

# EFFECTO ANTIFÚNGICO DE EXTRACTOS DE PROPÓLEOS OBTENIDOS EN LA PROVINCIA DE JUJUY, ARGENTINA

## ANTIFUNGAL EFFECT OF PROPOLIS EXTRACTS OBTAINED IN JUJUY PROVINCE, ARGENTINA

Rosa M. Retamoso<sup>\*1,2</sup>, Gisela B. Ruiz<sup>1,2</sup> y Marcelo R. Benítez Ahrendts<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy (UNJu). Alberdi N° 47, San Salvador de Jujuy. Jujuy. Argentina. (C.P. 4600)

<sup>2</sup>Laboratorio de Sanidad Apícola y Meliponícola. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy (UNJu). Alberdi N° 47, San Salvador de Jujuy. Jujuy. Argentina. (C.P. 4600)

\*Autor para correspondencia:  
milagroretamoso@gmail.com

Licencia:  
[Licencia Creative Commons](#)  
[Atribución-NoComercial-](#)  
[CompartirIgual 4.0 Internacional](#)

Período de Publicación:  
Julio 2021

Historial:  
Recibido: 28/03/2021  
Aceptado: 03/06/2021

### RESUMEN

El propóleo es una sustancia resinosa producida por las abejas a partir de sustancias gomosas y resinosas de algunas plantas, cuyas propiedades fisicoquímicas varían según su fuente de origen y que utilizan en la construcción, reparación y protección de la colmena. En el presente trabajo el objetivo fue evaluar in vitro la actividad de los extractos de propóleos sobre micelio de *Ascosphaera apis* (agente etiológico de la ascosferosis), *Aspergillus* sección *nigri* (agente etiológico de aspergilosis) y *Penicillium* serie *chrysogenum* con potencial micotoxigénico que afectan la salud de las abejas. Se utilizó propóleos proveniente de las localidades de Los Nogales, Severino y Tilquiza de la provincia. Se estudió la inhibición de micelio mediante explantes fúngicos enfrentados con las diferentes diluciones. No se obtuvo diferencias entre las diluciones de propóleos, siendo más efectivas las concentraciones 0,3 y 0,03 g/mL. El propóleo presenta actividad antifúngica que controla hongos que afectan la producción de miel.

**Palabras clave:** antifúngico, *Ascosphaera apis*, *Aspergillus* sección *nigri*, *Penicillium* serie *chrysogenum*, propóleos

### SUMMARY

Propolis is a resinous substance produced by bees from gummy and resinous substances from some plants, whose physicochemical properties vary according to their source of origin, which they use in hive construction, repair and protection. In the present work, the objective was to evaluate in vitro the activity of propolis extracts on mycelium of *Ascosphaera apis* (etiological agent of ascospherosis), *Aspergillus* section *nigri* (etiological agent of aspergilosis), and *Penicillium chrysogenum* series with mycotoxigenic potential that affect bees health. Propolis from three locations in the province was used. The inhibition of mycelium was studied by fungal explants confronted with the different dilutions. No differences

were obtained between the propolis dilutions, being the concentrations 0.3 and 0.03 g / mL more effective. Propolis has antifungal activity that controls fungi that affecting honey production.

**Keywords:** antifungal, *Ascosphaera apis*, *Aspergillus section nigri*, *Penicillium serie chrysogenum*, propolis

## INTRODUCCIÓN

Argentina ocupa un lugar destacado en la producción de miel ya que es el segundo exportador mundial (13% del total) y el cuarto productor después de China, la Unión Europea y Turquía. El país comercializa en el exterior el 95% de la miel producida debido al bajo consumo interno y a la gran demanda principalmente de Estados Unidos, Alemania y Japón (Sánchez, Castignani y Rabaglio, 2018).

En el NOA, la apicultura es una actividad productiva con alto potencial permitiendo el desarrollo económico a nivel de pequeños emprendedores (Vásquez y Castignani, 2018). En Jujuy dicha actividad es menor, pero se percibe un proceso de crecimiento. En el año 2019 se registraron 2503 colmenas pertenecientes a 71 apiarios (Vásquez, 2019) con una concentración de apiarios en las zonas de valles cálidos y templados.

La actividad apícola se encuentra amenazada por factores ambientales y sanitarios que provocan mortandad de las colonias y afectan la producción, por lo que es necesario la implementación de alternativas naturales e inocuas que no dejen residuos en los productos apícolas, sean persistentes y fácil de emplear (Tolosa y Cañizares, 2002).

El propóleo es elaborado por las abejas a partir de los exudados resinosos, yemas y brotes que extraen y transportan hasta la colmena. El compuesto adquiere aspecto resinoso, sabor amargo, su coloración varía de amarillo a verde, rojizo y pardo. Se le atribuye actividad

antibacteriana, antifúngica, antiparasitaria y antiviral (Akca et al., 2016; Herrera et al., 2010; Peña, 2008; Nieva Moreno et al., 2005; Salatino et al., 2005).

La composición química del propóleo es muy compleja, actualmente más de 300 compuestos fueron identificados como principales constituyentes de los propóleos de diferentes zonas geográficas del mundo, entre los que se pueden mencionar ácidos fenólicos, flavonoides, terpenos, ácidos cinámicos, ácido cafeico y algunos de sus ésteres (Paulino et al., 2003; Salatino et al., 2005; Escriche y Juan, 2018). La actividad biológica depende del tipo de vegetación, la zona geográfica, la época del año, el método de recolección y la especie de abeja, siendo atribuida a la acción sinérgica de varias sustancias (Romero Rivera, 2017; Aliboni, 2014; Mayta-Tovalino y otros, 2012).

En las colmenas las abejas utilizan el propóleo para sellar aberturas, barnizar celdas, proveer de asepsia y protección, la presencia de este brinda un ambiente inadecuado para los microorganismos (Kartal et al., 2003). Sin embargo, algunos suelen violar este ambiente aséptico e ingresar a las colmenas.

*Ascosphaera apis* es un hongo heterotálico que causa la enfermedad de la cría yesificada, la infección afecta a las larvas entre 3 a 4 días de edad cuando ingieren las ascosporas a través de los alimentos (Matus y Sarbak, 1974; Aronstein y Murray, 2010; Simone-Finstrom, 2017) puede causar una mortandad de hasta un 80% de la cría, generando pérdidas en la producción de miel que oscilan entre un 5 y un 37% (Zaghloul et al., 2016).

En cuanto a la presencia de *Ascosphaera apis* no hay registros en colmenas de los apiarios de la provincia, sin embargo, en Argentina se encuentra difundida en la mayoría de las zonas productoras del país (Bruno, 2003). Entre los hongos oportunistas se encuentran las especies del género *Aspergillus* y *Penicillium*. Los propágulos de *Aspergillus* pueden permanecer en suspensión por periodos prolongados y contaminar cualquier superficie (Warris et al., 2003). Una enfermedad micótica que afecta a las abejas adultas y a la cría es la Aspergilosis que ocasiona la muerte y momificación. La aspergilosis o “cría de piedra” es la enfermedad producida por varias especies del género *Aspergillus* con mayor frecuencia *A. flavus*, *A. niger* y *A. fumigatus*, los que afectan a las crías de cualquier edad y a las abejas adultas (De la Sota et al., 2005). Se ha demostrado la presencia de los hongos *Penicillium*, *Aspergillus* y *Fusarium* en el tubo digestivo de las abejas, así como en la miel y otras provisiones de estos insectos (Batra et al., 1973).

El objetivo de este trabajo fue evaluar in vitro la actividad antifúngica de extractos de propóleos sobre hongos perjudiciales para *Apis mellifera*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Hongos

Las cepas de *Ascosphaera apis*, *Penicillium serie chrysogenum* y *Aspergillus sección nigri* empleadas en este estudio, fueron proporcionadas por el cepario del Laboratorio de Microbiología Agrícola y al Laboratorio de Sanidad Apícola y Meliponícola de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Jujuy (UNJu).

Antes de realizar la determinación de la actividad antifúngica de los diferentes extractos de propóleos, se verificó la viabilidad de cada una de las cepas seleccionadas para este trabajo.

### Propóleos

Las muestras de propóleos se colectaron en

los meses de marzo, abril y mayo, se obtuvieron mediante rejillas especiales de plástico de 2 a 4 mm, las que se colocaron en la parte superior de 5 colmenas al azar, en cada uno de los apiarios pertenecientes a las localidades de Los Nogales, Severino y Tilquiza en la provincia de Jujuy. Las muestras se guardaron en frascos de vidrio al abrigo de la luz. A partir de la mezcla de propóleos de cada apiario se hizo una solución madre con 30 gr de propóleos en 100 mL de alcohol al 96%, y a partir de ella las diluciones 1/10 y 1/20. Actividad antifúngica

Para determinar la acción sobre micelio se enfrentó un explante de cada hongo ante discos de papel conteniendo 10  $\mu$ L de la solución madre y de cada dilución de extractos de propóleos, luego se sembró por triplicado en placas con agar extracto de malta (MEA) (Pitt y Hocking, 2009, Samson y Pitt, 2000) y medio My20 (Udagawa y Horie, 1976), según requerimiento, se incubaron a 30°C y se midió el halo de inhibición a los 5 días.

### Análisis de fenoles y flavonoides totales

Los compuestos fenólicos totales se determinaron mediante espectrofotometría basado en la reacción de óxido-reducción con el reactivo de Folin-Ciocalteu (Singlenton y Rossi, 1965); en tubos de ensayo se colocó 0,5 mL de solución etanólica de propóleos, 10 mL de agua y 1mL de reactivo de Folin-Ciocalteu se agitó y dejó en reposo por 8 minutos, luego se le adicionaron 4 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 20%, se dejó 1 hora en oscuridad y se procedió a registrar la absorbancia a 760 nm de cada una de las muestras. La curva de calibración se construyó empleando soluciones de ácido gálico.

### Análisis estadístico

Los resultados fueron sometidos a un análisis estadístico a partir de la prueba de comparación de medias a posteriori LSD Fisher para las variables en estudio a partir del programa Infostat versión 2015 (Di Rienzo et al., 2015).

**RESULTADOS**

En las pruebas realizadas con micelio de *Ascosphaera apis*, *Penicillium serie chrysogenum* y *Aspergillus* sección *nigri*, las soluciones más concentradas con de 0,3g propóleos/mL, presentaron mayor efecto antifúngico con halos de inhibición de hasta 15,4 mm a los 5 días de incubación; mientras que las concentraciones de 0,03 y 0,003 g propóleos/mL presentaron halos de menor diámetro, para el mismo tiempo de incubación (tabla 1; fig. 1).

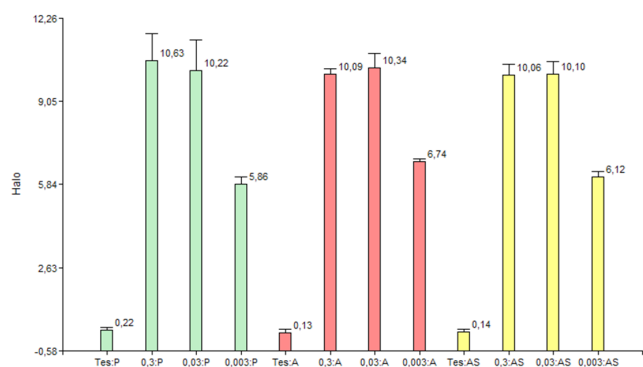
El análisis estadístico no demostró diferencias significativas entre la actividad inhibitoria de los propóleos de las tres localidades en estudio ( $p > 0.05$ ;  $p > 0.8671$ ; g.l. 33), siendo similar la acción inhibitoria de los mismos frente a *Aspergillus* sección *nigri*, *Penicillium serie chrysogenum* y

*Ascosphaera apis* ( $p > 0.05$ ;  $p > 0.9925$ ; g.l. 2).

En la tabla 2 se indican los valores medios del contenido de fenoles totales y flavonoides, la desviación estándar correspondiente y con letras el resultado de las pruebas estadísticas aplicadas que se obtuvieron para cada uno de los sitios de muestreo. El contenido de fenoles totales oscila entre valores de 33,4 mg GAE/g de EEP y 53,5 mg GAE/g EEP para los extractos analizados. En cuanto a flavonoides se obtuvo 12,8 mg QE/g EEP como el menor valor registrado correspondiente a extractos de Severino y el mayor fue de 15,4 mg QE/g EEP de extractos de Nogales. La cuantificación de fenoles totales de los diferentes sitios, dió diferencias significativas ( $p < 0.05$ ;  $p < 0.0001$ ; g.l.2); como así también la cuantificación de flavonoides totales ( $p < 0.05$ ;  $p < 0.0036$ ; g.l.2).

**Tabla 1.** Halos de inhibición de las tres diluciones de propóleos procedentes de tres localidades de Jujuy

Concentración g/mL	Localidad	Hongo	24hs	48hs	72hs	96hs	120hs	
0,3	Severino	<i>Ascosphaera apis</i>	6,4	11,0	14,0	14,0	14,0	
0,03			5,3	12,0	14,0	14,0	14,0	
0,003			5,0	5,5	6,5	6,5	6,5	
0,3	Tilquiza		5,0	7,0	13,0	13,0	13,0	
0,03			4,7	6,0	12,0	12,0	12,0	
0,003			4,0	4,5	6,3	6,3	6,3	
0,3	Nogales		7,0	12,0	14,5	14,5	14,5	
0,03			5,4	6,0	11,0	11,5	11,5	
0,003			4,0	4,5	7,5	7,5	7,5	
0,3	Severino		<i>Penicillium serie chrysogenum</i>	5,4	12,2	14,0	14,0	14,0
0,03				8,3	13,5	15,4	15,4	15,4
0,003				4,7	6,1	6,8	6,8	6,8
0,3	Tilquiza	5,0		8,0	13,5	13,5	13,5	
0,03		5,3		7,1	7,1	12,3	12,3	
0,003		4,4		4,8	6,9	6,9	6,9	
0,3	Nogales	7,3		14,8	15,3	15,3	15,3	
0,03		5,7		5,7	13,5	13,5	13,5	
0,003		4,8		4,8	7,7	7,7	7,7	
0,3	Severino	<i>Aspergillus sección nigri</i>		9,3	9,9	9,9	12,3	12,3
0,03				9,8	9,8	11,2	12,8	12,8
0,003				6,5	6,6	7,3	7,3	7,3
0,3	Tilquiza		8,8	9,5	11,3	11,3	11,3	
0,03			9,2	10,1	11,7	11,7	11,7	
0,003			7,1	6,2	6,4	6,4	6,4	
0,3	Nogales		7,8	9,6	12,4	12,4	12,4	
0,03			7,7	8,6	11,9	11,9	12,0	
0,003			6,0	6,9	7,5	7,5	7,5	



**Figura 1.** Halos de inhibición de propóleos (mm) en función de las concentraciones frente a A: *Aspergillus sección niger*, P: *Penicillium serie chrysogenum* y AS: *Ascospaera apis*; Tes: Testigo, Con: Concentrado, Con-1: Concentrado -1, Con-2: Concentrado -2

**Tabla 2.** Contenidos de fenoles totales y flavonoides totales de muestras de propóleos procedentes de tres localidades de Jujuy

Sitios de muestreo	Contenido de Fenoles Totales (% p/p) ± DE	Test de Kruskal Wallis	Contenido de Flavonoides Totales (%P/P) ± DE	Test de Tukey
Severino	33,48 ± 0,24	B	12,83 ± 0,13	A
Nogales	43,22 ± 1,17	AB	15,42 ± 0,03	B
Tilquiza	53,6 ± 1,76	A	21,14 ± 0,04	C

## DISCUSIÓN

Estudios previos demostraron que Los extractos de propóleos afectan al crecimiento de *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus sección nigri*, *Aspergillus versicolor*, *Botrytis cinérea*, *Candida albicans*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium serie chrysogenum*, *Plasmopara vitícola*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Trichoderma viridae*, entre otros (Lorenzo, 2010; Herrera et al., 2010; Agüero et al., 2010; Aly y Elewa 2007, Farrè y otros 2004). De igual manera en este estudio se demostró la inhibición de *Ascospaera apis*, *Penicillium serie chrysogenum* y *Aspergillus sección nigri* a partir de extractos de propóleos proveniente de 3 zonas de Jujuy. Estos resultados, coinciden con los obtenidos por otros autores (Garedew et al., 2008), quienes utilizaron propóleos de distinto origen,

con una gran variabilidad en la inhibición final. Estos autores propusieron que dichas diferencias se atribuían a la diversidad floral asociada a cada apiario a partir del cual se obtuvieron las muestras.

Los resultados de inhibición de micelio evidenciaron la acción antifúngica, mediante la presencia de halos a los distintos tiempos de incubación y con todas las soluciones de los diferentes apiarios, siendo las soluciones concentradas las más efectivas. Datos semejantes fueron registrados por García y otros (2014) con extractos etanólicos de propóleos en la inhibición de *Candida albicans*. Las soluciones de propóleos empleadas en este estudio mostraron efectividad en la inhibición de los hongos en estudio, siendo menor el desarrollo de micelios correspondientes a las soluciones más concentradas, está bioactividad está relacionada al contenido de fenoles, como flavonoides y ácidos fenólicos (Bedascarrabure y otros, 2004; Sirepatrawan et al., 2004). La composición química de los extractos de propóleos varía de acuerdo con la ubicación, y las especies botánicas existentes en cada región, lo que incide en la efectividad de los propóleos (Aliboni, 2014, Mayta-Tovalino y otros, 2012; Romero, 2017).

Babic et al., (2011) informó de manera coincidente, que a partir de extractos etanólicos de propóleos al 30%, se observó un efecto fungistático reduciendo el crecimiento de hongos como *Ascospaera apis* y *Candida albicans*, obteniendo halos de inhibición de 14,5 mm.

En Argentina y Brasil los fenoles y flavonoides son considerados como indicadores de calidad para la producción de propóleos (Normas IRAM 2004) la determinación de fenoles totales de los extractos analizados presentaron valores altos de contenido de fenoles con un promedio de 43,41 mg GAE/g EEP, coincidente con lo reportado por Palomino et al., (2009) y Soto-Vásquez (2015).

En propóleos el contenido de fenoles y flavonoides es un parámetro importante que determina tanto la calidad del material como su potencial biológico. Existe una relación

directa entre el contenido de fenoles totales y actividades biológicas presentes en los propóleos, como actividades antioxidante, antibacteriana y antifúngica (Choi et al., 2006; Moreira et al., 2008). Con relación a la cuantificación de flavonoides los resultados son similares a los registrados para extractos etanólicos de Perú (Rengifo-Penadillos, 2013). Mientras que Lozina et al., (2010) reportó valores inferiores de contenidos de flavonoides para extractos pertenecientes a Corrientes, Mendoza, Chaco y Santiago del Estero. Los resultados obtenidos indican un alto contenido de compuestos biológicamente activos como fenoles y flavonoides en los extractos analizados.

### CONCLUSIÓN

Los extractos de propóleos provenientes de apiarios de los Nogales, Severino y Tilquiza de la provincia de Jujuy presentan efecto antifúngico frente a micelios de hongos que afectan a las colmenas. Esto indica que los mismos tienen potencial para ser utilizados como alternativa de control para hongos patógenos en apicultura.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración a los "Socios de la COPAJ "Cooperativa de Productores apícolas de Jujuy Ltda." y al productor Ezequiel Verrastro.

### BIBLIOGRAFÍA

- Agüero MB, Gonzalez M, Lima B, Svetaz L, Sánchez M, Succino S, Egly-Feresin G, Schmeda-Hirschmann G, Palermo J, Wunderlinand D y A Tapia, (2010). Argentinean propolis from *Zuccagnia punctata* Cav. (Caesalpinieae) exudates: Phytochemical Characterization and Antifungal Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (1): 194-201.
- Akca, A. E.; Akca, G. Topçu F.T.; Macit, E.; Pıkdöken, L. y .I F. Özgen. (2016). The comparative evaluation of the antimicrobial effect of propolis with chlorhexidine against oral pathogens: an in vitro study. *BioMed Research International*, art. ID 3627463, <http://dx.doi.org/10.1155/2016/3627463>
- Aliboni, A. (2014). Propolis from northern California and Oregon: chemical composition, botanical origin, and content of allergens. *Z. Naturforsch C.*, 69 (1-2):10-20.
- Aly, S.A y N.A. Elewa, (2007). The effect of Egyptian honeybee propolis on the growth of *Aspergillus versicolor* and sterigmatocystin biosynthesis in Ras cheese. *Dairy Research Cambridge University Press*, Vol 74:1, 74-78.
- Aronstein, K. A. y K D Murray (2010). Chalkbrood disease in honey bees. *Journal of invertebrate pathology*, 103, S20-S29.
- Babić, S., Pašić, S., Dakin, B., y A. Ćoralić, (2011). Antifungal activity of propolis originated from Bosnia and Herzegovina. *Veterinaria (Sarajevo)*, 60(3/4), 187-193.
- Batra, L.R.; Batra S.W.T. y G.E Bohart, (1973). The mycoflora of domesticated and wild bees (Apoidea). *Mycopathologia*, 49:13-44.
- Bedascarrasbure E., Maldonado L., Álvarez A y E. Rodríguez (2004). Contenido de fenoles y flavonoides del propóleo argentino. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 23: 369-372.
- Bruno, S. (2003). Enfermedades de las abejas. Buenos Aires, Ed. Ciencia y Abejas.
- Choi, Y. M., Noh, D. O., Cho, S. Y., Suh, H. J., Kim, K. M., & Kim, J. M. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT-Food Science and Technology*, 39(7), 756-761.
- De la Sota, M. (2005). Enfermedades de las abejas. Manual de procedimientos. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), pp.11-40.
- Di Rienzo, J.A; Casanoves, F; Balzarini, M.G; Gonzalez,

- L; Tablada, M. y C. W. Robledo. (2015). InfoStat version Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Escriche, I. y M. Juan-Borrás (2018). Standardizing the analysis of phenolic profile in propolis. *Food Research International*, 106, 834-841.
- Farré R.; Frasquet I. y A Sánchez, (2004). El própolis y la salud. *Ars Pharmaceutica*, 45 (1): 21-43.
- García, A. Ucar A y L. Ballester, (2014). Eliminación de *Candida albicans* con Extracto Etanólico de Propóleo comercial de *Apis mellifera* del estado Mérida, en bases de Prótesis Parciales Removibles, *Rev. Odontol. de los Andes.*, Vol. 9, pp. 4-14.
- Garedew, A.; Schmolz, E. y I. Lamprecht, (2008). Microbiological and calorimetric investigations on the antimicrobial actions of different propolis extracts: an in vitro approach. *Thermochimica Acta*, vol. 422, no 1-2, p. 115-124.
- Herrera, C.; Alvear, M.; Barrientos, L.; Montenegro, G. y L Salazar.(2010). The antifungal effect of six commercial extracts of chilean propolis on *Candida* spp. *Ciencia e Investigación Agraria*.37 (1):75-84.
- Lozina, L., Peichoto M, E., Acosta O, & Graneros G. (2010). Estandarización y caracterización organoléptica y físico-química de 15 propóleos argentinos. *Lat. Am. J. Pharm*, 29(1), 102-110. Kartal, M., Yildiz, S., Kaya, S., Kuruc, S. y Topcu, G. (2003). Antimicrobial activity of propolis samples from two different regions of Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, 86 (1): 69- 73
- Matus, F. y I Sarbak (1974). Occurrence of chalkbrood disease in Hungary. *Magyar Allatorvosok Lapja*, 29, 250-255.
- Mayta-Tovalino F.; Sacsquispe-Contreras S.; Ceccarelli-Calle J. y J. Alania-Mallqui, (2012). Propóleo peruano: una nueva alternativa terapéutica antimicrobiana en estomatología. *Revista Estomatológica Herediana*, 22 (1): 50-58.
- Moreira, L., Dias, L. G., Pereira, J. A., & Estevinho, L. (2008). Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal. *Food and Chemical toxicology*, 46(11), 3482-3485.
- Nieva Moreno M.I; Zampini I.C; Ordóñez R.M; Jaime G.S; Vattuone M.A e MI Isla. (2005). Evaluation of the cytotoxicity, genotoxicity, mutagenicity, and antimutagenicity of propolis from Tucuman, Argentina. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 53 (23): 8957-8962.
- Palomino, L. R.; García, C; Gil, M; Rojano, B. A., y D L Durango, (2009). Determination of phenolic content and evaluation of antioxidant activity of propolis from Antioquia (Colombia). *Vitae*, 16(3), 388-395.
- Paulino, N.; Dantas, A. P.; Bankova, V.; Longhi, D. T.; Scremin, A.; de Castro, S. L., y J.B. Calixto (2003). Bulgarian propolis induces analgesic and anti-inflammatory effects in mice and inhibits in vitro contraction of airway smooth muscle. *Journal of Pharmacological Sciences*, 93(3), 307-313.
- Peña, R. C. (2008). Estandarización en propóleos: antecedentes químicos y biológicos. *Ciencia e Investigación Agraria*, 35 (1): 17-26.
- Pitt J.I. y A Hocking (2009). *Fungi and Food Spoilage*. Springer Science, New York.
- Romero Rivera M.H, (2017). Interacciones entre compuestos mayoritarios anti-*Helicobacter pylori* presentes en propóleos de la Región del BioBío. Tesis Doctoral. Universidad de Concepción, Chile.
- Rengifo Penadillos R. A. (2013). Cuantificación de flavonoides en el extracto etanólico de propóleos, *Revista Farmaciencia.*, vol. 1, pp.

51, December, 2013.

- Salatino, A.; Teixeira, E.; Negri, G. y D Message, (2005). Origin and chemical variation of Brazilian propolis. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine. Vol. 2, 33-38.
- Samson R.A. y J.I. Pitt, (2000). Integration of Modern Taxonomic Methods for *Aspergillus* and *Penicillium* Classification. Harwood Academic Publishers, Amsterdam.
- Sanchez, C. Castignani, H. y M. Rabaglio (2018). El Mercado Apícola Internacional. PROAPI, INTA.
- Simone-Finstrom, M. (2017). Social immunity and the superorganism: Behavioral defenses protecting honey bee colonies from pathogens and parasites. *Bee World*, 94(1), 21-29.
- Singleton V.L. y J. Rossi, (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents *Journal Enol. Vitic*, vol. 16, pp. 144-158.
- Siripatrawan U.; Vitchayakitti W. y R Sanguandeeul. (2013). Antioxidant and antimicrobial properties of thai propolis extracted using ethanol aqueous solution. *Int. J. Food Sci. Tech.* 48:22-27.
- Soto-Vásquez, M.R. (2015). In Crescendo. Institucional. Metabolitos secundarios, cuantificación de fenoles y flavonoides totales de extractos etanólicos de propóleos de tres localidades del Perú. 6(2): 22-32.
- Tolosa, L. y Cañizares, E. (2002). Obtención, caracterización y evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de propóleos de Campeche. *Ars. Pharmaceutica*, 42 (1): 187-204
- Udagawa, S y Y Horie (1976). A new species of *Emericella*. *Mycotaxon* 4: 535-539.
- Vazquez, F. (2019). Cadena Apícola Informe de coyuntura mensual <http://www.alimentosargentinos.gob.ar/HomeAlimentos/Apicultura/documentos/SintesisApic184.pdf>
- Vasquez, F. y H. Castignani (2018). El Mercado Apícola. Informe de Coyuntura Mensual, Cadena Apícola. <http://www.alimentosargentinos.gob.ar/HomeAlimentos/Apicultura/documentos/SintesisApic185>.
- Zaghloul O.A; Mourad A.K; Kady M.B; Nemat F.M y M.E. Morsy (2016). Assessment of losses in honey yield due to the chalcid brood disease with reference to the determination of its economic injury levels in Egypt. *Commun Agricul Appl Biol.* 70(4):703-14.
- Soto-Vásquez MR, (2015). In Crescendo. Institucional. Metabolitos secundarios, cuantificación de fenoles y flavonoides totales de extractos etanólicos de propóleos de tres localidades del Perú, 6(2): 22-32.
- Warris, C.H; Klaassen, J.F; Meis, M.T; de Ruiter, H.A; de Valk y T.G. Abrahamsen (2003). Molecular epidemiology of *Aspergillus fumigatus* isolates recovered from water, air, and patients shows two clusters of genetically distinct strains. *J Clin Microbiol*, 41:4101-4106.
- Zaghloul, A. A. (2016). Physical Characteristics and Microbial Load of Chilled Holstein Bull Semen Diluted in Propolis Contained Extender. *Egyptian J. Anim. Prod*, 53(3), 153-158.

