

## TRABAJO

# BACTERIAS DEL INTESTINO DE HORMIGAS ASOCIADAS A COLMENAS, CON CAPACIDAD ANTIMICROBIANA

## ANT GUT BACTERIA ASSOCIATED TO HIVES HAVING ANTIMICROBIAL CAPACITY

Suárez Mendoza, E. <sup>1,2\*</sup>, Ruiz, G. <sup>1,2,3</sup>, Benítez Ahrendts, M. <sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Catédra de Microbiología Agrícola, Facultad de Ciencias Agrarias, UNJu; <sup>2</sup> Laboratorio de Sanidad Apícola y Meliponícola, Facultad de Ciencias Agrarias, UNJu; <sup>3</sup> Instituto de Ecorregiones Andinas-INECOA (CONICET-UNJu).

\*Autor para correspondencia:

eva.rby@gmail.com

Período de Publicación:

Julio 2025

Historial:

Recibido: 25/02/25

Aceptado: 16/05/25

### RESUMEN

En la provincia de Jujuy la actividad apícola representa una de las principales actividades de pequeños productores locales. Las colmenas de abejas son constantemente invadidas por numerosos insectos. Las hormigas son habitantes frecuentes en las colmenas de *Apis mellifera*. El objetivo de este trabajo fue aislar e identificar cepas bacterianas de los intestinos de hormigas de colmenas y de alrededores, con posible potencial inhibitorio del crecimiento del hongo *Ascosphaera apis*, patógeno de *Apis mellifera*. La metodología implicó etapas de campo y laboratorio. Durante el año 2019 (exceptuando los años de pandemia) y durante el año 2023, se examinaron los interiores de colmenas del apiario Severino ubicado en el Campo Experimental Dr. Emilio Navea de la Facultad de Ciencias Agrarias. Se tomaron muestras de manera manual con ayuda de una pinza y un pincel, y se colocaron en frascos estériles para su posterior procesamiento en el Laboratorio de Sanidad Apícola y Meliponícola de la Facultad de Ciencias Agrarias, UNJu. Por un lado, se realizó la identificación taxonómica de las hormigas colectadas con ayuda de claves adecuadas y por otro lado se realizó el aislamiento de una suspensión de cinco abdómenes triturados de los ejemplares de hormigas en una solución de 1,5 mL de peptona al 10% en tubos de Eppendorf, agitados en Vórtex por cinco minutos. Posteriormente se sembraron alícuotas de la solución (20µL), sobre placas con medio Agar Nutritivo e incubadas a 30°C por 48 hs. y en medio MRS incubadas en condiciones de microaerofilia a 37°C por 48 hs. Tras sucesivas repeticiones se obtuvieron cepas puras de las colonias bacterianas. Mediante pruebas bioquímicas y claves específicas se identificó a *Bacillus subtilis* y *Clostridium* sp. Para evaluar la actividad inhibitoria de estas bacterias, se las enfrentó con *Ascosphaera apis* en medio MY-20 y se incubó en condiciones de microaerofilia a 30 ± 2°C durante 4 a 10 días. Los porcentajes de inhibición de *Ascosphaera apis* frente a *Bacillus subtilis* y *Clostridium* sp. fueron mayores a los 5 días de incubación y alcanzaron casi un 100% del crecimiento e invasión de las cepas bacterianas en las superficies de las placas. Lo que sugiere que estas cepas bacterianas pueden contribuir al control de *A. apis*.

Lo que resulta en una alternativa de control biológico de enfermedades que afectan a las colmenas.

**Palabras clave:** *Apis mellifera*, hormigas, antimicrobiano, *Ascosphaera apis*

## SUMMARY

In Jujuy province, beekeeping is one of the main activities for local small producers. The bee hives are constantly invaded by numerous insects. Ants are frequent inhabitants of *Apis mellifera* hives. The objective of this work was to isolate and identify bacterial strains from hives and surrounding areas ant guts, with potential inhibitory activity against the fungus *Ascosphaera apis* fungus growth, a pathogen of *Apis mellifera*. The methodology involved both field and laboratory stages. During 2019 (excluding the pandemic years) and in 2023, the hives interiors from the Severino apiary, located at the Dr. Emilio Navea Experimental Field of the Faculty of Agricultural Sciences, were examined. Samples were manually collected with the help of forceps and a brush, and placed in sterile jars for later processing in the Beekeeping and Stingless Bee Health Laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences, UNJu. On the one hand, the taxonomic identification of the collected ants was performed using appropriate keys, and on the other hand, the isolation of a suspension of five crushed ant abdomens in a solution of 1.5 mL of 10% peptone in Eppendorf tubes, shaken in a vortex for five minutes, was carried out. Subsequently, aliquots of the solution (20 µL) were plated on Nutrient Agar plates and incubated at 30°C for 48 hours, and on MRS medium incubated under microaerophilic conditions at 37°C for 48 hours. After successive repetitions, pure bacterial strains were obtained from the bacterial colonies. Through biochemical tests and specific keys, *Bacillus subtilis* and *Clostridium* sp. were identified. To evaluate the inhibitory activity of these bacteria, they were confronted with *Ascosphaera apis* in MY-20 medium and incubated under microaerophilic conditions at 30 ± 2°C for 4 to 10 days. The inhibition percentages of *Ascosphaera apis* against *Bacillus subtilis* and *Clostridium* sp. were higher than 5 days of incubation, reaching almost 100% inhibition of growth and invasion of the bacterial strains on the surfaces of the plates. This suggests that these bacterial strains may contribute to the control of *A. apis*, providing an alternative for biological control of diseases affecting bee hives.

**Keywords:** ants, antimicrobial, *Apis mellifera*, *Ascosphaera apis*.

## INTRODUCCIÓN

Las hormigas se encuentran en toda la Argentina desde las regiones subtropicales del norte hasta las zonas templadas y frías del sur, cada región tiene sus propias especies dominantes, adaptadas a las condiciones climáticas y ambientales locales. Son uno de los grupos de insectos más abundantes y diversos en la mayoría de los ecosistemas terrestres, principalmente en los trópicos (Vásquez Bolaños, 2015). Presentan interacciones con plantas, microorganismos y otros invertebrados, como mutualismo y relaciones de parasitismo (Gallego Roperro & Feitosa, 2014). Suelen tener hongos y bacterias adheridas a sus cutículas, siendo las condiciones ambientales presentes en el interior de sus nidos, como la humedad

y la estabilidad de la temperatura, las que las predisponen a infecciones, pudiendo diseminar agentes patógenos que afectan a otros insectos (Oi & Pereira, 1993). Pueden ser portadores de enfermedades causadas por microorganismos oportunistas, como también poseer microorganismos en su interior con capacidad de inhibir ciertos patógenos (Portillo *et al.*, 2018, Ruiz *et al.*, 2021). Entre las especies de hormigas asociadas con las abejas de apiarios de los Valles de Jujuy se determinaron *Solenopsis* spp., *Acromyrmex hispidus*, *Crematogaster* spp., *Linepithema humile*, *Camponotus mus*, *Camponotus punctulatus*, *Camponotus substitutus* (Ruiz & Benítez Ahrendts, 2018).

*Apis mellifera* es la especie más ampliamente utilizada por el ser humano y más distribuida a nivel global (Vicente Rubiano, 2016). Su uso en el mundo está destinado principalmente a la producción de miel y en menor medida a productos como polen, propóleo, jalea real o cera entre otros (Garibaldi *et al.*, 2013). La actividad apícola en Argentina es la más importante y desarrollada de todo el hemisferio sur y una de las más grandes a nivel mundial (Ferrari, 2011). Sin embargo, algunas regiones argentinas muestran un disminución de la producción motivada por factores ambientales, problemas sanitarios, tecnológicos y económicos (EEA INTA Bordenave, 2012). De los factores mencionados, el sanitario reviste gran importancia, ya que las enfermedades y parásitos inciden en la producción (Benítez Ahrendts *et al.*, 2015).

*A. mellifera* es afectada por distintos organismos como virus, bacterias, hongos y parásitos que en su mayoría ocasionan daños considerables en la apicultura mundial (Ritter, 2001). Entre estos patógenos encontramos a *Paenibacillus larvae*, *Ascosphaera apis* (Audisio *et al.*, 2011), *Nosema* spp. (Porrini *et al.*, 2010) y *Varroa* spp. (Maggi *et al.*, 2013). La ascosferosis es una enfermedad que afecta a las larvas en desarrollo de *Apis mellifera*. Es una enfermedad micótica, conocida como cría yesificada o de cal cuyo agente etiológico es el hongo *Ascosphaera apis* (Aronstein y Murray, 2010, Jensen *et al.*, 2015). Ocasiona serios daños a las colmenas y llega a producir graves pérdidas económicas (Flores Serrano *et al.*, 2006). No existen tratamientos efectivos para esta enfermedad, por lo tanto, la única opción es aplicar diferentes medidas preventivas de manejo (León *et al.*, 2011). La prevalencia de la ascosferosis en algunos países aumentó considerablemente, al grado que se ha llegado a considerar una amenaza casi tan seria como la infestación del acaro *Varroa destructor* (Correa Benítez, 2015).

Las hormigas también son consideradas enemigas de las abejas por los apicultores, porque atacan las colmenas, consumen las reservas de alimento y pueden matar a las abejas (Collantes & Del Cid, 2022). Sin embargo, se han encontrado nidos de varias especies de hormigas sobre la entretapa de las colmenas que no causaban daños económicos para la producción (Ruiz & Benítez Ahrendts, 2018). En general suelen aprovechar el calor y la humedad de la colmena para incubar sus huevos, utilizándolas como refugios temporales o permanentes y no resultan perjudiciales en la producción de miel (Enzmann, 1947).

Los himenópteros poseen comunidades microbianas diversas y estables (Shu *et al.*, 2010, Rusell *et al.*, 2012). Algunas de ellas, como las bacterias existen naturalmente en el intestino de los insectos y se adquieren mediante la ingesta de azúcares (néctar, savia, secreciones de áfidos), de sangre y a través de materia orgánica en descomposición utilizada como alimento (Hurwitz *et al.*, 2011). La microbiota intestinal coloniza el intestino del insecto por vía oral, generalmente a través de la comida y juegan un papel clave en su digestión, metabolismo y protección frente a patógenos (Poveda, 2019). Poco se sabe sobre las bacterias que están presentes en el intestino de hormigas. La importancia de conocer la microbiota de su intestino, no es solo por el conocimiento de la comunidad bacteriana total, sino también porque muchos de estos microorganismos resultan beneficiosos, teniendo un papel determinante sobre la reproducción, inmunidad, sobrevivencia y en el desarrollo de los parásitos causantes de enfermedades (Engel *et al.*, 2012).

Este trabajo tuvo como objetivo aislar e identificar cepas bacterianas presentes en los intestinos de hormigas de colmenas y de alrededores, con posible potencial inhibitorio del crecimiento del hongo *Ascosphaera apis*, patógeno de *Apis mellifera*.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Sitio de muestreo**

El estudio se llevó a cabo en el apiario Severino perteneciente a la región de los Valles de Jujuy, situado en el campo Experimental “Dr. Emilio Navea” de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Jujuy, ubicado en la localidad de Severino, Departamento del Carmen, provincia de Jujuy.

### **Recolección de hormigas**

Para la colecta de hormigas del interior de las colmenas, se llevaron a cabo visitas periódicas al apiario del Campo Experimental de la FCA. Para ello se realizó la inspección de 12 colmenas durante los años 2019, 2022 y 2023. Se procedió a revisar cuidadosamente cada parte de las colmenas, como techos, entretapas, alzas, cámara de cría y piso. Las hormigas fueron colectadas manualmente con ayuda de una pinza, un cepillo, colocadas en frascos estériles.

### **Identificación taxonómica de las hormigas**

En el laboratorio de Sanidad Apícola y Meliponícola de la Facultad de Ciencias Agrarias se procedió a realizar la identificación taxonómica de las muestras de hormigas en estudio, para ello se realizó la observación de los ejemplares bajo lupa estereoscópica (Arcano, aumento 4X). La determinación taxonómica se efectuó mediante claves de identificación de hormigas (Kusnezov, 1956, Mackay & Mackay, 2002, Fernández, 2003) y clave para las subfamilias y géneros (Palacio & Fernández, 2003).

### **Aislamiento e identificación de cepas bacterianas**

Para el aislamiento de cepas bacterianas se realizaron macerados de los abdómenes de 5 ejemplares de hormigas de una misma especie en una solución de 1,5 ml de peptona al 10% en tubos Eppendorf, agitados en Vórtex por cinco minutos. Posteriormente se sembraron alícuotas de la solución (20 µL), en Agar Nutritivo dispersándola con la espátula de Drigalski y se incubaron en estufa a temperatura de 37°C, y en medio MRS para el crecimiento de bacterias específicas como *Lactobacillus*. Todas las placas se incubaron en condiciones de microaerofilia a 37°C por 48 horas. Las colonias obtenidas fueron aisladas por la técnica de estrías e incubadas nuevamente a 30°C por 24 a 48 horas. Este procedimiento se repitió sucesivas veces hasta obtener cepas puras de las bacterias en estudio.

Obtenidas las cepas puras de bacterias se realizaron diferentes pruebas bioquímicas para su identificación, lo que permiten determinar las características metabólicas de las bacterias, según los protocolos de (Madigan *et al.*, 2000, Krieg & Holt, 1984). Las pruebas realizadas fueron tipo de respiración aeróbica o anaeróbica, resistencia al medio halófito, reacción con la catalasa, crecimiento a diferentes temperaturas, crecimiento en presencia de almidón, coloración de Gram, presencia de endosporas, motilidad.

También se realizaron observaciones macroscópicas estableciendo la morfología de las colonias, pigmentación, entre otros y microscópicamente determinando las bacterias Gram Negativas, Gram Positivas, morfología celular individual de acuerdo con las claves del Manual de Determinación Bacteriológica de Bergey (Bergey & Holt, 1984).

El estudio microscópico se realizó observando al microscopio óptico con un aumento de 1000X con aceite de inmersión, preparados en fresco y también a partir de la tinción para revelar la forma, la manera de agruparse, la estructura y el tamaño de las células. Las tinciones utilizadas fueron azul de metileno, la tinción de Gram y verde de malaquita (Fernández Olmos *et al.*, 2010).

### Evaluación de la actividad inhibitoria de bacterias frente a *Ascosphaera apis*

La cepa del hongo patógeno de abejas fue adquirida del cepario del Laboratorio de Sanidad Apícola y Meliponícola de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNJu. El aislamiento del hongo *A. apis* se realizó en un medio MY-20 con alto contenido de azúcar. Se incubó en condiciones microaerofílicas a una temperatura de  $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 4 a 10 días. El crecimiento hifal suele ser visible a los 2 a 4 días (Jensen *et al.*, 2015). Las cepas puras de las bacterias aisladas de los intestinos de hormigas se enfrentaron con el hongo patógeno *Ascosphaera apis*.

Para cada una de las pruebas se colocaron 1 mL de una suspensión de  $10^6$  esporas fúngicas sobre el medio MY20 enfrentándolas con las cepas bacterianas, respectivamente. Se realizaron tres réplicas del ensayo, como control se utilizó el cultivo de la cepa fúngica pura. Las placas sembradas con las bacterias y *A. apis* se incubaron en condiciones microaerofílicas a una temperatura de  $30^{\circ}\text{C}$  por 10 días.

La actividad antagónica de las cepas bacterianas se determinó midiendo el diámetro de las colonias fúngicas en presencia de las bacterias a los 5 y 10 días. Así también se midió el diámetro de la colonia del hongo testigo. Con las mediciones obtenidas se procedió al cálculo del porcentaje de inhibición mediante la siguiente ecuación:

$$I = [(C-T) / C] * 100$$

Siendo: I la inhibición %, C el diámetro de las colonias testigo y T el de las colonias tratadas (Zamora Natera *et al.*, 2005).

Los resultados obtenidos de las pruebas de inhibición se analizaron estadísticamente mediante la prueba T de Student a partir del Software estadístico Infostat versión 2015 (Di Rienzo *et al.*, 2015).

## RESULTADOS y DISCUSIÓN

### Identificación taxonómica de las hormigas

Se determinó un total de tres especies de hormigas. Las especies identificadas fueron: *Camponotus substitutus* y *Camponotus crassus* y *Pheidole* spp.

Fotos 1: A, B y C



A. *Camponotus substitutus*



B. *Camponotus crassus*



C. *Pheidole* spp.

### Identificación de bacterias

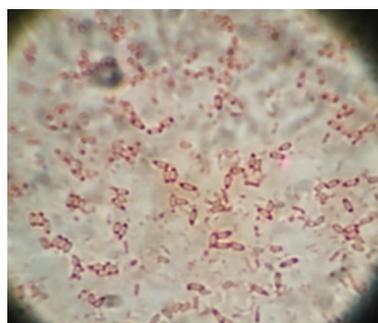
Las especies aisladas e identificadas de los abdómenes de las hormigas fueron *Clostridium* sp. y *Bacillus subtilis*. (Fotos A y B). Estas cepas crecieron en Medio Agar nutritivo. Las características morfológicas y bioquímicas de las especies identificadas se detallan en la **Tabla 1**.

No hubo crecimiento de lactobacilos y de otro tipo de bacterias lácticas en las placas con medio MRS.

Fotos 2: A, B



A. *Clostridium* sp.



B. *Bacillus subtilis*

Tabla 1: Pruebas de Determinación bacteriológica

SEÑALIZACION DE LA CEPA	AN1	AN2
Especies	<i>Clostridium</i> sp.	<i>Bacillus subtilis</i>
Aislado de especie de hormiga	<i>C. crassus</i>	<i>C. substitutus</i> , <i>Pheidole</i> sp.
Morfología individual	Bacilos	Bacilos
Respiración aeróbica	No presentan	Si presentan
Resistencia al medio halófito %NaCl	Restringido	Negativo
Reacción con catalasa	Negativo	Positivo
Color de la colonia	Blanquecino	Blanquecino
Crecimiento a diferentes temperaturas		
5°C	Crecimiento leve	Crecimiento leve
60 °C	Negativo	Negativo
Endosporas	Presentes	Presentes
Crecimiento en almidón	Crecimiento leve	Invade placa
Motilidad	Si presentan	Si presentan
Coloración de Gram	Positiva	Positiva

**Pruebas de inhibición del crecimiento de *Ascosphaera apis***

Los porcentajes de inhibición de *Ascosphaera apis* frente a *Bacillus subtilis* y *Clostridium* sp. fueron del 99,7% a los 5 días de incubación y alcanzaron casi un 100% del crecimiento e invasión de las cepas bacterianas en las superficies de las placas. Por ello, todas las pruebas realizadas y medidas con ambas cepas bacterianas fueron mayores al 99% de inhibición, manteniéndose los mismos porcentajes y medidas de los diámetros de los hongos a los 10 días de incubación. Los diámetros de *A. apis* fueron relativamente mayores frente a *Bacillus subtilis*, siendo que se presentaron menores diámetros de las colonias y mayor inhibición frente a *Clostridium* sp. (Tabla 2)

**Tabla 2:** Porcentaje (%) de inhibición de *Ascosphaera apis* enfrentadas con *Bacillus subtilis* y *Clostridium* sp.

% de inhibición	<i>Ascosphaera apis</i> vs <i>B. subtilis</i>	<i>Ascosphaera apis</i> vs <i>Clostridium</i> sp.
	AN2As1	AN1As1
5 días	99,7	100
5 días	99,9	100
5 días	99,9	100
5 días	99,9	100
5 días	99,7	99,9
5 días	99,7	99,9
5 días	100	100
5 días	100	100
10 días	99,7	100
10 días	99,9	100
10 días	99,9	100
10 días	99,9	100
10 días	99,7	99,9
10 días	99,7	99,9
10 días	100	100
10 días	100	100

De acuerdo con el análisis estadístico no se observó diferencias significativas entre los diámetros de las colonias del hongo, se observa que *Ascosphaera apis* frente a la bacteria *Bacillus subtilis* y frente a *Clostridium* spp. evidencia una marcada reducción en el crecimiento de la colonia, ambas bacterias inhiben el crecimiento de *A. apis*.

## DISCUSIÓN

A partir del estudio realizado en el Apiario del campo Experimental “Dr. Emilio Navea” de la Facultad de Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional de Jujuy, se reconfirma la presencia de especies de hormigas en colmenas de *Apis mellifera* y sus cercanías en la zona de los valles. Las especies identificadas corresponden a *Camponotus substitutus*, *Camponotus crasus* e individuos pertenecientes a *Pheidole* spp. Lo que coincide con lo reportado por (Ruiz & Benítez Ahrendts, 2018). Estas especies corresponden a algunas de las especies más comunes y frecuentes en apiarios de acuerdo con registros anteriores de los Valles de Jujuy (Ruiz, 2022).

A partir de la identificación y análisis realizados de las bacterias presentes en los abdómenes de hormigas que anidan en colmenas y en cercanías del apiario, se determinó que las especies bacterianas aisladas más frecuentes fueron *Bacillus subtilis* y *Clostridium* sp., obtenidas mediante numerosas pruebas según los protocolos de Madigan *et al.*, 2000, Krieg y Holt, 1984 y utilizando claves diagnósticas de acuerdo con el Manual de Bergey. Este resultado coincide con otros autores que han aislado e identificado bacterias de las hormigas de los géneros tales como *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Stafylococcus*, *Streptococcus*,

entre otros (Chadee & Le Maitre, 1990, Simothy *et al.*, 2018).

Los resultados obtenidos de las pruebas para determinar la actividad inhibitoria de ambas cepas bacterianas en estudio evidencian un efecto antagónico al enfrentarlos con un hongo patógeno de abejas inhibiendo su crecimiento en un grado elevado. Lo que coincide con autores que destacan a estas bacterias como inhibidoras de crecimiento de algunos hongos y/o bacterias patógenas (Rodas Junco *et al.*, 2009, Pérez *et al.*, 2015). La mayor actividad antagónica de los aislados bacterianos frente a *A. apis* se obtuvieron en el menor tiempo probado (cinco días), lo que podrían estar relacionado con la disminución de la producción de metabolitos antifúngicos por parte de estos aislados y/o con la producción de compuestos por parte del hongo que inhiban el crecimiento bacteriano (Sadfi *et al.*, 2002). Esto está relacionado con el hecho de que, durante los primeros días del cultivo dual, las bacterias ejercen un fuerte efecto antagónico sobre los hongos patógenos, por su alta velocidad de crecimiento, lo que les permite alcanzar rápidamente el estado estacionario y comenzar a producir metabolitos secundarios con actividad antifúngica y finalmente colonizar el medio de cultivo (Madigan *et al.*, 2003). Los hongos podrían iniciar la producción de metabolitos que contrarresten el efecto producido por las bacterias antagonistas y/o los metabolitos bacterianos en el tiempo (Tejera *et al.*, 2012), sin embargo, en el periodo analizado de las pruebas, los hongos no lograron contrarrestar a las bacterias, que colonizaron rápidamente las placas, lo que explicaría los resultados obtenidos.

Numerosos trabajos reportan el aislamiento y caracterización de metabolitos antifúngicos provenientes de cepas de *Bacillus* spp. (Leifert *et al.*, 1995). En el género *Bacillus* existen aislados capaces de suprimir el crecimiento fúngico in vivo por la producción de uno o más antimicóticos (Fassouane *et al.*, 1995). Los antibióticos producidos in vitro son compuestos responsables del biocontrol in vivo, por cuanto se ha demostrado que algunas cepas productoras de antibióticos son capaces de suprimir enfermedades fúngicas en plantas (Ferreira *et al.*, 1991). En general, *B. subtilis* fue muy eficiente en la inhibición de *A. apis*, en concordancia con reportes de las bacterias *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* y *Bacillus circulans* como microorganismos asociados con abejas melíferas y con la capacidad para inhibir el crecimiento de *A. apis* (Reynaldi *et al.*, 2004).

Estos resultados evidencian el potencial de las diferentes especies de bacterias para el control de numerosos hongos, el cual ha sido reportado por Ongena *et al.*, 2005, Wang *et al.*, 2007 y Ghasemi *et al.*, 2010. Es decir que, presentan un uso potencial como control biológico frente a enfermedades que afectan la sanidad de las abejas (Groot *et al.*, 2018), como la enfermedad infecciosa Ascosferosis que atacan a las larvas en desarrollo (Flores Serrano *et al.*, 2006), que afectan la producción de miel y en ciertos casos ocasionan la pérdida de la colonia, sino se controlan adecuadamente (Uc Vázquez & Ramos Diaz, 2016).

## CONCLUSIONES

Las cepas bacterianas aisladas de los intestinos de las hormigas pueden inhibir ciertos microorganismos patógenos de las abejas. Los antagonistas analizados resultan de importancia para establecer su posible uso como control biológico frente a enfermedades de las abejas. Los datos obtenidos aportan información a futuros estudios sobre las interacciones entre microorganismos aislados de los intestinos de hormigas asociadas a colmenas y los microorganismos patógenos de abejas, dando lugar al desarrollo de estrategias para un control futuro de enfermedades que implique la aplicación directa de un agente de control biológico. Además, los resultados obtenidos aportan conocimiento taxonómico de las especies de hormigas que anidan en colmenas y que se encuentran en sus cercanías, la importancia y relación con las abejas, la identificación taxonómica de bacterias asociadas a sus intestinos capaces de inhibir hongos patógenos, brindando un aporte principalmente a los pequeños apicultores de la provincia en el manejo de estos insectos en las colmenas.

**BIBLIOGRAFÍA**

- Aronstein, K.A., Murray, K.D. (2010). Chalkbrood disease in honey bees. *Journal of Invertebrate Pathology* 103: pp.20-29.
- Audisio, M.C., Torres, M.J., Sabaté, D.C., Ibarguren, C., Apella, M.C. (2011). Properties of different lactic acid bacteria isolated from *Apis mellifera* L. bee-gut. *Microbiological Research* 1: pp.1-13.
- Benítez Ahrendts M.R., Flores Serrano J.M., Carrillo L. (2015). Diagnóstico Precoz de *Nosema* y *Ascosphaera*. Facultad de Ciencias Agrarias UNJu-Dpto. de Veterinaria-Universidad de Córdoba-España.
- Bergey, D. H., Holt, J.G. (1984). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Baltimore.
- Chadee, D.D., Le Maitre, A. (1990). Hormigas: vectores mecánicos potenciales de infecciones hospitalarias en Trinidad. *Transaction of the Roy Society of Tropical Medicine and Hygiene* 84: p.297.
- Collantes, R., Del Cid, R. (2022). Artrópodos plaga de las abejas (*Apis mellifera* L.). Proyecto de Investigación e Innovación Apícola de Panamá. IDIAP, Centro de Innovación Agropecuaria Genéticos, Río Hato de Recursos.
- Correa Benítez A. (2015). Enfermedades micóticas y virales de la cría. En: Guzmán-Novoa E, Correa Benítez A, editores. *Patología, diagnóstico y control de las principales enfermedades y plagas de las abejas melíferas*. México: Editorial Yire pp. 37-48.
- 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>.
- EEA INTA Bordenave, (2012). Repositorio Institucional, Biblioteca Digital. <https://repositorio.inta.gov.ar/xmlui/handle/20.500.12123/20>.
- Engel, P., Martinson, V. G., Moran, N. A. (2012). Functional diversity within the simple gut microbiota of the honey bee. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(27): pp. 11002-11007.
- Enzmann, J. (1947). Ants associated with apiaries in the New England States. *JNYES* 55(3): pp.219-222.
- Fassouane A., Rachidi M., Rouffaud M., El-Abbouyi A., Nguyen V. (1995). In vitro antifungal activity of *Bacillus licheniformis* FSJ-2 products against dermatophytes. *J Mycol Med* 5: p. 2448.
- Fernández F. (2003). Introducción a las Hormigas de la Región Neotropical. Instituto de investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt, Bogotá, Colombia p. 398.
- Fernández Olmos, A., García de la Fuente, C., Saéz Nieto, J.A., Valdezate Ramos, S. (2010). Métodos de Identificación Bacteriana en el Laboratorio de Microbiología. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.
- Ferrari, C.A. (2011). La Apicultura Argentina y sus regiones. Una visión panorámica. 1a ed. Buenos Aires: Consejo Federal de Inversiones pp.13-19.
- Ferreira, J., Matthee, F., Thomas, A. (1991). Biological control of *Eutypata lata* on grapevine by an antagonistic strain of *Bacillus subtilis*. *Phytopatol* 81: pp. 283-7.

- Flores-Serrano, J.M., Padilla-Álvarez, F., Pérez-Ruiz A. (2006). Cuidado con el pollo escayolado. El Colmenar 84: pp.22-28.
- Gallego Ropero, M.C., Feitosa, R.M., (2014). Evidencias de mimetismo batesiano y parabiosis en hormigas de la sabana brasileña. Sociobiology 61 (3): pp.281-285.
- Garibaldi, L., Steffan Dewenter, I., Winfree, R., Aizen, M., Bommarco, R., Cunningham, S., et al. (2013). Wild Pollinators Enhance Fruit Set of Crops Regardless of Honey Bee Abundance. Science 339(6127): pp.1608-1611.
- Ghasemi, S., G. Almadian, N. Jelodar, H. Rahimian, S. Ghandi li, A. Dehestani, P. Shariati. (2010). Antifungal chitinases from *Bacillus pumilus* SG2: preliminary report. World J. Microbiol. Biotechnol. 26: pp.1437-1443.
- Groot, G., Mayoral, A., Huerta, G. (2018). ¿Cómo prevenir Loque americana en nuestras colmenas? Revista Presencia 69: pp.31-35.
- Gutiérrez M., Zaragoza C., Pérez, A. (2012). Manual de apicultura. Universidad Autónoma-Chapingo 3.
- Hurwitz I., Hillesland H., Fieck A., Das P., Durvasula R. (2011) The paratransgenic sand fly: A platform for control of Leishmania transmission. Parasites and Vectors 4(1): p. 82.
- Jensen, A.B., Aronstein, K., Flores, J.M., Vojvodic, S., Palacio, M.A., Spivak, M. (2015). Standard methods for fungal brood disease research. Journal of Apicultural Research 52(1): pp.1-20.
- Krieg, N.R., Holt, J.G. (1984). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams y Wilkins, Baltimore, Londres pp.11-596.
- Kusnezov, N. (1956). Claves para la identificación de las hormigas de la fauna argentina. IDIA, Min. Agrícola Ganadero Argentino 104-105: pp. 1-56.
- Leifert, C., Li, H., Chidburee, S., Hampson, S., Workman, S., Sigee, D., et al. (1995). Antibiotivity production and biocontrol activity by *Bacillus subtilis* CL27 and *Bacillus pumilus* CL45. J Appl Bact; 78: pp.97-108.
- León, S., Gil, S., Flores, J. M., Padilla, F., Campano, F. (2011). Colmenas con fondos de malla en clima cálido. Vida Apícola 167: pp.21-25.
- Mackay, W. P., Mackay, E.E. (2002). The ants of New Mexico (Hymenoptera: Formicidae). United Kingdom. United States of America p.408.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J.B. (2000). Biología de los microorganismos. 8ª edición. Prentice Hall. Madrid p.986.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J.B. (2003). Brock Biology of Microorganism. 10th edition, Prentice Hall, New Jersey pp.138-148.
- Maggi, M.D., Negri, P., Plischuk, S., Szawarski, N., De Piano, F., De Feudis, L., Eguaras, M.J., Audisio, M.C. (2013). Effects of the organic acids produced by a lactic acid bacterium in *Apis mellifera* colony development, *Nosema ceranae* control and fumagillin efficiency. Veterinary Microbiology. 167: pp.474-483.
- Oi, D., Pereira, R. (1993). Ant behavior and microbial pathogens (Hymenoptera: Formicidae). Florida Entomologist. 76: pp.63-74.

- Ongena, M., Jaques, P., Toure, Y., Destain, J., Jabrane, A., Thonart, P. (2005). Involvement of fengycin-type lipopeptides in the multifaceted biocontrol potential of *Bacillus subtilis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 69: pp.29-38.
- Palacio, E.E., Fernández, F. (2003). Capítulo 15. Clave para las subfamilias y géneros. Págs. 233-260. En: *Introducción a las hormigas de la región Neotropical*. Fernández, F. (ed.). Bogotá, Colombia. Instituto de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.
- Pérez, Á., Coto, A., Echemendía, P., Ávila, Q.G. (2015). *Pseudomonas fluorescens* Migula, ¿control biológico o patógeno? *Rev. Protección Veg.* 30(3): pp.225-234.
- Porrini, M.P., Audisio, M.C., Sabaté, D.C., Ibarguren, C., Medici, S.K., Sarlo, E.G., Garrido, P.M., Eguaras, M.J. (2010). Effect of bacterial metabolites on microsporidian *Nosema ceranae* and on its host *Apis mellifera*. *Parasitology Research* 107: pp.381-388.
- Portillo, A., RuizArrondo, I., Oteo, J.A. (2018). Artrópodos vectores en España y sus enfermedades transmisibles. *Med Clin (Barc)*. 151(11): pp.450-459.
- Poveda J., (2019). Los microorganismos asociados a los insectos y su aplicación en la agricultura. Vol. 20, Núm. 1 Enero - Febrero 2019. *Revista digital universitaria*.
- Reynaldi, F.J., De Giusti, M.R., Alippi, A.M. (2004). Inhibition of the growth of *Ascosphaera apis* by *Bacillus* and *Paenibacillus* strains isolated from honey. *Revista Argentina de Microbiología*. 36(1): pp.51-55. <http://www.scielo.org.ar/pdf/ram/v36n1/v36n1a11.pdf>.
- Ritter, W. (2001). *Enfermedades de las Abejas*. Editorial Acribia S.A., Zaragoza, España p.146.
- Rodas-Junco, B.A., Magaña-Sevilla, H.F., Tun-Suárez, J.M., Reyes-Ramírez, A. (2009). Antifungal activity in vitro of native *Bacillus* sp. strains against *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. *Research Journal of Biological Sciences* 4(9): pp.985-989.
- Ruiz, G.B., Retamoso, R.M., Benitez Ahrendts, M. (2021). *Bacillus subtilis* aislada de cutículas de hormigas que anidan en colmenas como antifúngico de hongos patógenos de abejas. *Chilean J. Agric. Anim. Sci., ex Agro-Ciencia* (2021) 37(3): pp.270-276.
- Ruiz, G., Benítez Ahrendts, M. (2018). Registro de hormigas (Hymenoptera: Formicidae) presentes en apiarios de *Apis mellifera* de los Valles Templados de la provincia de Jujuy-Argentina. *Journal of the Selva Andina. Research Society*; 9(2): pp.113-119.
- Russell J.A., Funaro C.F., Giraldo Y.M., Goldman-Huertas B., Suh D., Kronauer D.J.C. 2012. Una verdadera colección de bacterias hereditarias de hormigas, mariposas y más allá: amplias encuestas moleculares y una revisión sistemática. *PLoS ONE* 7 (12): e51027. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051027>.
- Sadfi, N., Cherif, M., Hajlaoui, M.R., Boudabbous, A., Belanger, R. (2002). Isolation and partial purification of antifungal metabolites produced by *Bacillus cereus*. *Ann. Microbiol.* 52: pp.323-338.
- Shu, Q., Amber, G., Geoffrey, G., Malcolm, K. (2010). Heme and blood-feeding parasites: friends or foes? *Parasites and Vectors* 3: p.108.
- Simothy, L., Mahomoodally, F., Neetoo, H. (2018). Un estudio sobre el potencial de las hormigas para actuar como vectores de patógenos transmitidos por los alimentos. *Microbiología de* 333. <https://>

[doi.org/10.3934/microbiol.2018.2.319](https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.2.319) AIMS 4(2): p.319

- Tejera, B., Heydrich, M., Rojas, M. (2012). Antagonismo de *Bacillus* spp. frente a hongos fitopatógenos del cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.) Rev. Protección Vegetal 2: pp.117-122.
- Uc-Vázquez, A., Ramos-Díaz, A. (2016). Principales problemas sanitarios y errores comunes en la producción de miel de abejas (*Apis mellifera*). Producción y comercialización de miel y sus derivados en México: Desafíos y oportunidades para la exportación. CIATEJ. pp.54-67.
- Vásquez Bolaños, M. (2015). Taxonomía de Formicidae (Hymenoptera) para México. Métodos en Ecología y Sistemática 10 (1): pp.1-53.
- Vicente Rubiano, M. (2016). Tesis Doctoral. Análisis virológico y epidemiológico del síndrome de despoblamiento de las colmenas en España. Estudio de causas y consecuencias. Universidad Complutense de Madrid. España.
- Wang, L.T., Lee, F.L., Tai, C.J., Kasai, H. (2007). Comparison of *gyrB* gene sequences, 16S rRNA gene sequences and DNA-DNA hybridization in the *Bacillus subtilis* group. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology; 57: pp.1846-50.
- Zamora-Natera, J.F., Bernal-Alcocer, A., Ruiz-López, M., Soto-Hernández, M., Escalante-Estrada, A., Vibrans-Lindemann, H. (2005). Perfil de alcaloides de semillas de *Lupinus exaltatus* Zucc. (Fabaceae) y la evaluación antifúngica del 120 extracto alcaloideo y lupanina contra fitopatógenos. Revista Mexicana de Fitopatología 23(2): pp.124-129.

**Agraria**