

# O APICULTOR<sup>®</sup>



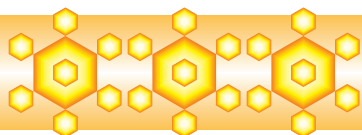
REVISTA DE APICULTURA

ISSN - 0873-2931 • ANO 28 N.º 106 - Out./ Dez. 19 - €7,00 (iva incl.) Periodicidade Trimestral

- Impacte do EPIK na abelha do mel
- Genoma mitocondrial sobre a distribuição geográfica da diversidade genética da abelha ibérica
- Projeto BEEHAPPY
- Apicultores e agricultores juntos para a sustentabilidade da polinização
- Coexistências
- Consultório apícola

PORTUGUESE  
BEEKEEPING  
MAGAZINE





## Sanidade da abelha melífera (*Apis mellifera* L.) dos Açores: comparação dos padrões epidemiológicos num laboratório natural único

M. Alice Pinto<sup>1</sup>, Dora Henriques<sup>1</sup>,  
Pedro João Rodrigues<sup>2</sup>, Joachim de Miranda<sup>3</sup>,  
Raquel Martín-Hernandez<sup>4</sup>,  
Isabel Mafra<sup>3</sup> & Joana Amaral<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Sta. Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal.

<sup>2</sup>Centro de Investigação em Digitalização e Robótica Inteligente (CeDRI), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal

<sup>3</sup>Department of Ecology, Swedish University of Agricultural Sciences, 750-07 Uppsala, Suécia.

<sup>4</sup>Laboratorio de Patología Apícola, Centro de Investigación Apícola y Agroambiental, IRIAF, Instituto de Recursos Humanos para la Ciencia y la Tecnología (INCRECYT-FEDER), Fundación Parque Científico y Tecnológico de Castilla – La Mancha, Consejería de Agricultura de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha, 19180, Marchamalo, Espanha.

<sup>5</sup>REQUIMTE-LAQV, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Rua de Jorge Viterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto, Portugal.

Coordenação do BEEHAPPY e correspondência: M. Alice Pinto, [apinto@ipb.pt](mailto:apinto@ipb.pt)

O BEEHAPPY é um projeto financiado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT), é coordenado pelo CIMO e envolve uma equipa de 16 especialistas multidisciplinares provenientes de várias instituições nacionais (CIMO-Centro de Investigação de Montanha, REQUIMTE-Rede de Química e Tecnologia, CEDRI -Centro de Investigação em Digitalização e Robótica Inteligente) e estrangeiras (SLU-Swedish University of Agricultural Sciences, CIAPA-IRIAF- Centro de Investigación Apícola y Agroambiental- Instituto Regional de Investigación y Desarrollo Agralimentario y Forestal, INIA-Peru- Instituto Nacional de Innovación Agraria). O BEEHAPPY centra-se nas populações de abelha dos Açores e tem como principais objectivos (i) o estudo da interação entre a abelha e as suas principais doenças (virose e Nosemose) e (ii) o desenvolvimento de ferramentas com vista a identificar as populações de abelha (ferramenta informática) e avaliar a autenticidade do mel dos Açores (ferramenta molecular), o qual apresenta um grande potencial comercial. Para se atingirem tais objetivos, irão ser executadas 10 tarefas dedicadas à abelha (Tarefas 1, 4, 5, 6, 7, 8, 9), patogénios (Tarefas 1, 2, 3) e mel (Tarefa 10; Figura 1).

Os Açores constituem um local único no mundo para este tipo de estudo devido ao facto de haver ilhas com e sem *Varroa destructor* e *Nosema* sp. (Figura 2). De acordo com os relatórios anuais do Programa Sanitário Apícola, disponibilizados pela Direção Regional dos Açores, não há *V. destructor* em Santa Maria, São Miguel, Terceira, Graciosa e São Jorge, elevando assim os Açores à categoria de maior território Europeu com o maior número de colónias isentas deste importante parasita. Relativamente à noseemose, os mesmos relatórios indicam que esta doença não está presente em São Jorge, Santa Maria e Flores (Figura 2). A ausência de *V. destructor* em cinco ilhas e de *Nosema* sp. em três ilhas faz desta região insular um local único para a apicultura, permitindo a criação de rainhas isentas das principais doenças (varroose e virose associadas, noseemose) e a produção de mel sem acaricidas, com um potencial económico acrescido.

Para além do interesse económico, do ponto de vista científico, os Açores constituem um laboratório natural único para o estudo epidemiológico e interações entre os principais responsáveis pelo declínio das abelhas, devido à distribuição heterogénea das doenças pelas diferentes ilhas: existem ilhas sem *V. destructor* e *Nosema* sp., com os dois parasitas ou só com um deles (Figura 2).

Em Julho e Agosto de 2014 e de 2015 foram amostradas pelos Veterinários e Técnicos da Direção Regional de Agricultura dos Açores, em colaboração com o CIMO, um total de 474 colónias provenientes de 156 apiários localizados nas oito ilhas onde havia abelhas (Figura 2). O material genético, nomeadamente ARN (que vai permitir estudar os vírus) e o ADN totais (que vai permitir estudar a *Nosema* sp. e a abelha), dessas amostras têm vindo a ser extraídos (Tarefa 1) e serão usados nas Tarefas 2, 3, 4 e 6. Na Tarefa 2 vão ser estudadas as prevalências e cargas virais de alguns dos mais importantes vírus das abelhas, como por exemplo o vírus da realeira negra (BQCV), o vírus da paralisia crónica (CBPV), o vírus do Lago Sinai (LSV), o vírus BeeMLV, o vírus

# Projecto BEEHAPPY

da criação ensacada (SBV), o complexo AKI (vírus da paralisia aguda, ABPV; vírus de Kashmir, KBV; vírus da paralisia aguda Israeli, IAPV) e sobretudo o vírus das asas deformadas (DWV). Em relação ao vírus das asas deformadas, vai-se estudar através de técnicas de sequenciação de alto rendimento qual o tipo (A, B, C ou recombinantes A/B) prevalente nas diferentes ilhas. A importância do estudo do vírus das asas deformadas está relacionada com a sua estreita associação com a *V. destructor* (de Miranda & Genersch, 2010), cuja virulência é dependente do tipo (A, B, C ou recombinantes A/B) e da sua diversidade (de Miranda & Genersch, 2010). Na Tarefa 3 vai ser estudada a prevalência e taxa de infeção de *Nosema apis* e *Nosema ceranae* nas 474 colónias utilizando-se para tal métodos de identificação molecular que permitem a distinção entre as duas espécies (Higes *et al.* 2007, Martín-Hernandez *et al.* 2012). Numa colónia são frequentemente detetados vários agentes infecciosos (Runckel *et al.* 2011, Cox-Foster *et al.* 2007), os quais podem interagir e levar a colónia à morte (Cornman *et al.* 2012, Evans & Schwarz 2011). Usando os dados das Tarefas 2 e 3 vai ser possível estudar se a *Nosema sp.* e os diferentes

vírus interagem entre si e de que forma interagem (interação antagonista ou sinérgica).

O genótipo da abelha poderá também ter um papel importante no desenvolvimento da doença. Um estudo de Munõz *et al.* (2013) demonstra que nos Açores, mais especificamente na ilha de São Miguel, coexistem abelhas muito diferentes: a abelha ibérica e abelhas de outras linhagens (a italiana e a caucasiana supostamente introduzidas nos Açores na década de 1980). Na Tarefa 4 vai estudar-se o ADN mitocondrial (que é transmitido da rainha para os seus descendentes) das 474 colónias o que permitirá descrever a sua composição genética materna e desta forma conhecer qual o tipo dominante (ibérica, italiana, ou caucasiana?) em cada ilha.

Para uma compreensão mais completa da genética da abelha e da sua interação com os patógenos é necessário também genotipar o ADN nuclear (transmitido por ambos os progenitores). Assim, na Tarefa 5 irá ser desenvolvida uma ferramenta molecular que será utilizada na Tarefa 6 para genotipar o ADN nuclear das 474 colónias. A ferramenta molecular terá

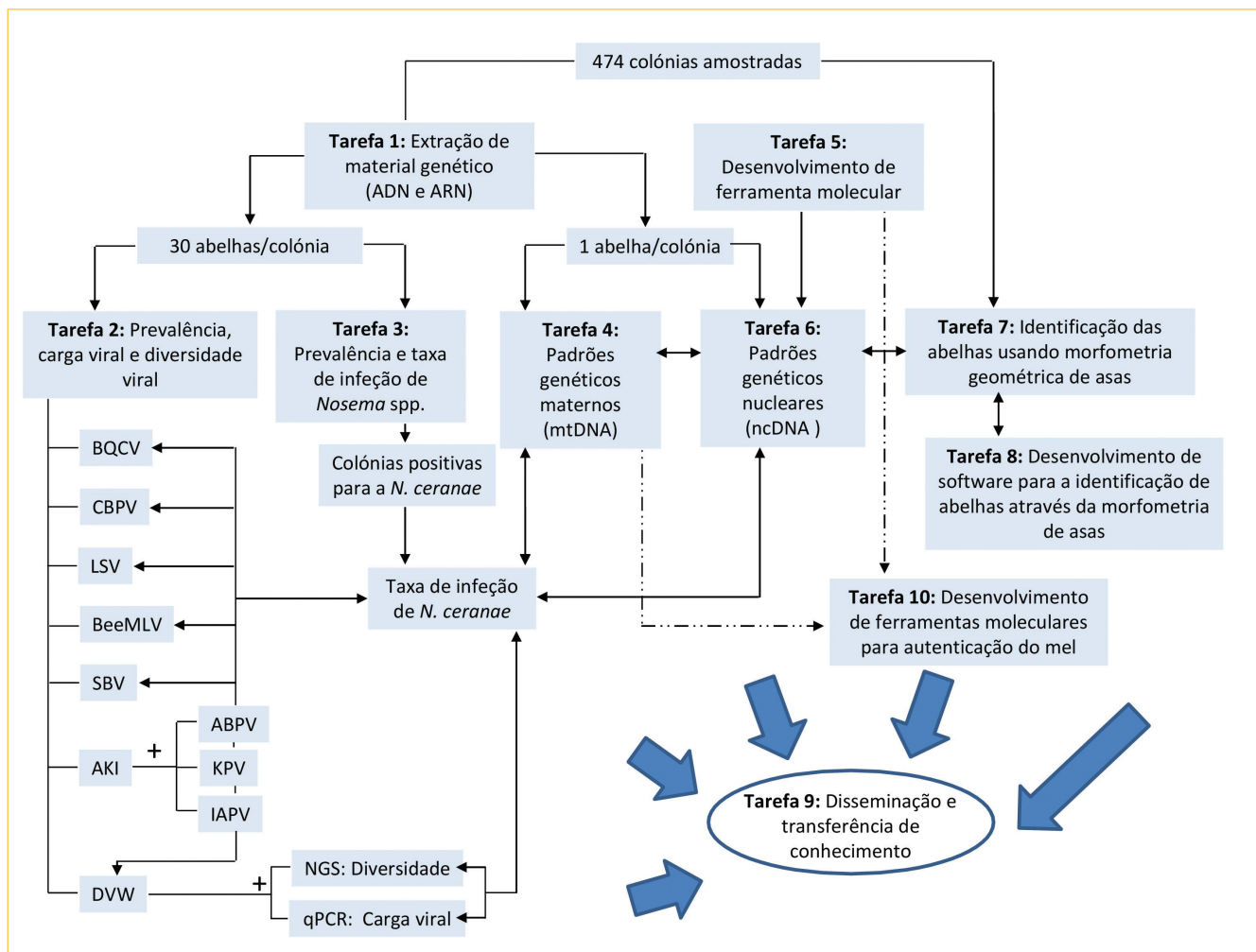


Figura 1. Fluxograma que mostra a interconexão das 10 tarefas do BEEHAPPY.

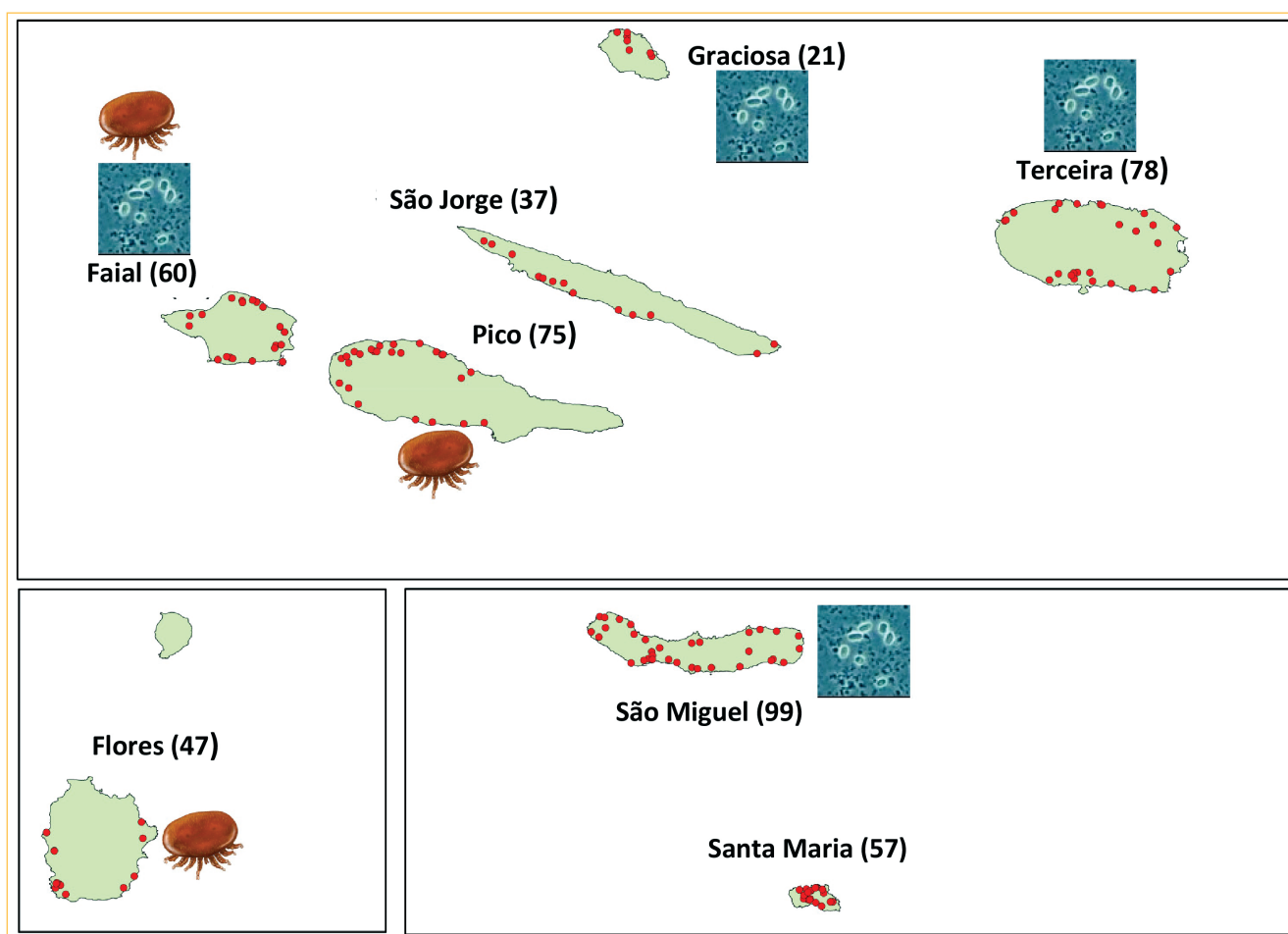


Figura 2. Localização dos 156 apiários (pontos a vermelho) onde foram colhidas as 474 amostras do BEEHAPPY. O número de amostras por ilha está indicado entre parênteses. O mapa mostra também a distribuição de *Varroa destructor* e de *Nosema sp.* por ilha, de acordo com os dados do Programa Sanitário Apícola de 2016.

como ponto de partida a variação genética existente em genes implicados na resposta imune das abelhas. Sabendo a componente genética da abelha dos Açores poderá perceber-se se existem alguns tipos de abelhas que sejam mais suscetíveis a algumas doenças.

Apesar dos marcadores moleculares serem muito poderosos na identificação das abelhas e deteção de colónias com poluição genética (Meixner *et al.* 2013, Henriques *et al.* 2018a,b), há uma outra metodologia chamada morfometria geométrica de asas (utiliza dados da venação das asas anteriores), que é muito mais barata pois não necessita de equipamento sofisticado e reagentes caros. Na Tarefa 7 verificar-se-á se os dados obtidos através da morfometria geométrica são concordantes com os dados genéticos e na Tarefa 8 irá desenvolver-se um software que permita a identificação automática das diferentes subespécies de abelhas a partir da análise de fotografias das asas. Este software será mais tarde disponibilizado online para que os apicultores possam identificar as suas colónias.

A inexistência de *V. destructor* e de *N. ceranae* em algumas das ilhas dos Açores faz com que este

território tenha potencial para a criação de rainhas de elevado valor. Assim, no âmbito da Tarefa 9 irão organizar-se vários workshops para disseminação dos principais resultados do BEEHAPPY e ao mesmo tempo de métodos de avaliação de colónias como ponto de partida para o eventual melhoramento genético da abelha dos Açores.

Nas ilhas onde não existe *V. destructor* o mel poderá ser comercialmente mais valorizado devido à ausência de resíduos de acaricidas. Para ajudar a esta valorização, na Tarefa 10 será desenvolvida uma ferramenta molecular para autenticação do mel dos Açores que permitirá identificar a presença no mel de pólen de incenso, banana, maracujá e ananás, espécies raras em méis do continente. Finalmente, ainda na Tarefa 10, irá desenvolver-se uma ferramenta molecular para identificar o tipo de abelha, a partir de tecido presente no mel, tendo como base as variações existentes no ADN mitocondrial. No final do projeto BEEHAPPY espera-se que o conhecimento produzido possa contribuir para o desenvolvimento da apicultura dos Açores.



# Projecto BEEHAPPY

## Referências Bibliográficas

Anónimo. Programa Sanitário Apícola 2016, Região Autónoma dos Açores. 2016 Direção de Serviços de Veterinária. Direção Regional da Agricultura. 11 pp.

Cornman RS, Tarpay DS, Chen Y, Jeffreys L, Lopez D, Pettis JS et al. (2012) Pathogen webs in collapsing honey bee colonies. PLoS One. 7 (8): e43562.

Cox-Foster DL, Conlan S, Holmes EC, Palacios G, Evans JD, Moran NA et al. (2007) A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. Science 318(5848):283-287. DOI: 10.1126/science.1146498.

de Miranda JR, Genersch E (2010) Deformed wing virus. J Invertebr Pathol. 103: S48-S61.

Evans JD, Schwarz RS (2011) Bees brought to their knees: microbes affecting honey bee health. Trends Microbiol. 19 (12): 614-620.

Henriques D, Browne KA, Barnett MW, Parejo M, Kryger P, Freeman TC, Muñoz I, Garnery L, Highet F, Jonhston JS, McCormack GP, Pinto MA (2018) High sample throughput genotyping for estimating C-lineage introgression in the dark honeybee: an accurate and cost-effective SNP-based tool. Scientific Reports, 8 (1): 8552. doi: 10.1038/s41598-018-26932-1.

Henriques D, Parejo M, Vignal, Wragg D, Wallberg A, Webster MT, Pinto MA (2018) Developing reduced SNP assays from whole-genome sequence data to estimate introgression in an organism with complex genetic patterns, the Iberian honeybee (*Apis mellifera iberiensis*). Evolutionary Applications, 11:1270–1282. doi.org/10.1111/eva.12623.

Higes M, García-Palencia P, Martín-Hernández R, Meana A (2007) Experimental infection of *Apis mellifera* honeybees with *Nosema ceranae* (Microsporidia). J Invertebr Pathol. 94(3): 211-217.

Klee J, Besana AM, Genersch E, Gisder S, Nanetti A, Tam DQ et al. (2007) Widespread dispersal of the microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of the western honey bee, *Apis mellifera*. J Invertebr Pathol. 96: 1-10.

Martín-Hernández R, Botías C, Bailón EG, Martínez-Salvador A, Prieto L, Meana A et al. (2012) Microsporidia infecting *Apis mellifera*: coexistence or competition. Is *Nosema ceranae* replacing *Nosema apis*? Environ Microbiol. 14: 2127–2138.

Meixner MD, Pinto MA, Bouga M, Kryger P, Ivanova E, Fuchs S (2013) Standard methods for characterising subspecies and ecotypes of *Apis mellifera*. Journal of Apicultural Research. 52(4):1-28.

Muñoz I, Pinto MA, De la Rúa P (2013) Temporal changes in mitochondrial diversity highlights contrasting population events in Macaronesian honey bees. Apidologie. 44:295-305.

Runckel C, Flenniken ML, Engel JC, Ruby JG, Ganem D, Andino R et al. (2011) Temporal analysis

of the honey bee microbiome reveals four novel viruses and seasonal prevalence of known viruses, *Nosema* and *Crithidia*. PLoS ONE. 6: e20656.

## Agradecimentos

O nosso profundo agradecimento à Direção Regional de Agricultura dos Açores pela amostragem das populações de abelhas dos Açores que decorreu em 2014 e 2015. O BEEHAPPY não existiria se não fosse a colaboração incondicional e entusiasta de muitos veterinários e técnicos das Divisões de Intervenção Veterinária (Direção Geral de Alimentação e Veterinária), incluindo o Nuno Salvador, Janyne Sousa, Ivan Castro, Alcino Silva, Célia Mesquita, Ana Jorge, José Dias, Paulo, Rico, Pedro Leal, Vagner Paulos, Luis Xavier, Luís Silva, Martins Silva, Carlos Gouveia, Ana Carina Coimbra, João Ramos, João Arruda, Edgardo Melo, João Luís, e Moniz da Ponte. Um agradecimento especial para a Paula Vieira e o Frank Aguiar pela coordenação da amostragem e por estarem sempre disponíveis para resolver todas as dificuldades que foram surgindo.

O BEEHAPPY é financiado por Fundos FEDER através do Programa Operacional Competitividade e Internacionalização - COMPETE 2020 e por Fundos Nacionais através da FCT - Fundação para a Ciência e a Tecnologia no âmbito do projeto POCI-01-0145-FEDER-029871.



DESDE 1880 CON EL APICULTOR

**apiLore**

MATERIAL APÍCOLA · TRATAMIENTOS  
ALIMENTACIÓN · ENVASES

Venta online en **www.apilore.com**  
Écija (Sevilla) · +34 95 483 33 14 · info@apilore.com