

PROPIEDAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS DE PROPÓLEOS DE MELIPONAS FRENTE A HONGOS AISLADOS DE SUS COLMENAS

ANTIFUNGAL PROPERTY OF MELIPON PROPOLIS EXTRACTS AGAINST FUNGI ISOLATED FROM THEIR HIVES

Nancy Marina Cruz¹, Gisela Beatriz Ruiz¹, Rosa Milagro Retamoso¹, Mirta Susana Cruz¹, Marcelo Rafael Benítez Ahrendts¹

¹Laboratorio 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:
mar731@gmail.com

Licencia:

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

Período de Publicación:

Diciembre 2021

Historial:

Recibido: 16/08/2021

Aceptado: 04/11/2021

RESUMEN

Los meliponinos son abejas de pequeño tamaño, presentan alas con venación disminuida y reducción del aguijón en las hembras. Son especies productoras de miel y también de propóleo, que es una sustancia resinosa elaborada por las abejas a través de la mezcla de secreciones salivares y el exudado colectado de materiales vegetales, es considerado un subproducto de la colmena que siempre acompaña a las abejas. Posee propiedades como antiinflamatoria, antioxidante, antibacteriana, antifúngica, inmunoestimulante y hepatoprotectora. El objetivo del trabajo es evaluar *in vitro* la propiedad antifúngica de propóleos provenientes de *Tetragonisca angustula* y *Plebeia droryana* que inhiban el desarrollo de *Penicillium digitatum* y *Aspergillus* sección *nigri*. Para lo cual se trabajó con propóleos del meliponario de la F.C.A., mediante dos métodos, el de sembrado por extensión en placa o césped y el método de Kirby Bauer. Se determinó que a mayor concentración de los extractos mayor acción antifúngica sobre los hongos mencionados.

Palabras clave: propóleos, antifúngico, *Penicillium digitatum*, *Aspergillus* sección *nigri*.

SUMMARY

Meliponines are small bees, presenting wings with diminished venation, and sting reduction in females. They are honey and propolis producing species, which is a resinous substance made by bees through the mixture of salivary secretions and the exudate collected from plant materials, it is considered a by-product of the hive that always accompanies bees. It has anti-inflammatory, antioxidant, antibacterial, antifungal, immunostimulating and hepatoprotective properties. The objective of the work is to evaluate *in vitro* the antifungal property of propolis from *Tetragonisca angustula* and *Plebeia droryana* that inhibit the development of *Penicillium digitatum* and *Aspergillus* section *nigri*. Propolis from the F.C.A. meliponary was used, by

means of two methods, sowing by extension in plate or grass and the Kirby Bauer method. It was determined that the higher the concentration of the extracts, the greater the antifungal action on the aforementioned fungi.

Keywords: antifungal, *Aspergillus* section *nigri*, *Penicillium digitatum*, propolis

INTRODUCCIÓN

Las abejas nativas sin aguijón (ANSA) son un grupo de insectos sociales del continente americano (Baquero y Stamatti, 2007). Se distribuyen a lo largo de todas las regiones tropicales y subtropicales del mundo, principalmente entre los 30° de latitud norte a los 30° de latitud sur. En Sudamérica se conocen y estudian alrededor de 400 especies, mientras que en la Argentina habitan más de 35 especies nativas, pertenecientes a 18 géneros. *Tetragonisca angustula* y *Plebeia droryana* pertenecen a la Tribu Trigonini, donde se incluyen abejas pequeñas a medianas con escasa o moderada pilosidad (Gennari, 2019).

Las abejas “plebeias” se encuentran entre las más pequeñas en el grupo de abejas sin aguijón. *Plebeia droryana* es de color negro con el abdomen más claro y en general, posee líneas amarillas que flanquean la espalda, lo cual es una característica evidente de estas especies, además de que les gusta chupar el sudor. Por otra parte, *Tetragonisca angustula* es una abeja muy delgada de abdomen alargado, de cabeza y tórax negro brillante y abdomen amarillo. No realiza una defensa agresiva del nido y al volar deja colgando las patas traseras (Arnold *et al.*, 2018). Ambas hacen sus nidos en cavidades de árboles y la entrada a sus nidos está formada por tubos construidos con cera y resina (Zamudio & Álvarez, 2016).

Al igual que las abejas melíferas comunes, las abejas nativas son insectos productores de miel, cera y propóleo pero, por lo común, son mucho más pequeñas, dóciles y carecen de aguijón, por lo cual resultan aptas para ser criadas en ámbitos, como hogares y escuelas donde la abeja melífera sería riesgosa para personas sensibles (Vossler, 2019). Sus

productos son apreciados, pero el beneficio más importante que proporcionan es la polinización de la flora silvestre y de muchas especies vegetales cultivadas ya que pecorean flores pequeñas donde no pueden extraer néctar las abejas *Apis mellífera* y por lo cual son consideradas como los polinizadores de mayor importancia en los trópicos (Álvarez, 2018; Pimentel, 2017).

El propóleo es un término usado para denominar el material resinoso y balsámico colectado y procesado por las abejas. Para su elaboración, recolectan diferentes resinas de cortes y le añaden enzimas a través de su saliva, además de bálsamos vegetales, ceras, aceites esenciales y polen. Es usado para sellar, cubrir y proteger el interior de la colmena de la humedad, posibles depredadores y de agentes patógenos, a manera de una delgada capa de barniz (Ramírez, 2004). Es uno de los mejores antibióticos naturales hasta ahora conocidos debido a su actividad antimicrobiana y antioxidante, conteniendo numerosos principios activos con actividad biológica como flavonoides, ácidos fenólicos orgánicos, cumarinas, vitaminas y oligoelementos (Huang *et al.*, 2014; Perea & Mosquera, 2019). Entre las propiedades que presentan, se mencionan: antifúngica, antiviral, antiinflamatoria, antitumoral y antioxidante (Mohtar *et al.*, 2020).

Penicillium digitatum es un hongo necrótrofo causante de la podredumbre verde o enfermedad del moho verde y es el patógeno más importante en la postcosecha de cítricos en todas las zonas productoras siendo responsable de hasta el 90% de las pérdidas totales de cítricos (Costa *et al.*, 2021; Harries, 2013).

Aspergillus sección nigri es un importante productor de ocratoxina A, una de las micotoxinas más abundantes en el mundo (Castrillo et al., 2014; Juárez et al., 2019). Estos metabolitos secundarios son capaces de generar cuantiosas pérdidas económicas al contaminar una gran variedad de materias primas y alimentos destinados a consumo humano y animal, además desencadenar cuadros patológicos (Alvarenga et al., 2013).

Por otra parte, es importante destacar los riesgos que generan estos hongos en los productos de las colmenas. La calidad de la miel de las Meliponas está relacionada con las condiciones sanitarias del entorno donde estas desarrollan su vuelo. Una primera forma de contaminación puede ser con microorganismos provenientes del polen, del tracto digestivo de las abejas, del néctar o del medio ambiente (Coll, et al., 2008).

El objetivo de este trabajo fue evaluar *in vitro* la propiedad antifúngica de extractos de propóleos de *Tetragonisca angustula* y *Plebeia droryana*, sobre hongos aislados de sus colmenas que puedan llegar a ser perjudiciales para estas abejas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Hongos

Las cepas de *Penicillium digitatum* y *Aspergillus sección nigri* empleadas en este estudio fueron aisladas de las colmenas de las especies *Tetragonisca angustula* y *Plebeia droryana* pertenecientes al Meliponario del Laboratorio de Sanidad Apícola y Meliponícola de la Facultad de Ciencias Agrarias, Univ. Nac. de Jujuy.

Propóleos

Las muestras de propóleos se obtuvieron de dos colmenas del meliponario, una correspondiente a *Tetragonisca angustula* y otra a *Plebeia droryana*. Se extrajo propóleos mediante espátulas y pinzas de las tapas e interior de las colmenas y las muestras se guardaron en frascos de vidrio al abrigo de la luz. Para la obtención del extracto las muestras de propóleos en bruto fueron colocadas en refrigeración a 0 °C, luego trituradas, hasta reducir su granulometría y se pesaron 30.0 g del propóleos, los cuales fueron sometidos a un proceso de extracción con 100 mL de etanol al 70%. Posteriormente se filtró con papel filtro y a partir de los extractos etanólicos (C: concentrado) se realizaron las diluciones 1/10 y 1/20 denominadas -1, -2 respectivamente.

Actividad antifúngica

El efecto antimicrobiano del propóleo de las ANSA fue evaluado mediante la ejecución de dos técnicas durante el periodo Julio-octubre de 2021 en el Laboratorio de Microbiología Agrícola y Sanidad Apícola y Meliponícola (FCA, UNJu).

La primera técnica empleada fue la de sembrado por extensión en placa que consistió en depositar 20 µL de la solución madre y de cada dilución de extracto de propóleo, en el centro de placas de Petri. Luego se las distribuyó de manera uniforme sobre la superficie del medio de cultivo empleando la espátula de Drigalsky hasta su absorción total por el medio de cultivo.

La segunda técnica realizada corresponde al método de Kirby Bauer, para lo cual se impregnaron discos de papel secante esterilizados en cada una de las soluciones de propóleo y se depositaron 4 de los mismos en la superficie del agar de cada placa: 1 por cada dilución. Durante la incubación, el propóleo difunde radialmente desde el disco a través del agar, por lo que su concentración va disminuyendo a medida que se aleja del mismo, dando origen al halo de inhibición que se pretende medir.

En ambas técnicas, los hongos *Penicillium digitatum* y *Aspergillus sección nigri* fueron sembrados efectuando una punción central en cada placa. Se incubó en estufa a 25°C durante 7 días y se midió el diámetro de micelio y del área de inhibición alrededor del disco de forma diaria.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados a partir de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos a partir del programa Infostat versión 2015 (Di Rienzo et al., 2015).

RESULTADOS

Las pruebas realizadas con micelio de *Aspergillus sección nigri* y *Penicillium digitatum* mostraron un mayor efecto antifúngico frente a las soluciones de propóleos de las dos especies de meliponas, de mayor concentración (C, -1). Los halos de inhibición presentaron valores de hasta 8 mm a los 5 días de incubación (Tabla 1, Figura 1). El análisis estadístico arrojó diferencias significativas entre los discos testigos y los discos embebidos con las diferentes concentraciones de las soluciones de propóleos ($p < 0.05$, $p < 0.0113$, g.l. 15).

Las pruebas realizadas por la técnica de Drigalski mostraron que las diferentes concentraciones de las soluciones de propóleos inhibieron el crecimiento de los hongos en estudio en similar medida (Tabla 2, Figura 2). El análisis estadístico no demostró diferencias significativas de la actividad inhibitoria de los propóleos de ambas especies de meliponas ($p>0.05$, $p=0.4514$, g.l.15).

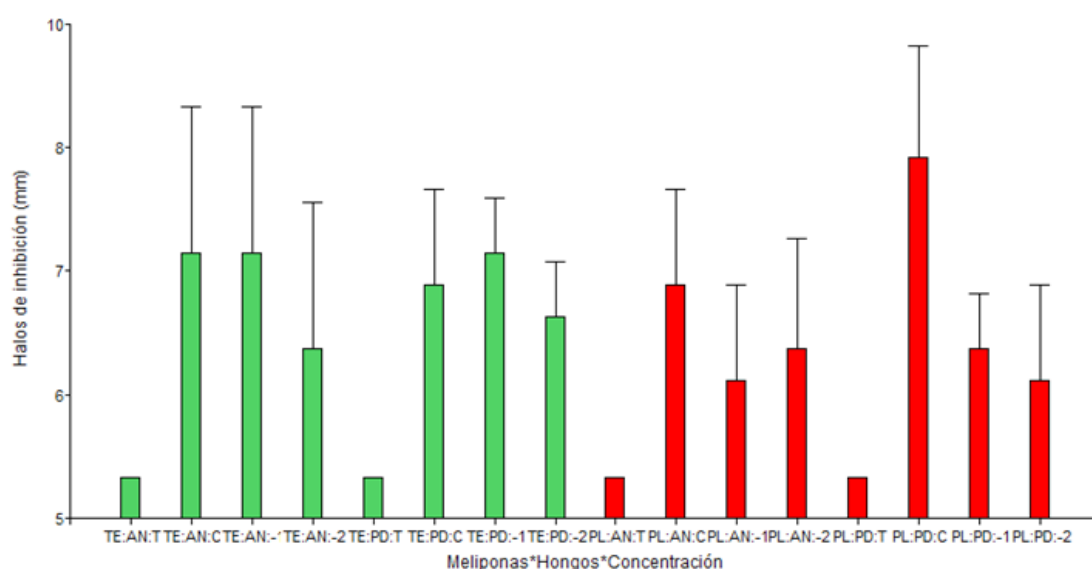


Figura 1. Diámetros promedios de halos de inhibición en milímetros (mm) de los propóleos de dos especies de meliponas frente a los hongos en estudio. [TE: *Tetragonisca angustula*, PL: *Plebeia Droryana*, AN: *Aspergillus* sección *nigri*, PD: *Penicillium digitatum*, T: Testigo, C: Concentrado, -1: dilución 1/10 y -2: dilución 1/20]

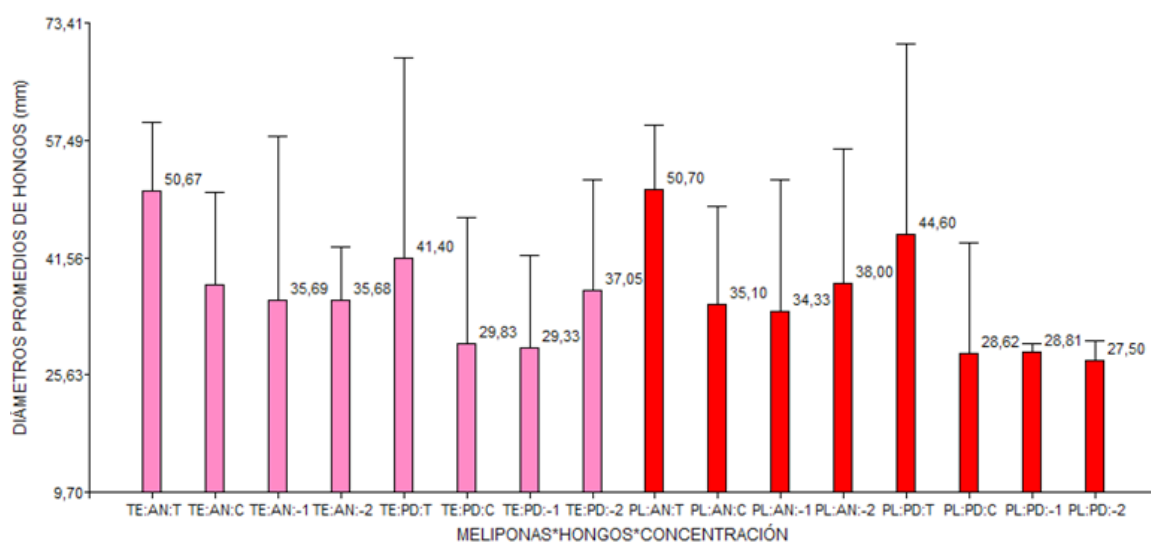


Figura 2. Diámetros promedios de las colonias de hongos en estudio en milímetros (mm) frente a las soluciones de propóleos de dos especies de meliponas. [TE: *Tetragonisca angustula*, PL: *Plebeia Droryana*, AN: *Aspergillus* sección *nigri*, PD: *Penicillium digitatum*, T: Testigo, C: Concentrado, -1: dilución 1/10 y -2: dilución 1/20]

Tabla 1. Halos de inhibición promedio de las tres diluciones de propóleos de *Tetragonisca angustula* y *Plebeia droryana* procedentes del meliponario de la Facultad de Ciencias Agrarias (UNJu). [T: testigo, C: concentrado, -1: dilución 1/10 y -2: dilución 1/20]

MELIPONAS	HONGOS	CONCENTRACIÓN	24hs	48hs	72 hs	96 hs	120 hs
<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>Aspergillus</i> sección <i>nigri</i>	T	5,0	5	5	5	5
<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>Aspergillus</i> sección <i>nigri</i>	C	6,7	6,7	7,3	7,3	7,3
<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>Aspergillus</i> sección <i>nigri</i>	-1	7,7	7,3	7,3	7,3	7,3
<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>Aspergillus</i> sección <i>nigri</i>	-2	5,4	5,4	6,6	6,6	6,6
<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	T	5,0	5	5	5	5
<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	C	6,7	6,7	7,3	7,3	7,3
<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	-1	7,2	7,4	7,4	7,4	7,4
<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	-2	5,9	5,9	5,9	5,9	5,9
<i>Plebeia droryana</i>	<i>Aspergillus</i> sección <i>nigri</i>	T	5,0	5	5	5	5
<i>Plebeia droryana</i>	<i>Aspergillus</i> sección <i>nigri</i>	C	7,1	7,4	7,4	7,4	7,4
<i>Plebeia droryana</i>	<i>Aspergillus</i> sección <i>nigri</i>	-1	6,2	6,2	6,2	6,2	6,2
<i>Plebeia droryana</i>	<i>Aspergillus</i> sección <i>nigri</i>	-2	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
<i>Plebeia droryana</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	T	5,0	5	5	5	5
<i>Plebeia droryana</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	C	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7
<i>Plebeia droryana</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	-1	6,1	6,1	6	6,1	6,2
<i>Plebeia droryana</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	-2	5,8	5,8	5,8	5,8	5,8

Tabla 2. Diámetro promedio de las colonias de *Aspergillus* sección *nigri* y *Penicillium digitatum* de las diluciones de propóleos de meliponas procedentes del meliponario de la Facultad de Ciencias Agrarias (UNJu). [T: testigo, C: concentrado, -1: dilución 1/10 y -2: dilución 1/20]

MELIPONAS	HONGOS	CONCENTRACIÓN	DIÁMETROS DE COLONIAS DE HONGOS (mm)
<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>Aspergillus</i> sección <i>nigri</i>	T	50,7
<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>Aspergillus</i> sección <i>nigri</i>	C	37,8
<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>Aspergillus</i> sección <i>nigri</i>	-1	35,7
<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>Aspergillus</i> sección <i>nigri</i>	-2	35,7
<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	T	41,4
<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	C	29,8
<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	-1	29,3
<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	-2	37,0
<i>Plebeia droryana</i>	<i>Aspergillus</i> sección <i>nigri</i>	T	50,7
<i>Plebeia droryana</i>	<i>Aspergillus</i> sección <i>nigri</i>	C	35,1
<i>Plebeia droryana</i>	<i>Aspergillus</i> sección <i>nigri</i>	-1	34,3
<i>Plebeia droryana</i>	<i>Aspergillus</i> sección <i>nigri</i>	-2	38,0
<i>Plebeia droryana</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	T	44,6
<i>Plebeia droryana</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	C	28,6
<i>Plebeia droryana</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	-1	28,8
<i>Plebeia droryana</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	-2	27,5

DISCUSIÓN

En los últimos años se ha prestado bastante interés a la exploración del propóleo como antibacteriano y fungicida (Hashemi, 2016). La actividad del propóleo en el control de hongos fitopatógenos ha sido poco explorada (Cupull Santana, 2013). A. sección *nigri* y *P. digitatum* aislados del interior de colmenas de meliponas pertenecen al grupo de hongos patógenos de importancia agrícola.

De acuerdo a los resultados obtenidos de las pruebas para determinar la propiedad antifúngica de los propóleos de *T. angustula* y *P. droryana* frente a estos hongos, se pudo determinar la inhibición de los mismos (Figuras 1 y 2); lo que coincide con estudios realizados in vitro e in vivo con algunos micopatógenos agrícolas, en que los extractos etanólicos de propóleos han sido efectivos para reducir el crecimiento de *Aspergillus niger*, *Fusarium* sp., *Macrophomina* sp., *Penicillium notatum*, *Phomitopsis* sp. (Quiroga et al., 2016), *Penicillium digitatum* (Matny, 2015), entre otros.

De acuerdo a Coll et al. (2008) la contaminación de la miel puede deberse a microorganismos provenientes del polen, del tracto digestivo de las abejas, del néctar o bien del medio ambiente. Por ello se resalta la importancia del poder antifúngico de los propóleos frente a estos hongos presentes en las colmenas, los cuales resultan agentes contaminantes para la miel y otros productos obtenidos de las meliponas.

Los resultados de inhibición mediante las dos técnicas (Drigalski & Kirby Bauer) evidenciaron la propiedad antifúngica de los propóleos. Por una parte, mediante la disminución del crecimiento de las colonias de hongos en comparación con la colonia testigo y, por la otra mediante los halos de inhibición causados por las soluciones de los diferentes propóleos. Para ambos microorganismos se determinó que el menor crecimiento fúngico corresponde a la concentración de propóleo mayor, o sea un aumento en la concentración incrementa la inhibición del crecimiento micelial (Cupull Santana, 2013).

CONCLUSIÓN

Los extractos de propóleo de *Tetragonisca angustula* y *Plebeia droryana* provenientes del meliponario de la Facultad de Ciencias Agrarias de

la UNJu manifiestan un efecto antifúngico frente a hongos patógenos de importancia agrícola y que resultan perjudiciales en los productos obtenidos de sus colmenas por la diseminación de las esporas. Los propóleos en estudio pueden ser utilizados como una alternativa amigable de control de estos hongos patógenos en la agricultura y perjudiciales en los productos obtenidos en la actividad apícola.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración de la productora y apicultora Cruz Mirta.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarenga, A. A., Moura Méndez, J., Fernández, D. & Casal, C. (2013). *Aspergillus* y micotoxinas. *Revista UN Med*, 2(1), 141-169. Recuperado de: <http://investigacion.uninorte.edu.py/wp-content/uploads/2018/07/v02-a09.pdf>
- Alvarez, L., Reynaldi, F., Ramello, P., Garcia, M., Sguazza, G., Abrahamovich, A., & Lucia, M. (2018). Detection of honey bee viruses in Argentinian stingless bees (Hymenoptera: Apidae). *Insectes sociaux*, 65(1), 191-197. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00040-017-0587-2>
- Arnold, N., Zepeda, R., Vásquez, M. & Aldasoro, M. (2018). Las abejas sin aguijón y su cultivo en Oaxaca, México: con catálogo de especies. El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR). 1^{ra}. (Ed). Chiapas, México. 147 p. Recuperado de: <https://www.ecosur.mx/abejas/wp-content/uploads/sites/4/2018/06/Abejas-sin-aguijo%CC%81n-de-Oaxaca.pdf>
- Baquero, L. & Stamatti, G. (2007). Cría y manejo de abejas sin aguijón. Ediciones del Subtrópico. Tucumán, Argentina. Recuperado de: <http://proyungas.org.ar/wp-content/uploads/2014/12/criaymanejodeabejassinaguijon.pdf>
- Castrillo, M. L., Jerke, G. & Horianski, M. A. (2014). Detección de la producción de ocratoxina A por cepas de *Aspergillus* sección *Nigri* aisladas de yerba mate compuesta. *Revista Mexicana de Micología*, 40. Recuperado de: <http://>

www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802014000200002

19610-19632. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules191219610>

- Coll, F., Villat, C., Laporte, G., Noia, M., & Mestorino, M. (2008). Características microbiológicas de la miel. *Veterinaria Cuyana* (1 -2), 29-34.
- Costa, J. H., Bazioli, J. M., Barbosa, L.D., Dos Santos Júnior, P. L., Reis, F. C., Klimeck, T., Crnkovic, C. M., Berlinck, R. G., Sussulini, A., Rodrigues, M. L. & Fill, T.P. (2021). Phytotoxic tryptoqualanines produced in vivo by *Penicillium digitatum* are exported in extracellular vesicles. *mBio* 12: e03393-20. DOI: <https://doi.org/10.1128/mBio.03393-20>
- Cupull Santana, R. D., Cortés Rodríguez, R., Olazábal Manso, E. E. & Hernández-Medina, C. A. (2013). Actividad antifúngica de propóleos obtenidos en tres provincias de Cuba sobre hongos contaminantes en cultivo de tejidos vegetales. *Acta Universitaria*, 23(6), 3-9. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=41629561001>
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., González, L., Tablada, M. & Robledo C. W. (2015). InfoStat versión 2015. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Gennari, G. P. (2019). Manejo racional de las abejas nativas sin aguijón - ANSA. Ediciones INTA. Tucumán, Argentina. Recuperado de: https://inta.gob.ar/sites/default/files/libro-manejo_racional_de_las_abejas_nativas_sin_aguijon_ansa.pdf
- Harries, E. M. (2013). Identificación y caracterización funcional de genes PMT relacionados con la glicosilación de proteínas en el hongo patógeno de frutos cítricos *Penicillium digitatum*. Tesis de doctorado, Universidad de Valencia. Recuperado de: <https://core.ac.uk/download/pdf/71009023.pdf>
- Hashemi, J. H., (2016). Biological effect of bee propolis: a review. *European Journal of Applied Sciences*, 8 (5), 311-318. DOI: 10.5829/idosi.ejas.2016.311.318
- Huang, S., Zhang, C., Wang, K., Li, G. & Hu, F. (2014). Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules*, 19(12), 19610-19632. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules191219610>
- Matny, O. N., 2015. Efficacy evaluation of Iraqui propolis against gray mold of storages orange caused by *Penicillium digitatum*. *Plant Pathology Journal*, 14 (3): 153-157. DOI: <https://dx.doi.org/10.3923/ppj.2015.153.157>
- Mohtar, L. G., Messina, G. A., Bertolino, F. A., Pereira, S. V., Raba, J. & Nazareno, M. A. (2020). Comparative study of different methodologies for the determination the antioxidant activity of venezuelan propolis. *Microchemical Journal*. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105244>
- Perea, M. & Mosquera, J. (2019). Técnicas de manejo y adaptación de abejas nativas sin aguijón en cajas racionales. Quibdó, Colombia. 40 pag. Recuperado de: <https://iiap.org.co/files/8ef3c917476696a20e678bf3835b8847>
- Pimentel, E. G. (2017). Importancia de las abejas sin aguijón, en las familias del área rural de Guatemala. *Revista Ciencia Multidisciplinaria CUNORI* ,1 (1), 119-120. DOI: <https://doi.org/10.36314/cunori.v1i1.37>
- Quiroga, E. N., Sampeiro, D. A., Soberón, J. R., Sgariglia, M. A. & Vattuone, M. A. (2006). Propolis from the northwest of Argentina as a source of antifungal principles. *Journal of Applied Microbiology*, 101 (1), 103-110. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.02904.x>
- Ramírez, A. L. (2004). Propóleo, composición y beneficios. *Revista Imagen veterinaria*, 4(1), 41-44. Recuperado de: <https://fmvz.unam.mx/fmvz/imavet/v4n1a04/v4n1a04.pdf>
- Segovia, K. G., García, E., Canseco, M. d. S., López, M., Santiago, A. & Medina, M. (2019). Efecto de extractos crudos de ajo (*Allium sativum*) sobre el desarrollo *in vitro* de *Aspergillus parasiticus* y *Aspergillus niger*. *Revista Polibotánica*, 47, 99-111. DOI: <http://dx.doi.org/10.18387/polibotanica.47.8>
- Vossler, F. G. (2019). Meliponas, abejas melíferas sin aguijón. *Revista Ciencia hoy*, 28 (166), 44-48. Recuperado de: <https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/>

[handle/11336/100454/CONICET_Digital_Nro.821c76ff-4fd1-41f5-8cbc-8674e7f5c321_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/100454/CONICET_Digital_Nro.821c76ff-4fd1-41f5-8cbc-8674e7f5c321_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y)

Zamudio, F. & Álvarez, L. J. (2016). Abejas sin aguijón de Misiones. Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina. Recuperado de: https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/103560/CONICET_Digital_Nro.2f33fc9f-37ab-487b-9e8e-146f995d6190_A.pdf?sequence=2

