antimicrobianas del propóleo y el papel que tiene en la inmunidad de las colonias han sido recientemente valorizados (Simone *et al.*, 2009; Evans y Spivak, 2010; Simone-Finstrom y Spivak, 2010). El extracto alcohólico de propóleo ha sido utilizado con éxito en el control de la bacteria *Paenibacillus larvae*, agente causal de la Loque Americana, tanto en estudios de campo (Mlagan y Sulimanovic, 1982; Antúnez *et al.*, 2008) como de laboratorio (Bastos *et al.*, 2008). También en condiciones de laboratorio se ha utilizado el extracto de propóleo

como acaricida frente al ácaro ectoparásito *Varroa destructor* con resultados positivos (Garedew *et al.*, 2002; 2003).

Este estudio estuvo dirigido a determinar si la fumagilina y el extracto alcohólico de propóleos reducen la incidencia de la nosemosis en invierno y si afectan la población de abejas al inicio de la primavera en colonias emplazadas en una forestación de *E. grandis*.

Materiales y métodos

El estudio se realizó en el departamento de Rivera, Uruguay (31° 10' S; 55° 39' O) en un apiario emplazado en febrero de 2008 en una forestación industrial de *E. grandis* para explotar la floración de esta especie (febrero-abril). El 28 de abril se seleccionaron 42 colonias con reinas del mismo origen y edad que presentaban similares niveles de población adulta y área de cría.

Para medir la infestación por *N. ceranae* de cada colonia se maceraron conjuntamente los abdómenes de 60 abejas tomadas de la zona más alejada del nido de cría en el interior de la colmena y se determinó el número promedio de esporas por abeja utilizando un hemocitómetro (Cantwell, 1970). En base a los valores de infectación las colonias fueron ordenadas de menos a más infectadas y se dividieron en 10 grupos de cuatro colonias, escogiendo las colonias de cuatro en cuatro siguiendo el orden establecido. Las dos colonias más infectadas quedaron fuera de estos grupos. Posteriormente, las colonias de cada uno de los 10 grupos se repartieron entre los cuatro grupos de colonias experimentales. Las dos colonias más infectadas se asignaron a dos de los grupos por sorteo. De este modo, se buscó que los cuatro grupos de colonias tuvieran promedialmente similares niveles de nosemosis.

La aplicación de las dosis de fumagilina (Fugiprimdel Laboratorio Apilab) y extracto de propóleos se realizó en dos aplicaciones, los días 9 y 24 de junio, utilizando como vehículo 1,5 kg de jarabe de fructosa por colmena en cada aplicación. Para la preparación del extracto de propóleos se mantuvo durante 15 días 200 g de propóleos en 800 cc de alcohol en un lugar fresco y oscuro, agitando fuertemente el envase dos veces al día. El propóleos utilizado fue obtenido de colmenas del departamento de Colonia.

Se aplicaron dos dosis de fumagilina: una de 200 mg por colonia siguiendo las recomendaciones del producto comercial y otra de 400 mg por colonia buscando asegurar la desinfección completa de las colonias. La dosis de extracto alcohólico de propóleos empleada fue de 3 g de propóleos por colonia, que fue la utilizada por Antúnez *et al.* (2008)

para prevenir la infección por *Paenibacillus larvae*, agente causal de la Loque Americana.

En junio se realizaron los siguientes tratamientos a cada grupo de colmenas: 1) fumagilina (400 mg/colonia; 11 colonias), 2) fumagilina (200 mg/colonia; 10 colonias), 3) propóleos (extracto alcohólico, 3 g propóleos/colonia; 11 colonias), 4) control (jarabe de fructosa; 10 colonias).

El 14 de agosto se evaluó la nosemosis post-tratamiento contando las esporas con la metodología descrita anteriormente y se clasificaron las colonias en tres niveles: 1) sin esporas, 2) con menos de 1×10^6 esporas/abeja y 3) con más de 1×10^6 esporas/abeja. El criterio de dividir las colonias en base a un nivel de infectación de 1×10^6 esporas/abeja se hizo siguiendo a Somerville y Hornitzky (2007) y Oliver (2008) quienes encontraron que a partir de ese valor las colonias se ven afectadas y necesitan tratamiento.

Para evaluar el efecto del control invernal de la nosemosis en el desarrollo primaveral de las colonias, el 5 de noviembre se midió la población adulta de abejas y en base a esta información se clasificaron las colonias en tres grupos: 1) muertas, 2) débiles (hasta cinco panales cubiertos por abejas) y 3) fuertes (más de cinco panales cubiertos por abejas).

El análisis estadístico se realizó utilizando un modelo lineal generalizado de datos agrupados en una escala ordinal con distribución multinomial. Los cálculos se realizaron empleando el procedimiento GENMOD de programa estadístico SAS estableciendo un nivel de significación de 0,05.

Resultados

Las 42 colonias seleccionadas para el estudio presentaron niveles de nosemosis muy variables, con un mínimo de 50.000 y un máximo de 2.750.000 esporas/abeja. Así, los cuatro grupos de colonias formados presentaron una alta variabilidad interna en los niveles de infectación: 1) fumagilina (400 mg/colonia): 368.182 ± 468.654 esporas/abeja 2) fumagilina (200 mg/colonia): 510.000 ± 667.476 esporas/abeja, 3) propóleos: 400.000 ± 379.473 esporas/abeja, 4) control: 535.000 ± 807.964 esporas/abeja. No se encontraron diferencias significativas entre los cuatro grupos en el nivel de infectación de las colonias ($P > 0,10$).

El nivel de infección de las colonias de los diferentes grupos mostró diferencias significativas luego de aplicar los tratamientos. Las colonias que recibieron 400 mg de fumagilina se diferenciaron significativamente de las del grupo control ($P < 0,01$), mientras que las colonias que recibieron 200 mg de fumagilina mostraron diferencias con las del grupo control, pero con un valor de significancia marginal ($P = 0,09$).

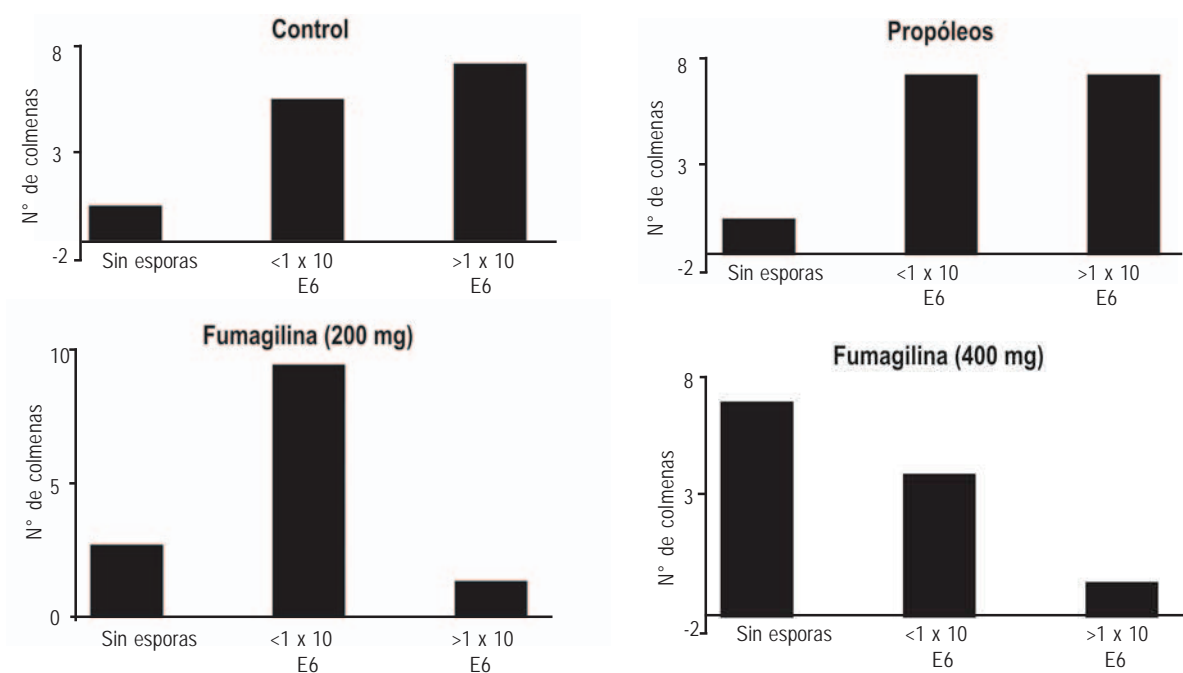


Figura 1. Distribución de las colonias que recibieron tratamientos contra *N. ceranae* en junio según el grado de infección encontrado en agosto.

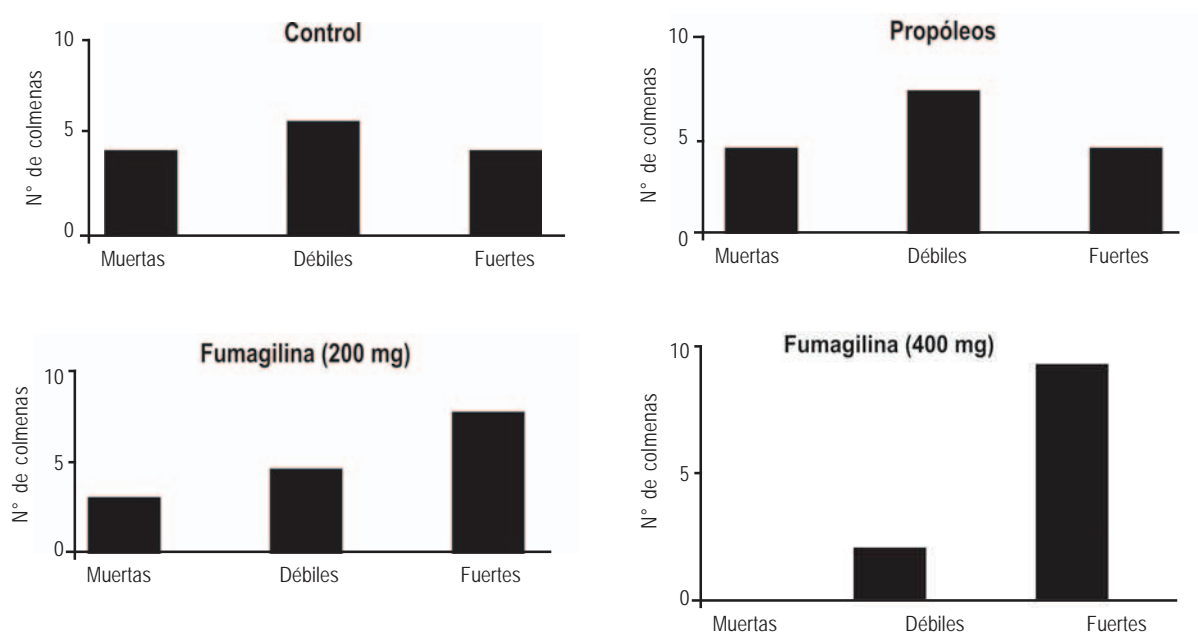


Figura 2. Distribución de las colonias que recibieron tratamientos contra *N. ceranae* en junio según la población adulta encontrada en noviembre. Débiles: hasta cinco panales cubiertos por abejas. Fuertes: más de cinco panales cubiertos por abejas.

Las colonias que recibieron extractos de propóleos no se diferenciaron de las del grupo control ($P > 0,10$) (Figura 1).

La población de abejas adultas en primavera varió entre las colonias de los diferentes grupos. Las colonias que recibieron 400 mg de fumagilina se encontraron más pobladas

que las del grupo control ($P < 0,01$). En cambio no se hallaron diferencias significativas en la población de abejas adultas entre las colonias que recibieron 200 mg de fumagilina, propóleos y las de control ($P > 0,10$) (Figura 2).

Discusión

En las condiciones en que se realizó el estudio, las aplicaciones de 400 y 200 mg de fumagilina por colmena redujeron la infestación de *N. ceranae* al cabo de 60 días, aunque el efecto de la dosis de 400 mg resultó mayor que el de la dosis de 200 mg. En Canadá, Williams *et al.* (2008, 2011) encontraron que las colonias que recibieron una aplicación de 190 mg de fumagilina en otoño estaban menos infectadas por *N. ceranae* en primavera que las colonias sin tratar. En España, Higes *et al.* (2011), probaron diferentes vehículos, concentraciones y número de aplicaciones para suministrar la fumagilina hallando que la dosis de 120 mg por colonia en jarabe de azúcar repartidas en cuatro aplicaciones semanales impide el despoblamiento y muerte de las colonias por *N. ceranae* después de un año. Constatar la eficacia de la fumagilina en el control de *N. ceranae* en Uruguay es un resultado muy importante para los apicultores que poseen criaderos de reinas, ya que están habilitados para usar este antibiótico para no ver afectada la producción de material vivo. Este punto estaba en duda, ya que algunos años antes de ser detectado *N. ceranae* en las abejas melíferas europeas Whittington y Winston (2003) habían probado la ineficacia de este antibiótico frente a *N. bombi* en los abejorros *Bombus occidentalis*. Como *N. ceranae* se encuentra más relacionado con *N. bombi* que con *N. apis* (Shafer *et al.*, 2009) se temía que la fumagilina no pudiese controlar este patógeno emergente de las abejas melíferas.

En relación a la acción del extracto de propóleos en el control de la nosemosis, no se encontraron efectos en las condiciones en que se suministró el mismo a las colmenas. De todos modos, la composición del propóleos y su capacidad como antiséptico varía mucho con el origen botánico de las resinas (Bastos *et al.*, 2008). En este trabajo no se identificó el origen botánico del propóleos utilizado. Futuros estudios para determinar el potencial del extracto de propóleos en el control de la nosemosis deben tener en cuenta el origen botánico del mismo y variables como concentración, número de aplicaciones y volumen total por colonia.

La población adulta de las colonias en noviembre fue mayor en las colonias que recibieron una dosis de 400 mg de fumagilina en relación a las de los otros grupos, indicando que la intensidad de la infección por *N. ceranae* afecta negativamente el desarrollo primaveral. El importante número de colonias muertas (28%) considerando conjuntamente todos los tratamientos excepto la dosis de 400 mg de fumagilina, coincide con la situación descrita por los apicul-

tores cuando dejan los apiarios en las forestaciones de *E. grandis* luego de terminada la floración otoñal. Recientemente, Invernizzi *et al.* (2011b) encontraron en una forestación de *E. grandis* una pérdida de 30% de las colonias del apiario y un fuerte despoblamiento de las restantes a 80 días de culminada la floración. En ese momento se encontró que todas las colonias tenían nosemosis con un promedio de más del 90% de las abejas pecoreadoras infectadas, por lo que los autores atribuyen a *N. ceranae* la mayor responsabilidad en el despoblamiento. En cambio, Williams *et al.* (2011) hallaron en Canadá que colonias tratadas y no tratadas con fumagilina en otoño se diferenciaban en la intensidad de infección por *N. ceranae* en primavera, pero no en su tamaño o en la proporción de colonias muertas.

La pérdida de colonias por nosemosis parecería ocurrir solo en los casos en que las colonias permanecen en las forestaciones de *E. grandis* durante el invierno, ya que estudios recientes indican que colonias muy infectadas, retiradas de las plantaciones inmediatamente después de culminada la floración no sufren despoblamiento y llegan a la primavera en muy buenas condiciones (Antúnez *et al.*, 2011).

Considerando la prohibición del uso de fumagilina en apiarios destinados a la producción de miel, se recomienda a los apicultores retirar las colmenas de las forestaciones de *E. grandis* una vez culminada la floración, evitando así pérdidas invernales de colonias por nosemosis.

Bibliografía

- Antúnez K, Invernizzi C, Zunino P. 2011. Why massive honeybee losses do not occur in Uruguay? En: Florio RM. [ED.], Bees: Biology, Threats and Colonies. New York: Nova Science Publishers. pp. 189-208.
- Antúnez K, Harriet J, Gende L, Maggi M, Eguaras M, Zunino P. 2008. Efficacy of natural propolis extract in the control of American Foulbrood. *Veterinary Microbiology*, 131: 324-331.
- Bailey L, Ball BV. 1991. Honey Bee Pathology. London: Academic Press. 193p.
- Bastos E, MA, Simone M, Jorge DM, Soares AES, Spivak M. 2008. In vitro study of the antimicrobial activity of Brazilian and Minnesota, USA propolis against *Paenibacillus larvae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 97: 273-281.
- Bromenshenk JJ, Henderson CB, Wick CH, Stanford MF, Zulich AW, Jabbour RE, Deshpande SV, McCubbin PE, Seccomb RA, Welch PM, Williams T, Firth DR, Skowronski E, Lehmann MM, Bilimoria SL, Gress J, Wanner KW, Cramer RA. 2010. Iridovirus and microsporidian linked to honey bee colony decline. *PLoS One*, 5: e13181.
- Cantwell GE. 1970. Standard methods for counting nosema spores. *American Bee Journal*, 110: 222-223.
- Chen Y, Evans JD, Smith IB, Pettis JS. 2008. *Nosema ceranae* is a long-present and wide-spread microsporidian infection of the European honey bee (*Apis mellifera*) in the United States. *Journal of Invertebrate Pathology*, 97: 186-188.
- Cox-Foster DL, Conlan S, Holmes EC, Palacios G, Evans JD, Moran NA, Quan P-L, Briese T, Hornig M, Geiser DM, Martinson V, van

- Engelsdorp D, Kalkstein AL, Drysdale A, Hui J, Zhai J, Cui L, Hutchison SK, Simons JF, Egholm M, Pettis JS, Lipkin WI. 2007. A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. *Science*, 318: 283 - 287.
- Evans JD, Spivak M. 2010. Socialized Medicine : Individual and communal disease barriers in honey bees. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103: S62-S72.
- Forsgren E, Fries I. 2010. Comparative virulence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in individual European honey bees. *Veterinary Parasitology*, 170: 212-217.
- Fries I. 2010. *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of Invertebrate Pathology*, 103: 73-79.
- Fries I. 1997. Protozoa. En: Morse RA, Flottum K. [Eds.], honey bee pests, predators and diseases. Ohio : Root A. I. Company. pp. 59-76.
- Fries I, Feng F, da Silva A, Slemenda SB, Pieniazek NJ. 1996. *Nosema ceranae* n. sp. (Microspora, Nosematidae), morphological and molecular characterization of a microsporidian parasite of the Asian honey bee (*Apis cerana*) (Hymenoptera, Apidae). *European Journal of Protistology*, 32: 356 -365.
- Garedew A, Schmolz E, Lamprecht I. 2003. Microcalorimetric and respirometric investigation of the effect of temperature on the antiVarroa action of the natural bee product-propolis. *Thermochemical Acta*, 399: 171-180.
- Garedew A, Lamprecht I, Schmolz E, Schrickler B. 2002. The varroacidal action of propolis: a laboratory assay. *Apidologie*, 33: 41-50.
- Giersch T, Berg T, Galea F, Hornitzky M. 2009. *Nosema ceranae* infects honey bees (*Apis mellifera*) and contaminates honey in Australia. *Apidologie*, 40: 117-123.
- Gómez Pajuelo A, Torres C, Orantes Bermejo FJ. 2008. Colony losses: a double blind trial on the influence of supplementary protein nutrition and preventative treatment with fumagillin against *Nosema ceranae*. *Journal of Apicultural Research*, 47: 84 - 86.
- Higes M, Nozal MJ, Alvaro A, Barrios L, Meana A, Martín-Hernández R, Bernal JL, Bernal J. 2011. The stability and effectiveness of fumagillin in controlling *Nosema ceranae* (Microsporidia) infection in honey bees (*Apis mellifera*) under laboratory and field conditions. *Apidologie*, 42: 364 - 377.
- Higes M, Martín-Hernández R, Botías C, Meana A. 2009. The presence of *Nosema ceranae* (Microsporidia) in North African honey bees (*Apis mellifera intermissa*). *Journal of Apicultural Research*, 48: 217-219.
- Higes M, Martín-Hernández R, Botías C, Bailon EG, Gonzalez-Porto AV, Barrios L, Del Nozal MJ, Bernal JL, Jimenez JJ, Palencia PG, Meana A. 2008. How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse. *Environmental Microbiology*, 10: 2659-2669.
- Higes M, García-Palencia P, Martín-Hernández R, Meana A. 2007. Experimental infection of *Apis mellifera* honeybees with *Nosema ceranae* (Microsporidia). *Journal of Invertebrate Pathology*, 94: 211-217.
- Higes M, Martín R, Meana A. 2006. *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. *Journal of Invertebrate Pathology*, 92: 93-95.
- Huang W-F, Jiang J-H, Chen Y-W, Wang C-H. 2007. A *Nosema ceranae* isolate from the honeybee *Apis mellifera*. *Apidologie*, 38: 30-37.
- Invernizzi C, Antúnez K, Campa J, Harriet J, Mendoza Y, Santos E and Zunino P. 2011a. Situación sanitaria de las abejas melíferas en Uruguay. *Veterinaria*, 47: 15-27.
- Invernizzi C, Santos E, García E, Daners G, Di Landro R, Saadoun A, Cabrera C. 2011b. Sanitary and nutritional characterization of honeybee colonies in *Eucalyptus grandis* plantations in Uruguay. *Archivos Zootecnia*, 60: 1303-1314.
- Invernizzi C, Abud C, Tomasco I, Harriet J, Mendoza Y, Ramallo G, Campá J, Katz E, Gardiol G, Mendoza Y. 2009. Presencia de *Nosema ceranae* en abejas melíferas (*Apis mellifera*) en Uruguay. *Journal of Invertebrate Pathology*, 101: 150 - 153.
- Klee J, Besana AM, Genersch E, Gisder S, Nanetti A, Tam DQ, Chinh TX, Puerta F, Ruz JM, Kryger P, Message D, Hatjina F, Korpela S, Fries I, Paxton RJ. 2007. Widespread dispersal of the microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of the western honeybee, *Apis mellifera*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 96: 1-10.
- 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 Environmental Microbiology*, 73: 6331-6338.
- Mayack C, Naug D. 2009. Energetic stress in the honeybee *Apis mellifera* from *Nosema ceranae* infection. *Journal of Invertebrate Pathology*, 100: 185 - 188.
- MGAP. 2010. Decreto presidencial 14 - 6 - 2010. Oxitetraciclina y Fumagilina- Retiro y/o limitación del uso en Uruguay [En línea]. Consultado 12 de diciembre 2011. Disponible en: https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&ved=OCDEQFJAA&url=http%3A%2F%2Fwww.mgap.gub.uy%2Fportal%2Fagxppdwn.aspx%3F7%2C1%2C475%2C0%2C0%2C0%2C1716%253BS%253B1%253B144%2C&ei=Nbp_Ufm9KNT4A02tYD4Dg&usq=AFQjCNFJaymR2WM6HYLYLto7IS2TjDU1yA&sig2=bl5fOwwAoUp2Kzz9j0i43A&bvm=bv.45645796,d.dmg.
- Mlagan V, Sulimanovic D. 1982. Action of propolis solutions on *Bacillus larvae*. *Apiacta*, 17: 16-20.
- Neumann P, Carreck N. 2010. Honey bee colony losses. *Journal of Apicultural Research*, 49: 1-6.
- Oliver R. 2008. The «Nosema twins» Part IV: treatment. *American Bee Journal*, 148: 249-252.
- Paxton RJ. 2010. Does infections by *Nosema ceranae* cause «Colony Collapse Disorder» in honey bees (*Apis mellifera*)? *Journal of Apicultural Research*, 49: 80-84.
- Paxton RJ, Klee J, Korpela S, Fries I. 2007. *Nosema ceranae* has infected *Apis mellifera* in Europe since at least 1998 and may be more virulent than *Nosema apis*. *Apidologie*, 38: 558-565.
- Potts SG, Roberts SP, Dean R, Marris G, Brown MA, Jones R, Neumann P, Settele J. 2010. Declines of managed honey bees and beekeepers in Europe. *Journal of Apicultural Research*, 49: 15-22.
- Seeley TD, Morse RA. 1976. The nest of the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Insectes Sociaux*, 23: 495 - 512.
- Shafer ABA, Williams GR, Shutler D, Rogers REL, Stewart DT. 2009. Cophylogeny of *Nosema* (Microsporidia: Nosematidae) and bees (Hymenoptera: Apidae) suggests both cospeciation and a host-switch. *Journal of Parasitology*, 95: 198-203.
- Simone M, Evans J, Spivak M. 2009. Resin collection and social immunity in honey bees. *Evolution*, 63: 3016-3022.
- Simone-Finstrom M, Spivak M. 2010. Propolis and bee health: the natural history and significance of resin use by honey bees. *Apidologie*, 41: 295-311.
- Somerville D, Hornitzky M. 2007. *Nosema* disease. *Primefacts*, 699: 3.
- Stokstad E. 2007. The case of the empty hives. *Science*, 316: 970-972.
- van Engelsdorp D, Evans JD, Saegerman C, Mullin C, Haubruge E, Nguyen BK, Frazier M, Frazier J, Cox-Foster D, Chen Y, Underwood R, Tarpay DR, Pettis JS. 2009. Colony collapse disorder: a descriptive study. *PLoS One*, 4: e6481.
- Whittington R, Winston ML. 2003. Effects of *Nosema bombi* and its treatment fumagillin on bumble bee (*Bombus occidentalis*) colonies. *Journal of Invertebrate Pathology*, 84: 54-58.
- Williams GR, Shutler D, Little CM, Burger-Maclellan KL, Rogers RLE. 2011. The microsporidian *Nosema ceranae*, the antibiotic Fumagillin-B, and western honey bee (*Apis mellifera*) colony strength. *Apidologie*, 42: 15-22.
- Williams GR, Sampson MA, Shutler D, Rogers REL. 2008. Does fumagillin control the recently-detected invasive parasite *Nosema ceranae* in western honey bees (*Apis mellifera*)? *Journal of Invertebrate Pathology*, 99: 342-44.