

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



ESTUDO SANITÁRIO EM ABELHAS ADULTAS DA REGIÃO AUTÓNOMA DOS
AÇORES

LAURA EMÍLIA CABRAL MARTINS

ORIENTADORA:
DOUTORA ISABEL MARIA SOARES PEREIRA DA
FONSECA SAMPAIO
TUTORA:
DRA. MARIA JOSÉ LISBOA VALÉRIO DA SILVA

2025

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



ESTUDO SANITÁRIO EM ABELHAS ADULTAS DA REGIÃO AUTÓNOMA DOS
AÇORES

LAURA EMÍLIA CABRAL MARTINS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE:

DOUTOR LUÍS MANUEL MADEIRA DE
CARVALHO

VOGAIS:

DOUTORA ISABEL MARIA SOARES PEREIRA DA
FONSECA SAMPAIO

DOUTOR JOSÉ AUGUSTO FARRAIA E SILVA
MEIRELES

ORIENTADORA:

DOUTORA ISABEL MARIA SOARES PEREIRA DA
FONSECA SAMPAIO

TUTORA:

DRA. MARIA JOSÉ LISBOA VALÉRIO DA SILVA

Anexo 3 – DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA TESE OU DISSERTAÇÃO

Nome: Laura Emília Cabral Martins

Título da Tese ou Dissertação: Estudo sanitário em abelhas adultas da Região Autónoma dos Açores

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas):

Designação do curso de

Mestrado ou de

Doutoramento:

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

Clínica

Produção Animal e Segurança Alimentar

Morfologia e Função

Sanidade Animal

Declaro sobre compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de 6 meses, 12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial*;

* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

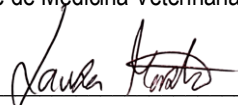
Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 16 de outubro de 20 25

(indicar aqui a data da realização das

Assinatura: _____



provas públicas)

Agradecimentos

Nenhum percurso é verdadeiramente solitário, e esta dissertação é o reflexo de muitas presenças, apoios e gestos, grandes e pequenos, que marcaram este caminho.

A todos os que, de uma forma ou de outra, estiveram presentes neste percurso longo e por vezes atribulado, deixo o meu mais profundo agradecimento.

Obrigada por tudo, pelos grandes esforços, pelas palavras de incentivo e até pelos pequenos gestos do dia a dia, muitas vezes inconscientes, mas sempre significativos.

Um especial agradecimento à minha tutora, Dra. Maria José Valério, e à minha orientadora, Doutora Isabel Fonseca, pelo apoio constante, pela compreensão e pela infinita paciência demonstrados ao longo de todo o processo, especialmente nestes anos finais. A vossa orientação e disponibilidade foram fundamentais para que esta etapa se concretizasse.

Agradeço igualmente à Doutora Isilda Flor pelo seu interesse, colaboração e disponibilidade na realização do estudo e na obtenção de amostras.

Ao meu pai, Manuel Martins, ao Eng.º Moniz da Ponte e aos restantes apicultores que prontamente se disponibilizaram para colaborar na recolha de amostras, o meu sincero reconhecimento.

Um agradecimento muito especial ao Mestre Telmo Nunes e ao meu irmão, Mestre Márcio Martins, pela preciosa ajuda no reavivar das aprendizagens na área da estatística e na sua aplicação prática, o vosso apoio foi essencial.

Aos meus colegas de curso, em particular à Mariana Pacheco, à Maria Noné, ao Valentim Martins e ao Gonçalo Costa, e a todos os outros que fizeram parte desta jornada, deixo um profundo agradecimento.

Obrigada pela amizade, pela paciência, pelas longas horas de estudo partilhadas, pelo humor e pelo incentivo constante, quer de perto, quer à distância.

À minha família, o meu agradecimento mais sentido. Aos meus pais, pelo amor incondicional, pela força, pelos sacrifícios e pela confiança depositada em mim ao longo de todos estes anos. À minha avó, exemplo de carinho, resiliência e sabedoria, por estar sempre presente com palavras de apoio e gestos de ternura. Aos meus tios e primos, pela alegria, pelas conversas e pelo encorajamento que tantas vezes serviram de âncora nos momentos de maior cansaço.

Por fim, a todos os que, de forma direta ou indireta, contribuíram de algum modo para a concretização deste trabalho, deixo o meu sincero obrigada. Cada um de vocês faz parte desta conquista.

ESTUDO SANITÁRIO EM ABELHAS ADULTAS DA REGIÃO AUTÓNOMA DOS AÇORES

RESUMO

Este estudo foi realizado para avaliar a situação sanitária das abelhas adultas nas diferentes ilhas com atribuição de estatuto de indemne sabendo-se que, em Portugal, seis das nove ilhas do arquipélago dos Açores (São Miguel - SML, Santa Maria - STM, Terceira - TER, São Jorge - SJZ, Graciosa – GRC, e Corvo) foram reconhecidas pela União Europeia como indemnes de Varroose (SRAF, 2019). Pretendeu-se também detetar parasitas menos observados atualmente na atividade apícola, tais como *Acarapis woodi* e *Braula coeca*, pesquisando igualmente a presença de *Nosema* spp., *Senotainia tricuspis* e *Varroa destructor*.

Obteve-se no total 92 amostras das ilhas indemnes de Varroose, com exceção da ilha do Corvo, e determinou-se a prevalência anual dos diferentes agentes para cada ilha e mensalmente.

Como expectável, não foi detetada *Varroa*. A prevalência mensal de *A. woodi* foi de 50% em junho (1/2), 48% em abril (14/29), 21% em setembro (7/33), 19% em julho (3/16) e 0% em outubro e agosto (0/11,0/1), considerando que SJZ teve 57% (20/35), TER 17% (1/6), SML 11% (4/36), STM e GRC 0% (0/8,0/7). A prevalência mensal de *B. coeca* foi de 81% em outubro (9/11), 39% em setembro (13/33), 31% em julho (5/16), 17% em abril (5/29) e 0% em junho e agosto (0/2,0/1). Na totalidade de amostras, GRC demonstrou 86% (6/7), 63% em STM (5/8), 50% em SML (18/36), 9% em SJZ (3/35) e 0% em TER (0/6). *Nosema* spp. teve 100% de prevalência em junho (2/2), 76% em abril (22/29), 44% em julho (7/16), 33% em setembro (11/33), 27% em outubro (3/11) e 0% em agosto (0/1). No período de recolha de amostras, a ilha SJZ demonstrou a prevalência de 80% (28/35) de *Nosema* spp., com 71% em GRC (5/7), 28% em SML (10/36), 17% em TER (1/6) e 13% em STM (1/8). *Senotainia tricuspis* teve a prevalência de 50% em junho (1/2), 45% em setembro (15/33), 41% em abril (12/29), 19% em julho (3/16), 18% em outubro (2/11) e 0% em agosto (0/1). Esta não foi observada na STM (0% - 0/8), com 71% em GRC (5/7), 54% em SJZ (19/35), 50% em TER (3/6) e 17% em SML (6/36).

Usando o teste exato de Fisher, demonstrou-se que a prevalência de *A. woodi* ($p < 0,02$; $p < 0,01$), *B. coeca* ($p < 0,01$; $p < 0,01$) e *Nosema* spp. ($p < 0,01$; $p < 0,01$) tiveram significância estatística nos diferentes meses assim como nas diferentes ilhas. A prevalência de *S. tricuspis* apresentou uma significância estatística nas diferentes ilhas ($p < 0,01$) mas o mesmo não se observou nos diferentes meses ($p = 0,266$).

Este estudo reafirmou a ausência de *Varroa* nas 5 ilhas analisadas, realçando a importância de agentes patogénicos menos valorizados na apicultura moderna, a sua importância nas zonas onde varroose se encontra ausente, assim como a necessidade de estudos do seu impacto na indústria apícola local.

Palavras-chave – abelhas; Açores; *Nosema*; *Acarapis woodi*; *Senotainia tricuspis*.

HEALTH STUDY OF ADULT BEES IN AUTONOMOUS REGION OF THE AZORES

ABSTRACT

This study was carried out to assess the health situation of adult bees on the different islands that have been granted free status, knowing that, in Portugal, six of the nine islands of the Azores archipelago (São Miguel - SML, Santa Maria - STM, Terceira - TER, São Jorge - SJZ, Graciosa - GRC, and Corvo) have been recognised by the European Union as Varroa-free (SRAF, 2019). The aim was also to detect parasites that are less commonly seen in beekeeping, due to the treatments carried out for *V. destructor*, such as *Acarapis woodi* and *Braula coeca*, while also investigating the presence of *Nosema* spp, *Senotainia tricuspis* and *Varroa destructor*.

Obteve-se no total 92 amostras das ilhas indemnes de Varroose, com exceção da ilha do Corvo, e determinou-se a prevalência anual dos diferentes agentes para cada ilha e mensalmente.

As expected, *Varroa* was not detected. The monthly prevalence of *A. woodi* was 50% in June (1/2), 48% in April (14/29), 21% in September (7/33), 19% in July (3/16) and 0% October and August (0/11,0/1), considering that SJZ had 57% (20/35), TER 17% (1/6), SML 11% (4/36), STM and GRC 0% (0/8,0/7). The monthly prevalence of *B. coeca* was 81% in October (9/11), 39% in September (13/33), 31% in July (5/16), 17% in April (5/29) and 0% in June and August (0/2,0/1). In all the samples, GRC had 86% (6/7), 63% in STM (5/8), 50% in SML (18/36), 9% in SJZ (3/35) and 0% in TER (0/6). *Nosema* spp. had 100% of prevalence in June (2/2), 76% in April (22/29), 44% in July (7/16), 33% in September (11/33), 27% in October (3/11) and 0% in August (0/1). During the sample period, SJZ Island a prevalence of 80% (28/35) of *Nosema* spp., with 71% in GRC (5/7), 28% in SML (10/36), 17% in TER (1/6) and 13% in STM (1/8). *Senotainia tricuspis* had the prevalence of 50% in June (1/2), 45% in September (15/33), 41% in April (12/29), 19% in July (3/16), 18% in October (2/11) and 0% in August (0/1). The same was not observed in STM (0% - 0/8), with 71% in GRC (5/7), 54% in SJZ (19/35), 50% in TER (3/6) and 17% in SML (6/36).

Using Fisher's exact test, it was shown that the prevalence of *A. woodi* ($p < 0.02$; $p < 0.01$), *B. coeca* ($p < 0.01$; $p < 0.01$) and *Nosema* spp. ($p < 0.01$; $p < 0.01$) were statistically significant in the different months as well as on the different islands. The prevalence of *S. tricuspis* was statistically significant on the different islands ($p < 0.01$) but the same was not observed in the different months ($p = 0.266$).

This study reaffirmed the absence of *Varroa* on the 5 islands analysed, highlighting the importance of pathogens that are less valued in modern beekeeping, their importance in areas where varroa is absent, as well as the need to study their impact on the local beekeeping industry.

Key words – Bee; Azores; *Nosema*; *Acarapis woodi*; *Senotainia tricuspis*.

Índice

I.	Relatório de atividades	1
II.	Revisão Bibliográfica	2
1	Introdução.....	2
2	O género <i>Apis</i> e a sua organização social	2
3	Síntese da anatomia de <i>Apis mellifera</i>	4
4	Principais agentes patogénicos em adultos de <i>Apis mellifera</i>	6
4.1	Ácaros	6
4.1.1	<i>Acarapis woodi</i>	6
4.1.2	<i>Varroa destructor</i>	9
4.2	Insetos.....	12
4.2.1	<i>Braula coeca</i>	12
4.2.2	<i>Senotainia tricuspis</i>	15
4.3	Fungos	16
4.3.1	<i>Nosema</i> spp.	16
III.	Contribuição para estudo sanitário em abelhas adultas nos Açores	19
1	Objetivos do estudo	19
2	Materiais e métodos	19
2.1	Contexto demográfico, geográfico e apícola da RAA.....	19
2.2	Caracterização das amostras	20
2.3	Metodologia de colheita.....	21
2.3.1	Conservação e envio para o laboratório	21
2.4	Procedimento laboratorial.....	22
2.4.1	Pesquisa de agentes fúngicos.....	22
2.4.2	Pesquisa de ácaros.....	22
2.4.3	Pesquisa de dípteros.....	23
2.4.4	Critérios de interpretação	24
2.4.5	Análise estatística	24
3	Resultados do estudo	25
3.1	<i>Acarapis woodi</i>	28
3.2	<i>Braula coeca</i>	29
3.3	<i>Nosema</i> spp.	31
3.4	<i>Senotainia tricuspis</i>	33

4	Discussão.....	35
	4.1 Limitações do estudo.....	39
5	Conclusão.....	39
6	Bibliografia.....	41

Lista de Figuras

Figura 1 Elementos de uma caixa Langstroth (Adaptado de Loja Apidroches, 2025)	2
Figura 2 Divisão de tarefas das abelhas obreiras (Fonte: Apiário Amigos da Terra, 2025)	3
Figura 3 Esquema do desenvolvimento das abelhas na colónia. (Fonte: Apiário Amigos da Terra, 2025)	3
Figura 4 - Visão geral da anatomia da abelha melífera. Adaptado de ilustrações de Patrick D. Wilson. Fonte: Faux, C. 2021.	5
Figura 5 - <i>Braula</i> (Em cima), <i>Varroa</i> (Direita), <i>Tropilaelaps</i> (Em baixo) e Ácaro do Pólen (Esquerda). Food and Environment Research Agency (Fera). Fonte: BeeAware, 2022	14
Figura 6 - Traqueias e sacos aéreos sem alterações observáveis. Original.	28
Figura 7 - Traqueias com presença de ovos e ninfas de <i>Acarapis woodi</i> . Original.	28
Figura 8 - Traqueia com presença de exemplares adultos de <i>Acarapis woodi</i> . Original.	28
Figura 9 - Exemplar de <i>Acarapis woodi</i> no interior de uma traqueia. Original.	28
Figura 10 - Mapa com frequência relativa de <i>A. woodi</i> nas ilhas.	29
Figura 11 - Mapa com frequência relativa de <i>B. coeca</i> nas ilhas.	30
Figura 12 Exemplares de <i>B. coeca</i> em vista ventral (A e B), dorsal (C) e lateral (D e E). Originais.	31
Figura 13 - Presença de esporos de <i>Nosema</i> spp. . Original.	31
Figura 14 - Mapa com frequência relativa de <i>Nosema</i> spp. nas ilhas.	32
Figura 15 - Larva <i>S. tricuspis</i> . Original.	33
Figura 16 - Larva de <i>S. tricuspis</i> . Original.	33
Figura 17 - Larva de <i>S. tricuspis</i> . Original.	33
Figura 18 - Mapa com frequência relativa de <i>S. tricuspis</i> nas ilhas.	34

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Amostras a colher conforme a dimensão do apiário.	21
Tabela 2 – Interpretação de resultados	24
Tabela 3 – Nº de amostras por mês em cada ilha e percentagem de amostras por ilha.	25
Tabela 4 – Precipitação acumulada mensalmente em cada ilha.	26
Tabela 5 – Temperaturas diária registadas pelo IPMA.	27
Tabela 6 – Número de amostras positivas e prevalência de <i>A. woodi</i>	29
Tabela 7 – Número de amostras positivas e prevalência de <i>B. coeca</i>	30
Tabela 8 – Número de amostras positivas e prevalência de <i>Nosema</i> spp.	32
Tabela 9 – Número de amostras positivas e prevalência de <i>S. tricuspis</i>	34

Lista de Gráficos

Gráfico 1 Prevalência dos diferentes agentes patogênicos na RAA	35
Gráfico 2 Prevalência dos diferentes agentes nas diferentes ilhas	35
Gráfico 3 Prevalência mensal dos diferentes agentes patogênicos na RAA	36

Lista de Abreviaturas, Símbolos, Siglas e Acrónimos

mm – Milímetros

µm – Micrómetros

% - Percentagem

OIE – *Office International des Epizooties*

PCR – Reação em cadeia da polimerase (*Polymerase Chain Reaction*)

LMR – Limite Máximo de Resíduos

RAA – Região Autónoma dos Açores

SRAF - Secretaria Regional da Agricultura e Florestas

INE – Instituto Nacional de Estatística

I. Relatório de atividades

O estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, decorreu entre o dia 19 de outubro de 2020 e 15 de junho de 2021, e teve lugar no Laboratório do Posto Apícola Nacional, no Pólo da Tapada da Ajuda, parte integrante do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, incidindo sobre a temática de Sanidade Apícola no Serviço de Patologia Apícola. Durante o período, sob a orientação da Dra. Maria José Lisboa Valério da Silva, a aluna pôde observar e fazer parte das atividades diárias deste laboratório, realizando a receção, ordenamento, processamento e análise de todas as amostras recebidas. Durante o processamento a aluna teve a oportunidade de se familiarizar com diferentes técnicas de pesquisa de *Varroa destructor*, *Braula coeca*, *Senotainia tricuspis*, *Acarapis woodi*, *Nosema spp.* e, por último, *Paenibacillus larvae*, o agente causador da Loque Americana. Teve ainda a oportunidade de observar várias centenas de amostras, oriundas de Portugal Continental como da Região Autónoma dos Açores, sobre as quais o seu estudo incidiu, realizando o diagnóstico de doenças como a Acarapisose, Braulose, Nosemose, Senotainiose, Varroose.

Estágio extracurricular

A aluna realizou ainda, nas horas disponíveis, um estágio extracurricular na clínica de animais de companhia URVET de janeiro de 2021 a abril do mesmo ano, onde acompanhou o Dr. Luís Neves. Neste período acompanhou consultas de profilaxia, assim como diversos casos clínicos, tendo assistido o internamento de vários animais, participando na realização de diversas análises clínicas e exames radiológicos. Durante este estágio, a aluna pode ainda assistir e participar em diversas cirurgias e eutanásias.

II. Revisão Bibliográfica

1 Introdução

Os animais mais abundantes no nosso planeta são insetos. Sendo que, popularmente, na sua maioria são considerados prejudiciais para os Humanos, quando na realidade nem um por cento das espécies se enquadra na categoria de peste, sendo as abelhas melíferas uns dos poucos insetos benéficos para o Homem (Chand, et al., 2022).

A apicultura é praticada em todas as partes do mundo desde tempos imemorráveis. Encontram-se pinturas datadas de 7000 anos a.C. que testemunham o aproveitamento de favos encontrados em cavidades rochosas, retratando os humanos a efetuar a sua recolha e abelhas esvoaçando à sua volta (Crane, 1999). Ainda neste período histórico, surgiu a apicultura dita selvagem, com a captura de enxames de abelhas para recipientes e intervencionados apenas para recolha dos produtos da colmeia (Mendes de Jesus, 2020). Já noutro período histórico, tem-se o primeiro registo oficial desta atividade encontrado em listas de apiários de com cerca de 2400 anos a.C. (Chand, et al., 2022).

O crescimento comercial desta atividade começou no século XIX, 1851, quando Langstroth criou uma colmeia de caixa retangular em madeira com quadros móveis, separados entre si com distância fixa, permitindo a construção dos favos nos mesmos (Mendes de Jesus, 2020; Chand, et al., 2022). Esta invenção veio permitir ao apicultor uma inspeção da colónia e recolha do mel sem danificar a colónia (Mendes de Jesus, 2020). Na Alemanha, pouco tempo depois, em 1857, Johannes Mehring criou as lâminas de cera, disponibilizadas para uso comercial em 1896 (Chand, et al., 2022).

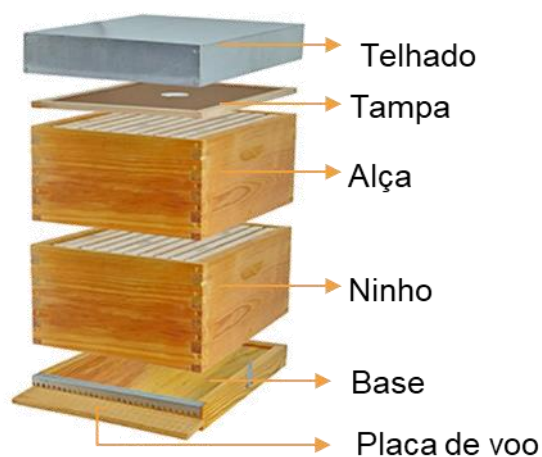


Figura 1 Elementos de uma caixa Langstroth (Adaptado de Loja Apidroches, 2025)

Hoje a importância desta atividade é reconhecida a nível global, tanto a nível económico como na agricultura, pela sua ação polinizadora e pelos seus produtos extraídos da colmeia (Mendes de Jesus, 2020; Chand, et al., 2022). A apicultura é também uma atividade importante na segurança alimentar e biodiversidade, que ajuda mundialmente na redução de pobreza e aumento da sustentabilidade nas zonas rurais (Chand, et al., 2022).

2 O género *Apis* e a sua organização social

A maioria das diferentes espécies de abelhas existentes são insetos solitários, no entanto, a abelha melífera, do género *Apis*, é um inseto social que vive em colónia (Chand, et

al., 2022; OIE, 2018; van Veen, 2014), tendo uma única reprodutora, a rainha, muitas filhas estéreis, as obreiras, e por machos, os zangãos (van Veen, 2014).

Segundo a OIE (2018) as duas espécies mais importantes na apicultura são *Apis mellifera* e *Apis cerana*. A espécie *A. mellifera* é nativa da Europa e África e encontrada em quase todo o mundo, sendo a mais usada na apicultura e a mais importante economicamente, sendo que a suscetibilidade às doenças varia entre espécies (van Veen, 2014; OIE, 2018).

Na colónia existe uma divisão de tarefas em que as abelhas obreiras mais jovens, as amas e as limpadoras, fazem a limpeza da colmeia e alimentação da rainha e criação, estas ao envelhecer ficam responsáveis pela produção de cera, de própolis e dos favos, pela proteção da colmeia e homeostase da mesma. Finalmente, as obreiras mais velhas, as campeiras, colhem os recursos necessários para a produção e sobrevivência da colónia, como pólen, néctar, água e resina (Sammataro, et al., 2000; van Veen, 2014).



Figura 2 Divisão de tarefas das abelhas obreiras (Fonte: Apiário Amigos da Terra, 2025)

A reprodução de colónias ocorre por divisão da colónia, o enxameamento, em que um grupo de abelhas obreiras, guiadas pela rainha, vão estabelecer uma nova colónia nouro local. Ficando a colónia original com a criação e as reservas, emergindo uma nova rainha de um dos alvéolos reais presentes, mantendo-se o crescimento da colmeia (van Veen, 2014).

A rainha tem o seu desenvolvimento total em 16 dias, enquanto as obreiras requerem 21 dias e os zangãos 24 dias (Sammataro, et al., 2000).

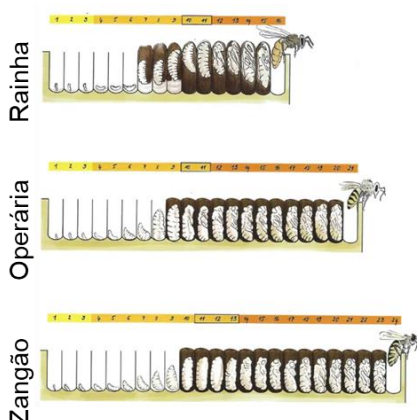


Figura 3 Esquema do desenvolvimento das abelhas na colónia. (Fonte: Apiário Amigos da Terra, 2025)

A rainha pode sobreviver anos, ao contrário das obreiras e dos zangãos, que, por norma, vivem apenas algumas semanas. Em períodos de frio as obreiras podem sobreviver durante vários meses, agrupando-se junto à rainha para incubar os ovos postos nesta época (Sammataro, et al., 2000).

O sistema de comunicação na colónia é complexo, baseado numa matriz de feromonas, na sua maioria, produzidas pela rainha, permitindo um funcionamento em união (Sammataro, et al., 2000; van Veen, 2014). As hormonas da rainha são responsáveis por demonstrar a sua

dominância reprodutiva, por manter as abelhas calmas e para a identificar. Existem feromonas de alerta e a feromona de Nasonov, importante na orientação para as campeiras e durante o enxameamento (van Veen, 2014).

Invasores que contornam as defesas da colônia, aproveitam as condições do ambiente da colmeia, favoráveis para o seu desenvolvimento e para a sua reprodução. A maioria destes invasores associados às abelhas melíferas são ácaros, sendo o maior grupo e com maior diversidade (Sammataro, et al., 2000).

3 Síntese da anatomia de *Apis mellifera*

A morfologia e fisiologia da abelha melífera são semelhantes à maioria dos insetos, no entanto existem diferenças evidentes e necessárias conhecer de modo a compreender melhor a sua etologia, assim como a sua relevância perante as diferentes patologias (Martínez, 2018; Faux, 2021).

Observa-se três morfologias distintas, a do zangão, a da obreira e a da rainha. O tamanho da rainha depende da ocorrência, ou não, do acasalamento, afetando a dimensão do abdómen. Sendo que em média, após o acasalamento, a rainha tem cerca de 20 mm de comprimento com um abdómen grande e longo. Comparando com as obreiras e zangãos, as asas da rainha são curtas em relação ao abdómen. As obreiras têm, em média, 15 mm de comprimento e os zangãos são ligeiramente maiores, com cerca de 19 mm. Os zangãos não

possuem ferrão e distinguem-se também por ter uns olhos maiores e um corpo ligeiramente mais largo (Faux, 2021).

Como se observa na Figura 1, o corpo divide-se em três secções distintas: a cabeça, o tórax e o abdómen (Winston, 1991; Domingos, et al., 2016).

A abelha melífera, sendo um ser invertebrado, tem o seu corpo definido por um exoesqueleto rígido composto por diversas camadas e segmentos, conectados por membranas (Faux, 2021; Winston, 1991). Na cabeça e no tórax o exosqueleto é rígido, ao contrário do abdómen que tem um exoesqueleto mais flexível (Martínez, 2018), permitindo expansão quando existe conteúdo no aparelho digestivo, assim como permite a sua contração (Winston, 1991). O exoesqueleto, composto essencialmente por quitina, esclerina, resilina e cera, fornece tanto proteção como estabilidade do corpo visto ser uma estrutura resistente, rígida, flexível e impermeável (Domingos, et al., 2016), estando na sua maior parte coberto por pelos (Winston, 1991; Dade, 2009). No seu interior temos o local de inserção dos músculos e zona de contacto com a hemolinfa, assim como os restantes os órgãos internos (Carreck, et al., 2013; Dade, 2009). A cabeça é a maior zona responsável pela perceção sensorial do corpo, encontrando-se nesta os olhos, as antenas e pelos sensoriais, nela temos também o aparelho bucal e as glândulas associadas (Winston, 1991; Martínez, 2018).

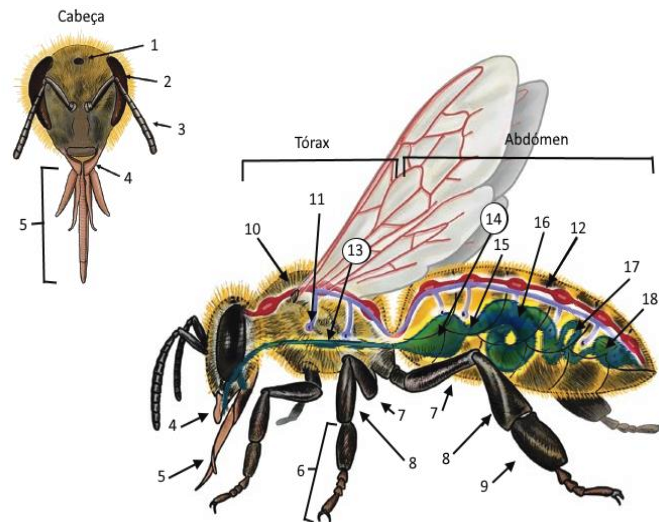


Figura 4 - Visão geral da anatomia da abelha melífera. Adaptado de ilustrações de Patrick D. Wilson. Fonte: Faux, C. 2021.

1. Ocelo; 2. Olho composto; 3. Antena; 4. Mandíbula; 5. Probóscide; 6. Tarso; 7. Fémur; 8. Tibia; 9. Corbícula; 10. Aorta torácica; 11. Espiráculo; 12. Coração abdominal; 13. Esófago; 14. Vesícula melífera; 15. Válvula proventricular; 16. Ventrículo; 17. Intestino delgado; 18. Ampola retal.

Os dois olhos mais salientes nas laterais da cabeça são os olhos compostos que permitem a distinção de algumas cores. A abelha tem também 3 olhos simples, os ocelos, situados em padrão triangular no topo da cabeça, acreditando-se que apenas são sensores de luz (Faux, 2021; Hung & Ibbotson, 2014).

O par de antenas são estruturas segmentadas com recetores sensoriais, recolhendo informação táctil, gustativa, olfativa, térmica e de níveis de humidade, funcionando também como detetor de vibrações e de feromonas (Faux, 2021; Carreck, et al., 2013).

O aparelho bucal é composto essencialmente pelas mandíbulas e pela probóscide. As mandíbulas funcionam como pinças, utilizadas pelas obreiras para manuseamento da cera e do pólen, uma vez que permitem movimentos laterais (Faux, 2021), assim como para

alimentar crias e auxílio em combate. A probóscide é composta por diferentes partes bucais que formam uma estrutura tubular, utilizada na trofilaxia, desidratação do néctar e para colher líquidos, como a água e o néctar (Carreck, et al., 2013).

No tórax encontramos três secções: protórax, mesotórax e metatórax. Estas secções são os locais de inserção do aparelho locomotor da abelha, composto por dois pares de asas e três pares de patas (Martínez, 2018; Carreck, et al., 2013). As patas são segmentadas de modo a permitir movimentação com destreza e agilidade, observando-se diferentes funções em cada par. O primeiro e segundo par de patas têm pelos que formam estruturas semelhantes a escovas e pentes, auxiliando na limpeza das antenas, dos olhos e do restante corpo (Faux, 2021; Dade, 2009), permitindo também remover o pólen recolhido. No final das patas temos garras que permitem as abelhas agarrarem-se nas superfícies que pretendem caminhar (Carreck, et al., 2013; Dade, 2009). No último par de patas encontramos a corbícula, uma parte da tíbia modificada de modo a transportar o pólen recolhido e o própolis produzido. Nas laterais do tórax observamos os primeiros orifícios do sistema respiratório, os espiráculos, aberturas para o sistema de traqueias e sacos aéreos que permitem a oxigenação do organismo. Estes espiráculos vão encontrar-se ao longo das laterais do corpo. A abelha tem um sistema circulatório aberto, ocorrendo a oxigenação dos tecidos por difusão, existindo um único vaso de hemolinfa ao longo do corpo (Faux, 2021).

O abdómen contém a maioria dos órgãos internos (Winston, 1991), entre eles tem o coração da abelha, o aparelho reprodutor e a maioria do aparelho digestivo. Dos órgãos digestivos encontrados no abdómen, temos a vesícula melífera, usada para transportar recursos como água e néctar. De seguida o ventrículo, onde a digestão começa, existindo uma válvula proventricular, de modo a impedir a entrada dos recursos no mesmo. O aparelho digestivo termina numa ampola rectal que permite a retenção de dejetos até a abelha sair da colmeia, efetuando o dito “voo de limpeza”. Na abertura da ampola retal, o ânus, encontra-se nas fêmeas o ferrão, parte do aparelho de defesa, sendo simples na rainha e cerrado nas obreiras (Martínez, 2018; Faux, 2021).

4 Principais agentes patogénicos em adultos de *Apis mellifera*

4.1 Ácaros

4.1.1 *Acarapis woodi*

A espécie *Acarapis woodi*, pertencente ao filo Artropoda (Sammataro 2013), é um parasita interno que vive dentro da traqueia e sacos aéreos das abelhas, *Apis mellifera* (Peng & Nars, 1985; Sammataro, et al., 2000), sendo específico destas. Causando uma parasitose contagiosa, a Acarapisose, sendo conhecido como o ácaro da traqueia (Martínez, 2018; Colin, et al., 1979).

Foi observado pela primeira vez no início do século XX na Grã-Bretanha, associado a mortes massivas de abelhas na Ilha Wight, sendo descrito pela primeira vez como *Tarsonemus woodi* em 1921 por Rennie e, ainda nesse ano, reclassificado por Hirst como *A. woodi* (Sammataro, 2013; Martínez, 2018).

Segundo Martínez (2018), *Acarapis woodi* apresenta dimorfismo sexual, sendo o macho mais pequeno, com patas mais longas e com menos segmentos dorsais, em relação à fêmea. *A. woodi* tem uma cor ligeiramente amarelo acastanhada e um aparelho bucal picador-sugador, com quatro pares de patas.

A espécie *A. woodi* afeta os elementos adultos da colónia, atingindo de igual forma a rainha, obreiras e zangãos (Martínez, 2018). *A. woodi* tem um ciclo de vida curto (Sammataro, et al., 2000), passando por 4 fases, o ovo, a larva, a ninfa e adulto. Uma nova geração surge em apenas duas semanas uma vez que a duração total do desenvolvimento desde a eclosão até formação do adulto é de 11 – 12 dias nos machos e 13 – 16 dias nas fêmeas (Sammataro 2000; Sammataro 2013; Martínez 2018).

A fêmea fecundada entra na traqueia da abelha e passados 4 – 5 dias realiza a postura de 5 a 6 ovos, sendo possível encontrar ovos nos sacos aéreos abdominais e da cabeça (Sammataro, et al., 2000; Martínez, 2018). Estes ovos eclodem passados quatro dias, saindo larvas em forma de saco com apenas o primeiro par de patas desenvolvido. Estas larvas alimentam-se da hemolinfa da abelha e após 6 – 7 dias passam a ninfas, tendo quatro par de patas e finalmente convertem-se em ácaros adultos (Martínez, 2018). Estes obtêm acesso à hemolinfa através de perfurações na traqueia da abelha (Sammataro 2000; Sammataro 2013).

Todas as fases vivem na traqueia, com exceção do momento em que as fêmeas adultas, assim que fecundadas, abandonam a traqueia e por contacto passam para o sistema traqueal de outra abelha (Martínez, 2018), entrando pelo primeiro espiráculo torácico das abelhas com menos de 12 dias (Morgenthaler, 1930). Estas evitam abelhas mais velhas, devido à dureza dos pelos (Bailey, 1958), e devido à esperança de vida das mesmas não ser suficiente para se completar o ciclo de uma nova geração (Sammataro 2000; Bailey 1958; Sammataro 2013).

O tempo de vida médio dos ácaros é de 15 a 20 dias, sendo que no exterior de abelhas ou em abelhas mortas sobrevivem 12 a 15 dias (Martínez, 2018).

Hoje pensa-se que o ácaro da traqueia está distribuído por todo o mundo, nos locais onde as abelhas Europeias foram introduzidas. Não sendo detetados, até o ano 2000, na Suécia, Noruega, Dinamarca, Nova Zelândia, Austrália, e no estado do Havaí (Sammataro, et al., 2000). É ainda muito observado nas zonas indemnes à Varroose em Portugal, isto é, seis das nove ilhas da Região Autónoma dos Açores (RAA): São Miguel, Santa Maria, Terceira, Graciosa, São Jorge e Corvo (Comissão Europeia, 2019; Com. pess. Valério, 2021; DGAV, 2021).

A transmissão num apiário ou entre apiários pode ocorrer em situações de contacto íntimo entre as abelhas (Bailey, 1958), durante o manuseio da colmeia, por deriva, por pilhagem, enxameação natural, transumâncias e transações comerciais não controladas (Martínez, 2018).

Os sinais clínicos de Acarapiose não são específicos da doença, tal como para outras doenças da abelha adulta. Apesar de a infestação encurtar a esperança de vida da abelha, os efeitos são ligeiros (Bailey, 1961). Uma carga elevada de ácaros da traqueia pode causar uma redução de criação, levando a uma população reduzida, aglomerados mais fracos no inverno, aumento do consumo de mel, baixa produção de mel e, conseqüentemente, morte da colónia (Sammataro, et al., 2000). Podem-se observar alterações no voo, ficando lento e por vezes impossível devido à degenerescência dos músculos existentes nas articulações das asas, apresentando estas uma posição anormal, perpendiculares ao corpo e caídas, como que deslocadas. O consumo prematuro das reservas corporais provoca uma repleção excessiva na ampola retal das abelhas parasitadas, originando um abdómen dilatado e podendo provocar disenteria em virtude de dificuldade de as abelhas realizarem o seu “voo de limpeza” devido à obstrução das traqueia e conseqüente dispneia. O depósito de toxinas na hemolinfa pode originar septicémia na abelha (Martínez, 2018).

No inverno existe um aumento nas possibilidades de propagação da doença, uma vez que, devido à presença de más condições climáticas, as abelhas permanecem no interior da colmeia e vivem mais tempo, e estando mais confinadas à colmeia com um contacto mais próximo entre elas permite aos ácaros exercer a sua ação patogénica mais eficientemente (Colin, et al., 1979).

Na presença de bom tempo e floração abundante, as abelhas estão mais ativas e têm a vida encurtada, sendo que os ácaros têm menos oportunidade para atingir a maturidade e migrar (Bailey, 1958), sendo fácil desvalorizar o perigo desta parasitose, devido à regressão espontânea da doença (Martínez, 2018).

O diagnóstico clínico normalmente não é fiável, pois os sinais clínicos não são específicos. O diagnóstico é realizado em ambiente laboratorial, sendo necessário identificar a presença de *A. woodi* no interior das traqueias das abelhas (Martínez, 2018). Os ácaros não são visíveis a olho nu, sendo que a única forma de identificar a sua presença é através da sua observação microscópica nas traqueias das abelhas (Sammataro 2000), retirando as traqueias isoladamente (Martínez, 2018) ou por cortes transversais do tórax (Peng & Nars, 1985). Não é necessária grande ampliação no microscópio para se observar as traqueias com a presença de ovos, formas imaturas, ácaros adultos, restos de muda, dejetos ou melanizações das paredes da traqueia (Martínez, 2018), que ocorrem com o aumento da população, e dano das paredes (Bailey, 1981).

É preferível a utilização de abelhas frescas ou congeladas para disseção pois abelhas preservadas em álcool podem ter os tecidos escurecidos tornando a visualização dos ácaros mais difícil (Sammataro, et al., 2000), assim como abelhas humedecidas ou muito secas (Martínez, 2018). A infestação precoce normalmente passa despercebida devido ao tamanho do ácaro, 100 µm, e à semelhança da sua cor com a da traqueia (Peng & Nars, 1985), sendo observados quase exclusivamente do primeiro par de traqueias devido às suas dimensões, 200 µm, serem as maiores do sistema de traqueias. Existem também testes serológicos por técnicas de ELISA para deteção dos mesmos (Martínez, 2018; Sammataro, et al., 2000).

Quando o ácaro é observado no exterior é necessário fazer diagnóstico diferencial de outros ácaros externos, como *A. dorsalis*, *A. externus* e *A. vagans*, que não são patogénicos (Martínez, 2018).

O tratamento é dirigido aos ácaros adultos através da utilização de acaricidas, sendo mais eficaz quando o enxame se encontra todo dentro da colmeia. As larvas e as formas imaturas são menos sensíveis aos acaricidas devido à sua imobilidade e os ovos não são afetados pelos tratamentos (Martínez 2018). É necessário ter em conta o modo de atuação dos acaricidas, para que tenham maior eficácia. Os acaricidas de ação sistémica, que estão presentes na hemolinfa da abelha, e os de atuação por evaporação são os que devem ser utilizados para controlo da doença, já que se vão encontrar na zona de atuação do parasita (Martínez, 2018). As substâncias ativas não devem ser prejudiciais para as abelhas, nem ficar acumulados resíduos nos produtos da colmeia (Sammataro 2000).

Os acaricidas que atuam por contacto não são os mais apropriados, uma vez que o ácaro só está exterior da abelha por breves períodos. Sendo importante ter em atenção que a ação dos produtos que atuam por evaporação está dependente da temperatura ambiente. Na presença de temperaturas baixas estes não evaporam e com temperaturas altas evaporam-se demasiadamente rápido podendo afetar negativamente não só a criação, como as abelhas adultas (Martínez, 2018).

4.1.2 *Varroa destructor*

A espécie *Varroa destructor* esteve descrita como *Varroa jacobsoni* até o ano 2000, ano em que foi reclassificada por Anderson e Trueman, verificando-se que este tem um corpo maior em relação a *V. jacobsoni* (Roth, et al., 2020). É um artrópode e parasita específico da abelha melífera responsável pela doença conhecida como Varroose (Anderson & Trueman, 2000), uma das doenças mais graves na apicultura. Inicialmente, a Varroose, teve um impacto dramático a nível económico na Apicultura devido a afetar o produto final, tanto na produção direta das abelhas como na produção indireta, como a polinização (Giurgiu, et al., 2020).

A fêmea tem aproximadamente 1,1 mm x 1,6 mm, sendo visível a olho nu, tem tonalidade castanha avermelhada escura, com um corpo achatado e de forma oval, coberto

de pequenas cerdas tando dorsalmente como ventralmente, o que ajuda a ficar no corpo do hospedeiro (Roth, et al., 2020). Muitas vezes é confundido com *Braula coeca*, sendo necessário realizar diagnóstico diferencial entre os mesmos (Martínez, 2018).

O ácaro, *V. destructor*, tem um ciclo biológico com duas fases distintas: a fase forética e a fase reprodutiva. A primeira ocorre fora do alvéolo nas abelhas adultas e a fase reprodutiva ocorre no interior dos alvéolos operculados (Giurgiu, et al., 2020).

Este é um parasita obrigatório cuja esperança de vida fora da abelha não ultrapassa os dois dias durante a fase forética, dependendo das circunstâncias ambientais (Martínez, 2018).

A fêmea entra nos alvéolos da criação das obreiras e zangãos, cerca de 24 horas antes da operculação. Tem preferência pelos alvéolos de zangãos devido a vários fatores: maior período de operculação, temperatura mais favorável, pois esta é menor à periferia do quadro (OIE, 2018; Com. pess. Valério, 2021; Giurgiu, et al., 2020), pela presença de feromonas das larvas de zangão, mais atraentes para os ácaros, pelo fornecimento de maior quantidade de alimento e permitindo que seja depositado nos alvéolos um maior número de ovos, permitindo que um maior número de fêmeas nascidas sejam fecundadas (Com. pess. Valério, 2021).

A fêmea de *V. destructor* alimenta-se da larva da abelha de modo a ativar o sistema ovárico (Giurgiu, et al., 2020), mantendo um único local de alimentação na cutícula da pupa, onde o ácaro fêmea e a sua descendência se vão alimentar. Passadas 60 a 70 horas da operculação inicia-se ovoposição, e o primeiro ovo é colocado na parte anterior do alvéolo (Martínez, 2018), dando origem a um macho. Os seguintes ovos, até 7, geralmente são postos com o intervalo de 1 a 2 dias e originam fêmeas, realizando-se a fecundação dentro do alvéolo (Giurgiu, et al., 2020). Estes eclodem em ninfas e apenas duas ou três fêmeas atingem o estado adulto (OIE, 2018). As fêmeas adultas saem do alvéolo quando a abelha adulta emerge, enquanto o macho morre (Giurgiu, et al., 2020).

Nas abelhas adultas este ácaro encontra-se entre as esternites abdominais e por vezes entre a cabeça e o tórax, penetrando no abdómen, nas membranas intersegmentais, para se alimentar da hemolinfa (OIE, 2018). A Varroose afeta todas as fases de desenvolvimento da abelha, limitando a viabilidade das colónias de uma maneira importante caso o seu controlo não seja adequado (Martínez, 2018; OIE, 2018).

Atualmente *V. destructor* é considerado um parasita cosmopolita (Locke, et al., 2014; Anderson & Trueman, 2000), sendo conhecida como exceção de zonas indemnes à Varroose, como por exemplo, 6 das 9 ilhas da RAA: São Miguel, Santa Maria, Terceira, Graciosa, São Jorge e Corvo, em Portugal (Comissão Europeia, 2019; DGAV, 2021), detetado pela primeira vez na RAA em 2000 na Ilha do Pico, 2001 na ilha das Flores e 2008 na ilha do Faial (DRV, 2022). Austrália manteve-se como zona indemne de Varroa (Owen, et al., 2021) até o ano de

2022, onde este foi detetado pela primeira vez em junho, sendo declarado em setembro de 2023 a não possibilidade de erradicação (AUSTRALIAN GOVERNMENT , 2025).

Apesar da doença estar já estabelecida é importante salientar as principais causas de transmissão, sendo estas a pilhagem, a deriva, os zangãos. A transumância foi muito responsável pela rápida disseminação de *V. destructor*, assim como o comércio não controlado de enxames (Martínez, 2018).

A varroa tem uma ação patogénica direta, visto se alimentar da hemolinfa, possibilitando a transmissão de diferentes agentes patogénicos, como o caso de vírus. As abelhas enquanto adultas apresentam apenas a presença do ácaro sobre elas (Sabahi, et al., 2020), enquanto abelhas afetadas durante a fase de criação demonstram vários efeitos do parasitismo tais como tempo médio de vida reduzido, especialmente no que concerne à fase produtiva, e alterações comportamentais (OIE, 2018; Giurgiu, et al., 2020). Pode afetar o desenvolvimento, o crescimento, o sistema imunitário e o metabolismo das abelhas, podendo esta morrer antes de sair do alvéolo. Estas podem não chegar ao tamanho adequado, ter o abdómen encurtado, patas atrofiadas entre outras alterações, levando a uma população reduzida (Giurgiu, et al., 2020). Os quadros com criação operculada morta, por consequência do parasita, vão apresentar um aspeto semelhante a loque americana, criação em mosaico, opérculos quebrados e afundados, tendo um odor desagradável devido à putrefação das larvas (Martínez, 2018).

A presença dos ácaros faz com que as abelhas tenham uma atividade geral mais ativa, na tentativa de se livrarem destes, conseqüentemente existe uma redução de participação nas tarefas da colónia (Giurgiu, et al., 2020). No inverno, na presença de infestações médias a elevadas, os aglomerados de abelhas são menos densos e muitas das abelhas saem da colmeia (Martínez, 2018), resultando em taxas de sobrevivência baixas (Giurgiu, et al., 2020). O consumo das reservas aumenta, assim como a produção de calor pelas abelhas, o que pode levar ao prolongamento da postura da rainha, prolongando a época de reprodução do ácaro criando uma propensão para o aumento da infestação (Martínez, 2018).

Devido à diminuição de vitalidade da colónia, o aporte de néctar e pólen diminui e a colónia fica debilitada, podendo até desaparecer. Em fase terminal, a colónia perde a sua população quase na totalidade, observando-se algumas reservas, mas não abelhas (Martínez, 2018).

O diagnóstico precoce deve ser um dos objetivos do apicultor, de modo a atuar cedo e manter taxas de infestação sempre baixas (Com. pess. Valério, 2021). A deteção do ácaro pode ser feita numa abordagem clínica, por observação direta sobre os indivíduos adultos ou criação e/ou por observação de sinais associados a esta. Pode-se ainda recorrer a produtos químicos, acaricidas, forçando a “queda” dos ácaros sobre uma cartolina branca coberta com

vaselina, no fundo da colmeia. Algumas substâncias permitem resultados imediatos, passada uma hora da sua aplicação, outros podem demorar 24 a 48 horas (OIE, 2018; Martínez, 2018).

Para realizar diagnóstico laboratorial, observa-se macroscopicamente uma amostra de abelhas. Pode-se realizar um método complementar, a desoperculação dos alvéolos de criação de forma a observar fêmeas ou formas imaturas de varroa no seu interior (Martínez, 2018).

Os produtos para utilização no tratamento devem estar registados como medicamentos veterinários de uso em apicultura, devendo ser determinado o Limite Máximo de Resíduos no mel. Apesar de existirem várias moléculas eficazes como acaricidas para controlo da Varroose, é necessário ter em consideração as implicações biológicas que estes poderão ter sobre as abelhas. Não existem tratamentos autorizados capazes de atravessar o opérculo, assim a eliminação total do ácaro numa colónia é, na prática, impossível (Martínez, 2018; Giurgiu, et al., 2020).

Existem métodos de complemento ao controlo químico (Giurgiu, et al., 2020), como métodos biotecnológicos com objetivo de dificultar o desenvolvimento de *Varroa* e reduzir o potencial biológico, consistindo em técnicas de manejo sobre as colónias-alvo, como a criação intensiva de zangãos para posterior remoção durante a fase de operculação e o isolamento da rainha para remoção da criação (Vilas-Boas, 2008; Martínez, 2018), seleção de populações resistentes ao ácaro, entre outros (Giurgiu, et al., 2020; Roth, et al., 2020).

Existem métodos biológicos onde se utiliza certos fungos ou bactérias com pouco efeito patogénico sobre as abelhas, mas altamente patogénicos para *V. destructor* no interior das colmeias (Martínez, 2018; Roth, et al., 2020).

4.2 Insetos

4.2.1 *Braula coeca*

A espécie *Braula coeca*, pertencente à Ordem Díptera (Martínez, 2018), é um parasita externo das abelhas adultas, causador da doença conhecida como Braulose, conhecido como o piolho das abelhas (Sarwar, 2016; Somerville, 2007).

Este díptero sofreu algumas modificações onde perdeu as asas e desenvolveu patas compridas e fortes, terminando em garras transformadas em pentes, adaptadas para agarrar o corpo da abelha (Sarwar, 2016; Martin & Bayfield, 2014). O seu corpo é oval e tem cerca de 1,5 por 0,9 mm, tem olhos simples, antenas reduzidas, não existindo zona de transição marcada entre o tórax e o abdómen. Quando recém-eclodido, este díptero é branco-amarelado e vai escurecendo para castanho avermelhado até chegar ao estado adulto. Apresenta um aparelho bucal sugador, o que não permite a perfuração da quitina da abelha (Sarwar, 2016; BeeAware, 2022).

A espécie *B. coeca* passa o inverno na colmeia e tem um ciclo de cerca de 10 a 21 dias. Quando as condições são favoráveis (BeeAware, 2022), a fêmea deposita os ovos no interior da cera de operculação dos alvéolos de mel, e por vezes nas paredes destes mesmos, nunca depositando na criação (Martínez, 2018), eclodindo apenas os que se encontram em alvéolos operculados (BeeAware, 2022).

Os ovos eclodem após 2 a 7 dias, dependendo da temperatura presente. Na cera dos opérculos a larva cria túneis que são visíveis ao longo do favo (BeeAware, 2022), inicialmente são pequenos, cerca de 1 mm largura, e vão aumentando conforme o parasita cresce (Martínez, 2018). As larvas, durante os seus três estádios, alimentam-se de mel e pólen durante passando ao estágio de pupa após 7 a 11 dias, passando a adulto após 1 a 3 dias (BeeAware, 2022).

Ao chegar ao estado adulto, a mosca não se alimenta de mel (Martin & Bayfield, 2014), sendo que as fêmeas acasalam o mais rápido possível e procuram uma abelha adulta (BeeAware, 2022) para fixar-se na zona do tórax, de modo a alcançar a comida com as patas (Martínez, 2018), não sobrevivendo mais de um dia se não se alimentarem. A mosca rouba o alimento ao hospedeiro provocando a regurgitação quando o mesmo se encontra a alimentar, ou em trofilaxia (BeeAware, 2022; Martin & Bayfield, 2014), A regurgitação é provocada colocando as suas patas na cavidade boca da abelha de modo a causar este estímulo (Martínez, 2018). Esta mosca tende a escolher obreiras amas como hospedeiro devido ao seu maior acesso ao alimento, preferindo a rainha uma vez que esta se movimenta menos (Martínez, 2018; BeeAware, 2022).

O alimento é retirado no local onde o conduto das glândulas salivares confluem e o néctar se mistura com a saliva. Também acede, nas abelhas ama, às glândulas hipofaríngeas que produzem a geleia real. Estes passam entre abelhas com grande rapidez, podendo ser observados em zangãos pois estes pedem alimento às obreiras (Martínez, 2018).

Esta mosca sobrevive na ausência de criação de abelhas, no entanto necessita das abelhas adultas para sobreviver (BeeAware, 2022), conhecendo-se casos de sobrevivência sem contacto direto com as abelhas (Somerville, 2007).

Este parasita está distribuído por todas as partes do mundo (BeeAware, 2022) e não causa problemas graves nas abelhas (Somerville, 2007). No entanto, provoca danos nos alvéolos de armazenamento de mel e fermentação do mesmo, prejudicando também a aparência dos favos e sua comercialização (BeeAware, 2022). Com os tratamentos recorrentes para controlo da Varroose a sua presença tem diminuindo e as consequências são ainda menores (Martínez, 2018; Somerville, 2007).

A presença ou ausência da rainha na colónia não influencia a presença de *B. coeca*, este não é bem um parasita, mas sim um ser comensal. No entanto se a sua presença for abundante pode afetar a colónia como um parasita (Martínez, 2018). Na rainha muitas vezes

é observado grandes números de exemplares (BeeAware, 2022), afetando-a devido à falta de alimento de modo que reduz a ovoposição, especialmente em graus de infestação elevada (Martin & Bayfield, 2014). A mosca interfere no trabalho das obreiras ama, ao alimentar as larvas e pela competição pelo alimento (Martínez, 2018), podendo enfraquecer a colónia (Somerville, 2007). Este provoca nervosismo nas abelhas, alterando os seus movimentos de modo a tentar retirar o díptero com as patas e friccionando as asas no corpo, no entanto sem sucesso (Martínez, 2018).

A disseminação ocorre facilmente entre colmeias ou apiários pelo comportamento natural das abelhas, como a deriva, a pilhagem e enxameação, tanto por maneiio dos apicultores, por transumâncias e transações comerciais não controladas (BeeAware, 2022; Martínez, 2018), favos infetados com as larvas de *Braula* contribuem para a sua disseminação (Somerville, 2007).

A cor e dimensões do exemplar adulto de *Braula coeca* são semelhantes aos ácaros *Varroa*, *Tropilaelaps* e ao ácaro do pólen (*Mellitiphis alvearius*), como observado na Figura 2, tendo estes o mesmo hábito de se agarrarem às abelhas adultas, deve-se realizar um diagnóstico diferencial.

O diagnóstico pode ser realizado por observação direta da mosca nas abelhas adultas. Pode realizar-se um exame mais aprofundado em que se coloca uma cartolina pegajosa no fundo da colmeia, fumega-se a entrada da colónia com infusão de tabaco, não esquecendo de criar uma saída no topo da colmeia, e tira-se a cartolina após cerca de dois minutos para observação da presença ou não de exemplares (Somerville, 2007). Os vapores do tabaco contêm nicotina, o que faz com que os dípteros de desprendam e caiam no fundo da colmeia podendo se realizar tratamentos periódicos (Martínez, 2018), no entanto, se a exposição for prolongada, estes vapores podem afetar as abelhas, levando mesmo à morte.

Uma vez que as larvas da mosca afetam os favos, os produtores de favos devem considerar formas de reduzir o seu impacto durante o pico da infestação (Somerville, 2007). Um método simples para matar todos as fases de vida da mosca é congelar os quadros durante 48 horas. O método comum de extração de mel dos favos também permite reduzir a população de *Braula* uma vez que extrai a cera de operculação (BeeAware, 2022; Somerville, 2007).



Figura 5 - *Braula* (Em cima), *Varroa* (Direita), *Tropilaelaps* (Em baixo) e Ácaro do Pólen (Esquerda). Food and Environment Research Agency (Fera). Fonte: BeeAware, 2022

4.2.2 *Senotainia tricuspis*

Na família Sarcophagidae existem seis espécies de moscas conhecidas capazes de parasitar a abelha melífera, sendo a espécie mais significativa a *Senotainia tricuspis* (Sanz & Remy, 2017), responsável por apimíase na abelha melífera (Martínez, 2018; Hamida, 1999).

A mosca fêmea da espécie *S. tricuspis* tem uma coloração entre o cinzento e o preto e cerca de 5 a 8 mm de comprimento, semelhante à mosca doméstica, sendo distinguida pelas suas manchas triangulares acinzentadas sobre o abdómen e por uma banda branca entre os olhos (Martínez, 2018; Haddad, et al., 2015). A larva é branca com partes do aparelho bucal pretas em forma de foice e mede cerca de 1,5 mm de comprimento por 0,5 mm de largura (Hamida, 1999).

As moscas são larvíparas, atacando as abelhas campeiras à entrada da colmeia de modo a depositar uma larva no 1º estágio (Haddad, et al., 2015), na membrana entre a cabeça e o tórax, penetrando o mesmo (Verves & Khrokalo, 2020; Hamida, 1999). Já nos músculos torácicos esta muda para o 2º estágio larvar (Sarwar, 2016), alimentando-se da hemolinfa e músculos das asas do hospedeiro até causar a morte do mesmo (Haddad, et al., 2015; Sarwar, 2016), passados cerca de 2 a 4 dias (Verves & Khrokalo, 2020). A larva continua a sua alimentação após a morte do hospedeiro, alimentando-se dos músculos torácicos, dos tecidos sólidos e outras partes moles do tórax e cabeça (Sarwar, 2016; Hamida, 1999), podendo continuar na cavidade abdominal (Martínez, 2018). A larva sai da abelha morta no 3º estágio larvar (Martínez, 2018; Verves & Khrokalo, 2020), enterra-se no solo para sofrer metamorfose para pupa, podendo ter diferentes profundidades de acordo com o tipo de solo (Haddad, et al., 2015). Passados 7-16 dias eclode o adulto (Sarwar, 2016; Verves & Khrokalo, 2020), podendo ficar em diapausa se sofrer metamorfose no fim de verão ou no outono (Haddad, et al., 2015; Hamida, 1999).

Esta mosca tem potencial para matar centenas de abelhas melíferas, uma vez que cada fêmea contém entre 600-800 larvas no útero e conseguem repetir os ataques a cada 6 – 10 segundos durante as horas do dia com mais sol (Hamida, 1999; Haddad, et al., 2015; Verves & Khrokalo, 2020). Deste modo, é capaz de depositar todas as larvas em cerca de 2 – 3 dias (Martínez, 2018).

A espécie *Senotainia tricuspis* é uma mosca comum na Europa, Ucrânia, Austrália, Argélia e Tunísia (Verves & Khrokalo, 2020; Sanz & Remy, 2017), sendo que foi reportada em Portugal em 1986 por Rocha e Mira Delgado (Bermejo, et al., 1996). Esta é mais frequente em zonas quentes e com muito sol (Hamida, 1999; Haddad, et al., 2015).

As opiniões sobre os efeitos do parasitismo diferem entre autores. Alguns consideram que esta apimíase causa um elevado número de mortes sem associação com outras doenças, enquanto outros afirmam não existirem sinais observáveis nas abelhas infetadas, vivendo a vida normalmente na colónia (Bermejo, et al., 1996; Sanz & Remy, 2017). De acordo com

Martínez (2018), o nível de parasitismo normalmente é baixo, podendo, no entanto, existir infestações desde 0,1 % até cerca de 90 % das abelhas adultas (Verves & Khrokalo, 2020), começando a ter sinais observáveis e possível debilitamento da colônia apenas em casos de infestações acima dos 80 % (Sanz & Remy, 2017). Quando existem sinais clínicos, observa-se incapacidade de voo, deslocação das asas, tremores, diarreia ligeira e redução da atividade na colmeia (Martínez, 2018).

Para diagnóstico desta doença pode-se realizar pesquisa com auxílio da lupa, destacando a cabeça para observação da larva no tórax (Martínez, 2018) ou observação em microscópio de lâminas preparadas com cortes transversais do tórax da abelha (Com. pess. Valério, 2021).

Devido ao comportamento de ataque de *S. tricuspis* é recomendado utilização de armadilhas para reduzir o número de exemplares adultos. É recomendado pintar o topo da colmeia com um inseticida de contacto específico (Hamida, 1999; Sarwar, 2016), utilização de iscos brancos impregnados com cola ou com inseticidas, uma vez que a mosca é atraída pela cor branca, ou recipientes com líquido atrativo onde a mosca acaba por ficar submersa (Martínez, 2018).

4.3 Fungos

4.3.1 *Nosema* spp.

As duas espécies *Nosema ceranae* e *Nosema apis* são microsporídeos do género *Nosema*, parasitas eucarióticos intracelulares obrigatórios (Whitaker, et al., 2011; Iorizzo, et al., 2022), classificados durante muito tempo como protozoários até provas moleculares e ultraestruturais os identificarem como membros do reino Fungi (Soklič & Gregorc, 2016). Estes são responsáveis por uma das principais doenças das abelhas melíferas, a Nosemose (Iorizzo, et al., 2022).

A primeira espécie conhecida por infetar as abelhas melíferas foi *N. apis* e no início do século XXI foi detetada a espécie *N. ceranae* (Higes, et al., 2020; Soklič & Gregorc, 2016). As duas espécies diferem em morfologia, no tamanho de genoma, na capacidade de adaptação à temperatura, na produção de esporos, sobrevivência e efeitos patogénicos no hospedeiro (Martín-Hernández, et al., 2018).

Os esporos têm cerca de 5 – 7 µm por 3 – 4 µm, sendo os da espécie *N. ceranae* os mais pequenos. Em ambas as espécies os esporos são completamente ovais com bordas escuras e conteúdo translúcido (OIE, 2018), tendo os esporos de *N. apis*, em comparação, uma aparência mais uniforme em forma e tamanho (Soklič & Gregorc, 2016).

O ciclo de vida é semelhante em ambas as espécies, após ingestão do esporo, este germina no lúmen do ventrículo e penetra as células epiteliais. Aqui, o esporo reproduz-se por merogonia e esporogonia e origina esporos primários e esporos secundários. O esporo

primário vai infetar a mesma célula ou células adjacentes e o secundário, ou ambiental, é libertado no conteúdo intestinal, sugerindo rutura das células e danificando a camada epitelial do ventrículo (Soklič & Gregorc, 2016; Higes, et al., 2020; Iorizzo, et al., 2022), sendo os últimos libertados no ambiente pelos dejetos de abelhas infetadas. A transmissão ocorre por ingestão de esporos presentes em flores, em alimentos ou em água, ingestão durante a limpeza da colmeia ou trofalaxia (Soklič & Gregorc, 2016; Iorizzo, et al., 2022), sendo possível ocorrer transmissão do microsporídeo através do sémen durante o acasalamento, porém não há, até à data, demonstração de transmissão transovárica para a criação (Higes, et al., 2020; Iorizzo, et al., 2022).

Os esporos permanecem infecciosos durante pelo menos 6 meses no ambiente, sendo os esporos de *N. ceranae* facilmente destruídos por congelação (Soklič & Gregorc, 2016)

A Nosemose é uma doença distribuída mundialmente (Genersch, 2010; Iorizzo, et al., 2022), sendo que *N. ceranae* já é mais detetada do que *N. apis* (Soklič & Gregorc, 2016), sendo muitas vezes apenas detetada, a nível molecular, a espécie *N. ceranae* (Com. pess. Valério, 2021).

A Nosemose afeta o estado adulto da abelha melífera, estando os microsporídeos localizados nas células do epitélio que revestem o intestino médio (Whitaker, et al., 2011), o ventrículo (Martín-Hernández, et al., 2018), no entanto já foi observada na criação. É possível observar coinfeção ou infeção por apenas uma das espécies de *Nosema* (Higes, et al., 2020).

Nesta doença pode-se ter distúrbios digestivos, redução do tempo de vida, diminuição na colheita de pólen, redução a produção de mel (Soklič & Gregorc, 2016), indução da substituição da rainha, diminuição da população da colónia e um aumento da mortalidade no inverno (Whitaker, et al., 2011), ou mesmo colapso e morte da colónia (Soklič & Gregorc, 2016). No entanto, os sinais clínicos variam entre as espécies de *Nosema*, tanto a nível individual como a nível da colónia (Higes, et al., 2020).

A presença de *N. apis* é associada à existência de manchas fecais tanto dentro como fora da colmeia, abelhas fracas, baixa produção de mel, mortalidade aumentada no Inverno com um crescimento lento da população na Primavera (Martín-Hernández, et al., 2018; OIE, 2018), observando-se abelhas mortas em torno da colmeia (Higes, et al., 2020; OIE, 2018). Já a presença de *N. ceranae* é associada apenas a uma produção de mel reduzida, fraqueza e mortalidade aumentada (Martín-Hernández, et al., 2018), sendo observada ao longo de todas as estações, contrariamente a *N. apis* que demonstra padrão sazonal (Higes, et al., 2020).

O diagnóstico desta doença requiere a identificação microscópica do esporo no abdómen ou ventrículo da abelha adulta, podendo ser feito diagnóstico molecular por PCR de modo a identificar a espécie (Soklič & Gregorc, 2016). É aconselhado no mínimo uma amostra de 60 abelhas, devendo ser enviadas para o laboratório conservadas em formol 4%, álcool

etílico 70% ou por congelação, de modo a evitar a decomposição (OIE, 2018). Observa-se ao microscópio o sobrenadante de um macerado em água de abelhas inteiras, abdómens ou ventrículos de modo a identificar esporos (Soklič & Gregorc, 2016). Não é necessária a utilização de corantes para a sua observação, devendo ser distinguidos de células de levedura, outros esporos de fungos, de estruturas lipídicas e estruturas calcificadas. Em caso de não se observarem esporos, o resultado não é dado como negativo, mas sim não detetado, não excluindo a possibilidade de existir infeção na colónia (OIE, 2018).

O tratamento para a Nosemose ainda se encontra em investigação, uma vez que na Europa os tratamentos com antibióticos são proibidos. A fumigação com ácido fórmico demonstrou redução do nível de esporos (Martín-Hernández, et al., 2018), assim como alguns estudos em curso que demonstram grande potencial no controlo da Nosemose através do uso de microbiota benéfica, extratos de plantas e RNAi, sendo no entanto ainda necessários mais estudos no assunto (Iorizzo, et al., 2022).

Para controlo da Nosemose deve-se manter uma boa higiene no apiário e vigiar as colónias, devendo, se necessário, fazer substituição de quadros, substituição de rainhas e desinfeção do material apícola, sendo que temperaturas inferiores a -20 °C reduzem a viabilidade dos esporos de *N. ceranea* (Martínez, 2018; Soklič & Gregorc, 2016), tendo a seleção de abelhas resistentes como uma possibilidade de medida de controlo (Iorizzo, et al., 2022).

As medidas atualmente existentes devem ser usadas em conjunto de modo a ter melhores resultados, uma vez que apenas mitigam a doença (Soklič & Gregorc, 2016).

III. Contribuição para estudo sanitário em abelhas adultas nos Açores

1 Objetivos do estudo

Este estudo teve como objetivos:

- Determinar a prevalência de cada agente patogénico na RAA e nas diferentes ilhas amostradas;
- Investigar o padrão mensal de cada agente;
- Avaliar a presença de interações entre fatores ambientais e os agentes patogénicos.

2 Materiais e métodos

2.1 Contexto demográfico, geográfico e apícola da RAA

De acordo com as delimitações delineadas pelas NUTs, a Região Autónoma dos Açores corresponde a 2,52 % do total da área de Portugal, com um total de 2321,96 km² de superfície. Correspondendo, por exemplo, a ilha de São Miguel a 0,81 %, a ilha da Terceira a 0,43 %, a ilha de São Jorge a 0,26 %, a ilha de Santa Maria a 0,11 % e a ilha da Graciosa a 0,07 % da área de Portugal (INE, 2021).

A flora existente que fornece características únicas e diferenciadas entre as diferentes ilhas. A produção assenta maioritariamente em méis multiflorais (*Pittosporum undulatum*, *Eucalyptus* spp., *Metrosideros excelsa*, *Acacia* spp., *Trifolium* spp., *Catanea sativa*, *Rubus* spp., etc.), tendo também a produção de mel de trevo branco (*Trifolium repens*) e de mel de incenso (*Pittosporum undulatum*) (SRAF, 2019).

Lopes, et al., 2022, mencionam que a apicultura teve o seu primeiro registo no arquipélago dos Açores no século XVI, aquando da importação de colónias para a ilha de São Miguel, sendo que na ilha do Corvo a sua introdução ocorreu apenas no ano de 2015.

De acordo a Secretaria Regional da Agricultura e Florestas, 2019, a RAA é uma das regiões de Portugal com menor número de apicultores nas declarações de existência de 2018 (449 em toda a região, 3,7 % do efetivo nacional), menor número de apiários (2,1 % do efetivo nacional) e menor número de colónias (1% do efetivo nacional). Na RAA, a ilha de São Miguel tem o maior número de apicultores (35%) e de colónias (42%), seguindo-se a ilha Terceira (20,9% e 19,7%, respetivamente) e a ilha do Pico (12,3% e 16,3%, respetivamente), possuindo estas três ilhas cerca de 68% do número de apicultores e mais de 78% dos efetivos da região. Para referência, em 2018, na ilha de São Miguel foram registados 156 apicultores e 383 apiários, na ilha de São Jorge foram 27 apicultores e 47 apiários, na ilha de Santa Maria, 47 apicultores e 61 apiários, e na ilha da Terceira, 94 apicultores e 152 apiários.

Em classes de dimensão da atividade apícola a nível nacional, os apicultores açorianos são maioritariamente de pequena a muito pequena dimensão com taxa de

profissionalização muito reduzida, existindo em média 17 colónias por apicultor, sendo estes produtores, cerca de 80 % (SRAF, 2019).

Os apiários na RAA podem ter no máximo de 25 colónias, com exceção de zonas de culturas instaladas ou zonas com árvores de incenso em predominância. Sendo que cada apicultor com menos de 25 colónias na totalidade só podem deter até 3 apiários, necessitando de autorização para implantação de um novo apiário caso o pretenda fazer (Decreto Legislativo Regional n.º 17/2022/A, 19 de julho).

Na RAA, segundo a SRAF (2019), temos diversas limitações no setor, desde fenómenos atmosféricos externos, condições geográficas, fonte de alimento para as abelhas, a condições culturais (SRAF, 2019).

Para além da idade média dos apicultores, em 2019, ser de 52,5 anos, os apicultores são em geral pessoas com pouca formação técnica e pouca sensibilização quando à evolução da área com baixo acesso a nova informação sobre a apicultura atual (SRAF, 2019).

A apicultura na RAA é um setor individualista, não existindo uma identificação da produção regional que permita os consumidores diferenciarem a produção local de outros méis, com produções de mel em volumes reduzidos e não se verifica a presença de uma política comercial. Assim como no restante país, as explorações possuem fragilidades desde baixa produção e deficiente manuseio técnico, com mão-de-obra não especializada até falta de acompanhamento técnico (SRAF, 2019).

Considerando que a maioria dos apicultores são de pequena dimensão, de produção familiar e a maioria dos terrenos da região são dedicados a outras áreas de agricultura pecuária e agrícola, muitas vezes as localizações dos apiários ficam restringidas a terrenos disponibilizados devido ao seu difícil acesso, encontrando-se uma maior presença de vegetação não controlada (SRAF, 2019).

A Varroose, considerada endémica em quase todo o mundo, surgiu pela primeira vez na RAA em 2000 na Ilha do Pico, 2001 na ilha das Flores e 2008 na ilha do Faial (DRV, 2022).

Na sequência da Decisão de Execução da Comissão 2019/1895/EU, foi concedido o estatuto sanitário de indemnidade a Varroa em 6 ilhas da região no ano de 2019: São Miguel, Santa Maria, Terceira, Graciosa, São Jorge e Corvo.

Em geral, os agentes normalmente observados na RAA, de acordo com o total de resultados laboratoriais entre 2008 e 2021, são *B. coeca*, *A. woodi*, *S. tricuspis*, *V. destructor*, *Nosema* spp., traça da cera e os agentes responsáveis por Ascosferiose, Loque Americana e Amebíase (DRV, 2022).

2.2 Caracterização das amostras

Os dados para o estudo foram recolhidos durante o estágio curricular realizado no Posto Apícola, na Tapada da Ajuda em Lisboa, com apoio do Laboratório Regional de

Veterinária (LRV) da Região Autónoma dos Açores e apicultores da ilha de São Jorge e São Miguel, correspondendo a amostras provenientes de diferentes ilhas indemnes de Varroose, recebidas e processadas entre junho de 2020 e abril de 2021, não se tendo obtido amostras da ilha do Corvo.

Toda a informação relativa à identidade do apicultor foi ocultada de modo a manter anonimato.

Foram recolhidas as seguintes informações de cada análise:

- Número da Análise;
- Data de colheita;
- Ilha de origem;
- Agentes diagnosticados.

2.3 Metodologia de colheita

As amostras enviadas para o LRV, da RAA, seguiram as indicações do manual de procedimentos técnicos “Colheita e Envio de Material Apícola para Diagnóstico de Doenças” do INIAV, descritas no Anexo 2, Normativo para Controlos Sanitários, do Programa Sanitário Apícola 2021 da Região Autónoma dos Açores.

Tabela 1 – Amostras a colher conforme a dimensão do apiário.

Número de colónias no apiário	Colónias a amostrar
1 a 8 colónias	Até 5
9 a 10 colónias	5
11 a 20 colónias	6
>20 colónias	6

Para este estudo foram utilizadas amostras de abelhas adultas, apesar de para controlo sanitário ser requerido mais dois tipos de amostras, favos de criação e cartolinas.

Em cada colónia foram recolhidas cerca de 50-70 abelhas vivas ou recentemente mortas, sendo que em cada apiário recolheu-se amostras de acordo com a Tabela 1.

A colheita em cada apiário foi realizada nas colmeias situadas no centro e nas extremidades, utilizando a mesma embalagem para as diferentes colónias do mesmo apiário. As colónias com suspeita de doença foram enviadas em embalagens separadas.

Estas foram enviadas em caixas de cartão sem adição de mel ou açúcar, evitando-se embalagens de plástico para não amolecimento das abelhas.

2.3.1 Conservação e envio para o laboratório

Visto o envio imediato para o laboratório não ser possível, as amostras foram congeladas logo após a colheita para posterior envio para o laboratório.

O acondicionamento das amostras foi feito de modo a evitar qualquer perda de conteúdo até à chegada ao laboratório.

2.4 Procedimento laboratorial

Após recebimento das amostras procedeu-se à preparação do material para análise individual. O diagnóstico dos diferentes agentes foi realizado através dos procedimentos indicados pelo departamento de Patologia Apícola no INIAV para análise sistemática das amostras, realizando observação macroscópica da amostra e por microscópio ótico e/ou lupa estereoscópica após devida preparação da amostra, de acordo com o agente em estudo.

2.4.1 Pesquisa de agentes fúngicos

2.4.1.1 Diagnóstico de *Nosema* spp.

Para diagnóstico de *Nosema* spp. recorreu-se à pesquisa de esporos por microscópio ótico, seguindo os seguintes passos:

- i. Recolheram-se 20 abdómens das abelhas amostradas;
- ii. Com recurso a um pilão, macerou-se abdómens num almofariz em 10ml de água destilada à temperatura ambiente;
- iii. Deixou-se repousar o macerado durante 2 min;
- iv. Com o auxílio de uma vareta retirou-se uma gota do soluto sobrenadante e colocou-se sobre uma lâmina;
- v. Sobre a gota colocou-se uma lamela e observou-se ao microscópio ótico com ampliação de 400, percorrendo toda a lâmina, pelo menos, duas vezes.
- vi. Em caso de dúvida, preparou-se outra lâmina com soluto sobrenadante para pesquisa do microsporídeo.

As amostras foram consideradas positivas nas amostras em que se detetava a presença de microsporídeos e negativas nas amostras em que o mesmo não foi detetado.

2.4.2 Pesquisa de ácaros

2.4.2.1 Diagnóstico de *Acarapis woodi*

Para diagnóstico de *A. woodi* utilizou-se a pesquisa por observação do agente ao microscópio ótico em abelhas adultas. Sendo que a preparação se procedeu do seguinte modo:

- i. Fixou-se uma abelha sobre uma cortiça, com o auxílio de um alfinete, em decúbito dorsal;
- ii. Com a ajuda de uma lâmina, retirou-se a cabeça da abelha e cortou-se uma fatia de tórax que se colocou em ácido láctico numa placa de Petri, com 6cm de diâmetro, de um dia para o outro;

- iii. Após a imersão em ácido láctico, que tem como finalidade amolecer a quitina, diferenciar os ácaros, dilatar as traqueias e digerir os músculos, retirou-se a fatia de tórax e colocou-se em papel absorvente. Deixou-se repousar um pouco para que absorvesse a maior quantidade possível de ácido láctico;
- iv. Retirou-se a quitina da fatia do tórax para melhor observação do conteúdo.
- v. De seguida, esmagou-se a fatia de tórax entre duas lâminas e fixou-se os bordos das mesmas com fita-cola (preparando lâminas com 5 fatias de tórax);

Por fim, observou-se a lâmina preparada ao microscópio numa ampliação de 40x ou 100x (ocular 10x e objetiva 4x ou 10x), percorrendo-a toda para identificação da presença do agente. Sendo identificada a sua presença com a observação de melanização da face interna das traqueias, observação de ovos, de larvas, de ninfas e/ou exemplares adultos do ácaro, sendo a amostra considerada positiva posteriormente à deteção da presença do agente.

2.4.2.2 Diagnóstico de *Varroa destructor*

Sendo as amostras obtidas apenas de exemplares adultos de abelhas, o diagnóstico da Varroose incidiu apenas na pesquisa macroscópica, a olho nu, de exemplares adultos em toda a superfície corporal das abelhas. Para tal, retirou-se as abelhas da caixa de receção de amostra e colocou-se sobre um papel de filtro branco, criando um fundo de contraste. Visto as amostras estarem congeladas, deixou-se a amostra alguns minutos à temperatura ambiente de modo a facilitar a queda dos ácaros após o descongelamento.

2.4.3 Pesquisa de dípteros

2.4.3.1 Diagnóstico de *Braula coeca*

Sendo um díptero observado na superfície corporal de exemplares adultos de abelhas, para o diagnóstico de *B. coeca* procedeu-se de modo igual à pesquisa de *V. destructor*, por pesquisa macroscópica a olho nu e com auxílio da lupa sempre que necessário. Sendo que não observando o díptero desprendido das abelhas, observou-se mais atentamente a cabeça e o tórax das abelhas. Sendo a amostra considerada positiva na deteção do agente.

2.4.3.2 Diagnóstico de *Senotainia tricuspis*

Para diagnóstico de *S. tricuspis*, iniciou-se a observar a olho nu de toda a amostra de abelhas adultas retiradas da caixa de receção em busca de exemplares adultos da mosca. Apesar de incomum, um exemplar adulto da mosca pode ser capturado durante a recolha e enviado com a amostras, tanto de forma intencional como não intencional.

De seguida, procedeu-se para preparação de lâminas com fatias de tórax das abelhas adultas como descrito para *A. woodi*, garantido que se inclui uma boa porção de tecido muscular para aumentar a probabilidade de deteção do agente.

Ao microscópio ótico, na ampliação de 40x ou 100x, pesquisou-se silhuetas de larvas de *S. tricuspis* nas lâminas. Larvas intactas são reconhecidas pela sua dimensão e pelos ganchos escuros do aparelho bucal, na extremidade anterior do corpo.

A detecção do agente levou a amostra a ser considerada positiva, sendo negativas se o agente não foi detetado.

2.4.4 Critérios de interpretação

A interpretação de resultados seguiu as normas descritas na Tabela 2, sendo consideradas como positivas com a detecção do agente e negativas na ausência da detecção do mesmo.

Tabela 2 – Interpretação de resultados

	Nosemose	Acarapiose	Varroose	Braulose	Senotainiose
Positivo	Esporos ovais, refringentes e de contorno escuro do microsporídio <i>Nosema</i> spp (<i>Nosema apis</i> ou <i>Nosema ceranae</i>)	Ácaro das traqueias <i>Acarapis woodi</i>	Fêmea adulta do ácaro <i>Varroa destructor</i> (cor castanha-avermelhada, corpo achatado no plano oval com cerca de 1,1mmx1,5mm)	Díptero <i>Braula</i> spp (3 pares de patas e corpo ligeiramente ovóide)	Larva da mosca <i>Senotainia tricuspis</i>
Negativo	Ausência de agentes etiológicos nas amostras observadas				

2.4.5 Análise estatística

Criou-se uma base de dados com os resultados da pesquisa laboratorial num ficheiro do programa Microsoft Excel 365, que foi posteriormente utilizada no pacote R Commander do software R 4.2.1, onde se realizaram todos os testes estatísticos apresentados.

Todos os mapas apresentados foram realizados com recurso ao programa QGIS 3.2.

2.4.5.1 Cálculo das prevalências em cada ilha e na totalidade

A prevalência de cada agente, para cada grupo de amostras foi calculada através da seguinte fórmula:

$$\frac{N^{\circ} \text{ de amostras positivas ao agente na ilha ou positivas totais}}{N^{\circ} \text{ total de amostras por ilha ou totais}} \times 100$$

Os intervalos de confiança estabelecidos para cada prevalência foram calculados através do programa EpiTool, com base num IC de 95%.

2.4.5.2 Prevalência mensal em cada ilha e na totalidade

A prevalência de cada agente nos meses com amostras, para cada grupo de amostras foi calculada através da seguinte fórmula:

$$\frac{N^{\circ} \text{ de amostras positivas ao agente na ilha (ou positivas na totalidade) no mês}}{N^{\circ} \text{ total de amostras por ilha (ou totais) no mês}} \times 100$$

Os intervalos de confiança estabelecidos para cada prevalência foram calculados através do programa EpiTool, com base num IC de 95%.

2.4.5.3 Avaliação de relações estatísticas

Através do teste exato de Fischer, pesquisou-se relação estatística entre a presença de cada agente e o mês da amostragem, não sendo considerada a ilha de recolha. Avaliou-se também a presença do agente e a ilha de recolha da amostra, não considerando o mês de recolha.

Procurou-se ainda, através de uma regressão logística simples, verificar se existia relação entre a presença de cada agente com a precipitação acumulada no mês (mm), assim como com a temperatura mensal (° C): média, máxima e mínima.

Considerou-se, nos testes estatísticos aplicados, um intervalo de confiança de 95% e a hipótese nula foi rejeitada sempre que o valor $p < 0,05$.

3 Resultados do estudo

Para o estudo em causa entraram 92 amostras provenientes da Região Autónoma dos Açores. Destas 92 amostras, 59,8 % (55/92) das amostras foram fornecidas pelo LRV, 13,0 % (12/92) das amostras da ilha de São Miguel foram fornecidas pelo Eng. Moniz da Ponte e 27,2 % (25/92) das amostras de São Jorge obtidas diretamente dos apicultores que se disponibilizaram para a colheita nos seus apiários. As amostras foram obtidas por conveniência, sendo que não representam a totalidade do arquipélago, no entanto, o conjunto de amostras das ilhas em estudo total será referido como pertencente à RAA, sendo a distribuição total de amostras de acordo com a Tabela 3.

Utilizou-se, ainda, os dados de precipitação mensal acumulada (Tabela 4) registados nos Boletins Climatológicos Mensais da RAA (IPMAa, 2021), e dados referentes a temperatura mínima, máxima e média diária a partir dos Gráficos de Monitorização Diária, ambos elaborados pelo Departamento de Meteorologia e Geofísica do Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMAb, 2021).

Tabela 3 – N° de amostras por mês em cada ilha e percentagem de amostras por ilha.

	Abril	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Total	%
São Jorge	17	2	7	1	8	0	35	38,0
Terceira	0	0	1	0	5	0	6	6,5
Graciosa	0	0	0	0	7	0	7	7,6
São Miguel	12	0	0	0	13	11	36	39,1
Santa Maria	0	0	8	0	0	0	8	8,7
RAA	29	2	16	1	33	11	92	100

Tabela 4 – Precipitação acumulada mensalmente em cada ilha.

Ilha	Mês	Precipitação acumulada (mm)
Graciosa	Setembro	-
Santa Maria	Julho	15
São Jorge	Abril	131,8
	Junho	97,8
	Julho	18
	Agosto	33,8
	Setembro	93,2
São Miguel	Abril	108,53
	Setembro	268,25
	Outubro	157,92
Terceira	Julho	18,1
	Setembro	59,1

Tabela 5 – Temperaturas diárias registadas pelo IPMA.

Ilha	Data da colheita	T máxima	T média	T mínima
Graciosa	23/09/2020	20,7	19	17,9
	28/09/2020	24	20,7	18,7
	02/09/2020	26,2	22,6	20,1
	21/09/2020	22,5	19,5	16,8
	25/09/2020	22,9	19,8	18,6
	22/09/2020	23,2	20	17,4
Santa Maria	15/07/2020	22,9	20,6	18,7
	13/07/2020	23,7	20,9	18,6
	10/07/2020	24	20,6	17,7
São Jorge	16/04/2021	18,5	16,7	15,7
	12/08/2020	25,7	21,7	18,3
	30/07/2020	26,4	22,9	20,6
	02/07/2020	22,4	19,2	15,9
	01/07/2020	21,9	19,1	16,9
	07/07/2020	23,3	20,4	18,7
	08/07/2020	22,6	20,1	18,3
	28/07/2020	25,3	22,9	21
	29/07/2020	26,1	23,2	22
	30/06/2020	23,9	20,4	18,3
	24/06/2020	21,2	17,3	13,6
	18/09/2020	23,3	20,4	18,4
	19/09/2020	23,3	20	18,5
São Miguel	01/04/2021	18,1	15,1	10,9
	22/10/2020	18,4	16,1	14,2
	12/10/2020	23,7	19,4	16,9
	06/10/2020	23,4	–	18
	09/10/2020	24,2	21,2	17,9
	07/10/2020	22,7	–	–
	08/10/2020	24,2	21	18,1
	02/10/2020	23,3	20,3	18,8
	01/10/2020	23,9	21	19,1
	30/09/2020	23,4	19,9	17,6
	25/09/2020	22,9	20,2	18,8
	23/09/2020	21,5	18,6	17,2
	24/09/2020	22,5	19,2	17,2
22/09/2020	23,4	20,7	18,7	
Terceira	03/07/2020	21,6	19,9	18,1
	21/09/2020	22,5	19,5	16,8
	23/09/2020	20,7	19	17,9

3.1 *Acarapis woodi*

Abaixo encontram-se algumas figuras demonstrativas de amostras consideradas negativas e positivas. Na Figura 3 temos uma amostra considerada negativa, onde se observa traqueias e sacos aéreos sem o ácaro. As Figuras 4, 5 e 6 são de amostras consideradas positivas, onde é possível observar diversos exemplares do agente em estudo nas suas diferentes fases.

Na RAA, como observado na Tabela 6, para um IC de 95 %, junho é o mês com maior prevalência (50 %, 1/2) e agosto e outubro são os meses com menor prevalência (0 %, 0/1 e 0/11), verificando que a prevalência de *A. woodi* é significativamente diferente entre os meses estudados (Teste exato de Fisher, $p < 0,02$).



Figura 6 - Traqueias e sacos aéreos sem alterações observáveis. Original, ampliação 50x.



Figura 7 - Traqueias com presença de ovos e ninfas de *Acarapis woodi*. Original, ampliação 80x.

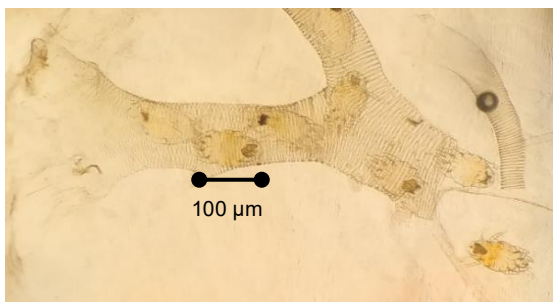


Figura 8 - Traqueia com presença de exemplares adultos de *Acarapis woodi*. Original, ampliação 80x.

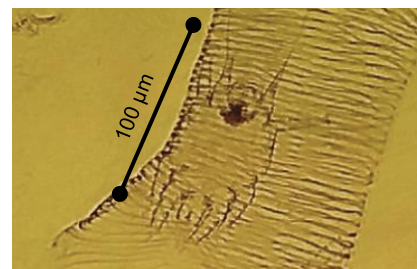


Figura 9 - Exemplar de *Acarapis woodi* no interior de uma traqueia. Original, ampliação 250x.

A prevalência mensal em cada ilha, para um IC de 95 %, variou entre 0 e 65 %, correspondendo a prevalência menor ao mês de agosto na ilha de São Jorge (0/1), ao mês de julho na ilha da Terceira (0/1) e ao mês de outubro na ilha de São Miguel (0/11). O mês de abril teve a maior prevalência nas ilhas de São Jorge (65 %, 11/17) e de São Miguel (25 %, 3/12) e na ilha da Terceira (20 %, 1/5) a maior prevalência correspondeu a setembro.

Na totalidade do intervalo de tempo estudado, Tabela 6 e Figura 10, a ilha em estudo com menor prevalência foi a Graciosa (0 %, 0/7) e a ilha com maior prevalência foi São Jorge (57 %, 20/35), sendo a proporção de amostras positivas significativamente diferente entre as diferentes ilhas (Teste exato de Fisher, $p < 0,01$).

Tabela 6 – Número de amostras positivas e prevalência de *A. woodi*.

	Abril		Junho		Julho		Agosto		Setembro		Outubro		Total	
	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P
São Jorge	11	65 (41-83)	1	50 (9-91)	3	43 (16-75)	0	0 (0-79)	5	63 (31-86)	-	-	20	57 (41-72)
Terceira	-	-	-	-	0	0 (0-79)	-	-	1	20 (4-62)	-	-	1	17 (3-56)
Graciosa	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0 (0-35)	-	-	0	0 (0-35)
São Miguel	3	25 (9-53)	-	-	-	-	-	-	1	8 (1-33)	0	0 (0-26)	4	11 (4-25)
Santa Maria	-	-	-	-	0	0 (0-32)	-	-	-	-	-	-	0	0 (0-32)
RAA	14	48 (31-66)	1	50 (9-91)	3	19 (7-43)	0	0 (0-79)	7	21 (11-38)	0	0 (0-26)	25	27 (19-37)

N – Número de amostras positivas; P – Prevalência de *A. woodi* em %, com respetivo IC 95%

Através de um teste de regressão logística simples, observou-se que a proporção de amostras positivas não é influenciada pelo nível de precipitação mensal total ($z = -0,943$, $p = 0,346$) nem pela temperatura mínima mensal ($z = -1,102$, $p = 0,271$). Já a temperatura máxima ($z = -2,870$, $p = 0,004$) e a temperatura média ($z = -2,366$, $p = 0,018$) mostraram ter influência no número de amostras positivas.

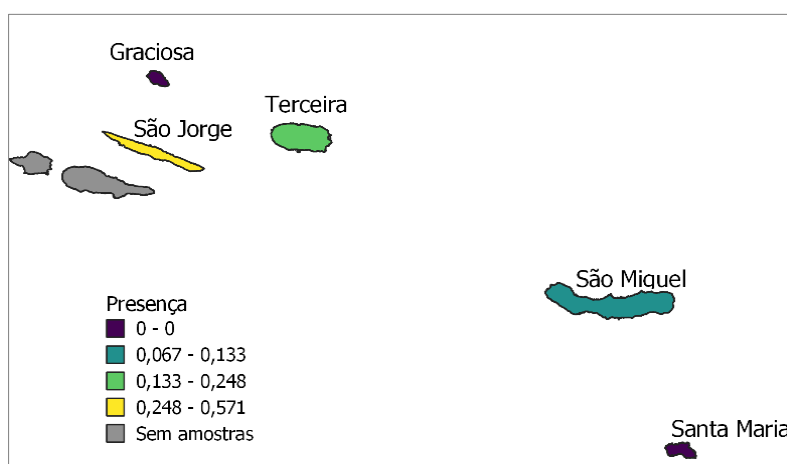


Figura 10 - Mapa com frequência relativa de *A. woodi* nas ilhas.

3.2 *Braula coeca*

Conforme a Tabela 7, a prevalência mensal de *B. coeca* em cada ilha, para um IC de 95 %, variou entre 0 e 86 %. Nas ilhas em que a prevalência foi de 0 %, temos correspondência aos meses de junho (0/2), julho (0/7) e agosto (0/1) na ilha de São Jorge e aos meses de julho (0/1) e setembro (0/5) na ilha da Terceira. Na ilha de São Miguel a prevalência menor corresponde a abril (25 %, 3/12) e a maior prevalência a outubro (81 %, 9/11). Sendo setembro o mês com maior prevalência na ilha de São Jorge (13 %, 1/8).

Tabela 7 – Número de amostras positivas e prevalência de *B. coeca*

	Abril		Junho		Julho		Agosto		Setembro		Outubro		Total	
	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P
São Jorge	2	12 (3-34)	0	0 (0-66)	0	0 (0-35)	0	0 (0-79)	1	13 (2-47)	-	-	3	9 (3-22)
Terceira	-	-	-	-	0	0 (0-79)	-	-	0	0 (0-43)	-	-	0	0 (0-39)
Graciosa	-	-	-	-	-	-	-	-	6	86 (49-97)	-	-	6	86 (49-97)
São Miguel	3	25 (9-53)	-	-	-	-	-	-	6	46 (23-71)	9	81 (52-95)	18	50 (34-66)
Santa Maria	-	-	-	-	5	63 (31-86)	-	-	-	-	-	-	5	63 (31-86)
RAA	5	17 (8-35)	0	0 (0-66)	5	31 (14-56)	0	0 (0-79)	13	39 (25-56)	9	81 (52-95)	32	35 (26-45)

N – Número de amostras positivas; P – Prevalência de *B. coeca* em %, com respetivo IC 95%

No total do período estudado (Tabela 7 e Figura 11), a ilha com menor prevalência foi a Terceira (0 %, 0/6) e a ilha com maior prevalência foi a Graciosa (86 %, 6/7), com proporção de amostras positivas significativamente diferente entre ilhas (Teste exato de Fisher, $p < 0,01$).

Verificou-se que existe significância na proporção de amostras positivas a *B. coeca* na RAA em relação aos meses estudados (Teste exato de Fisher, $p < 0,01$), sendo outubro o mês com maior prevalência (81 %, 9/11) e junho e agosto os meses com menor prevalência (0 %, 0/2 e 0/1).

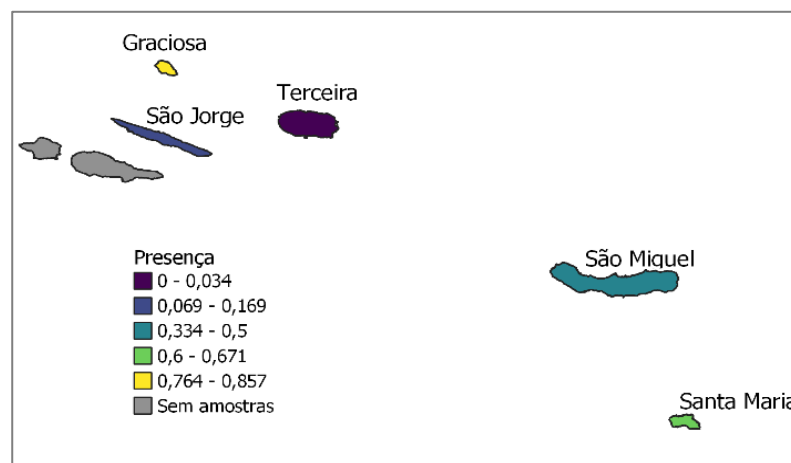


Figura 11 - Mapa com frequência relativa de *B. coeca* nas ilhas.

Realizando um teste de regressão logística simples, observa-se que a precipitação acumulada ($z = 1,898$, $p = 0,058$) e a temperatura máxima ($z = 2,338$, $p = 0,019$) influenciaram a proporção de amostras positivas na RAA, não se observando o mesmo em relação à temperatura média ($z = 1,921$, $p = 0,055$) e temperatura mínima ($z = 1,074$, $p = 0,283$).

Na Figura 12 podemos observar exemplares adultos de *B. coeca*.



Figura 12 Exemplos de *B. coeca* em vista ventral (A e B), dorsal (C), com ampliação 17x, e lateral (D e E, ampliação 20x). Originais.

3.3 *Nosema* spp.

Pode-se observar na Figura 13 microsporídeos de *Nosema* spp. presentes numa amostra positiva.



Figura 13 - Presença de esporos de *Nosema* spp. . Original, ampliação 286x.

Como podemos observar na Tabela 8, a prevalência mensal de *Nosema* spp. em cada ilha, para um IC de 95 %, variou entre 0 e 100 %. Podemos concluir que, na ilha de São Jorge, o mês que teve a menor prevalência de *Nosema* spp. foi agosto (0 %, 0/1). Nas ilhas de São Miguel e da Terceira o mês com menor prevalência foi setembro, correspondendo a 8 % (1/13) e 0 % (0/8) respectivamente. Nas ilhas de São Jorge e São Miguel o mês com maior prevalência foi abril, 94 % (16/17) e 50 % (6/12) respectivamente, e na Terceira foi julho (100 %, 1/1).

Na totalidade do período em estudo, a ilha com menor prevalência foi Santa Maria (13 %, 1/8) e a ilha com maior prevalência foi São Jorge (80 %, 28/35), existindo significância

entre a proporção de amostras positivas e as diferentes ilhas (Teste Exato de Fisher, $p < 0,01$).

Na RAA, mostrou-se existir significância entre a proporção de amostras positivas e os diferentes meses (Teste Exato de Fisher, $p < 0,01$), sendo que abril foi o mês com maior prevalência (76 %, 22/29) e agosto foi o mês com menor prevalência (0 %, 0/1).

Tabela 8 – Número de amostras positivas e prevalência de *Nosema* spp.

	Abril		Junho		Julho		Agosto		Setembro		Outubro		Total	
	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P
São Jorge	16	94 (73-99)	2	100 (34-100)	5	71 (36-92)	0	0 (0-79)	5	63 (31-86)	-	-	28	80 (64-90)
Terceira	-	-	-	-	1	100 (21-100)	-	-	0	0 (0-43)	-	-	1	17 (3-56)
Graciosa	-	-	-	-	-	-	-	-	5	71 (36-92)	-	-	5	71 (36-92)
São Miguel	6	50 (25-75)	-	-	-	-	-	-	1	8 (1-33)	3	27 (10-57)	10	28 (16-44)
Santa Maria	-	-	-	-	1	13 (2-47)	-	-	-	-	-	-	1	13 (2-47)
RAA	22	76 (58-88)	2	100 (34-100)	7	44 (23-67)	0	0 (0-79)	11	33 (20-50)	3	27 (10-57)	45	49 (39-59)

N – Número de amostras positivas; P – Prevalência de *Nosema* spp. em %, com respetivo IC 95%

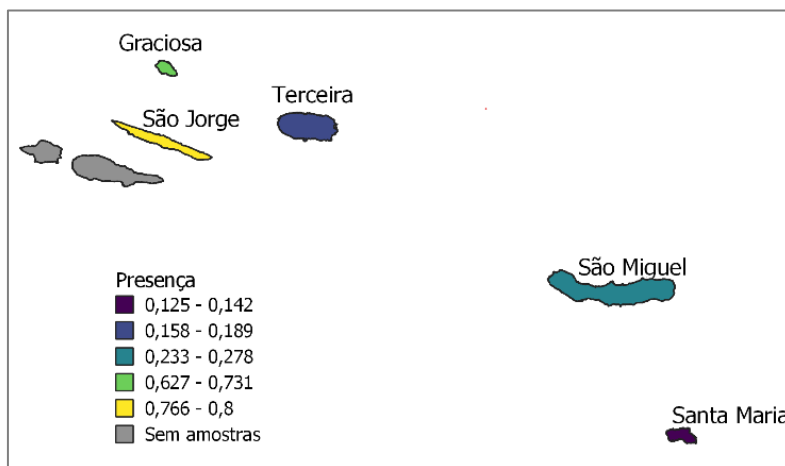


Figura 14 - Mapa com frequência relativa de *Nosema* spp. nas ilhas.

Verificou-se que a proporção de amostras positivas na RAA não é influenciada pela precipitação acumulada (Regressão logística simples, $z = - 1,557$ e $p = 0,119$) nem pela temperatura mínima (Regressão logística simples, $z = - 0,826$ e $p = 0,409$). Através no mesmo teste, regressão logística simples, observou-se que tanto a temperatura máxima ($z = - 2,521$, $p = 0,012$) como a temperatura média ($z = - 2,044$ $p = 0,041$) influenciam a proporção de amostras positivas.

3.4 *Senotainia tricuspis*

Nas Figuras 15, 16 e 17 observamos fotografias de algumas das larvas de *S. tricuspis* identificadas nas lâminas preparadas com as fatias de tórax das abelhas.



Figura 15 - Larva *S. tricuspis*. Original, ampliação 40x.

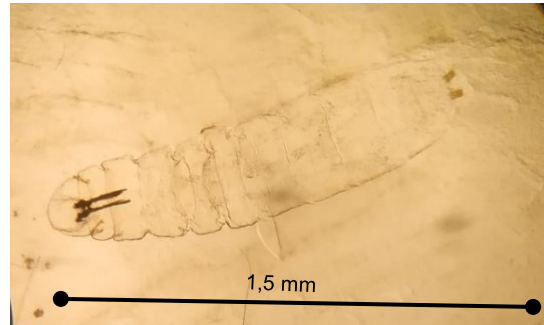


Figura 16 - Larva de *S. tricuspis*. Original, ampliação 40x.



Figura 17 - Larva de *S. tricuspis*. Original, ampliação 40x.

A prevalência mensal de *S. tricuspis* em cada ilha, para um IC de 95 %, variou entre 0 e 100 % (Tabela 9), na ilha de São Jorge, o mês que teve a menor prevalência foi agosto (0 %, 0/1), na ilha da Terceira foi setembro (40 %, 2/5), e em São Miguel foi abril (0 %, 0/12). O mês com maior prevalência na ilha de São Jorge foi abril (71 %, 12/17), julho na ilha da Terceira (100 %, 1/1) e setembro em São Miguel (31 %, 4/13). Em setembro, na ilha de Graciosa observou-se uma prevalência de 71 % (5/7).

Tabela 9 – Número de amostras positivas e prevalência de *S. tricuspis*

	Abril		Junho		Julho		Agosto		Setembro		Outubro		Total	
	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P
São Jorge	12	71 (47-87)	1	50 (9-91)	2	29 (8-64)	0	0 (0-79)	4	50 (22-78)	–	–	19	54 (38-70)
Terceira	–	–	–	–	1	100 (21-100)	–	–	2	40 (12-77)	–	–	3	50 (19-81)
Graciosa	–	–	–	–	–	–	–	–	5	71 (36-92)	–	–	5	71 (36-92)
São Miguel	0	0 (0-24)	–	–	–	–	–	–	4	31 (13-58)	2	18 (5-48)	6	17 (8-32)
Santa Maria	–	–	–	–	0	0 (0-32)	–	–	–	–	–	–	0	0 (0-32)
RAA	12	41 (26-59)	1	50 (9-91)	3	19 (7-43)	0	0 (0-79)	15	45 (30-62)	2	18 (5-48)	33	36 (27-46)

N – Número de amostras positivas; P – Prevalência de *S. tricuspis* em %, com respetivo IC 95%

Verificou-se que a proporção de amostras é significativa entre ilhas (Teste exato de Fisher, $p < 0,01$). A ilha em estudo com menor prevalência no período em estudo foi Santa Maria (0 %, 0/8) e a ilha com maior prevalência foi a Graciosa (71 %, 5/7).

Na RAA, agosto é o mês com menor prevalência (0 %, 0/1) e setembro é o mês com maior prevalência (45 %, 15/33), não existindo significância entre a proporção de amostras positivas na RAA e os diferentes meses (Teste exato de Fisher, $p = 0,266$).

A partir de uma regressão logística simples verificou-se que na RAA nenhum dos fatores climáticos registados influenciou a proporção de amostras positivas a *S. tricuspis*: precipitação acumulada ($z = 0,647$, $p = 0,518$), temperatura máxima ($z = -1,407$, $p = 0,159$), temperatura média ($z = -0,589$, $p = 0,556$) e temperatura mínima ($z = 1,027$, $p = 0,304$).

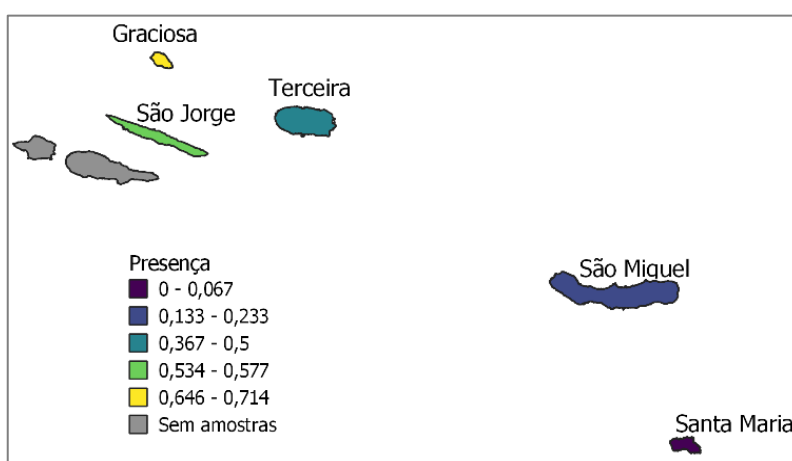


Figura 18 - Mapa com frequência relativa de *S. tricuspis* nas ilhas.

3.5 Gráficos de resultados gerais

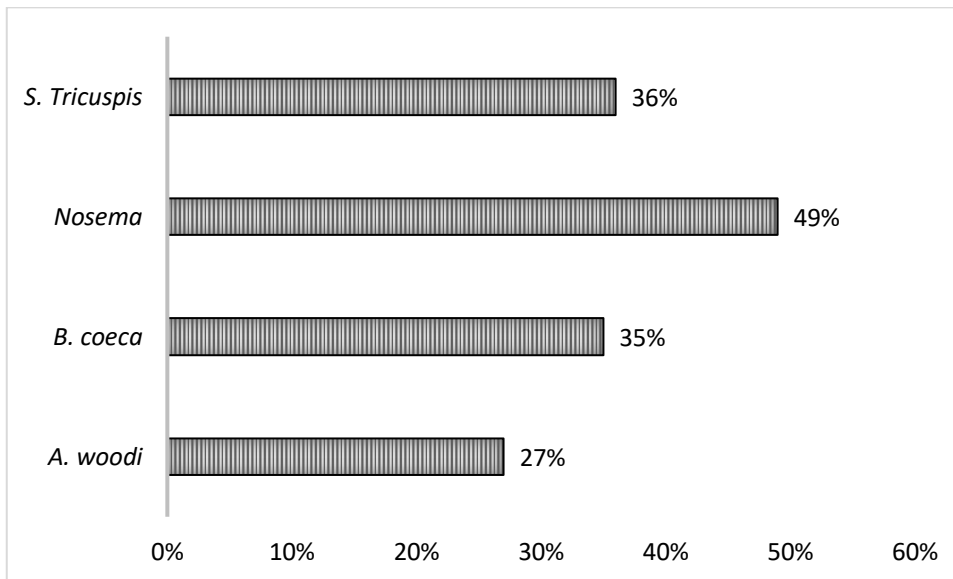


Gráfico 1 Prevalência dos diferentes agentes patogênicos na RAA

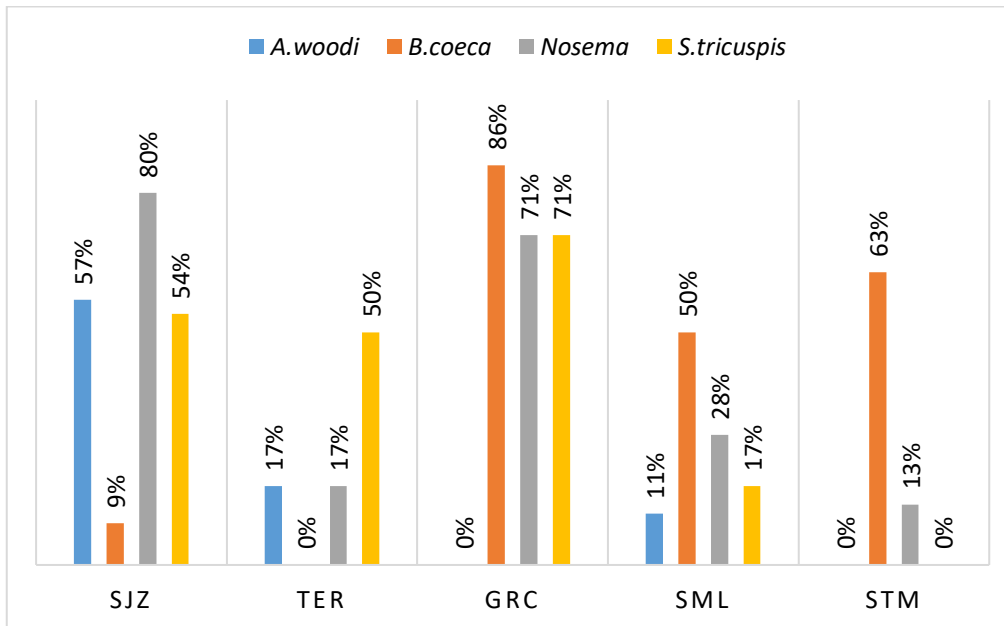


Gráfico 2 Prevalência dos diferentes agentes nas diferentes ilhas

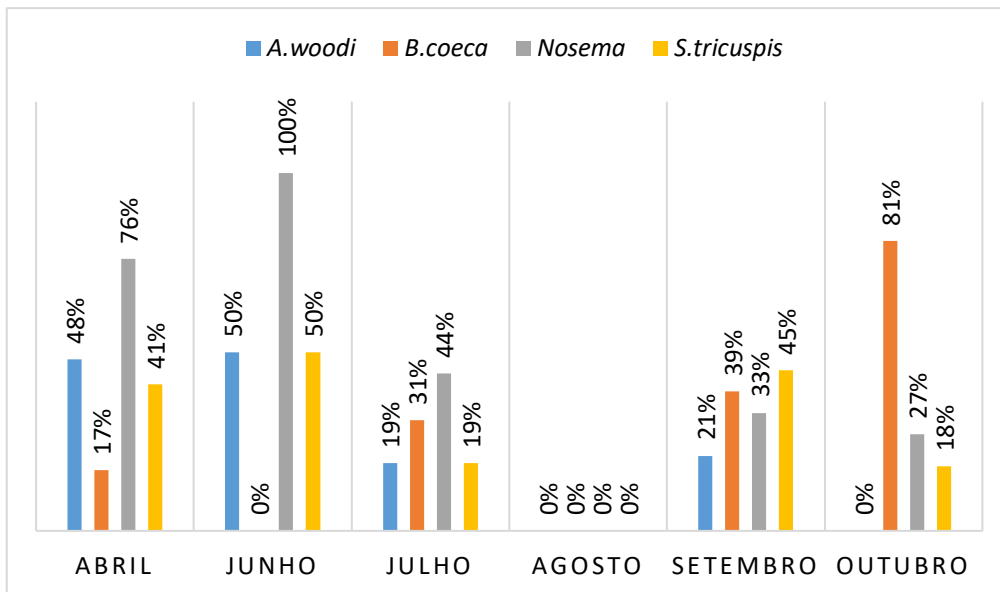


Gráfico 3 Prevalência mensal dos diferentes agentes patogénicos na RAA

4 Discussão

Notando a falta de estudos publicados na área de sanidade apícola na Região Autónoma dos Açores, a autora escolheu a mesma para realização de um estudo de sanidade apícola das abelhas adultas de apiários indemnes de Varroose. O estudo baseou-se em amostras concedidas pelo LRV e pelos apicultores que se disponibilizaram para tal, tendo as mesmas sido analisadas no Posto Apícola do INIAV, onde decorreu o estágio curricular.

Apesar de a RAA representar uma percentagem mínima do setor no país, esta região apresenta potencial para produção apícola devido ao seu estatuto sanitário (DGAV, 2021; SRAF, 2019), assim como pela sua flora característica e pelo crescente aumento de interesse pela apicultura nos jovens, com uma maior facilidade de acesso a informação, formação e sensibilização na área da apicultura (SRAF, 2019).

De acordo com os resultados apresentados verificou-se a ausência de Varroose em todas as amostras processadas, sendo o esperado, uma vez que são oriundas de ilhas indemnes do arquipélago ao *V. destructor*. Sendo a pesquisa deste agente realizada de forma sistemática pela importância de manter o estatuto e atuar o mais cedo possível em caso da sua deteção numa nova ilha.

Acarapiose é pouco detetada e notificada a nível mundial, sendo a RAA um dos locais onde ainda se observa estes ácaros uma vez que tratamentos com acaricidas, direcionados para o controlo da Varroose, não são utilizados nas ilhas indemnes de Varroose. Pelo mesmo motivo foi possível também detetar a presença de *B. coeca* em algumas das amostras processadas, estando este presente nas ilhas de São Jorge, Graciosa, São Miguel e Santa Maria.

Apesar de, na RAA, não se registarem temperaturas tão elevadas como em Portugal continental e ter um índice de humidade superior e com maiores níveis de precipitação, foi, também, possível observar a presença de larvas de *S. tricuspis* nos músculos torácicos em diversas amostras do estudo, com exceção da ilha de Santa Maria.

Sendo um clima de temperaturas amenas e humidade relativa alta, existe um ambiente propício para a presença de Nosemose, verificando-se a sua deteção em diversas amostras do estudo, em especial na ilha de São Jorge.

Neste estudo, foi possível observar a presença de *A. woodi* nas ilhas de São Jorge (57 %, 20/35, IC 41-72), Terceira (17 %, 1/6, IC 3-56) e São Miguel (11 %, 4/36, IC 4-25), valores próximos aos recolhidos pelo controlo sanitário realizado na região em 2020 (41%, 21% e 18%) e 2021 (46%, 13% e 12%). Não se detetou a presença de Acarapiose nas amostras provenientes da ilha de Santa Maria, ao contrário do observado no controlo oficial onde em 2020 foi detetado em 21% dos apiários e em 2021 em 5% (SRADR, 2021).

A prevalência de *Nosema* spp. observada no estudo foi de 13 % (1/8, IC 2-47) em Santa Maria, 28 % (10/36, IC 16-44) em São Miguel, 17 % (1/6, IC 3-56) na Terceira, 71 % (5/7, IC 36-92) na Graciosa e 80 % (28/35, IC 64-90) em São Jorge. No entanto, no controlo oficial não se detetou este agente na ilha de Santa Maria, tanto em 2020 como em 2021, nem na ilha da Graciosa no ano de 2020.

A situação epidemiológica em relação a *Nosema* spp. no conjunto das ilhas estudadas, de acordo com o controlo oficial, correspondeu a 11% e 17 % em 2020 e 2021, respetivamente (SRADR, 2021), valor algo díspar do obtido neste estudo, onde se observou uma prevalência de 49 % (45/92, IC 39-59) no conjunto das ilhas.

O valor da sua prevalência em São Jorge neste estudo é muito elevado em comparação ao do relatório de controlo oficial, onde a prevalência se manteve nos dois anos em 34%, isto deve-se provavelmente a um efeito de amostragem nesta ilha, uma vez que grande parte das amostras de abril correspondem a amostras individuais de colónias dentro dos mesmos apiários, tendo sido recolhidas de apenas 2 apiários do mesmo apicultor, elevando o valor da prevalência do agente na ilha, assim como no conjunto das ilhas.

Nos dados observados no relatório de situação epidemiológica em 2020 e 2021, a prevalência de Braulose no conjunto das ilhas em estudo correspondeu a 60% e 48% respetivamente, enquanto neste estudo se observou uma prevalência de 35 % (32/92, IC 26-45). Este valor deve-se provavelmente à baixa observação de *Braula coeca* na ilha de São Jorge (9 %, 3/35, IC 3-22), assim como na Terceira (0 %, 0/6, IC 0-39) em comparação à situação epidemiológica oficial do ano de recolha, onde se observou 24 % na ilha de São Jorge e 50 % na ilha da Terceira. Em 2021, de acordo com o relatório oficial da situação epidemiológica, a prevalência de *B. coeca* na ilha da Terceira reduziu para 37 %, já em São Jorge observou-se um aumento para 77 %. Estas variações de prevalência entre o estudo e

os dados oficiais pode-se dever a um efeito de amostragem na ilha de São Jorge, como mencionado no caso da Nosemose.

Neste estudo, na ilha de Santa Maria observou-se uma prevalência de 63 % (5/8), IC 31-86, correspondendo ao controlo oficial no ano do estudo, 2020, tendo oficialmente baixado para 55 % no ano seguinte.

O controlo oficial registou prevalência de 83 % em 2020 e 48 % no ano de 2021 na ilha de São Miguel, sendo os resultados obtidos no estudo de 50 % (18/36, IC 34-66). O resultado do estudo assemelha-se mais ao registo oficial de 2021, não esquecendo que parte das amostras desta ilha foi fornecida diretamente dos apicultores nesse mesmo ano.

No estudo apenas temos amostras do ano de 2020 na ilha da Graciosa, observando-se uma prevalência de 86 % (6/7) com IC de 49 – 97 %, estando o resultado do controlo oficial dentro deste intervalo, 75 %, sendo que se observou uma diminuição de prevalência no ano seguinte para 8 %.

No estudo verificou-se a presença de *S. tricuspis* em 36 % (33/92) das amostras analisadas, este não sendo mencionado no controlo oficial destes anos e pertencendo ao protocolo de análise oficial de acordo com dados de anos anteriores (DRV, 2022), assume-se a sua não deteção.

Nas ilhas onde *V. destructor* já foi identificado, os valores para *A. woodi* e *S. tricuspis* não foram demonstrados no controlo oficial, presumindo assim a ausência total da deteção destes agentes tanto no ano 2020, como em 2021. No entanto, observa-se a presença de Nosemose na ilha do Pico (39%) e na ilha do Faial (27%) no ano de 2020 e a presença de Braulose nas nestas duas mencionadas (17% e 20%), assim como na ilha das Flores (20%). No conjunto das 3 ilhas a prevalência de Nosemose e Braulose em 2020 correspondeu a 30% e a 19%, respetivamente (SRADR, 2021). Já em 2021, verificou-se uma prevalência de Braulose superior na ilha do Pico (25%) em relação ao ano anterior, com ausência de deteção das restantes ilhas com Varroose. Detetou-se Nosemose na ilha do Faial (36%) com um aumento de prevalência em relação a 2020 (SRADR, 2021). Sendo a ausência de *A. woodi* esperada, devido aos tratamentos realizados para combater a Varroose.

Os fatores ambientais avaliados não apresentaram indícios de influência na proporção de amostras positivas *S. tricuspis*. Já em *A. woodi* e *Nosema spp.*, observou-se uma influência na proporção de amostras positivas por parte da temperatura máxima e temperatura média, não sendo observado o mesmo para a precipitação acumulada e temperatura mínima. Em amostras positivas de *B. coeca*, a precipitação acumulada e temperatura máxima é que demonstraram ter influência.

De acordo com a observação pessoal da autora, alguns dos apiários visitados na ilha de São Jorge encontravam-se em locais de elevada vegetação não controlada e com baixa exposição solar, criando um ambiente húmido no apiário. Considerando a orografia desta ilha,

e com falta de dados mais concretos, seria interessante verificar se existem mais apiários que se encontrem na mesma situação, tanto em São Jorge como nas restantes ilhas, assim como observar os níveis de humidade da região e como afeta a presença dos diversos agentes em comparação com apiários de maior dimensão e em diferentes ambientes.

4.1 Limitações do estudo

O estudo foi limitado, uma vez que se demonstrou ser difícil obter amostras de modo representativo entre ilhas e a nível temporal, tanto por falta de financiamento como por dificuldade de disponibilidade por parte das condições climatéricas inadequadas quando a autora se encontrava nos locais, como por falta de planeamento na obtenção de amostra das diferentes ilhas e nos diferentes meses.

O estudo de prevalências mensais e influência das estações nestas não foi possível realizar-se uma vez que os dados foram escassos, não existindo distribuição de amostras representativas a nível temporal.

Sendo a amostragem pouca, dispersa e, em diversos casos, ausente nos diferentes meses e ilhas neste estudo, não é possível retirar conclusões representativas da realidade da região.

O estudo teria beneficiado de um planeamento de amostras mais aprofundado, com um contacto com as diferentes entidades responsáveis pela recolha de amostras para existir um contacto mais próximo e direto com os apicultores, tanto para planeamento de recolhas especificamente para o estudo, assim como para questionários sobre a localização dos apiário, p.e., número oficial do apiário de modo a obter a sua geolocalização e avaliar o ambiente envolvente, e questionários sobre o manejo utilizado, tratamentos realizados, formação do apicultor na área, e disponibilidade do quotidiano para a atividade.

5 Conclusão

A presença de Acarapiose nas ilhas indemnes de Varroose demonstra a possibilidade de estudar o agente sem a influência dos tratamentos contra *V. destructor*. Algo possível apenas nestas ilhas, assim como a Ilha de Man no Reino Unido e as Ilhas Åland na Finlândia, que detêm estatuto de indemnidade de Varroose.

Após a realização deste estudo, em 2022, observou-se a realização de um estudo epidemiológico no arquipélago por Lopes, A. *et al*, demonstrando o interesse e oportunidade mencionados anteriormente, de estudar o efeito de diferentes agentes na ausência de *V. destructor*.

Entretanto, observou-se uma notificação, em 27 de janeiro de 2025, da existência de um ninho de vespa-asiática em Rabo de Peixe, ilha de São Miguel, o primeiro observado na região, podendo apresentar uma ameaça para o sector apícola e para a saúde humana.

Realçando a importância de manter os apicultores, e população, informados sobre as devidas precauções para evitar disseminação de novos agentes.

O setor apícola tem vindo a ganhar o interesse dos jovens e assim, uma nova perspectiva no mesmo, valorizando a flora melífera presente na região, assim como o Incenso (*Pittosporum undulatum*), infestante da região, que proporciona um mel monofloral característico da região.

6 Bibliografia

[DRV] Direção de Serviços de Veterinária, 2022. *Programa Sanitário Apícola: Região Autónoma doas Açores 2022*. Vinha Brava(Angra do Heroísmo): Secretaria Regional da Agricultura e do Desenvolvimento Rural, Direção Regional da Agricultura.

[INE] Instituto Nacional de Estatística, 2021. *Perímetro (km) das unidades territoriais por Localização geográfica (NUTS - 2013). Anual - Direção-Geral do Território*. [Online] Available at:

https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_unid_territorial&menuBOUI=13707095&contexto=ut&selTab=tab3

[Acedido em 2022].

[IPMAa] Instituto Português do Mar e da Atmosfera, 2021. *Boletim Climatológico Mensal dos Açores*. [Online]

Available at:

<https://www.ipma.pt/pt/publicacoes/boletins.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=-1>

[IPMAb] Instituto Português do Mar e da Atmosfera, 2021. *Gráficos Monitorização Diária*. [Online]

Available at: <https://www.ipma.pt/pt/oclima/monitoriza.dia/>

[SRADR] Secretaria Regional da Agricultura e do Desenvolvimento Rural, 2021. *Plano Sanitário Apícola 2022 – Anexo 1 – Situação Epidemiológica*. Vinha Brava, Angra do Heroísmo: Direção Regional da Agricultura.

[SRAF] Secretaria Regional da Agricultura e Florestas, 2019. *Plano Estratégico para a Apicultura nos Açores 2020 - 2029*. s.l.:Governos dos Açores.

Anderson, D. & Trueman, J., 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology*, Volume 24, pp. 165-189.

AUSTRALIAN GOVERNMENT , 2025. *Varroa mite (Varroa destructor) | Outbreak*. [Online]

Available at: <https://www.outbreak.gov.au/current-outbreaks/varroa-mite>

[Acedido em 11 5 2025].

Bailey, L., 1958. The epidemiology of the infestation of the honeybee, *Apis Mellifera* L., by the mite *Acarapis woodi* Rennie and the mortality of infested bees.

Bailey, L., 1961. The Natural Incidence of *Acarapis Woodi* (Rennie) and the Winter Mortality of Honeybee Colonies. *Bee World*, 42(4).

BeeAware, 2022. *Braula fly*. [Online]

Available at: <https://beeaware.org.au/archive-pest/braula-fly/#ad-image-0>

[Acedido em 28 Janeiro 2022].

Bermejo, F., A.G., M. & P.G., F., 1996. Prevalence of parasitization by Diptera in *Apis mellifera* L in southern Spain. *Apidologie*, Volume 27, pp. 467-471.

Carreck, N. et al., 2013. Standard methods for *Apis mellifera* anatomy and dissection. *Journal of Apicultural Research*, 54(4).

Chand, B., Kumari, I. & Kumar, R., 2022. Evolution of Apiculture, History and Present Scenario. Em: R. Kumar, O. Agrawal & Y. Hajam, edits. *Honey: A Miraculous Product of Nature*. Boca Raton(New York): CRC Press; Taylor & Francis Group, LLC, pp. 1-22.

Colin, M., Faucon, J. P., Giauffret, A. & Sarrazin, C., 1979. A New Technique for the Diagnosis of Acarine Infestation in Honeybees. *Journal of Apicultural Research*, 18(3), pp. 222-224.

Com. pess. Valério, M., 2021. [Entrevista] 2021.

Comissão Europeia, 2013. *Decisão de Execução da Comissão 2013/503/UE*. s.l.:s.n.

Comissão Europeia, 2019. *Decisão de Execução da Comissão 2019/1895/UE*.

s.l.:s.n.

Crane, E., 1999. *The World History of Beekeeping and Honey Hunting*. New York & London: Routledge, Taylor & Francis Group.

Dade, H., 2009. *Anatomy and Dissection of the Honeybee*. revised ed. Cardiff: International Bee Research Association.

Decreto Legislativo Regional n.º 17/2022/A, 19 de julho. s.l.:Diário da República, nº 138 - 1ª série. Assembleia Legislativa. Região Autónoma dos Açores.

DGAV , 2021. *Programa Sanitário Apícola*, s.l.: s.n.

Domingos, A., da Nóbrega, M. & da Silva, R., 2016. Biologia das abelhas *Apis mellifera*: Uma revisão. *ACTA Apícola Brasileira*, 4(2), pp. 8-12.

Faux, C., 2021. Honey Bee Anatomy. Em: T. Kane & C. Faux, edits. *Honey Bee Medicine for the Veterinary Practitioner*. 1 ed. s.l.:John Wiley & Sons, Inc., pp. 33-40.

Fernandes, J., 2010. *Clima Marítimo dos Açores: contributo para a sua caracterização*, Angra do Heroísmo: s.n.

Genersch, E., 2010. Honey bee pathology: current threats to honey bees and beekeeping. *Appl Microbiol Biotechnol*, Volume 87, pp. 87-97.

Giurgiu, A., Moise, A. & Dezmirean, D., 2020. *Varroa Destructor* and the Sustainability of *Apis Mellifera* - an Overview. *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies*, 77(1).

Haddad, N. et al., 2015. Presence and infestation rate of *Senotainia tricuspis* (Meigen) (Diptera, Sarcophagidae) on honey bees in the Mediterranean Region. *Journal of Apicultural Research*.

Hamida, B., 1999. Enemies of Bees. Em: M. Colin, B. Ball & M. Kilani, edits. *Bee Disease Diagnosis*. Zaragoza : CIHEAM: s.n., pp. 147-165.

Higes, M. et al., 2020. *Nosema apis* and *Nosema ceranae* Tissue Tropism in Worker Honey Bees (*Apis mellifera*). *Veterinary Pathology*, 57(1), pp. 132-138.

Hung, Y. & Ibbotson, M., 2014. Ocellar structure and neural innervation in the honeybee. 19 Fevereiro.

Iorizzo, M. et al., 2022. Recent Advances in the Biocontrol of Nosemosis in Honey Bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Fungi*, 8(424).

Locke, B., Forsgren, E. & de Miranda, J., 2014. Increased Tolerance and Resistance to Virus Infections: A Possible Factor in the Survival of *Varroa destructor*-Resistant Honey Bees (*Apis mellifera*). *PLoS ONE*, 9(6).

Lopes, A. et al., 2022. Colonisation Patterns of *Nosema ceranae* in the Azores Archipelago. *Veterinary Sciences*, 9(7), p. 320.

Martínez, J., 2018. *Principales enfermedades de las abejas*. Gobierno de España: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

Martín-Hernández, R. et al., 2018. *Nosema ceranae* in *Apis mellifera*: a 12 years post-detection perspective. *Environmental Microbiology*, Volume 20, pp. 1302-1329.

Martin, S. & Bayfield, J., 2014. Is the bee louse *Braula coeca* (Diptera) using chemical camouflage to survive within honeybee colonies?. *Chemoecology*, Volume 54, pp. 165-169.

Mendes de Jesus, N., 2020. *Caracterização do Panorama Sanitário Apícola Nacional e Estudo Preliminar de Fatores de Risco de Maneio Apícola na Ocorrência de Doenças da Apis Mellifera em Portugal*. s.l.:s.n.

OIE, 2018. APINAE. Em: *OIE Terrestrial Manual*. s.l.:s.n., pp. 711-782.

Owen, R., Stevenson, M. & Scheerlinck, J.-P., 2021. *Varroa destructor* detection in non-endemic areas. *Apidologie*, Volume 52, pp. 900-914.

Peng, Y.-S. & Nars, M. E., 1985. Detection of Honeybee Tracheal Mites (*Acarapis woodi*) by Simple Staining Techniques. *Journal of Invertebrate Pathology*, Volume 46, pp. 325-331.

Rodrigues, M. & Serrano, F., 2019. Rodrigues, First detailed report of infestation of African honey bees (*Apis mellifera scutellata*) in Angola by the bee louse *Braula coeca* (Diptera: Braulidae). *Journal Of Apicultural Research.*, 58(3), pp. 430-432.

Roth, M., Wilson, J., Tignor, K. & Gross, A., 2020. Biology and Management of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) Colonies. *Journal of Integrated Pest Management*, 11(1), pp. 1-8.

Sabahi, Q. et al., 2020. Evaluation of Dry and Wet Formulations of Oxalic Acid, Thymol, and Oregano Oil for *Varroa* Mite (*Acari*: Varroidae) Control in Honey Bee (*Hymenoptera*: Apidae) Colonies. *Journal of Economic Entomology*, pp. 1-7.

Sammataro, D. et al., 2013. Standard methods for tracheal mite research. *Journal of Apicultural Research*, 54(4), pp. 1-20.

Sammataro, D., Gerson, U. & Needham, G., 2000. Parasitic Mites of Honeybees: Life History, Implications, and Impact. *Annu. Rev. Entomol.*, Volume 45, pp. 519-548.

Sanz, M. & Remy, A., 2017. El Síndrome de Despoblamiento de las Colonias, las apimiasis y la teoría de las abejas poseídas. *Arquivos Entomolóxicos*, Volume 17, pp. 71-80.

Sarwar, M., 2016. Insect pests of honey bees and choosing of the right management strategic plan. *International Journal of Entomology Research*, February, 1(2), pp. 16-22.

Soklič, M. & Gregorc, A., 2016. Comparison of the two microsporidia that infect honey bees – a review. *Agricultura*, 13(1-2), pp. 49-56.

Somerville, D., 2007. *Braula fly*. [Online]
Available at: http://www.dpi.nsw.gov.au/data/assets/pdf_file/0006/176658/Braula-fly.pdf

van Veen, J., 2014. Biology of Honeybees and Stingless Bees. Em: R. Gupta, W. Reybroeck, J. van Veen & A. Gupta, edits. *Beekeeping for Poverty Alleviation and Livelihood Security*. s.l.:Springer, pp. 105-121.

Verves, Y. & Khrokalo, L., 2020. Review of the genus *Senotainia* Macquart, 1846 (Diptera: Sarcophagidae) of the Middle East. *Journal of Natural History*, 54(37-38), pp. 2489-2512.

Vilas-Boas, M., 2008. *Manual de Apicultura em Modo de Produção Biológico*. s.l.:s.n.

Whitaker, J., Szalansky, A. & Kence, M., 2011. Molecular detection of *Nosema ceranae* and *N. apis* from Turkish honey bees. *Apidologie*, 42(2), pp. 174-180.

Winston, M., 1991. *The Biology of the Honey Bee*. s.l.:Harvard University Press.