

CAPÍTULO 30

Nosema apis. Nosemosis

Santiago Plischuk

Generalidades

Nosema apis es una de las especies de microsporidios mejor conocidas, su descripción data de 1909 y fue llevada a cabo por el científico alemán Enoch Zander, luego de observar sus esporos en células del tubo digestivo de abejas⁴. Al momento, *N. apis* solo se ha hallado asociada a la abeja europea *Apis mellifera*⁵. La enfermedad que este organismo es capaz de producir en su hospedador se denomina Nosemosis o Nosemiasis y debido a la importancia sanitaria que posee en la industria apícola, se han investigado desde entonces innumerables aspectos inherentes a la misma. Como toda especie de microsporidio, posee un complejo aparato interno de infección que consiste principalmente en un tubo largo y enrollado llamado filamento o tubo polar. En 2019, el análisis de estudios moleculares enfocados a resolver la filogenia de la familia Nosematidae indicó que este microsporidio, así como las demás especies de *Nosema* tratadas en este capítulo, pertenecen al género *Vairimorpha* (Tokarev et al., 2020); por razones prácticas, no obstante, se las tratará de acuerdo a la nomenclatura clásica.

Morfología

La morfología de *N. apis* varía con el estado en el que se halle en su ciclo de vida, el cual se puede generalizar en dos fases, una vegetativa y una de resistencia. En sus formas vegetativas (merontes y esporontes), *N. apis* posee aspecto desde ameboide a ovoide, sin ninguna cubierta de resistencia, o bien incipiente. Los cuerpos de transmisión resistentes (esporos) son ovoides, con una cubierta quitinosa bien desarrollada, refringentes al microscopio óptico, midiendo⁶ en promedio 5,0 x 2,9 micras (Figura 1B).

⁴ Zander (1909). Observación que previamente también había realizado E. Dönhoff (véase White, 1919).

⁵ Si bien, al menos experimentalmente, la especie de abejorro *Bombus fervidus* sería susceptible también a *N. apis* (Showers et al., 1967).

⁶ Medidas según Zander (1911). Pueden hallarse variaciones en sucesivas publicaciones de otros autores.

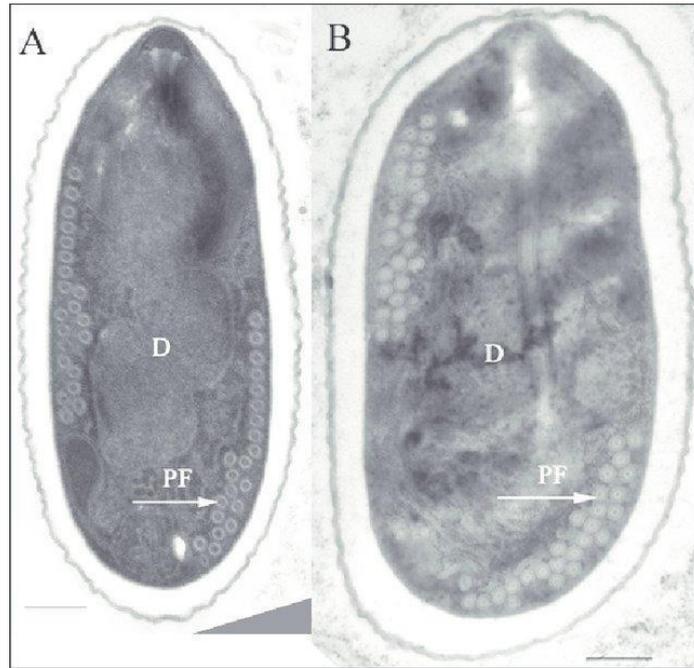


Figura 1. Esporos de (A) *Nosema ceranae* y (B) *Nosema apis*. D: diplocarion; PF: filamento polar. Escala 0,5 μm [Microscopía electrónica de Transmisión] (Tomado de Paxton, 2010)

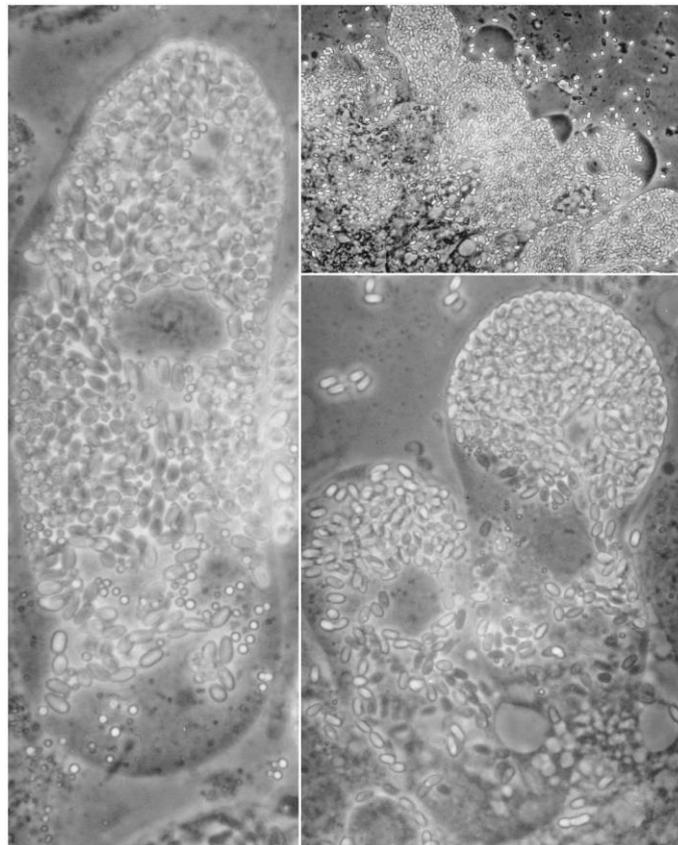


Figura 2. Fotomicrografías (contraste de fases) de *Nosema ceranae* realizadas a partir de preparados frescos (solución salina) de tubo digestivo de *A. mellifera*. A) Epitelio intestinal infectado [LT: Luz del tubo digestivo] (Escala = 50 μm). B) y C) Enterocitos infectados (Escalas = 10 μm).

Especies

La nosemosis se atribuyó durante casi 100 años a *N. apis* hasta que, en el año 2006, otra especie denominada *Nosema ceranae* (*Vairimorpha ceranae*) fue reportada como un segundo agente etiológico, con una amplia dispersión mundial, afectando tanto a *Apis cerana* (“abeja de la India”, su especie hospedadora original) como a *A. mellifera* (Fries et al., 1996; Higes et al., 2006; Klee et al., 2007).

El espectro de investigaciones inherentes a ambas especies de *Nosema* es extremadamente amplio a nivel mundial, y especialmente desde la detección de *N. ceranae* en *A. mellifera*, los trabajos acerca de esta especie se multiplicaron rápidamente (véase Grupe & Quandt, 2020). Los estudios focalizados en esta nueva asociación mostraron que *N. ceranae* diferiría de *N. apis* tanto en su estructura esporal interna, ciclo vital y sintomatología, como en la dinámica de la enfermedad a nivel de la colonia afectada (Forsgren & Fries, 2010). Otra marcada diferencia entre *N. apis* y *N. ceranae* reside en su espectro hospedador: mientras *N. apis* solo ha sido aislada de *A. mellifera*, se han reportado detecciones de *N. ceranae* asociada a todas las especies conocidas de *Apis*, así como a otras especies de las familias Apidae, Andrenidae, Megachilidae, Halictidae, Colletidae, Melittidae y Vespidae (Plischuk et al., 2009; Li et al., 2012; Ravoet et al., 2014; Porrini et al., 2017; Müller et al., 2019), si bien su carácter patogénico en la mayoría de estos potenciales hospedadores no ha sido aún verificada.

Una tercera especie, *Nosema neumanni* (*Vairimorpha neumanni*), se ha descrito recientemente asociada a *A. mellifera* (Chemurot et al., 2017). Su núcleo también es diplocariótico, pero sus esporos son de menor tamaño (2,4 x 1,8 micras en promedio) y su filamento polar presenta un menor enrollamiento (10-12 vueltas) en comparación con los esporos de *N. apis* (más de 30) y *N. ceranae* (20–23).

El mayor inconveniente para la identificación de estas tres especies es la similitud externa que presentan sus esporos, tanto en tamaño como en morfología (Fig. 1). Por lo tanto, para una correcta diagnosis son necesarias técnicas de tipo molecular (Martín-Hernández et al., 2007; O.I.E., 2008; Chemurot et al., 2017; Grupe & Quandt, 2020).

Transmisión y formas de diseminación

La transmisión ocurre en forma horizontal⁷, tanto durante la trofalaxia⁸ como por la vía oro-fecal durante (por ej.) la limpieza de las celdas o el forrajeo, como las vías más comunes. Los esporos ingresan al hospedador por vía oral y una vez en su intestino medio, el cual presta

⁷ Transferencia desde un individuo hospedador a otro, excepto desde progenitores directamente a la descendencia inmediata (Onstad et al., 2006).

⁸ Transferencia de alimentos u hormonas entre individuos mediante el contacto de aparatos bucales)

condiciones adecuadas (pH, concentración de iones, etc.), el filamento polar se evierte violentamente, perforando una célula del epitelio intestinal. El esporoplasma logra ingresar a esa célula hospedadora donde lleva a cabo la mayor parte de su ciclo (Fries, 1993).

Ciclo biológico

Nosema apis es un parásito intracelular obligado, cuyo ciclo consta de una alternancia de fases merogónica y esporogónica, con formación de cuerpos de transmisión resistentes denominados esporos, siendo estos últimos los únicos estados capaces de sobrevivir fuera de la célula hospedadora (Figura 2). Una vez ingeridos éstos por el hospedador y bajo disparadores aún no bien determinados, el tubo o filamento polar es extruido rápidamente y penetra en una célula epitelial, permitiendo vehicular su esporoplasma (material nuclear y parte del citoplasma) hasta dentro de ésta. Una vez reestructurado el patógeno en (y a expensas de) la célula hospedadora, sobreviene una etapa de división y multiplicación (merogonia) del estado vegetativo o meronte. Posteriormente una fase esporogónica da lugar a la formación de esporontes y finalmente esporos, los que salen a la luz del tubo digestivo luego de provocar el estallido de la célula. Una vez allí podrán reinfectar otras células cercanas o bien se evacúan al exterior con las heces, permaneciendo infectivos para reiniciar el ciclo en otro individuo que los ingiera (Keeling & Fast, 2002; Smith, 2009).

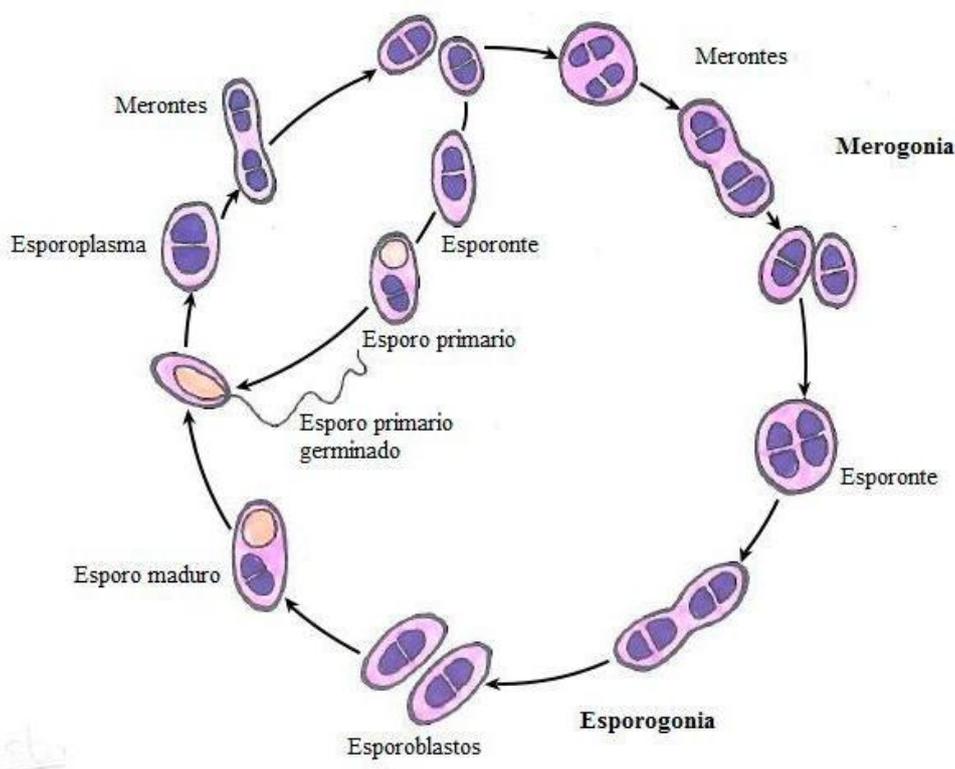


Figura 2. Ciclo biológico de *Nosema* spp.

Patogenia y signología clínica

Se considera que la Nosemosis puede ser causada por dos⁹ especies del género *Nosema*: *N. apis* y *N. ceranae*, y afecta a las formas adultas del insecto (COLOSS Workshop, 2009; Higes et al., 2010a). Esta enfermedad se ha reportado en prácticamente todos los países con prácticas de apicultura (Bailey & Ball, 1991; Matheson, 1996). Los signos más comúnmente observados en las colonias de abejas son el acortamiento de su vida útil, especialmente de las obreras (Mayack & Naug, 2009), produciendo por consiguiente una reducción de la capacidad de búsqueda de alimento, y la disminución de productividad y fortaleza de las colmenas (Botías et al., 2013a). Los síntomas más comunes de la infección por *Nosema* a nivel individual son la disentería y las lesiones microscópicas dentro del intestino y los túbulos de Malpighi (Grupe & Quandt, 2020). En los últimos 15 años se ha indagado más profundamente acerca de los citados agentes etiológicos debido a su posible responsabilidad en el llamado Síndrome de Desplazamiento de Colmenas (S.D.C.) (véase Bibliografía ampliatoria).

Distribución Geográfica

En la actualidad, los registros de *N. apis* muestran una amplitud geográfica casi mundial pero una baja prevalencia. Exceptuando algunos casos en los que *N. apis* presenta mayores prevalencias que *N. ceranae* (Fries, 2009), esta última especie ha mostrado no sólo una amplia distribución geográfica, sino también prevalencias elevadas (COLOSS Workshop, 2009). Se ha propuesto que *N. ceranae* podría estar desplazando a *N. apis* por competencia sobre el mismo hospedador (Klee et al., 2007), o bien que la dominancia de *N. ceranae* con respecto a *N. apis* solo esté reflejando la capacidad de la primera para sobrevivir y completar su ciclo de vida bajo rangos más amplios en cuanto a las condiciones circundantes (Martín-Hernández et al., 2009; Higes et al., 2007, 2010b). *Nosema neumannii*, por su parte, solo se ha detectado en Uganda, África (Chemurot et al., 2017).

Diagnóstico

Clásicamente se ha diagnosticado la enfermedad mediante homogeneizaciones mecánicas o manuales y posterior observación de una alícuota de la suspensión resultante al microscopio. Posterior a la descripción de *N. ceranae* (y recientemente de *N. neumannii*), con similitudes mor-

⁹ Aún se desconoce si *N. neumannii* posee la capacidad de producir una enfermedad equivalente (Chemurot et al., 2017).

fológicas y amplia distribución, la identificación óptica dejó de considerarse inequívoca. Por consiguiente, comenzaron a desarrollarse técnicas moleculares más sensibles y específicas (Aurori et al., 2011; Bartolomé et al., 2020).

Para cuantificar los esporos presentes en una muestra también se pueden llevar a cabo diferentes técnicas: I) Por microscopía óptica, realizando conteos de esporos mediante la utilización de un hemocitómetro o cámara de Neubauer, y II) utilizando técnicas moleculares, mediante *quantitative (o Real-time) Polymerase Chain Reaction* (qPCR). La obtención de la intensidad de la infección mediante primera de ellas se basa en el conteo directo de esporos maduros en un volumen conocido de líquido. Matemáticamente se extrapola el resultado al volumen total de la muestra y se obtiene el resultado. Si bien cuenta con la ventaja de contabilizar únicamente los esporos maduros (forma que representa la intensidad de la infección propiamente dicha), resulta lenta y depende del criterio y experiencia del observador. La segunda técnica resulta más rápida y objetiva, pero cuenta con la desventaja de considerar no solo los esporos maduros sino todo el material genético del parásito presente en la muestra, sobreestimando el resultado final (Burgeois et al., 2009; COLOSS Workshop, 2009; Aurori et al., 2011).

Tratamiento

El tratamiento para la nosemosis se basa tanto en la aplicación de antiparasitarios como en la profilaxis. La droga más efectiva para combatirla es la Fumagilina (sal de biciclohexilamonio), obtenida del hongo *Aspergillus fumigatus* (Webster, 1994; Botías et al., 2013b). La aplicación de esta droga, sin embargo, se halla prohibida en numerosos países debido a su residualidad en la miel. Otros químicos capaces de tener cierto efecto (aunque de menor efectividad) contra la nosemosis, son el Timol, las Sulfas o el Toltrazuril (van der Heever, 2016; Rodríguez García, 2018).

Profilaxis

Además del posible tratamiento antiparasitario a los individuos, el material (colmenas, marcos, cuadros con cera labrada, etc.), debe mantenerse desinfectado. Para ello se lo expone a los gases liberados de una solución de ácido acético glacial, a fin de inactivar los esporos. El material de madera también puede flamearse con soplete. Algunas de las buenas prácticas de manejo recomendadas son la eliminación periódica de panales obsoletos, la ubicación de colmenas en sitios sin alta humedad ni sombra excesiva y con una variada oferta de flora melífera (Formato & Smulders, 2011).

Referencias

- Aurori, C.M., Dezmirean, D.S. & Moritz, R.F. (2011). *Nosema apis* and *N. ceranae* in Western honeybee (*Apis mellifera*) - geographical distribution and current methods of diagnosis. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science and Biotechnologies*. 68(1-2).
- Bailey, L. & Ball, B.V. (1991). *Honey bee pathology*. 2nd Ed. London: Academic Press.
- Bartolomé, C., Buendía-Abad, M., Benito, M., Sobrino, B., Amigo, et al. (2020). Longitudinal analysis on parasite diversity in honeybee colonies: new taxa, high frequency of mixed infections and seasonal patterns of variation. *Scientific Reports*. 10(1): 1-9.
- Botías, C., Martín-Hernández, R., Barrios, L., Meana, A. & Higes, M. (2013a). *Nosema* spp. infection and its negative effects on honey bees (*Apis mellifera iberiensis*) at the colony level. *Veterinary Research*. 44(1): 25.
- Botías, C., Martín-Hernández, R., Meana, A. & Higes, M. (2013b). Screening alternative therapies to control Nosemosis type C in honey bee (*Apis mellifera iberiensis*) colonies. *Research in Veterinary Science*. 95(3): 1041-1045.
- Bourgeois, A.L., Rinderer, T. E., Beaman, L.D. & Danka, R.G. (2010). Genetic detection and quantification of *Nosema apis* and *N. ceranae* in the honey bee. *Journal of Invertebrate Pathology*. 103(1): 53-58.
- Chemurot, M., De Smet, L., Brunain, M., De Rycke, R. & de Graaf, D.C. (2017). *Nosema neu-manni* n. sp. (Microsporidia, Nosematidae), a new microsporidian parasite of honeybees, *Apis mellifera* in Uganda. *European Journal of Protistology*. 61: 13-19.
- Chen, Y.P., Evans, J.D., Murphy, C., Gutell, R., Zuker, M., et al. (2009). Morphological, Molecular, and Phylogenetic Characterization of *Nosema ceranae*, a Microsporidian Parasite Isolated from the European Honey Bee, *Apis mellifera*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 56(2): 142-147.
- COLOSS Workshop (2009). *Nosema disease: lack of knowledge and work standardization*. Guadalajara, España.
- Formato, G. & Smulders, J.M. (2011). Risk management in primary apicultural production. Part 1: bee health and disease prevention and associated best practices. *Veterinary Quarterly*. 31(1): 29-47.
- Forsgren, E. & Fries, I. (2010). Comparative virulence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in individual European honey bees. *Veterinary Parasitology*. 170 (3–4): 212-217.
- Fries, I. (1993). *Nosema apis*: A parasite in the Honey bee colony. *Bee World*. 74(1): 5-19.
- Fries, I. (2009). *Nosema ceranae* in European honeybees (*Apis mellifera*). *Journal of Invertebrate Pathology*. 103: S73–S79.
- Fries, I., Feng, F., da Silva, A., Slemenda, S.B. & Pieniasek, N.J. (1996). *Nosema ceranae* n. sp. (Microspora, Nosematidae). Morphological and molecular characterization of microsporidian parasite of the Asian honey bees *Apis cerana* (Hymenoptera, Apidae). *European Journal of Protistology*. 32: 356-365.

- Grupe, A.C. & Quandt, C.A. (2020). A growing pandemic: A review of *Nosema* parasites in globally distributed domesticated and native bees. *PLoS Pathogens*. 16(6): e1008580.
- Higes M., Martín-Hernández, R., Botías, C., Garrido-Bailón, E., González-Porto, et al. (2008). How natural infection by *Nosema ceranae* causes honey bee colony collapse. *Environmental Microbiology*. 10: 2659-2669.
- Higes, M., García-Palencia, P., Botías, C., Meana, A. & Martín-Hernández, R. (2010b). The differential development of microsporidia infecting worker honey bee (*Apis mellifera*) at increasing incubation temperature. *Environmental Microbiology Reports*. 2(6): 745-748.
- Higes, M., García-Palencia, P., Martín-Hernández, R. & Meana, A. (2007). Experimental infection of *Apis mellifera* honey bees with the Microsporidia *Nosema ceranae*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 94: 211-217.
- Higes, M., Martín-Hernández & R., Meana, A. (2006). *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. *Journal of Invertebrate Pathology*. 92: 81-83.
- Higes, M., Martín-Hernández R. & Meana, A. (2010a) *Nosema ceranae* in Europe: An emergent type C nosemosis. *Apidologie*. 41: 375-392.
- Keeling, P. (2009). Five questions about microsporidia. *PLoS Pathogens*, 5(9), e1000489.
- Keeling, P.J. & Fast, N.M. (2002). Microsporidia: Biology and Evolution of Highly Reduced Intracellular Parasites. *Annual Review of Microbiology*. 56: 93-116.
- Klee J., Besana, A.M., Genersch, E., Gisder, S., Nanetti, A., et al. (2007). Widespread dispersal of the Microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of the western honey bee, *Apis mellifera*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 96: 1-10.
- Li, J., Chen, W., Wu, J., Peng, W., An, J., et al. (2012). Diversity of *Nosema* associated with bumblebees (*Bombus* spp.) from China. *International Journal for Parasitology*. 42(1): 49-61.
- Martín-Hernández R., Meana, A., García-Palencia, P., Martín, P., Botías, C., et al. (2009). Effect of temperature on the biotic potential of honeybee microsporidia. *Applied and Environmental Microbiology*. 75: 2554-2557.
- Martín-Hernández R., Meana, A., Prieto, L., Martínez Salvador, A., Garrido-Bailón, E., Higes, M. (2007). Outcome of Colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae*. *Applied and Environmental Microbiology*. 73: 6331-6338.
- Matheson, A. (1996). World bee health update. *Bee World*. 77: 45-51.
- Mayack, C., Naug, D. (2009). Energetic stress in the honeybee *Apis mellifera* from *Nosema ceranae* infection. *Journal of Invertebrate Pathology*. 100(3): 185-188.
- Müller, U., McMahon, D.P. & Rolff, J. (2019). Exposure of the wild bee *Osmia bicornis* to the honey bee pathogen *Nosema ceranae*. *Agricultural and Forest Entomology*. 21(4): 363-371.
- O.I.E. (2008). *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 1 (2.2.4): 410-414.
- Onstad D.W., Fuxa, J.R., Humber, R.A., Oestergaard, J., Shapiro Ilan, D.I., et al. (2006). *An Abridged Glossary of Terms Used in Invertebrate Pathology*. Society of Invertebrate Pathology.
- Paxton, R.J. (2010). Does infection by *Nosema ceranae* cause "Colony Collapse Disorder" in honey bees (*Apis mellifera*)? *Journal of Apicultural Research*. 49(1): 80-84.

- Plischuk, S., Martín-Hernández, R., Prieto, L., Lucía, M., Botías, C., et al. (2009). South American native bumblebees (Hymenoptera: Apidae) infected by *Nosema ceranae* (Microsporidia), an emerging pathogen of honeybees (*Apis mellifera*). *Environmental Microbiology Reports*. 1(2): 131-135.
- Porrini, M.P., Porrini, L.P., Garrido, P.M., Porrini, D.P., Muller, F., et al. (2017). *Nosema ceranae* in South American native stingless bees and social wasp. *Microbial Ecology*. 74: 761-764.
- Ravoet, J., De Smet, L., Meeus, I., Smagghe, G., Wenseleers, T. & de Graaf, D.C. (2014). Widespread occurrence of honey bee pathogens in solitary bees. *Journal of Invertebrate Pathology*. 122: 55-58.
- Ringuelet, R.A. (1947). Difusión de las enfermedades parasitarias de las abejas en la Argentina y las medidas para combatirlas. Ministerio de Agricultura de la Nación. *Arg. Publ. Misc.* N° 261. 15 pp. Buenos Aires.
- Rodríguez García, C. (2018). *Nuevas estrategias para el control de la nosemosis en Apis mellifera*. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid.
- Showers R.E., Jones, F.A. & Moeller, F.E. (1967). Cross-Inoculation of the Bumble Bee *Bombus fervidus* with the Microsporidian *Nosema apis* from the Honey Bee. *Journal of Economic Entomology*. 60(3): 774-777.
- Smith, J.E. (2009). The ecology and evolution of microsporidian parasites. *Parasitology*. 136(14): 1901.
- Stankus, T. (2008). A Review and Bibliography of the Literature of Honey Bee Colony Collapse Disorder: A Poorly Understood Epidemic that Clearly Threatens the Successful Pollination of Billions of Dollars of Crops in America. *Journal of Agricultural & Food Information*. 9(2): 115-143.
- Tokarev, Y.S., Huang, W.F., Solter, L.F., Malysh, J.M., Becnel, J.J. & Vossbrinck, C.R. (2020). A formal redefinition of the genera *Nosema* and *Vairimorpha* (Microsporidia: Nosematidae) and reassignment of species based on molecular phylogenetics. *Journal of Invertebrate Pathology*. 169: 107279.
- Van den Heever, J.P., Thompson, T.S., Otto, S.J.G., Curtis, J.M., Ibrahim, A. & Pernal, S.F. (2016). Evaluation of Fumagilin-B® and other potential alternative chemotherapies against *Nosema ceranae*-infected honeybees (*Apis mellifera*) in cage trial assays. *Apidologie*. 47: 617-630.
- Van Engelsdorp, D., Evans, J.D., Saegerman, C., Mullin, C., Haubruge, E., et al. (2009). Colony Collapse Disorder: A Descriptive Study. *PLoS ONE*. 4(8): e6481.
- Webster, T.C. (1994). Effects of Fumagillin on *Nosema apis* and Honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology*. 87(3): 601-604.
- White, G.F. (1919). *Nosema*-disease (N° 780). US Department of Agriculture.
- Zander, E. (1909). Tierische Parasiten als Krankheitserreger bei der Biene. *Münchener Bienen-Zeitung*. 31: 196-204.
- Zander, E. (1911). *Handbuch der Bienenkunde II. Krankheiten und Schädlinge der erwachsenen Bienen*. Stuttgart.