

## بررسی و توصیف روش تشخیص اسپور بیماری نوزما در چندین زنبورستان استان ایلام

ابراهیم باباحمدی\*

### چکیده

بیماری نوزما زنبورهای بالغ، ناشی از قارچ *Nosema spp* است. یک عامل فرصت طلب بوده که در داخل سلول، اسپور تشکیل داده و با خروج از سلول به طور فزاینده گسترش می‌یابد و به عنوان یک پاتوژن مهم حشرات شناخته شده است. نوزما یکی از جدی‌ترین بیماری‌های قارچی زنبوران عسل بالغ است که در تمام دنیا وجود دارد و توسط دو گونه نوزما آپیس و نوزما سرانا ایجاد می‌شود و به هر سه زنبور موجود در کندو سرایت می‌کند. هدف از این تحقیق توصیف نحوه تشخیص نوع اسپور بیماری نوزما که ناشی از توسعه این بیماری است که در چندین زنبورستان استان ایلام صورت گرفت. در این تحقیق، نمونه زنبور بالغ از تعدادی زنبورستان، توسط ظرف شیشه‌ای محتوای الکل ۷۰ درصد گرفته شد و به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه ایلام ارسال گردید. در نتیجه با کمک میکروسکوپ، اسپور نوزما، بزرگ، بیضوی، سفید و روشن و یکنواخت مشاهده شدند. تعداد اسپور در زنبور عسل با استفاده از فرمول ویژه شمارش و تعیین گردید. داروی رایج در گذشته فوماژلین بوده است. لذا فوماژلین در ایران کاربرد و از گسترش و توسعه نوزما جلوگیری می‌نماید.

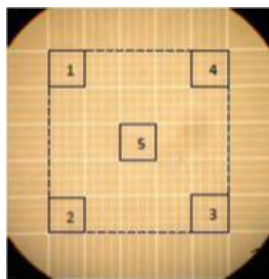
**واژه‌های کلیدی:** نوزما، انگلی، زنبور عسل، تشخیص

نوزما یکی از شایع‌ترین بیماری‌های زنبوران بالغ است و نوزادان زنبور عسل هرگز به این بیماری مبتلا نمی‌شوند. به عنوان قارچ طبقه بندی شده است. در مناطقی که دارای زمستان طولانی است، این بیماری شیوع بیشتری دارد، زیرا زنبوران در چنین مناطقی مدت بیشتری در کندو به سر می‌برند و نمی‌توانند از آن خارج شوند، ولی در مناطق خشک و معتدل این بیماری کم‌تر مشاهده می‌شود (۱). این بیماری قارچی است به نام نوزما که در داخل سلول‌های جدار روده میانی زنبور عسل رشد و تکثیر کرده و آن‌ها را به اسهال مبتلا می‌کند. اسپوره‌های نوزما به وسیله آب و مواد غذایی وارد دستگاه گوارش زنبوران می‌شوند (۲). تعدادی از زنبوران کارگر که شدیداً آلوده هستند، در اطراف کندو به پشت افتاده و در حالی که حرکات ضعیفی انجام داده، قدرت پرواز خود را از دست می‌دهند. زنبوران آلوده به این بیماری قدرت پرواز ندارند و نمی‌توانند پرواز کنند. بی‌نظمی و بی‌قراری وجود دارد و تعدادی از زنبوران با علائم فلجی و شکم‌های باد کرده و نیش‌های بدون رفلکس در اطراف کندوها وجود دارند. زنبوران مبتلا به علت پر بودن روده از مدفوع، بزرگ‌تر از زنبوران سالم بوده و براق و چرب به نظر می‌رسند. لکه‌های اسهالی بر روی تخته پرواز و قاب‌ها و ضعیف شدن سریع کلنی از این علائم است. معمولاً ملکه جزء آخرین قربانی‌های کندو است (۳). برای تشخیص و رؤیت بیماری می‌توانیم شکم زنبور را فشار دهیم و نیش آن را گرفته بیرون آوریم تا روده و معده همراه نیش از بدن خارج شود. چنانچه روده‌ها به رنگ قهوه‌ای یا کمی قرمز باشند دلیل بر سلامتی، ولی در زنبوران بیمار در اثر اجتماع اسپوره‌های نوزما، به رنگ سفید شیری دیده می‌شود. در تشخیص آزمایشگاهی

بیماری مقدار زیادی اسپور در سلول‌های بافت پوششی رودها مشاهده می‌شوند (۴). اصولی را به منظور کاهش و جلوگیری از ظهور بیماری نوزما وجود دارد و باید در نظر گرفت. در پاییز کندوها را با جمعیت زیاد و ملکه جوان و بارور برای گذرانیدن زمستان آماده کرد. محل خشک و آفتاب‌گیری، بدون رطوبت برای استقرار کندوها در زمستان انتخاب کرد که این محل نباید بادگیر باشد. به اندازه کافی گرده گل و عسل برای زنبوران در کندو گذاشته (۱۵-۱۲ کیلو گرم برای هر کندو) شود و در صورت کمبود عسل در کندوها، در پاییز باید زنبوران به اندازه کافی تغذیه شوند. قاب‌های آلوده را که منبع آلودگی و انتشار مجدد بیماری در بین کندوهای سالم است، در صورت ضدعفونی با بخار اسید استیک دوباره می‌توان استفاده کرد. بخار اسید استیک اسپوره‌های نوزما را از بین برده ولی به گرده گل و عسل موجود در قاب‌ها صدمه‌ای وارد نمی‌آورد. برای تهیه اسید استیک ۸۰٪ یک قسمت آب را با چهار قسمت اسید استیک مخلوط و مورد استفاده قرار می‌دهند (۵). برای ضدعفونی قاب‌ها، طبقات محتوی قاب را روی کندویی قرار داده و بین هر طبقه یک قطعه نمد و یا پنبه را که در اسید استیک خیس خورده، قرار می‌دهند. در روی آخرین طبقه نیز یک قطعه نمد یا پنبه خیس‌انیده شده در اسید استیک، باید قرار داده شود. کندو و طبقات را در محلی سایه‌دار قرار داده و تمام منافذ از جمله دریچه پرواز کندو را مسدود می‌کنند و مدت یک هفته آن را به حال خود باقی گذاشته تا بخار اسید استیک کلیه اسپوره‌های نوزما را از بین برد. در موقع کار با اسید استیک باید دقت شود که اسید به صورت و چشم‌ها پاشیده نشود و در صورت تماس دست یا بدن، آن را با آب شست تا ایجاد

شکر استفاده کرد. همچنین از آبی مایسین نیز می‌توان در معالجه بیماری استفاده کرد. میزان بالای ذخیره پروتئین در بدن زنبوران در پائیز ضرورت دارد، در این صورت می‌توانند با نوزما مبارزه کرده و شرایط سخت زمستان را سپری نموده و پروتئین کافی برای زاد و ولد زنبور در بهار خواهند داشت. زنبوران با میزان پائین ذخیره پروتئین بدن در پائیز، معمولاً زمستان گذرانی خوبی نداشته به نوزما حساس و دچار تلفات بهاره شده و یا در پرورش بهاره ضعیف خواهند بود (۸). هدف پیشگیری و کنترل نوزما با استفاده از روش های بیولوژیک و سالم سازی کلنی ها از این آلودگی انگلی بود.

انتخاب و تعداد اسپور در آنها شمارش می‌شد، تصویر ۱. اسپورهایی که روی خط پایین و راست هستند، شمرده نمی‌شدند، لامل، میکروسکوپ بیولوژی، بطری شستشو، کاغذ بهداشتی، پاکت کاغذی برای نمونه گیری لازم بود و استریل و خشک کردن تمام تجهیزات ضروری بود.



تصویر ۱

هر زنبورستان آلوده، ۵ کندو و از هر کندو ۳۰ زنبور بالغ اخذ گردید.

سوختگی نکنند. پس از اتمام کار و قبل از استفاده مجدد از قابها باید به مدت ۴۸ ساعت آنها را تهویه کرد و برای تهویه قابها کافی است که نمد یا پنبه خیس شده در اسید استیک را از بین طبقات برداشته و دریچه کندو را باز و در آن را برداشت (۶). چون اطراف کندوها آلوده می‌شوند، خاک اطراف کندوها را باید با نفت زیر و رو مخلوط کرد تا اسپورهایی موجود در خاک از بین بروند. در صورت استفاده از عسل کندوهای بیمار برای تغذیه زنبوران، آن را با هم حجم خود با آب مخلوط کرده و در ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت یک ساعت قرار داده شود (۷). برای معالجه کندوهای بیمار باید از فومیدل ب ۱ مخلوط با شربت

#### مواد و روش کار

در این مطالعه تحقیقی از مواد و وسایلی مثل آب مقطر، ضد عفونی، کلاه زنبورداری، کاردک، دودی، برس زنبور، پیپت، پنس، هاون چینی، سرنگ ۲۵ سی سی، قطره چکان، لام هماسیتومتر (دارای ۲۵ مربع بزرگ است که هر کدام دارای ۱۶ مربع کوچک هستند. ۵ مربع بزرگ را در ۴ گوش و یکی در وسط

#### تعداد نمونه

با توجه به گسترش این بیماری و فرصت طلب بودن آن، در مرحله اول از زنبورستان‌هایی که فرم بالینی یا تلفات در آن وجود داشت، نمونه گیری صورت گرفت. از

## نحوه ارسال به آزمایشگاه

لازم از جمله بستن کامل درب نمونه‌ها و پیشگیری‌های لازم جهت جلوگیری از تخریب نمونه‌ها به عمل آمد. از جمله نمونه‌ها با یخ به آزمایشگاه ارسال شدند.

آلودگی لام هماسیتومتر ضد عفونی شده، مورد استفاده قرار گرفت. محلول با استفاده از یک پیپت زیر لامل قرار گرفت (تصویر ۲). اتاقلک زیر لامل پر شد و از پر شدن بیش از حد و ایجاد حباب هوا جلوگیری شد و برای انجام این کار حداقل ۲ تا ۳ دقیقه زمان لازم بود و با عدسی ۴۰۰ در زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفتند. سپس اسپوره‌های موجود در ۵ مربع بزرگ و پراکنده (۸۰ مربع کوچک) مشاهده شدند. (تصویر ۳ و ۴). برای نمونه برداری از ظروف پلاستیکی دهان گشاد استفاده شد و زنبورها با احتیاط از داخل هر کندو و از روی شان‌های زنبور عسل در داخل بطری‌های پلاستیکی در محلول الکل 70 درصد قرار داده شدند.

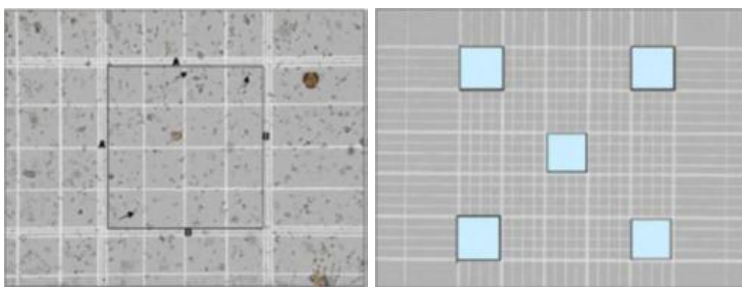
پاکت‌های کاغذی قبل از نمونه‌گیری آماده شدند و آدرس محل، مشخصات زنبورستان و کندو روی پاکت نمونه ثبت شد. پس از ثبت مشخصات نمونه‌های اخذ شده در داخل پاکت‌های مربوطه گذاشته شد. اقدامات

## روش نمونه‌گیری

یک روز مناسب و زمانی که زنبوران پرواز داشتند در نظر گرفته شد. دریاچه پرواز لحظاتی بسته شد تا زنبوران صحرا رو، جلوی محل ورود تجمع کردند. با کاردک مخصوص ۳۰ زنبور بالغ در پاکت‌های کاغذی قرار داده شد. نمونه‌ها در همان روز به آزمایشگاه دانشگاه ایلام ارسال شدند. برای تشخیص نوزما زنبوران بالغ مورد مطالعه قرار گرفتند. قسمت شکمی ۳۰ زنبور بالغ را به همراه ۳۰ سی سی آب در هاون چینی ریخته و ساییده شدند. هاون و دسته هاون به طور کامل ضد عفونی شدند. یک قطره از محلول را برداشته در هر بخش لام هماسیتومتر ریخته و با یک لامل پوشانده شد و به طور یکنواخت توزیع گردید. برای تعیین میزان



تصویر ۲



تصویر ۳ و ۴

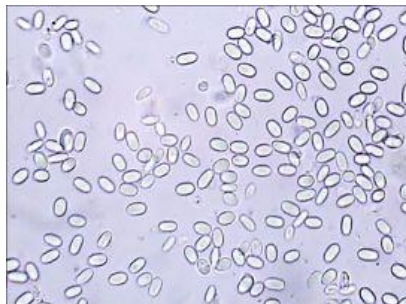
(۹).  $50000 \times$  تعداد اسپور در ۵ مربع بزرگ (۸۰) مربع کوچک) = تعداد اسپور در زنبور عسل

تعداد اسپور در زنبور عسل با استفاده از فرمول شمارش و تعیین شد. محاسبه در زمانی صحیح است که برای هر زنبور یک سی سی آب مقطر در نظر گرفته شود

### نتایج

کلی در دو گونه آپیس و سرانا، بزرگ، بیضوی، سفید و روشن و یکنواخت (یا به گفته عام مثل هسته هندوانه) در تمام زنبورستان‌های استان ایلام در اسفند ۱۳۹۶ و بهار سال ۱۳۹۷ که نمونه گرفته شد، (جدول ۱) مشاهده شدند.

با توجه به آماده کردن تهیه مقاطع میکروسکوپی، اسپورها به صورت ریخت شناسی بین دو گونه، به سختی می‌توان به تفاوت آنها پی برد و نشان دهنده شکل مقاومت و گسترش بیماری هستند (تصویر ۵). اما اسپور نوزما در زیر میکروسکوپ با ابجکتیو ۴۰۰ به طور



تصویر ۵

جدول ۱. میزان آلودگی در ماه‌های اسفند ۱۳۹۶ و بهار سال ۱۳۹۷ در زنبورستان‌های استان ایلام

نام زنبورستان	جمع کلنی های بررسی شده	جمع کلنی های آلوده	% آلودگی
زنبورستان ۱	۱۵	۷	۴۶/۶۶
زنبورستان ۲	۳۱	۱۸	۵۸/۰۶
زنبورستان ۳	۲۴	۱۷	۷۰/۸۳
زنبورستان ۴	۲۴	۱۶	۶۶/۶۶
زنبورستان ۵	۲۴	۱۵	۶۲/۵۰
زنبورستان ۶	۳۰	۱۹	۶۳/۳۳
زنبورستان ۷	۲۵	۱۶	۶۴
زنبورستان ۸	۲۶	۱۸	۶۹/۲۳
زنبورستان ۹	۱۶	۱۳	۸۱/۲۵
زنبورستان ۱۰	۲۴	۱۷	۷۰/۸۳
زنبورستان ۱۱	۲۸	۲۱	۷۵
زنبورستان ۱۲	۲۵	۱۹	۷۶
زنبورستان ۱۳	۲۳	۱۵	۶۵/۲۱
زنبورستان ۱۴	۲۶	۱۶	۶۱/۵۳
زنبورستان ۱۵	۲۵	۱۷	۶۸
زنبورستان ۱۶	۲۱	۱۶	۷۶/۱۹
زنبورستان ۱۷	۱۸	۱۳	۷۲/۲۲
زنبورستان ۱۸	۱۵	۹	۶۰
زنبورستان ۱۹	۲۱	۱۴	۶۶/۶۶
زنبورستان ۲۰	۲۵	۱۵	۶۰
زنبورستان ۲۱	۲۹	۲۳	۷۹/۳۱
جمع	۴۹۵	۳۳۴	۶۷/۴۷
میانگین	۲۳/۵۷	۱۵/۹۰	۶۷/۴۵

مقیاس زیر سطح آلودگی را با توجه به میانگین تعداد اسپور در هر زنبورستان عسل معین شد:

برای انجام تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی با واحد بین المللی SENASA از روش شمارش سلول که توسط Williams GR اصلاح شد، استفاده کردیم (۱۶).

۱. سطح آلودگی ضعیف؛ از ۵۰۰، اسپور در هر زنبورستان عسل

۲. میانگین سطح آلودگی متوسط، بین ۵۰۰، تا ۱۰،۰۰۰، اسپور در هر زنبورستان عسل

۳. سطح آلودگی بالا بیش از ۱۰،۰۰۰، اسپور در هر زنبورستان

## بحث

مرحله، در بخش انتهایی روده بزرگ، پروتئین اسپور را هضم و تجزیه می‌کردند و میکروارگانیزم را که در داخل، کیستیک بود، آزاد می‌کنند و بر روی بافت پوششی روده ثابت می‌شد و در آنجا به تکثیر خود ادامه و تشکیل اسپور بیشتری را می‌دادند و با تغذیه این بافت پوششی، به تخریب این بافت ادامه و باعث ایجاد تظاهرات این بیماری می‌شدند و به مرگ زنبور منجر می‌گردید. اسپورها در طی چند روز تا پنج سال در دمای پایین می‌توانند عفونی شوند. نوزما سرانا نشان در تحقیقات مختلف ثابت کرد که در میزبان خود به شدت عمل می‌کند و به مراتب شایع‌تر از نوزما آپیس در زنبور عسل ایجاد می‌شود (۱۱). اگر مقدار پروتئین مورد نیاز زنبوران کمتر از ۳۰ درصد باشند در این صورت آنها عمر کمتری دارند و از بیماری‌هایی چون نوزما و لوک اروپایی رنج می‌برند و عسل کمی تولید خواهند کرد. در صورتی که زنبوران آلوده به بیماری نوزما باشند و یا از عسل تیره تغذیه نموده باشند، با مدفوع خود کندوها را رنگین می‌کنند. بیماری نوزما، بر روی دستگاه گوارش زنبوران بالغ به ویژه روده تاثیر می‌گذارد، مانند بیماری دیسنتری در انسان است. این بیماری می‌تواند یک کندو را تضعیف کند و تولید عسل را بین ۴۰ تا ۵۰ درصد کاهش دهد، حتی می‌تواند کندوی زنبورها را از بین برد. در واقع بیماری در زمستان و در بهار شایع

با توجه به نتایج به دست آمده، بیماری نوزما را به طور کلی مورد بحث قرار می‌دهم و از توصیف جداگانه گونه آپیس و سرانا صرف نظر می‌کنم، و مورد تشخیص تفریقی قرار ندادم و فقط اسپور نوزما مورد مشاهده قرار گرفت و کدامیک از دو اسپور است؟ عذرخواهی می‌کنم. این نیاز به هزینه بالاتری داشت. اولین مشاهدات نوزما در قرن اول میلادی توسط زنبورداران طبیعی گزارش شد. این بیماری باعث مرگ زنبوران و خسارت زیادی می‌شد و عامل آن را قارچ می‌دانستند تا این که در سال ۱۹۰۷ دکتر زاندر عامل آن را انگل تشخیص داد، اما براساس گزارش اخیر عامل واقعی آن قارچ است. نوزما یک بیماری، ناشی از حمله به روده زنبورهای بالغ توسط میکروارگانیزم‌های جنس نوزما است، یکی از علل سندرم تخریب زنبورها و از دست رفتن کندوها، به شمار می‌رود (۱۰). اسپورهای نوزما در تعداد کم، در اواخر زمستان و اوایل بهار در بسیاری از کندوهای طبیعی و سالم حضور داشت و در حالت ضعف شدید کندو و کم جمعیت شدن آن به دلیل کمبود تغذیه و شهد، غارت کندو، کم جمعیت شدن و عوامل درجه حرارت، فوری گسترش پیدا می‌کردند. هنگامی که اسپورها به وسیله یک زنبور بالغ و سالم مصرف می‌شد، آنها به روده بزرگ منتقل می‌شدند که در روده عصاره گوارشی به اسپورها حمله می‌کردند و در پایان این

بالایی در کندو، برای زنبورها در طول زمستان، تهویه را بهبود می بخشد و می تواند بیماری نوزما را به طور نسبی از بین برد (۱۳). زنبورها و ملکه های خود را می توان با آنتی بیوتیک تا حدی درمان کرد تا عفونت را به حداقل رساند. داروهای خوراکی برای بیماری نوزما به صورت پیشگیرانه، با تغذیه فوماژلین (یک آنتی بیوتیک) در شربت قند در فصل پاییز و بهار خوراند می شود. اول باید فوماژلین - B را به دو گالن شربت قند اضافه کرد و به زنبورها در بهار خوراند (۱۴). همچنین دو گالن را در پاییز به زنبورها با تغذیه خوراند و تا حدی درمان نمایند. هر گالن اضافی شربت که به زنبورها خوراند می شود با دارو نباشد. در نتیجه آلودگی در زنبورستان های ایلام بر اساس (جدول ۱) بالاتر از حد معمول است و این نشان دهنده کمی آگاهی در مبارزه با این بیماری است. در ضمن در استان هیچ آزمایشگاهی جهت تشخیص بیماری های زنبور عسل وجود ندارد (۱۵).

برداری سالانه از کندوها جهت تجزیه و تحلیل و تشخیص این بیماری لازم است. داروی رایج در گذشته فوماژلین بوده است. این دارو یک آنتی بیوتیک، فرم فعال و آمیبی نوزما را از بین می برد ولی بر اسپور نوزما اثری ندارد. لذا فوماژلین از گسترش و توسعه نوزما جلوگیری می نماید. کنترل نوزما با استفاده از سرکه سیب در فرانسه مورد استفاده قرار گرفت و نتایج خوبی داد و اکنون در ایران نیز استفاده می گردد. این کار با استفاده از تهیه شربت متشکل از ۲۵ درصد سرکه سیب با ۷۵ درصد شربت آب و شکر (۵۰ درصد آب و ۵۰ درصد شکر) میسر می باشد. از این مخلوط شربت آماده شده، می توان یک استکان به هر کلنی خوراند. درمان باید در ساعات فعالیت کندوی آلوده انجام شود.

است. پس از آنکه زنبورها از زندگی کندوی زمستانی بیرون آمدند و تا زمانی که علائم قابل مشاهده است و به دلیل عفونی شدن بیش از حد این بیماری درمان آن دشوار یا غیرممکن است (۱۲). بعضی از علائم بیماری نوزما در بهار، مشاهده جمعیت کلنی های آلوده، تجمع آنها به آرامی و شاید نه به طور کامل هستند. زنبورها ضعیف به نظر می رسند و ممکن است در اطراف و جلوی کندو بلرزانند و بدون هدف، سینه خیز حرکت کنند. کندو دارای مشخصه لکه ای رنگ است، که اشاره به رگه های مدفوع زنبورها است که به رنگ خردل قهوه ای در داخل یا بیرون کندو ظاهر می شود. بیماری نوزما را با انتخاب مکان های مناسبی برای کندو که دارای جریان هوای خوب و منبع آب تازه و تمیز در دسترس زنبوران باشند، تا حدی درمان می شود. اجتناب از رطوبت، شرایط سرد که می تواند بیماری نوزما را تشویق و تحریک کند. کندو ها را در زیر نور خورشید کامل یا نیم کامل قرار داد، ایجاد یک ورودی

### کنترل و پیشگیری

تعدادی از عوامل خطرناک مانند درجه حرارت خفیف، محیط های مرطوب، عدم گلدهی یا عدم تعادل کلنی ها است که از رشد آن حمایت می کنند. اما جدا از این، مفهومی که در زنبورستان باید درک شود، یک ایده اساسی از تمام بهره برداری از کندوها است: دوری جستن از هرگونه عامل آلودگی، از آنجا که آنها قادر به حمل و نقل همه موجودات عفونی مانند باکتری، ویروس ها، قارچ ها یا انگل ها از یک فرد به دیگری هستند. زنبوردار باید از مکان های ریسک جلوگیری کند و سعی شود که کندوهای ضعیف را تقویت کند و آنها را از سرما محافظت نماید تعویض ملکه پیر، و از سوی دیگر، فراموش نشود که کوچ به طرف شهد و گلدهی جدید کمک می کند تا تغذیه را بهبود بخشد و باعث افزایش رفتار بهداشتی زنبور عسل شود. نمونه-



## سپاس‌گزاری

از بیست و یک زنبوردار مستقر در کوه‌های زاگرس ایلام کمال تشکر دارم که با بنده همکاری کردند. مخصوصاً از آقای ابراهیم مولایی که با ماشین جیب ولیز خود بنده را راهنمایی کرد.

## منابع

1. Antúnez K, Invernizzi C, Zunino P. 2011. Why masive honeybee losses do not occur in Uruguay? En: Florio RM. [ED.]. Bees : Biology, Threats and Colonies. New York : Nova Science Publishers. pp. 189 -208
2. Antúnez K, Harriet J, Gende L, Maggi M, Eguaras M, Zunino P. 2008. Efficacy of natural propolis extract in the control of American Foulbrood. *Veterinary Microbiology*, 131: 324-331.
3. Bromenshenk JJ, Henderson CB, Wick CH, Stanford MF, Zulich AW, Jabbour RE, Deshpande SV, McCubbin PE, Seccomb RA, Welch PM, Williams T, Firth DR, Skowronski E, Lehmann MM, Bilimoria SL, Gress J, Wanner KW, Cramer RA. 2010. Iridovirus and microsporidian linked to honey bee colony decline. *PLoS One*, 5: e13181.
4. Ellis J., Honey Bee Research and Extension Lab at the University of Florida, Video Field Guide to Beekeeping – Nosema Disease, February 2012,
5. Evans JD, Spivak M. 2010. Socialized Medicine : Individual and communal disease barriers in honey bees. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103: S62-S72.
6. Forsgren E, Fries I. 2010. Comparative virulence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in individual European honey bees. *Veterinary Parasitology*, 170: 212-217.
7. Fries I. 2010. *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of Invertebrate Pathology*, 103: 73-79.
8. Gómez Pajuelo A, Torres C, Orantes Bermejo FJ. 2008. Colony losses: a double blind trial on the influence of supplementary protein nutrition and preventative treatment with fumagillin agains *Nosema ceranae*. *Journal of Apicultural Research*, 47: 84 - 86.
9. Higes M, Nozal MJ, Alvaro A, Barrios L, Meana A, Martín-Hernández R, Bernal JL, Bernal J. 2011. The stability and effectiveness of fumagillin in controlling *Nosema ceranae* (Microsporidia) infection in honey bees (*Apis mellifera*) under laboratory and field conditions. *Apidologie*, 42: 364 - 377.
10. Higes M, Martín-Hernández R, Botias C, Meana A. 2018. The precence of *Nosema ceranae* (Microsporidia) in North African honey bees (*Apis mellifera intermissa*). *Journal of Apicultural Research*, 48: 217-219.
11. MGAP. 2010. Decreto presidencial 14 - 6 - 2010. Oxitetraciclina y Fumagilina- Retiro y/o limitación del uso en Uruguay [En línea]. Consultado 12 de diciembre 2011.
12. Mlagan V, Sulimanovic D. 1982. Action of propolis solutions on *Bacillus larvae*. *Apiacta*, 17: 16-20.

13. Neumann P, Carreck N. 2010. Honey bee colony losses. *Journal of Apicultural Research*, 49: 1-6.
14. Paxton RJ. 2010. Does infections by *Nosema ceranae* cause «Colony Collapse Disorder» in honey bees (*Apis mellifera*)? *Journal of Apicultural Research*, 49: 80-84.
15. Williams GR, Shutler D, Little CM, Burger-Maclellan KL, Rogers RLE. 2011. The microsporidian *Nosema ceranae*, the antibiotic Fumagillin-B, and western honey bee (*Apis mellifera*) colony strength. *Apidologie*, 42: 15-22.
16. Williams GR, Sampson MA, Shutler D, Rogers REL. 2008. Does fumagillin control the recently-detected invasive parasite *Nosema ceranae* in western honey bees (*Apis mellifera*)? *Journal of Invertebrate Pathology*, 99: 342-44.