

**Potencialidades de la utilización de aditivos zootécnicos en la apicultura cubana****Potentialities of the utilization of zootechnical additives in Cuban apiculture**

Juan Emilio Hernández-García<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-7471-0561>, José Antonio Rodríguez Díaz<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-7451-5627>, Osmaida Estrada-Cutiño<sup>3</sup> <https://orcid.org/0000-0003-4578-6185>, Yovanni Solenzal-Valdivia<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-6188-7237>, Ken Jact Fernández-León<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0001-7475-0638> y Ana Julia Rondón-Castillo<sup>4</sup> <https://orcid.org/0000-0003-3019-1971>

<sup>1</sup>Departamento de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Sancti Spiritus José Martí Pérez, Sancti Spiritus, Cuba. <sup>2</sup>Laboratorio de Referencia para Investigaciones y Salud Apícola (LARISA), Sancti Spiritus, Cuba. <sup>3</sup>Departamento de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Granma, Cuba. <sup>4</sup>Centro de Estudios Biotecnológicos, Universidad de Matanzas, Autopista a Varadero, km 3 1/2. Matanzas, Cuba. Correo electrónico: [juanemilio@uniss.edu.cu](mailto:juanemilio@uniss.edu.cu), [larisa@ras.ssp.minag.cu](mailto:larisa@ras.ssp.minag.cu), [oestradac@udg.co.cu](mailto:oestradac@udg.co.cu), [ana.rondon@umcc.cu](mailto:ana.rondon@umcc.cu)

**Resumen**

**Objetivo:** Valorar las potencialidades de la utilización de aditivos zootécnicos en la apicultura en Cuba.

**Materiales y Métodos:** Se revisaron artículos disponibles en bases de datos en línea (PubMed, Scopus, Web of Science y Google académico), relacionados con el uso de aditivos zootécnicos en abejas melíferas (*Apis mellifera*). Se hizo una búsqueda por las palabras clave *aditivos zootécnicos*, *probióticos*, *prebióticos* y *fitobióticos*, *extracto de plantas*, y luego se adicionó *abejas*. Todas las búsquedas se realizaron entre 2019 y 2020. No hubo exclusión de ningún período y no se aplicaron restricciones de idioma.

**Resultados:** La utilización de antibióticos en el control y la prevención de infecciones bacterianas en la apicultura producen cambios en la cría de esta especie, y por ello su uso se limita en muchos países. Ante esta realidad, el uso de aditivos zootécnicos constituye una alternativa, debido a su capacidad de modular el sistema inmunológico y la microflora intestinal en las abejas; además de tener una función antagonista contra patógenos. En las últimas décadas se constata que los probióticos y los extractos de plantas son los más utilizados para mejorar los indicadores de salud y productivos, por lo que se trabaja para lograr su estandarización en Cuba.

**Conclusiones:** La obtención y evaluación de aditivos zootécnicos en abejas es una estrategia creciente a nivel mundial, que se enfoca en minimizar o eliminar el empleo de químicos. En Cuba, el uso de estos aditivos constituye una propuesta sostenible para mejorar indicadores de salud, y mantener así la calidad de las mieles.

**Palabras clave:** abejas, extractos de plantas, prebióticos, probióticos

**Abstract**

**Objective:** To evaluate the potentialities of the utilization of zootechnical additives in apiculture in Cuba.

**Materials and Methods:** Papers available in online data bases (PubMed, Scopus, Web of Science and Google Scholar), related to the use of zootechnical additives in honey bees (*Apis mellifera*), were reviewed. A search was made for the keywords *zootechnical additives*, *probiotics*, *prebiotics* and *phytobiotics*, *plant extract*, and then the word *bees* was added. All the searches were carried out between 2019 and 2020. There was no exclusion of any period and no language restrictions were applied.

**Results:** The utilization of antibiotics in the control and prevention of bacterial infections in apiculture has caused changes in the rearing of this species, and since then their use is limited in many countries. In the face of this reality, the use of zootechnical additives constitutes an alternative, due to their capacity to modulate the immunological system and the intestinal microflora in bees; besides having an antagonist function against pathogens. In the last decades it has been noted that probiotics and plant extracts are the most widely used to improve health and productive indicators, for which work is done to achieve their standardization in Cuba.

**Conclusions:** Obtaining and evaluating zootechnical additives in bees is a growing strategy worldwide, which is focused on minimizing or eliminating the use of chemicals. In Cuba, the use of these additives constitutes a sustainable proposal to improve health indicators, and thus maintain the quality of honeys.

**Keywords:** bees, plant extracts, prebiotics, probiotics

**Introducción**

Las abejas de la especie *Apis mellifera* se hallan entre los insectos más importantes del ecosistema terrestre, debido a que se desempeñan como polinizadores de

diferentes especies de plantas, lo que permite sostener infinidad de cultivos que forman parte de la cadena trófica del hombre (Pufal *et al.*, 2017; Hung *et al.*, 2018).

Recibido: 18 de enero de 2021

Aceptado: 22 de abril de 2021

Como citar este artículo: Hernández-García, Juan Emilio; Rodríguez Díaz, José Antonio; Estrada-Cutiño, Osmaida; Solenzal-Valdivia, Yovanni; Fernández-León, Ken Jact & Rondón-Castillo, Ana Julia. Potencialidades del empleo de aditivos zootécnicos en la apicultura cubana. *Pastos y Forrajes*. 44:eE14, 2021.

Este es un artículo de acceso abierto distribuido en Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC4.0) <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/> El uso, distribución o reproducción está permitido citando la fuente original y autores.

La demanda creciente de miel y el desarrollo de tecnologías para su explotación favorecen el crecimiento de la producción apícola en los últimos años (Magaña *et al.*, 2016), que en Cuba representa uno de los rubros exportables del Grupo Empresarial Agroforestal del Ministerio de la Agricultura (ProCuba, 2019).

La producción apícola promedio de los últimos diez años oscila entre las 8 000 t de miel. En 2019 se llegaron a exportar seis mil 900 t, a partir de la actividad de 204 000 colmenas, con rendimiento promedio de 49 kg por colmena. No obstante, el potencial existente es mucho mayor, por lo que se trabaja en un programa de desarrollo que incluye importantes inversiones, entre las que se encuentran el mejoramiento genético de las abejas, la salud, el fomento de la flora melífera y la diversificación de los productos en busca de mayor valor agregado (Pérez-Piñero, 2017).

Aproximadamente, 70 700 apicultores, asociados a las diversas formas productivas estatal y no estatal, se exponen a los efectos del cambio climático, a la agricultura intensiva, las plagas y los agroquímicos. En Cuba la situación es diferente a otros países, no obstante hay que mantener los recursos ecosistémicos y preparar la cadena para actuar ante la influencia de estos factores y no perder la calidad e inocuidad de los productos, ya que no se excluye la posibilidad de que se produzcan en algunas de las zonas de mayor exposición (Larson *et al.*, 2020).

Actualmente, numerosos agentes patógenos, como virus, hongos, bacterias y protozoos, amenazan las colonias de las abejas. En el mundo se emplean estrategias que incluyen el uso de antibióticos y pesticidas para controlar o minimizar el efecto de dichos patógenos. No obstante, se conocen las consecuencias negativas de los residuos de estas sustancias en los alimentos, por lo que constituyen una gran preocupación y amenaza para la salud humana en el planeta (Aidara-Kane *et al.*, 2018) y, a su vez, para los agricultores representan el desafío de sobrevivir en el mercado de alimentos.

Ante estas condicionantes, una alternativa sería evitar el uso de antimicrobianos como promotores del crecimiento o profilácticos de rutina (Aidara-Kane *et al.*, 2018). Entre las estrategias para reducir su utilización se proponen prácticas mejoradas de manejo y el uso de probióticos y medicamentos que aumenten la capacidad del sistema inmune para enfrentar agentes patógenos. Las variantes naturales y orgánicas constituyen las opciones más interesantes, así como las especies

de microorganismos y los productos derivados de plantas, capaces de promover el crecimiento, mejorar la salud de los animales de granja y controlar las enfermedades, entre los que se incluyen las abejas (Tonello, 2019). De ahí que el objetivo de este estudio sea valorar las potencialidades del empleo de los aditivos zootécnicos en la apicultura en Cuba.

## Materiales y Métodos

Se revisaron artículos disponibles en bases de datos en línea (PubMed, *Scopus*, *Web of Science* y Google Académico), vinculados con el uso de aditivos zootécnicos en abejas melíferas (*Apis mellifera*). La búsqueda se realizó a partir de las palabras clave *aditivos zootécnicos*, *probióticos*, *prebióticos*, *fitobióticos*, *extracto de plantas*, las que se combinaron con *abeja*. Todas las búsquedas se realizaron entre 2019 y 2020. No hubo exclusión de períodos durante la interrogación, y no se aplicaron restricciones de idioma. Los resúmenes de todos los artículos recuperados se leyeron cuidadosamente y se incluyeron estudios que evaluaron la acción de los aditivos zootécnicos en la salud apícola y los protocolos de seguridad para un candidato a aditivo zootécnico.

### Generalidades de los aditivos

Los aditivos son sustancias que, incorporadas intencionalmente a los alimentos para los animales, pueden influir positivamente en sus características o en la producción animal. Se pueden dividir en cinco categorías (Rodríguez, 2019):

- i. *Aditivos tecnológicos*. Son productos adicionados a las dietas con fines tecnológicos, entre los que se incluyen conservantes, antioxidantes, antiaglomerantes, estabilizantes, espesantes, gelificantes, ligantes, sustancias para el control de la contaminación por radionucleidos, reguladores de la acidez, aditivos para ensilaje y desnaturalizantes.
- ii. *Aditivos sensoriales u organolépticos*. Son sustancias adicionadas a los alimentos con la intención de mejorar o modificar sus propiedades organolépticas o características visuales, por ejemplo: colorantes (añaden o devuelven color a los alimentos) y aromatizantes (aumentan el aroma o la palatabilidad de los alimentos).
- iii. *Aditivos zootécnicos*. Son capaces de influir positivamente en la mejora del desempeño de los animales. Entre los aditivos existen diferentes grupos funcionales: los digestivos, que facilitan la digestión de los alimentos al actuar sobre determinadas materias primas, como por ejemplo las enzimas;

los estabilizadores de la flora intestinal, que son aquellos microorganismos o sustancias que tienen un efecto positivo en la flora intestinal, como los probióticos, prebióticos, simbióticos y ácidos orgánicos, entre otros.

- iv. *Aditivos nutraceuticos o alimentos funcionales.* Son alimentos y componentes que proporcionan beneficios a la salud e intervienen en la prevención y control de las enfermedades; además de cumplir con los requisitos nutricionales tradicionales. Se incluyen entre los grupos funcionales las vitaminas, minerales, aminoácidos y oligoelementos.
- v. *Aditivos coccidiostáticos e histomonóstatos.* Constituyen sustancias medicamentosas que se utilizan para la prevención de la coccidiosis, empleadas ampliamente en dietas destinadas a animales monogástricos jóvenes.

#### *Principales aditivos zootécnicos y su utilización en abejas*

Son variadas las estrategias que se pueden implementar para reducir el uso de antibióticos en la apicultura. Es conocido el efecto de los aditivos zootécnicos en el rendimiento y la salud de los animales, entre los que se incluyen las abejas, ya que tienen cada vez más atención por su papel benéfico. Entre los aditivos que se priorizan en abejas se encuentran los probióticos, prebióticos y fitobióticos (Maruščáková *et al.*, 2020), que ayudan a estimular el sistema inmune y a regular la microbiota intestinal, reduciendo así los impactos negativos de las primeras fases larvares, y otros desafíos ambientales que enfrenta el insecto.

#### *Uso de probióticos en la apicultura*

La Organización Mundial de la Salud definió los probióticos como microorganismos que, administrados vivos y en cantidades adecuadas, confieren beneficios a la salud del huésped. No obstante, en el campo de la nutrición animal, especialmente para los animales de granja, los probióticos se utilizan para proteger al animal contra bacterias patógenas específicas; además de que tienen efectos beneficiosos en el rendimiento de la especie (Markowiak y Ślizewska, 2018).

Por lo general, se utilizan como probióticos las bacterias ácido lácticas, entre las que se encuentran lactobacilos, estreptococos, bifidobacterias, enterococos y especies de hongos, como *Saccharomyces* y *Aspergillus*. Normalmente, los mecanismos de acción de los probióticos son la modulación del equilibrio de la microbiota en el tracto gastrointestinal, el mejoramiento de la digestión, la absorción de nutrientes y la estimulación de la inmunidad para mantener la salud de los animales. Mediante la

exclusión competitiva estos microorganismos secretan sustancias que inhiben el crecimiento o matan y alteran la expresión génica de los agentes patógenos.

Los probióticos utilizados en la producción y salud apícola se incluyen, fundamentalmente, como suplemento en el sirope y el polen, y es el género *Lactobacillus* el más empleado (Mudroňová *et al.*, 2011). En pruebas *in vitro* se informa el efecto inhibidor de cepas de *Bacillus* spp., aisladas de muestras de miel e intestino de abeja contra larvas de *Paenibacillus larvae* y *Ascosphaera apis* (Audisio, 2017).

En ensayo con *Lactobacillus johnsonii* CRL1647, aislado del tracto intestinal de abejas y seleccionado por su alta producción de ácido láctico, como monocultivo para comprobar el comportamiento de las colonias del insecto. La cepa se administró durante tres meses en el sirope y se hallaron diferencias significativas en las áreas de crías abiertas y operculadas en el grupo tratado con respecto al control. Además, con relación al número inicial, se encontró mayor porcentaje de abejas en el grupo tratado (54 %) que en el control (18 %). Asimismo, la cosecha de miel fue mayor (40 y 19 %) para los grupos tratados con respecto al control, respectivamente (Audisio y Benítez-Ahrendts, 2011).

Con un esquema parecido, mediante la cepa *B. subtilis* subsp. *Subtilis*, Audisio (2017) encontró resultados benéficos similares. Los recuentos de esporas de *Nosema* spp. y *Varroa* spp. en las colmenas tratadas fueron más bajas que en las del grupo control. Estos resultados en los apiarios experimentales indican que *B. subtilis* subsp. *subtilis* Mori2 favoreció el desempeño de las abejas. En primer lugar, porque el microorganismo estimuló la puesta de huevos de la reina, lo que se tradujo en un mayor número de abejas y, en consecuencia, más miel. En segundo lugar, porque redujo la prevalencia de dos enfermedades importantes de las abejas en todo el mundo: la nosemiasis y la varroosis.

Cepas de bifidobacterias (AcjBF), aisladas del tracto intestinal de la abeja japonesa *Apis cerana japonica*, se investigaron para su posible aplicación como agente probiótico contra *Melissococcus plutonius*, el agente causal de la loque europea (EFB). Los resultados de los ensayos de inhibición *in vitro* revelaron que los sobrenadantes libres de células de todos los aislados de AcjBF, exhibieron efectos antagonistas en el crecimiento de *M. plutonius*, por lo que podrían ser potencialmente utilizadas como un nuevo agente biológico

natural para controlar el EFB (Wu *et al.*, 2014). Sin embargo, no se encontró efecto beneficioso en ensayo de campo con bacterias ácido lácticas (hbs-LAB) específicas de abejas para controlar *P. larvae*, a pesar de tener efecto en insectos individuales (Stephan *et al.*, 2019).

En suplementación de colonias con bacterias beneficiosas como *Lactobacillus plantarum* Lp39 se obtuvieron mejoras en la respuesta inmune innata y la resistencia a infecciones oportunistas, lo que sugiere que estas bacterias pueden ser útiles para abordar directamente algunos de los agentes patógenos implicados en la disminución de las poblaciones de abejas melíferas (Berríos *et al.*, 2018).

En ensayos de campo y en experimentos controlados en laboratorio, Daisley *et al.* (2020) refirieron que un consorcio de cepas de lactobacilos, aislado del tracto intestinal, puede mejorar la supervivencia de las abejas melíferas hacia la infección por *P. larvae*, inhibir directamente las células de *P. larvae in vitro*, y modular beneficiosamente la inmunidad innata y otros genes de respuesta del huésped durante la infección experimental. Aunque se observó que los lactobacilos evaluados en este estudio son beneficiosos en condiciones infecciosas, se necesitarán más ensayos para determinar su impacto a largo plazo en las colmenas de abejas sanas.

Daisley *et al.* (2020) evaluaron el efecto de un aditivo probiótico de lactobacilos (BioPatty) en colmenas infectadas con Loque americana (LA). Estos autores demostraron con sus resultados que en las colmenas tratadas hubo una carga patógena significativamente menor al compararlas con el control. Los autores citados en experimentos a nivel de laboratorio utilizaron larvas de abejas y comprobaron que el mismo consorcio bacteriano, integrado por *Lactobacillus plantarum* Lp39, *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 y *Lactobacillus kunkeei* BR-1 (contenido en BioPatty), reducía la población de patógenos, aumentaba la expresión de genes clave de inmunidad, y mejoraba la supervivencia de las larvas durante la infección por *P. larvae*.

En experimento de campo, la aplicación de una mezcla de microorganismos con potencial probiótico, aislada de intestino de abejas sanas, disminuyó el nivel de infestación de los patógenos *N. ceranae* y *V. destructor*, aunque no modificó la fortaleza de la colmena ni la infección por el virus de la parálisis aguda o el virus de las alas deformes (Añón, 2018).

En un ensayo a nivel de laboratorio se utilizaron especies de *Bacillus* ssp. y *Brevibacillus* ssp., asociadas con abejas melíferas, como alternativa natural para el control de LA y cría yesificada. En dicho experimento se reportan resultados favorables, al observarse inhibición ante los patógenos. Este constituye el primer estudio de asociaciones entre la presencia de genes relacionados con la síntesis de péptidos antimicrobianos y su antagonismo ante *P. larvae* y *A. Apis*.

Arredondo *et al.* (2018) evaluaron en larvas y abejas adultas la acción benéfica de una mezcla de cuatro cepas de *Lactobacillus kunkeei*, aisladas de la comunidad microbiana intestinal del insecto. Su administración en modelos controlados de laboratorio disminuyó la mortalidad asociada a la infección por *P. larvae* en las larvas y los recuentos de esporas de *N. ceranae* de abejas melíferas adultas. Estos resultados sugieren que la mezcla de este microorganismo beneficioso puede ser una estrategia atractiva para mejorar la salud de las abejas. No obstante, los autores referidos sugieren realizar estudios de campo para evaluar su efecto en colonias infectadas naturalmente. Contra este mismo agente etiológico se reportan efectos benéficos de otras cepas probióticas (Ptaszyńska *et al.*, 2016).

En la actualidad se continúa el estudio de la función de la microbiota de las abejas, por su contribución a la salud y productividad de esta especie, y por la influencia que pueden tener los probióticos en su estabilización y en la estimulación del sistema inmune de las abejas (Al-Ghamdi *et al.*, 2020).

#### *Uso de prebióticos en la apicultura*

Inicialmente, los prebióticos se definen como un ingrediente alimenticio no digerible, que produce un efecto beneficioso en el hospedador, al estimular el crecimiento selectivo o la actividad metabólica de un número limitado de bacterias en el colon. En la actualidad, se conceptualizan como un sustrato que se utiliza selectivamente por los microorganismos del huésped, y que le confieren una salud beneficiosa. Se amplía así el concepto de este término, en el que se incluyen sustancias diferentes a los carbohidratos (polifenoles y ácidos grasos poliinsaturados) y sus aplicaciones en sitios del cuerpo que no son el tracto gastrointestinal. No obstante, se mantiene el requisito de que son mecanismos selectivos mediados por la microbiota, así como la condición de los efectos beneficiosos que se documentan en la salud del huésped (Gibson *et al.*, 2017).

Otro aspecto importante de esta definición es que los prebióticos ya no se limitan a la alimentación



humana, sino que se pueden considerar en otras categorías, como la nutrición animal. Los principales componentes prebióticos son los fructooligosacáridos (FOS), manano oligosacáridos (MOS), inulina, isomalto-oligosacárido (IMO), polidextrosa, lactulosa y el almidón resistente.

Los oligosacáridos, como los de la soja (SOS), galactooligosacáridos (GOS) y xilooligosacáridos (XOS), también son agentes prebióticos (Cheng *et al.*, 2014) que participan en la estimulación de la microbiota intestinal, en especial en el colon, y producen un estado de fermentación en la población de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. Estas bacterias fomentan la producción de ácidos grasos de cadena corta, entre cuyos efectos más destacados sobresalen la disminución del pH del intestino y el control de comunidades bacterianas que pueden resultar dañinas para nichos ecológicos.

Otro efecto de estas poblaciones es la disminución del tiempo de tránsito intestinal, de lo que resulta el aumento del volumen del bolo fecal y de la frecuencia de las deposiciones (Corzo *et al.*, 2015). Los prebióticos que más se estudian como aditivos en las dietas para animales no rumiantes, y que funcionan de manera diferente, son los oligosacáridos de cadenas cortas de azúcares simples, especialmente FOS, GOS y MOS.

En las bases de datos consultadas no se tuvo acceso a una cuantiosa referencia de artículos que abordan este tema, si se compara con la información disponible acerca de los probióticos y fitobióticos (Di Gioia y Biavati, 2018). No obstante, la utilización de productos prebióticos y probióticos puede representar una solución alternativa para la profilaxis y el tratamiento de enfermedades en las abejas (Pătruică *et al.*, 2013). También se reporta la utilización de ácidos orgánicos (láctico y acético) incorporados al jarabe. Se pudo comprobar en un trabajo de Pătruică *et al.* (2011) que los grupos experimentales que se alimentaron con sustancias acidificantes registraron diferencias estadísticas en términos del número de crías a los 14 y 21 días, con respecto al grupo control.

La utilización de ácido láctico y vinagre de sidra, como prebióticos en simbiosis con probióticos, para comprobar su influencia en el desarrollo de las glándulas del insecto dejó ver un resultado positivo cuando se comparó con el grupo control, según informan Pătruică *et al.* (2012). En un diseño experimental similar; pero con ácido láctico y acético como prebióticos, en simbiosis con probióticos, estos autores describieron que en

los estudios histológicos del intestino de las abejas obreras después de tres semanas de evaluación, existía una estrecha correlación con la absorción de nutrientes y con el buen desarrollo de las colonias de abejas durante la temporada activa (Pătruică *et al.*, 2013).

Los análisis económicos y de salud de los apiarios alimentados con los prebióticos descritos anteriormente mostraron balances positivos, expresados en una mayor producción de miel, de 14,7 a más de 45,5 % en comparación con el grupo control (Pătruică y Hutu, 2013), así como un estado de salud e índice bioproductivo más favorable en las colonias de las abejas que consumieron estos productos.

La suplementación de la dieta de las abejas melíferas con probióticos y prebióticos (inulina) no dejó ver efecto benéfico ante la infección por el patógeno *Nosema ceranae*. Al respecto, Ptaszyńska *et al.* (2016) argumentan que el aditivo puede afectar el sistema inmune del insecto, y aumentar significativamente la mortalidad de las abejas. Estos autores evaluaron los efectos biológicos de las porfirinas (10  $\mu$ M y 100  $\mu$ M) ante el microsporidio *Nosema ceranae* en abejas, para lo que desarrollaron experimentos en jaulas. Como resultado informaron la reducción significativa del número de esporas (de 2,6 a 5 veces) del grupo experimental (abejas infectadas con *Nosema* con una dieta de jarabe con sacarosa-porfirina) con respecto a las abejas de control. En otro ensayo, Juhász *et al.* (2019) registraron incremento en el número de *Lactobacillus* spp. con la inclusión de inulina en el jarabe de abejas, y concluyeron que era necesario profundizar en el tema.

Ibarra-Navarrete (2019) evaluó el efecto de cuatro niveles de ácido oxálico (75, 100, 125, 150 g) y el tratamiento químico a base de amitraz en el control del ácaro *Varroa destructor* en abejas *Apis mellifera*. Este autor concluyó que la concentración de 150 g de ácido oxálico fue la que presentó mayor efectividad en el control del patógeno, en comparación con los demás tratamientos. Desde el punto de vista económico, fue más rentable que el tratamiento químico.

Jack *et al.* (2020) evaluaron la eficacia de la vaporización del ácido oxálico (AO) y la interrupción de la cría como controles de *Varroa* con la utilización de diferentes esquemas. Estos autores comprobaron que las colonias tratadas con amitraz fueron más saludables y tuvieron mejor supervivencia que las tratadas con vaporización de

AO, lo que sugiere la necesidad de incursionar en la mejora de los métodos de control no convencionales e incluir tratamientos rentables, que puedan ser utilizados fácilmente por los apicultores.

#### *Extractos de plantas, fitogénicos o nutraceuticos*

Los aditivos fitogénicos se definen como sustancias provenientes de distintas partes de las plantas, que se incorporan a la dieta para mejorar la productividad del animal, al promover su desarrollo productivo y mejorar las cualidades de los alimentos que derivan del animal. Los fitogénicos se clasifican en hierbas (flores y plantas no leñosas), productos botánicos (plantas enteras o partes que ejemplifican el uso de raíces, hojas y corteza), aceite esencial (extracción hidrosoluble de compuestos vegetales volátiles) y resinas oleosas (extractos basados en un solvente no acuoso) (Díaz-Sánchez *et al.*, 2015).

Estos aditivos de las plantas pueden variar según el origen, la composición de la planta, la influencia de las condiciones previas a la cosecha, las condiciones climáticas, la posición geográfica, el estrés exógeno, la cosecha y los procedimientos posteriores a la cosecha, como el procesamiento y extracción del principio biológico, y se usan en formas sólidas, secas y molidas, y en líquidos a modo de extractos y aceites esenciales (Madhupriya *et al.*, 2018).

Las plantas tienen una capacidad ilimitada de sintetizar compuestos, entre los que se encuentran alcaloides, fenoles, flavonas, aceites esenciales y compuestos relacionados, lo que las hace fuente natural importante de sustancias que poseen propiedades biológicas. En general, de estos grupos se describen más de 200 000 metabolitos, y otros que continúan descubriéndose y explorándose por varias especialidades científicas (Ncube y Van Staden, 2015).

Los consumidores prefieren los aditivos fitogénicos y se alinean con el concepto limpio, verde y ético, que se aplica en el ganado en general. Lo limpio se refiere a la disminución del uso de compuestos sintéticos, lo verde a la reducción de los impactos generados al medio ambiente, y lo ético a los efectos en el bienestar animal (Stevanović *et al.*, 2018).

Uno de los mecanismos mencionados para demostrar la actividad antimicrobiana de los extractos de plantas y los aceites esenciales en general, es la característica hidrofóbica, que favorece la interacción del principio activo con la membrana celular, que genera alteración de

la misma, su ruptura y daños en sus estructuras internas y permeabilidad, lo que provoca en el agente patógeno extravasación de material intracelular, alteración fisiológica y cambios de virulencia, al inhibir la regulación genética (Rivera-Calo *et al.*, 2015).

#### *Uso de extractos de plantas en abejas*

Extractos hidrosolubles de diez especies de plantas (*Achyrocline satureioides*, *Chenopodium ambrosioides*, *Eucalyptus cinerea*, *Gnaphalium gaudichaudianum*, *Lippia turbinata*, *Marrubium vulgare*, *Minthostachys verticillata*, *Origanum vulgare*, *Tagetes minuta* y *Thymus vulgaris*) se probaron como inhibidores del crecimiento de *Paenibacillus* ssp, el agente causante de la loque americana. Estos extractos mostraron actividades antibacterianas e inhibieron el crecimiento de casi todas las cepas de *P. larvae* analizadas.

Varios extractos de productos naturales orgánicos y acuosos aumentan la supervivencia de las abejas y reducen la carga de esporas después del tratamiento oral. Se informan compuestos naturales, particularmente flavonoides en varios extractos de plantas que muestran actividad antimicrosporidiana en las abejas melíferas, aunque no se ha confirmado que los flavonoides sean la fuente de dicha actividad. Arismendi *et al.* (2018) informaron actividad anti-*Nosema in vivo*, similar a la fumagilina en extractos hidrosolubles de aceite esencial (AE) de hojas de *Cryptocarya alba*. Estos autores observaron que los monoterpenos seleccionados del extracto ( $\beta$ -felandreno, eucaliptol y  $\alpha$ -terpineol) también inhibieron a *N. ceranae*.

El uso de nutraceuticos o extractos de plantas (timol y carvacrol), incluidos en el jarabe de azúcar para controlar *N. ceranae* y *N. apis* en las abejas melíferas, no redujo el nivel de esporas de *Nosema* spp. aunque sí disminuyó la mortalidad de las abejas. No obstante, en otros ensayos se reportan efectos benéficos (van den Heever *et al.*, 2016).

La suplementación de abejas con curcumina, un compuesto antimicrobiano de la cúrcuma (*Curcuma longa*), redujo las cargas de esporas de *Nosema* spp. y produjo mayor supervivencia de las abejas infectadas (Strachecka *et al.*, 2015). Si bien no se probaron en este estudio, también se registraron resultados prometedores con polisacáridos de algas y ácido oxálico (Nanetti *et al.*, 2015) y porfirinas (Ptaszyńska *et al.*, 2018). En todos estos ensayos se redujo la carga de esporas de *N. ceranae*, cuando las abejas se alimentaron con jarabe de azúcar.

En un estudio para comprobar el efecto que tiene en la nosemosis una solución de ácido oxálico

0,25 M, administrada a las abejas como aditivo orgánico en el jarabe de azúcar, Nanetti *et al.* (2015) observaron en ensayos de laboratorio que el número de esporas fue significativamente más bajo en el grupo tratado que en el control. En los ensayos de campo constataron que la prevalencia de la infección disminuyó en abejas jóvenes y adultas. Estos autores concluyeron que la aplicación del jarabe de ácido oxálico se puede incluir entre las estrategias alternativas para el manejo de esta especie.

El aditivo fitofarmacológico comercial Nozevit R contra *Nosema ceranae* demostró tener efectos benéficos, al disminuir la carga de esporas de las colonias. Sin embargo, este mismo producto en ensayos en jaula no tuvo efecto alguno (van den Heever *et al.*, 2016).

Otro suplemento basado en algas marinas HiveAlive TM produjo disminución en la carga de esporas de colonias y aumentó la población de colmenas con respecto a los controles, después de la administración de dos tratamientos semestrales (Charistos *et al.*, 2015).

Ensayos con extractos metanólicos de hojas de plantas nativas (*Ugni molinae*, *Aristotelia chilensis* y *Gevuina avellana*) y de propóleos, incluidos en la dieta a diferentes concentraciones para el control de la carga de *N. ceranae* y la sobrevivencia de las abejas, dejaron ver su efecto antiparasitario cuando las abejas se trataron con extractos al estar infectadas con el patógeno. *A. chilensis* (8 %), *U. molinae* (2 y 8 %) y propóleos (8 %) disminuyeron significativamente la carga de *N. ceranae* y mejoraron la sobrevivencia de las abejas. Por otra parte, cuando las abejas se trataron primero con extractos, y luego estuvieron infectadas con *N. ceranae*, mostraron mayor consumo de la dieta. En este caso, todos los extractos disminuyeron significativamente la carga del parásito, pero solo los de *U. molinae* (2 y 8 %) y propóleo LR (8 %) mantuvieron alta sobrevivencia de abejas infectadas con *N. ceranae* (Arismendi *et al.*, 2018).

#### Utilización de aditivos zootécnicos en Cuba

En Cuba existe amplia experiencia en la utilización de aditivos zootécnicos en varias especies de animales con efectos benéficos en indicadores de salud y bioproductivos. Los aditivos más utilizados son los probióticos, entre ellos *Lactobacillus*, *Bacillus* y levaduras (Hernández-García *et al.*, 2019). En menor medida, se utilizan también prebióticos y fitobióticos.

A pesar de las experiencias con el uso de aditivos y de las sugerencias que se ofrecen en la revisión de patentes, es en los últimos años que se comienza a incursionar en el tema de las abejas, por lo que se declaran como nichos tecnológicos el fomento de líneas de investigación que garanticen el empleo de los probióticos para eliminar el efecto residual de los antibióticos en la miel y otros productos apícolas que constituyen una de las ramas exportables más importantes de Cuba (Amaral, 2008).

De los aditivos zootécnicos descritos para *Apis mellifera*, en Cuba se trabaja *in vitro* con cepas probióticas, aisladas del intestino de abejas adultas *Apis mellifera* (Hernández-García *et al.*, 2020). Estos estudios desarrollados por el Laboratorio de Referencia para la Investigación y Salud Apícola (LARISA) y la Universidad de Sancti Spiritus, José Martí muestran resultados prometedores no concluidos. Asimismo, la Universidad de Granma desarrolla ensayos de laboratorio y a nivel de campo con extractos de plantas para el control del ácaro *Varroa destructor*.

Ambos proyectos se asocian a un programa nacional que lidera el Centro Nacional de Salud Agropecuarias (CENSA). Investigadores de esta institución han obtenido aceites esenciales con potencialidades para su uso contra patógenos que afectan a las abejas. La Universidad de Matanzas desarrolla un proyecto CITMA territorial para la obtención de un biopreparado probiótico a partir de la microbiota del tracto digestivo de *Melipona beecheii*, con el fin de inhibir el desarrollo de patógenos e incrementar la productividad de las abejas. Estas investigaciones incipientes se sustentan en la necesidad de contar con alternativas naturales que mantengan el programa integral de control de la salud apícola, caracterizado por la exclusión de químicos en Cuba.

#### Conclusiones

La obtención y evaluación de aditivos zootécnicos en abejas es una estrategia a nivel mundial que permite minimizar o eliminar el empleo de químicos, proteger el medio ambiente y los recursos ecosistémicos, asegurar la inocuidad alimentaria y garantizar los beneficios a la salud, así como la productividad del insecto. Los resultados que se han alcanzado en este ámbito se hallan avalados por numerosas investigaciones. No obstante, se necesita profundizar en el tema por existir variabilidad en algunos estudios, que se pueden asociar a la diversidad de factores que intervienen en la efectividad

de los aditivos, entre los que se destacan los propios del aditivo en cuestión, los relacionados con el insecto, y los que tienen que ver con las características de las dietas que se suplementan.

Los principales aditivos destinados a las abejas melíferas son, en primer lugar, los probióticos (lactobacilos); en segundo lugar, los extractos de plantas y, en menor cuantía, los prebióticos (inulina).

En Cuba, la utilización de aditivos zootécnicos en las abejas constituye una alternativa sostenible para mejorar indicadores de salud y productivos, y mantener así la calidad de las mieles que se producen exentas de químicos. El país cuenta en diferentes instituciones con importantes aportes al conocimiento de los aditivos zootécnicos en varias especies animales, pero aún es incipiente el estudio en abejas.

### Agradecimientos

Se agradece a la Red de Aditivos Zootécnicos de Cuba por favorecer los espacios y el encuentro de investigadores de diferentes universidades.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses entre ellos.

### Contribución de los autores

- Juan Emilio Hernández-García. Participó en la génesis de la idea, el diseño del estudio, la búsqueda bibliográfica, la interpretación y el análisis de la información, así como en la preparación del manuscrito.
- José Antonio Rodríguez-Díaz. Participó en la génesis de la idea, el diseño del estudio, la búsqueda bibliográfica, la interpretación y análisis de la información, así como en la preparación del manuscrito.
- Osmaida Estrada-Cutiño. Participó en el diseño del estudio, la interpretación y análisis de la información, así como en la preparación del manuscrito.
- Yovanni Solenzal-Valdivia. Participó en la búsqueda bibliográfica, la interpretación y análisis de la información, así como en la preparación del manuscrito.
- Ken Jact Fernández-León. Participó en la búsqueda bibliográfica, la interpretación y análisis de la información, así como en la preparación del manuscrito.
- Ana Julia Rondón-Castillo. Participó en la interpretación y análisis de la información, así como en la preparación del manuscrito.

### Referencias bibliográficas

- Aidara-Kane, A.; Angulo, F. J.; Conly, J. M.; Minato, Y.; Silbergeld, E. K.; McEwen, S. A. *et al.* WHO Guidelines on use of medically important antimicrobials in food-producing animals. *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* 7 (1):7, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13756-017-0294-9>.
- Al-Ghamdi, A.; Al-Abbadi, A. A.; Khan, K. A.; Ghramh, H. A.; Ahmed, A. M. & Ansari, M. J. *In vitro* antagonistic potential of gut bacteria isolated from indigenous honey bee race of Saudi Arabia against *Paenibacillus larvae*. *J. Apicult. Res.* 59 (5):825-833, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/00218839.2019.1706912>.
- Amaral, C.M. El análisis de patentes, herramienta para la determinación de líneas de investigación sobre probióticos en Cuba. *IV Seminario Internacional sobre Estudios Cuantitativos y Cualitativos de la Ciencia y la Tecnología «Gilberto Sotolongo Aguilar»*. La Habana: IDICT, 2008.
- Añón, G. *Efecto de la administración de un probiótico sobre distintos patógenos que afectan la salud de las abejas melíferas*. Tesina para optar al título de Licenciado en Bioquímica. Montevideo: Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Universidad de la República, 2018.
- Arismendi, N.; Vargas, Marisol; López, María D.; Barria, Yolanda & Zapata, N. Promising antimicrobial activity against the honey bee parasite *Nosema ceranae* by methanolic extracts from Chilean native plants and propolis. *J. Apicult. Res.* 57 (4):522-535, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1453006>.
- Arredondo, D.; Castelli, L.; Porrini, M. P.; Garrido, P. M.; Eguaras, M. J.; Zunino, P. *et al.* *Lactobacillus kunkeei* strains decreased the infection by honey bee pathogens *Paenibacillus larvae* and *Nosema ceranae*. *Benef. Microbes.* 9 (2):279-290, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3920/BM2017.0075>.
- Audisio, Marcela. C. Gram-positive bacteria with probiotic potential for the *Apis mellifera* L. honey bee: the experience in the Northwest of Argentina. *Probiotics Antimicrob. Proteins.* 9 (1):22-31, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12602-016-9231-0>.
- Audisio, Marcela C. & Benítez-Ahrendts, M. R. *Lactobacillus johnsonii* CRL1647, isolated from *Apis mellifera* L. bee-gut, exhibited a beneficial effect on honeybee colonies. *Benef. Microbes.* 2 (1):29-34, 2011. DOI: <https://doi.org/10.3920/BM2010.0024>.
- Berrios, P.; Fuentes, J. A.; Salas, D.; Carreño, A.; Aldea, P.; Fernández, F. *et al.* Inhibitory effect of biofilm-forming *Lactobacillus kunkeei* strains against virulent *Pseudomonas aeruginosa in vitro* and in honeycomb moth (*Galleria mellonella*) infection model. *Benef. Microbes.* 9 (2):257-268, 2018. DOI: <http://doi.org/10.3920/BM2017.0048>.



- Charistos, L.; Parashos, N. & Hatjina, Fani. Long term effects of a food supplement HiveAlive™ on honey bee colony strength and *Nosema ceranae* spore counts. *J. Apic. Res.* 54:5, 420-426, 2015. DOI: 10.1080/00218839.2016.1189231.
- Cheng, G.; Hao, H.; Xie, S. & Wang, X. Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry? *Front. Microbiol.* 5 (217):1-15, 2014. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00217>.
- Corzo, N.; Alonso, J. L.; Plou, F. J.; Azpiroz, F.; Ruas-Madiedo, P.; Calvo, M. A. *et al.* Prebióticos; concepto, propiedades y efectos beneficiosos. *Nutr. Hosp.* 31 (supl. 1):99-118. <http://www.aulamedica.es/nh/pdf/8715.pdf>, 2015.
- Daisley, B. A.; Faragalla, K. M.; Pitek, A. P.; Burton, J. P.; Chmiel, J. A.; Al, K. F. *et al.* Novel probiotic approach to counter *Paenibacillus larvae* infection in honey bees. *ISME J.* 14 (2):476-491, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0541-6>.
- Di Gioia, Diana & Biavati, B., Eds. *Probiotics and prebiotics in animal health and food safety*. Berlin: Springer, 2018.
- Diaz-Sanchez, Sandra; D'Souza, Doris; Biswas, Debra-brata & Hanning, Irene. Botanical alternatives to antibiotics for use in organic poultry production. *Poultry Sci.* 94 (6):1419-1430, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3382/ps/pev014>.
- Gibson, G. R.; Hutkins, R. W.; Sanders, M. E.; Prescott, S. L.; Reimer, R. A.; Salminen, S. J. *et al.* The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 14 (8):491-502, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>.
- Hernández-García, J. E.; Rodríguez-Díaz, J. A.; Frizzo, L. S.; Fernández-León, K. J.; Solenzal-Valdivia, Y.; Soto, Lorena P. *et al.* Aislamiento e identificación de bacterias ácido lácticas del tracto digestivo de abejas adultas *Apis mellifera*. *Rev. Salud Anim.* 42 (2):e07. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-570X2020000200005&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2020000200005&lng=es), 2020.
- Hernández-García, J. E.; Sebastián-Frizzo, L.; Rodríguez-Fernández, J. C.; Valdez-Paneca, G.; Virginia-Zbrun, M. & Calero-Herrera, I. Evaluación *in vitro* del potencial prebiótico de *Lactobacillus acidophilus* SS80 y *Streptococcus thermophilus* SS77. *Rev. Salud Anim.* 41 (1). <http://revistas.censa.edu.cu/index.php/RSA/article/view/1008/1254>, 2019.
- Hung, K.-L. James; Kingston, Jennifer M.; Albrecht, M.; Holway, D. A. & Kohn, J. R. The worldwide importance of honey bees as pollinators in natural habitats. *P. Roy. Soc. Lond. B. Bio.* 285 (1870):20172140, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.2140>.
- Ibarra-Navarrete, Y. S. *Niveles de ácido oxálico para el control de varroasis (Varroa destructor) en abejas (Apis mellifera), en el recinto Aguas Frias del cantón Mocache, año 2018*. Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Ingeniero Zootecnista. Quevedo, Ecuador: Facultad de Ciencias Pecuarias, Universidad Técnica Estatal de Quevedo, 2019.
- Jack, Cameron J.; Santen, E. van & Ellis, J. D. Evaluating the efficacy of oxalic acid vaporization and brood interruption in controlling the honey bee pest *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). *J. Econ. Entomol.* 113 (2):582-588, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1093/jee/toz358>.
- Juhász, Á.; Veress, Alexandra; Adamcsik, Orsolya; Szabolcs M. & Szalontai, Helga. The impact of inulin as feed supplement on gut microbiota of honey bee (*Apis mellifera*). *18th Alps-Adria Scientific Workshop*. p. 78-79. [http://www.alpsadria.hu/18thAASW/Abstract\\_book\\_18thAASW\\_paper\\_10.34116-NTI.2019.AA.30.pdf](http://www.alpsadria.hu/18thAASW/Abstract_book_18thAASW_paper_10.34116-NTI.2019.AA.30.pdf), 2019.
- Larson, N. R.; O'Neal, S. T.; Bernier, U. R.; Bloomquist, J. R. & Anderson, T. D. Terpenoid-induced feeding deterrence and antennal response of honey bees. *Insects*. 11 (2):83, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/insects11020083>.
- Madhupriya, V.; Shamsudeen, P.; Manohar, G. R.; Senthilkumar, S.; Soundarapandian, V. & Moorthy, M. Phyto feed additives in poultry nutrition. A review. *Int. J. Sci. Environ. Technol.* 7 (3):815-822. <https://www.ijset.net/journal/2109.pdf>, 2018.
- Magaña-Magaña, M. A.; Tavera-Cortés, María E.; Salazar-Barrientos, Lucila L. & Sanginés-García, J. R. Productividad de la apicultura en México y su impacto sobre la rentabilidad. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 7 (5):1103-1115. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-09342016000501103&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342016000501103&lng=es&tlng=es), 2016.
- Markowiak, Paulina & Śliżewska, Katarzyna. The role of probiotics, prebiotics and symbiotics in animal nutrition. *Gut Pathog.* 10:21, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13099-018-0250-0>.
- Maruščáková, Ivana C.; Schusterová, Petra; Bielik, B.; Toporčák, J.; Bilková, Katarína & Mudroňová, D. Effect of application of probiotic pollen suspension on immune response and gut microbiota of honey bees (*Apis mellifera*). *Probiotics Antimicrob. Proteins.* 12:929-936, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12602-019-09626-6>.
- Mudroňová, Dagmar; Toporčák, J.; Nemcová, Radomíra; Gancarčíková, Soňa; Hajdučková, Vanda & Rumanovská, Katarína. *Lactobacillus* sp. as a potential probiotic for the prevention of *Paenibacillus larvae* infection in honey bees. *J. Apicult. Res.* 50 (4):323-324, 2011. DOI: <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.50.4.11>.
- Nanetti, A.; Rodríguez-García, Cristina; Aránzazu, Meana; Martín-Hernández, Raquel & Higes, M.

- Effect of oxalic acid on *Nosema ceranae* infection. *Res. Vet. Sci.* 102:167-172, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.08.003>.
- Ncube, B. & Van Staden, J. Tilting plant metabolism for improved metabolite biosynthesis and enhanced human benefit. *Molecules.* 20 (7):12698-12731, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules200712698>.
- Pătruică, Silvia; Dumitrescu, Gabi; Stancu, A.; Bura, Marian & Bănăţean Dunea, I. The effect of prebiotic and probiotic feed supplementation on the wax glands of worker bees (*Apis Mellifera*). *Scientific Papers: Animal Sciences and Biotechnologies.* 45 (2):268-271. <http://www.spasb.ro/index.php/spasb/article/viewFile/385/345>, 2012.
- Pătruică, Silvia; Bogdan, A.; Bura, Marian; Banatean-Dunea, I. & Găltofeţ, M. Research on the effect of acidifying substances on bee families development and health in spring. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies.* 44 (2):271-275. <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.461.1249&rep=rep1&type=pdf>, 2011.
- Pătruică, Silvia; Dumitrescu, Gabi; Popescu, Roxana & Filimon, Nicoleta M. The effect of prebiotic and probiotic products used in feed to stimulate the bee colony (*Apis mellifera*) on intestines of working bees. *J. Food Agric. Environ.* 11 (3&4):2461-2464. [https://www.researchgate.net/publication/267315038\\_The\\_effect\\_of\\_prebiotic\\_and\\_probiotic\\_products\\_used\\_in\\_feed\\_to\\_stimulate\\_the\\_bee\\_colony\\_Apis\\_mellifera\\_on\\_intestines\\_of\\_working\\_bees](https://www.researchgate.net/publication/267315038_The_effect_of_prebiotic_and_probiotic_products_used_in_feed_to_stimulate_the_bee_colony_Apis_mellifera_on_intestines_of_working_bees), 2013.
- Pătruică, Silvia & Hutu, I. Economic benefits of using prebiotic and probiotic products as supplements in stimulation feeds administered to bee colonies. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 37 (3):259-263, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3906/vet-1110-20>.
- Pérez-Piñeiro, A. La apicultura en Cuba y su situación actual. *Agroecología.* 12 (1):67-73. <https://revistas.um.es/agroecologia/article/view/330361>, 2017.
- ProCuba. *Estudio de mercado. Arabia Saudita. Perfil estratégico de oportunidades comerciales con Cuba.* <https://www.procuba.cu/wp-content/uploads/2020/12/boletin-miel-procuba.pdf>, 2019.
- Ptaszyńska, Aneta A.; Borsuk, G.; Zdybicka-Barabas, Agnieszka; Cytryńska, Małgorzata & Małek, Wanda. Are commercial probiotics and prebiotics effective in the treatment and prevention of honeybee nosemosis C? *Parasitol. Res.* 115 (1):397-406, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4761-z>.
- Ptaszyńska, A. A.; Trytek, M.; Borsuk, G.; Buczek, K.; Rybicka-Jasińska, K. & Gryko, D. Porphyrins inactivate *Nosema* spp. microsporidia. *Sci. Rep.* 8:5523, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23678-8>.
- Pufal, Gesine; Steffan-Dewenter, I. & Klein, Alexandra M. Crop pollination services at the landscape scale. *Curr. Opin. Insect Sci.* 21:91-97, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cois.2017.05.021>.
- Rivera-Calo, Julianny; Crandall, P. G.; O'Bryan, C. A. & Ricke, S. C. Essential oils as antimicrobials in food systems-A review. *Food Control.* 54:111-119, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.12.040>.
- Rodríguez, J. *Los aditivos.* España: Servicios de Información de Alimentos, Universidad de Córdoba. <http://www.fundacionfedna.org/legislacion>, 2019.
- Stephan, J. G.; Lamei, S.; Pettis, J. S.; Riesbeck, K.; Miranda, J. R. de & Forsgren, Eva. Honeybee-specific lactic acid bacterial supplements have no effect on American foulbrood infected honeybee colonies. *Appl. Environ. Microbiol.* 85 (13):e00606-00619, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.00606-19>.
- Stevanović, Z. D.; Bošnjak-Neumüller, J.; Pajić-Lijković, I.; Raj, J. & Vasiljević, M. Essential oils as feed additives-future perspectives. *Molecules.* 23 (7):1717, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules23071717>.
- Strachecka, Aneta; Olszewski, K. & Paleolog, J. Curcumin stimulates biochemical mechanisms of *Apis mellifera* resistance and extends the apian life-span. *J. Apicult. Sci.* 59 (1):129-141, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1515/JAS-2015-0014>.
- Tonello, Natalia V. *Caracterización de nuevos medicamentos no contaminantes para el tratamiento de enfermedades apícolas.* Tesis para acceder al título de Doctor en Ciencias Químicas. Río Cuarto, Argentina. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/81641>, 2019.
- van den Heever, J. P.; Thompson, T. S.; Otto, S. J. G.; Curtis, J. M.; Ibrahim, A. & Pernal, S. F. Evaluation of Fumagilin-B® and other potential alternative chemotherapies against *Nosema ceranae*-infected honeybees (*Apis mellifera*) in cage trial assays. *Apidologie* 47:617-630, 2016. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0409-3>.
- Wu, M.; Sugimura, Y.; Iwata, K.; Takaya, N.; Takamatsu, D.; Kobayashi, M. *et al.* Inhibitory effect of gut bacteria from the Japanese honey bee, *Apis cerana japonica*, against *Melissococcus plutonius*, the causal agent of European foulbrood disease. *J. Insect Sci.* 14:129, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1093/jis/14.1.129>.