

Principais doenças das abelhas *Apis* em Portugal: revisão

Main bee diseases in Portugal: review

Cátia Andrea da Silva Martinho¹; Cristina da Conceição Soares Ferradeira²; Joana Araújo Nobre Catita^{1,3}; Ana Isabel Faustino-Rocha^{4,5,6*}

¹Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Lusófona de Humanidade e Tecnologias, Lisboa, Portugal; ²Direção Geral de Alimentação e Veterinária, Lisboa, Portugal; ³Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal; ⁴Departamento de Zootecnia, Escola de Ciências e Tecnologia, Universidade de Évora, Évora, Portugal; ⁵Centro de Investigação e de Tecnologias Agroambientais e Biológicas, Inov4Agro, Vila Real, Portugal; ⁶Comprehensive Health Research Center, Portugal. *Autor correspondente: anafaustino.faustino@sapo.pt; Pólo da Mitra, Pólo da Mitra Apartado 94, 7002-554, Évora, Portugal

REVISÃO

Recebido: 23/05/2023
Aprovado: 01/10/2023
Publicado: 18/10/2023

Palavras-chave:

Apis mellifera
Apicultura
Patologia apícola
Sanidade apícola

Key words:

Apis mellifera
Apicultural pathology
Bee health
Beekeeping

RESUMO

As abelhas são os polinizadores mais importantes do mundo. As ameaças à saúde das abelhas continuam a aumentar a nível mundial, contribuindo para a diminuição da sua produtividade. As abelhas são suscetíveis a uma enorme variedade de agentes patogénicos, incluindo vírus, bactérias, fungos, protozoários e ácaros. Este trabalho teve como objetivo apresentar uma compilação das principais doenças parasitárias, bacterianas, fúngicas e virais das abelhas em Portugal, descrevendo os agentes etiológicos envolvidos, a sua patogenia, os sinais clínicos, o diagnóstico, o tratamento e o controlo. A implementação de medidas sanitárias e boas práticas de manejo é fundamental para a prevenção e controlo das doenças, e constitui um dos principais desafios da apicultura moderna.

ABSTRACT

The bee is the most important pollinator in the world. Threats to the health of bees continue to increase worldwide, contributing to the decline in their productivity. Bees are susceptible to a huge variety of pathogens, including viruses, bacteria, fungi, protozoa, and mites. This work aimed to present a compilation of the main parasitic, bacterial, fungal, and viral diseases of bees in Portugal, describing the etiological agents involved, their pathogenesis, clinical signs, diagnosis, treatment, and control. The implementation of sanitary measures and good management practices is fundamental for the prevention and control of diseases and constitutes one of the main challenges of modern beekeeping.

INTRODUÇÃO

A apicultura em Portugal é um setor de atividade agrícola estruturado da máxima importância (DGAV, 2019). A saúde das abelhas é determinante na sua produtividade (VAQUEIRO, 2017). As abelhas apresentam inúmeros predadores, como aves, roedores, répteis e insetos (CLÉMENT; ROTGÉ, 2012; GAY; MENKHOFF, 2014; MARTÍNEZ, 2019), além dos diversos agentes patogénicos como parasitas, bactérias, fungos e vírus que provocam doenças que afetam a saúde das colónias. A estreita convivência entre milhares de abelhas, característica de uma colónia, possibilita um ótimo ambiente ao desenvolvimento de várias patologias e a rápida propagação das doenças (VAQUEIRO, 2017). As doenças das abelhas podem afetar a fase de criação das mesmas e/ou afetar as abelhas adultas. De acordo com o Decreto-Lei 203/2005 (PORTUGAL, 2005), que

estabelece o regime jurídico da atividade apícola e as normas sanitárias para defesa contra doenças de abelhas, as doenças de declaração obrigatória em Portugal são a Varroose (*Varroa destructor* Anderson & Trueman, 2000), a Tropilaelapiose (*Tropilaelaps* spp. Delfinado & E.W.Baker, 1962), a Acarapiose (*Acarapis woodi* (Rennie, 1921)) e a Aethinose (*Aethina tumida* Murray, 1867) no caso de infeções parasitárias, e a Loque americana (*Paenibacillus larvae*) e a Loque europeia (*Melissococcus plutonius*), no que diz respeito a doenças bacterianas. Além das doenças de declaração obrigatória mencionadas, a Ascosferiose (*Ascosphaera apis*) e a Nosemose (*Nosema* spp.) são doenças fúngicas de notificação obrigatória de casos suspeitos ou confirmados, em zonas controladas, isto é, em zonas geográficas em que a ausência da doença não foi demonstrada e onde se procede a controlo sistemático destas doenças (DGAV, 2019). Em relação a doenças virais, embora nenhuma seja de declaração

obrigatória em Portugal, alguns vírus coexistem com parasitas que funcionam como vetores da infecção, facilitando a sua transmissão.

Apis mellifera subsp. *iberiensis* Engel, 1999 (Hymenoptera: Apidae) comumente conhecida como abelha ibérica, é a abelha predominante em Portugal. De acordo com os resultados dos estudos genéticos realizados em várias colónias de abelhas existentes em Portugal, esta subespécie resulta da mistura de genes ibéricos e genes africanos, reforçando a hipótese de uma colonização antiga da Península Ibérica por enxames africanos. *A. mellifera iberensis* apresenta uma elevada diversidade genética e uma clara estruturação em ecótipos locais, características estas que são preservadas sobretudo pelas práticas apícolas utilizadas em Portugal. Esta subespécie apresenta um excelente potencial natural, elevada rusticidade e adaptação às condições climáticas portuguesas, o que fortalece a sua resistência a eventuais agentes patogénicos (PINTO et al., 2015; HENRIQUES et al., 2019; CCAB, 2020; DGAV, 2023).

O presente trabalho teve como objetivo apresentar uma compilação das principais doenças parasitárias, bacterianas, fúngicas e virais das abelhas, descrevendo os agentes etiológicos envolvidos, a sua patogenia, os sinais clínicos, o diagnóstico, o tratamento e o controlo sanitário.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica através de um levantamento realizado em base de dados nacionais e internacionais, com o objetivo de recolher informação sobre as principais doenças das abelhas em Portugal.

A informação foi recolhida no período compreendido entre janeiro e junho de 2020, utilizando uma abordagem descritiva, através de livros e das seguintes bases de dados: PubMed, Scopus, Scientific Electronic Library Online (SciELO) e a Ferramenta de Pesquisa Académica (Google Scholar). Nesta pesquisa foram revistos 66 artigos ou resumos de revistas científicas, 15 livros ou manuais técnicos, e foram consultados vários documentos informativos de entidades nacionais e internacionais. A pesquisa foi desenvolvida utilizando os termos “abelha”, “*Apis mellifera*”, “doenças”, “patologias” e “Portugal”, em português e inglês. Na pesquisa inicial foram considerados os títulos e os resumos dos artigos de revisão. Posteriormente, os trabalhos foram analisados e procedeu-se à recolha de informação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Doenças Parasitárias

Varroose

A Varroose é uma doença parasitária das abelhas melíferas, cujo agente etiológico é o ácaro *Varroa destructor* Anderson & Trueman, 2000 (Mesostigmata: Varroidae), proveniente da Ásia (DEGRANDI-HOFFMAN; CHEN, 2015; ZEMENE et al., 2015). Os fenómenos naturais de enxameação, a deriva de obreiras, pilhagem ou voo de zângãos (troca de colónia e apiário) conduzem à disseminação deste agente entre



Figura 1. Fêmeas de *Varroa destructor* na criação de zângão (*Apis mellifera*), antes (A) e depois (B) da desoperculação (seta), Algarve, Portugal. Fonte: autores.

colónias e apiários (MURILHAS; CASACA, 2004; CLÉMENT; ROTGÉ, 2012; NAZZI; CONTE, 2016; ROTH et al., 2020). Assim, a interação entre as espécies asiática e europeia, e o transporte de abelhas infetadas da Ásia para a Europa, a América do Sul e o norte de África, levaram a uma dispersão mundial da doença, com elevada mortalidade das colónias e enormes prejuízos para a apicultura (MALDONADO-GONZÁLEZ et al., 2017).

A Varroose encontra-se dispersa mundialmente desde o ano 2012 (ZEMENE et al., 2015). Em Portugal, a Varroose é considerada uma doença endémica, de declaração obrigatória e, portanto, um problema sanitário para o qual são necessárias estratégias de controlo eficazes (PLANO SANITÁRIO APÍCOLA, 2019).

Varroa destructor apresenta um claro dimorfismo sexual. Apenas as fêmeas parasitam as abelhas, pois estas possuem armadura bucal com função picadora-sugadora, que permite perfurar o exoesqueleto das abelhas e sugar a hemolinfa (TRAYNOR et al., 2020) (Figura 1).

Quando o número de ácaros é reduzido, não existe qualquer sinal óbvio de parasitismo na colónia e a infestação é frequentemente impercetível. No entanto, as colónias com elevado número de parasitas apresentam deformações morfológicas evidentes na criação, quando estão em fase de larva e pupa, e também na abelha adulta, ao nível das asas e das extremidades (MURILHAS; CASACA, 2004).

Devido à presença de um único parasita numa larva, a futura abelha pode sofrer uma perda média de massa corporal de 7% (MAÑES et al., 2018). No caso dos zângãos parasitados, a perda de massa corporal pode alcançar os 19%, o que diminui a sua capacidade de voo de forma notável. Outros efeitos incluem deficiência na resposta imunitária celular e humoral das abelhas devido ao decréscimo da concentração de hemácias na hemolinfa e redução na expressão de genes que codificam a produção de péptidos antimicrobianos e enzimas relacionadas com a resposta imunitária. As abelhas obreiras parasitadas durante o seu desenvolvimento apresentam uma esperança de vida significativamente reduzida (MAÑES et al., 2018). Estudos demonstram que, nos casos de taxas elevadas de parasitismo durante o verão e em zonas de clima quente, a sobrevivência de uma abelha pode ser reduzida de 38 dias para 8,3 dias. Consequentemente este envelhecimento prematuro pode levar a que as tarefas sejam negligenciadas por parte das abelhas responsáveis por prestar cuidados à criação (REID; MATHESON, 2011).

Para além das consequências diretas na colónia, a infestação por *V. destructor* encontra-se associada a danos indiretos, pois este parasita atua como vetor de vírus (RUBIANO, 2016), desenvolvendo a denominada síndrome do ácaro-parasita. Esta síndrome caracteriza-se pela mortalidade da criação na célula, aparecimento de orifícios nos opérculos, e presença de abelhas adultas com asas e extremidades deformadas (DEGRANDI-HOFFMAN; CHEN, 2015; BERNARDI; VENTURINO, 2016; MALDONADO-GONZÁLEZ et al., 2017; MAÑES et al., 2018; ERBAN et al., 2019).

O diagnóstico clínico é possível quando existe uma infestação moderadamente alta. Nas colónias com elevado número de parasitas, observa-se uma diminuição da população da colónia e malformações das abelhas. O diagnóstico farmacológico pode ser realizado usando acaricidas, para que os ácaros se desprendam das abelhas e sejam recolhidos através dos estrados sanitários ou de uma cartolina branca previamente impregnada com vaselina. Após recolha, os ácaros são alvo de contagem, de modo a avaliar a carga parasitária e verificar a eficácia dos acaricidas utilizados. Este método pode ser usado em qualquer época do ano (MARTÍNEZ, 2019). O diagnóstico laboratorial consiste na recolha de pelo menos 300 abelhas que se encontram sobre os favos que albergam a criação e na contagem dos ácaros (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2019). As colónias devem ser inspecionadas periodicamente, a fim de detetar a presença do parasita (FAO, 2018). Como diagnósticos diferenciais para a *V. destructor* devem considerar-se outros ácaros, como os pertencentes ao género *Tropilaelaps* spp. (OIE, 2019).

O tratamento e controlo da Varroose implica o uso de acaricidas, juntamente com métodos biotecnológicos, de modo a manter a população do ácaro em níveis reduzidos, que as colónias de abelhas consigam suportar sem implicações no seu estado sanitário e produtivo (FAO, 2018).

Em Portugal é obrigatória a aplicação de pelo menos dois tratamentos acaricidas anuais em cada colónia para controlo da *Varroa* spp., juntamente com a adoção de práticas de higiene adequadas, incluindo a correta desinfecção do material/utensílios apícolas (MURILHAS; CASACA, 2004). A aplicação de tratamentos acaricidas na colmeia, sob a forma de tiras, pulverização, gotejamento, géis ou soluções preparadas a partir de pós, permite reduzir a população de ácaros na colónia para valores mínimos. Os princípios ativos autorizados para o tratamento da varroose em Portugal são: o ácido fórmico, o ácido oxálico, o amitraz, a flumetrina, o tau-fluvalinato e o timol (DGAV, 2019).

Para além destes compostos sintéticos, podem ser usados compostos naturais. A aplicação destes compostos é influenciada pela temperatura ambiente e pela presença de criação, por exemplo o timol não pode ser usado quando a temperatura exterior máxima é superior a 30°C. A aplicação de tratamentos acaricidas não apresenta eficácia de 100%, sendo necessário aliar os mesmos ao maneo adequado das colónias, sendo que a remoção da criação de zângão pode auxiliar no controlo da doença (MURILHAS; CASACA, 2004; ROTH et al., 2020; TRAYNOR et al., 2020).

Acarapiose

A Acarapiose é uma doença parasitária, provocada pelo ácaro microscópico *Acarapis woodi* (Rennie, 1921) (Trombidiformes: Tarsonemidae), que é um endoparasita do aparelho respiratório das abelhas melíferas adultas (KANE;

FAUX, 2021). Esta é considerada uma doença contagiosa grave e apresenta distribuição mundial. Em Portugal, a Acarapiose é considerada uma doença endémica de declaração obrigatória (DENMARK et al., 2000; DGAV, 2020; PEIXOTO et al., 2019).

Acarapis woodi tem a capacidade de perfurar a parede traqueal das abelhas para alimentar-se da hemolinfa (OIE, 2019). Embora apresente maior propensão para os zângãos, as três castas de abelhas são suscetíveis a este ácaro. Os ácaros fêmea maduros penetram nos espiráculos das abelhas jovens. As abelhas apenas são suscetíveis ao ácaro nove dias após a eclosão, sendo que o endurecimento das vias respiratórias após esta período impede a entrada do parasita. O ácaro pode ser transmitido pelas abelhas mais velhas às abelhas jovens (MAÑES et al., 2018).

As consequências patológicas de *A. woodi* devem-se às lesões mecânicas provocadas pela obstrução parcial ou completa das vias respiratórias da abelha, o que resulta na redução da vida útil da abelha e quando as infestações são graves, particularmente no Inverno ou no início da primavera, podem resultar na perda da colónia (KANE; FAUX, 2021). A parede da traqueia parasitada apresenta uma cor opaca, com manchas eruptivas negras, que correspondem a grânulos de melanina produzidos pela abelha como resposta à perfuração da traqueia (OIE, 2019).

Os sinais clínicos das colónias infetadas com *A. woodi* são inespecíficos e, na maioria dos casos, passam despercebidos. Estes incluem a presença de abelhas incapazes de voar ou a rastejar, abelhas desorientadas, abelhas paralisadas com as asas em posição anormal e abelhas mortas.

A infeção das abelhas com número significativo de ácaros resulta numa elevada mortalidade durante o período de hibernação e nos casos mais graves pode ocorrer despovoamento ou morte da colónia (RITTER; ESCOBAR, 2001; CAPRI; MARCHIS, 2013; VIDAL-NAQUET, 2015; OIE, 2019).

A propagação da doença deve-se a diversos fatores, entre eles encontram-se: a deriva de zângãos entre colónias e de abelhas campeiras, a enxameação natural, a pilhagem, o comércio de abelhas e de rainhas infetadas sem controlo sanitário adequado, e a transumância (MOREIRA et al., 2019; PEIXOTO et al., 2019).

Os sinais clínicos inespecíficos de Acarapiose não são suficientes para o diagnóstico sem realizar um exame microscópico à traqueia das abelhas adultas da colónia suspeita para observação dos ácaros. A amostra deve conter pelo menos 50 abelhas, dando preferência aos zângãos, por serem a casta mais parasitada, e abelhas que rastejam num raio de 3 m da colmeia. As abelhas da amostra podem estar vivas ou mortas. Estas devem ser colhidas no inverno ou no início da primavera, quando a população de ácaros na colmeia é mais numerosa e as abelhas mais velhas encontram-se hibernadas (VIDAL-NAQUET, 2015; CARRECK, 2013; OIE, 2019). As infeções pelo vírus da paralisia crónica e o vírus da paralisia aguda, a Nosemose e o envenenamento devem ser considerados diagnósticos diferenciais (KANE; FAUX, 2021). O tratamento das colónias afetadas por *A. woodi* deve ser realizado após a colheita de mel. Este consiste na aplicação de acaricidas usados no tratamento da *V. destructor*, pois estes agentes atuam indiretamente em *A. woodi*. Os cristais de mentol e o timol demonstraram eficácia no tratamento deste ácaro. Todas as colónias do apiário devem ser tratadas (VILAREM et al., 2021).

Senotainiose

A Senotainiose, também designada por Apimiase, é uma doença parasitária das abelhas adultas, provocada pelo parasita *Senotainia tricuspis* (Meigen, 1838) (Diptera: Sarcophagidae) (HADDAD et al., 2015; VAQUEIRO, 2017). Este parasita encontra-se distribuído por toda a Europa central e meridional e pelo Norte de África, principalmente nos países mediterrânicos. É frequentemente identificado em Portugal, Espanha e Itália, apresentando maior frequência entre junho e setembro (PIRES et al., 2011). A presença deste parasita pode levar a perdas de 73-78% das abelhas em apiários infestados (HADDAD et al., 2015).

Senotainia tricuspis é morfologicamente semelhante à mosca doméstica, podendo distinguir-se desta por apresentar manchas negras triangulares no abdómen e uma banda branca entre os olhos (FELICOLI, 2012).

Senotainia tricuspis parasita abelhas campeiras, zângãos e ocasionalmente abelhas solitárias que voam em frente à colmeia, sendo geralmente encontrada ao redor das colmeias nas horas de insolação máxima dos meses de verão (MARTÍNEZ, 2019). A transmissão ocorre por contacto direto, através da inoculação das larvas diretamente no corpo das abelhas (TORRÓNTEGUI, 2020). A fêmea de *S. tricuspis* aguarda pelo seu hospedeiro no topo da colmeia e deposita uma ou duas larvas, em pleno voo, nas membranas intersegmentares, entre a cabeça e o tórax da abelha. As larvas penetram na musculatura torácica, realizam mudas e alimentam-se da hemolinfa do hospedeiro (DUTTO; FERRAZZI, 2014; HAMIDA et al., 1999). Quando a abelha hospedeira morre (dois a quatro dias após a infestação), a larva alimenta-se dos tecidos da abelha, posteriormente cai no solo e evolui para pupa. Esta doença provoca alguma mortalidade, mas em condições normais não é letal para a colónia. A presença de abelhas mortas ou decapitadas na entrada da colmeia constitui o sinal mais evidentes desta doença (MARTÍNEZ, 2019).

O diagnóstico obtém-se pela identificação do agente etiológico nas abelhas, a qual é realizada pela decapitação da abelha para observação do interior do tórax (MARTÍNEZ, 2019). Em Portugal, a Senotainiose não é uma doença de declaração obrigatória (DGAV, 2019).

Aethinose

A Aethinose é uma doença parasitária provocada pelo escaravelho *Aethina tumida* Murray, 1867 (Coleoptera: Nitidulidae). Este escaravelho é endémico da África subsariana e encontra-se distribuído por vários países do mundo. A disseminação do escaravelho através do voo da abelha é favorecida pela transumância de colónias infestadas e pelo comércio de abelhas (MARTÍNEZ, 2019). *A. tumida* é considerado uma espécie exótica invasora nas colónias de abelhas europeias, que pode comprometer a viabilidade e a capacidade produtiva das colónias das abelhas melíferas. A presença deste escaravelho em Portugal foi detetada pela primeira vez no ano de 2004 em caixas de rainhas importadas do Texas, nas quais foram observados ovos e larvas de *A. tumida*. A intervenção imediata das autoridades sanitárias, com a incineração do apiário onde foram introduzidas as rainhas e a desinfeção do solo, evitou a disseminação deste agente em Portugal e na Europa (RAMÍREZ; CALDERÓN, 2018; MAÑES, et al., 2018).

Os ovos de *A. tumida* aderem ao corpo da abelha, enquanto as larvas e o escaravelho adulto vivem no interior das

colmeias. As larvas formam galerias nos favos e são responsáveis pela fermentação do mel, que é considerado contaminado e inapto para consumo humano, sendo elevado o impacto económico (RAMÍREZ; CALDERÓN, 2018).

A Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV) proibiu a importação de abelhas adultas, da espécie *Bombus* spp. Latreille, 1802 (Hymenoptera: Apidae), de produtos de origem apícola e de material apícola de regiões afetadas pela doença para Portugal. Os apicultores desempenham um papel importante na prevenção da doença, através do cumprimento da legislação, da realização de inspeções periódicas aos seus apiários para deteção precoce da doença, bem como da declaração imediata às autoridades sanitárias aquando da sua deteção. Podem também ser adotadas as seguintes medidas profiláticas: o reforço higiossanitário nos apiários, a seleção de abelhas com base no seu comportamento higiénico, manutenção da sanidade das colónias e evitar a construção de apiários em terrenos arenosos (em frente das colmeias) de modo a quebrar o ciclo de vida do parasita (DGAV, 2016).

Doenças Bacterianas

Loque americana

A Loque americana é uma doença bacteriana, altamente contagiosa, que constitui uma das mais graves ameaças à saúde das colónias e à viabilidade apícola. Esta doença está associada a elevadas perdas económicas (CLÉMENT; ROTGÉ, 2012). O agente etiológico é *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* (Paenibacillales: Paenibacillaceae). Esta bactéria Gram positiva, anaeróbia facultativa (OIE, 2019; BEIMS et al., 2020; PAPIĆ et al., 2021) encontra-se distribuída globalmente (MORSE; FLOTTUM, 1997; CLÉMENT; ROTGÉ, 2012). A Loque americana é uma doença de declaração obrigatória a nível internacional e em Portugal, de acordo com o Decreto-Lei 203/2005 (PORTUGAL, 2005), e é considerada uma doença endémica em Portugal (DGAV, 2019).

Em Portugal foram identificados os quatro genótipos de *P. larvae* (ERIC I-IV) que diferem nas características fenotípicas, no metabolismo das fontes de carbono e na virulência (KANE; FAUX, 2021). Os genótipos ERIC I e II são os mais importantes do ponto de vista epidemiológico, pois correspondem à subespécie que causa a Loque americana no campo, enquanto os genótipos ERIC III e IV correspondem à *P. larvae* subsp. *pulvifaciens*, e têm baixa prevalência (KANE; FAUX, 2021). Recentemente foi identificado um novo genótipo, o ERIC V, numa amostra de mel espanhol (BEIMS et al., 2020; MATYSUAK et al., 2020).

A principal característica desta bactéria reside na formação de esporos extremamente resistentes, que podem permanecer viáveis no mel durante mais de 1,5 anos e no ambiente durante décadas. Estes resistem à putrefação, a altas e baixas temperaturas, à luz ultravioleta e a substâncias químicas, como o formaldeído e o óxido de etileno. Os esporos constituem a forma infestante e de propagação da doença, e podem ser detetados na cera, no pólen, no mel, assim como em outras estruturas da colmeia, como é o caso da madeira (ALONSO-SALCES et al., 2016; KHEZRI et al., 2018).

A infeção inicia-se com a absorção oral dos esporos de *P. larvae* pela larva, fornecidos pelas abelhas obreiras adultas. Quando os esporos atingem o intestino médio da larva, germinam nas 12 horas após a sua ingestão, e depois de romper a membrana peritrófica, invadem as células epiteliais do intestino, chegando ao hemocelo da larva e disseminando-se pelos vários tecidos, levando à sua morte. Os esporos de *P.*

larvae também podem infetar abelhas melíferas no estado de pupa, geralmente 36 horas após a eclosão do ovo, e pode ocorrer uma infeção fatal (ALONSO-SALCES et al., 2016). Os esporos não germinam nas larvas mais velhas ou nas abelhas adultas. Embora as larvas de todas as castas sejam suscetíveis à infeção por *P. larvae*, é pouco frequente observar larvas de zângão ou de rainha infetadas (KHEZRI et al., 2018).

O desenvolvimento da doença depende do genótipo da bactéria envolvida. O genótipo ERIC I provoca a morte das larvas infetadas em cerca de 12 dias, enquanto o genótipo ERIC II provoca a morte em aproximadamente 7 dias (OIE, 2019). Embora esta doença afete todas as fases de desenvolvimento da abelha, na grande maioria dos casos os sinais clínicos apenas são visíveis depois da operculação. Um dos sinais característicos da doença consiste na morte da pupa com a probóscide em desenvolvimento exposta, referida como “língua pupal”, que pode persistir na escama (WISHNIE, 2017). Numa fase avançada da doença pode ocorrer uma distribuição irregular, salteada, dispersa ou em mosaico dos favos da criação (Figuras 2A e 2B). Outro sinal importante desta doença é a presença do odor nauseabundo idêntico ao odor de “cola de sapateiro”, que pode não ser perceptível no caso de infeções de pequenas dimensões, e a consistência viscosa das larvas afetadas (NIZAR et al., 2015; WISHNIE, 2017). Na fase terminal da doença, as colónias encontram-se muito debilitadas e não conseguem defender-se da pilhagem por parte de colónias mais fortes (WISHNIE, 2017). As larvas afetadas pela Loque americana geralmente morrem numa posição vertical no interior das células já operculadas, contrariamente ao que se verifica na Loque europeia (MORSE; FLOTTUM, 1997). Os restos larvares sofrem dessecação e transformam-se em escamas larvares, duras e escuras, muito aderentes à parede inferior do alvéolo. Estas contêm milhões de esporos da bactéria, sendo difíceis de remover pelas abelhas e propiciando a disseminação da doença durante muitos anos dentro da colónia e entre colónias (MAÑES et al., 2018; STEPHAN et al., 2020; KANE; FAUX, 2021).

A epidemiologia e letalidade da Loque americana devem-se à resistência e viabilidade dos esporos que são disseminados com facilidade entre colónias e também ao facto da remoção da criação doente não ser suficiente para eliminar a fonte de infeção, além de que o apicultor é considerado o principal agente de propagação da doença (RITTER; ESCOBAR, 2001; STEPHAN et al., 2020). Recentemente foi demonstrado, que *A. tumida* pode atuar como um vetor de *P. larvae* (KANE; FAUX, 2021).

O diagnóstico baseia-se em métodos laboratoriais, meios moleculares (PCR), cultura e isolamento da bactéria. A deteção precoce da doença, antes do desenvolvimento dos sinais

clínicos, pode ser realizada através da técnica PCR para a identificação do agente etiológico nas abelhas, mel, cera e/ou pólen (KHEZRI et al., 2018). A utilização do teste do “palito” é a técnica mais conhecida para o diagnóstico da doença no campo. O corpo da larva morta converte-se numa massa espessa e viscosa e quando se introduz um estilete no alvéolo é possível observar um filamento pastoso aderente ao alvéolo (OIE, 2019) (Figura 2C). No diagnóstico diferencial deve ser considerada a Loque europeia (WISHNIE, 2017; OIE, 2019), no entanto o diagnóstico preciso da doença é realizado através da análise laboratorial (OWEN, 2020).

Na União Europeia não existem fármacos autorizados para o tratamento da Loque americana, ao contrário de outros países em que está autorizada a utilização de antibióticos para tratamento de abelhas melíferas (LOCKE et al., 2019). *P. larvae* é de difícil erradicação devido à sua resistência e transmissibilidade, pelo que as colónias infetadas devem ser eliminadas pelo fogo, após a eutanásia das abelhas com dióxido de enxofre (GAY; MENKHOFF, 2014; LEBLANC et al., 2015; LOCKE et al., 2019; OIE, 2019).

A queima das colónias positivas é considerada o melhor método, por permitir a eliminação simultânea dos esporos das abelhas e da colmeia (KANE; FAUX, 2021). Todo o material apícola que contactou com as colónias afetadas deve ser devidamente limpo e desinfetado, pelo flamejamento com um maçarico ou limpando-o com hidróxido de sódio quente a 6%. Se tal não for possível ou a doença se encontrar em fase avançada, todo o material usado na manipulação das colónias deve ser destruído, o que implica um prejuízo elevado para o apicultor e inflação dos custos de produção (STEPHAN et al., 2020).

A medida mais eficaz para evitar o aparecimento de surtos da doença consiste na utilização de medidas profiláticas dentro de um sistema de controlo sanitário integral do apiário. É importante assegurar a existência de colónias bem povoadas, com população equilibrada e uma quantidade de reservas adequada. Como medidas profiláticas podem destacar-se a desinfecção do material e a substituição anual dos quadros de cera antiga por quadros de cera nova. É recomendada a substituição anual de pelo menos três lâminas de cera no ninho cuja proveniência seja conhecida (MOREIRA et al., 2019). Quando o apicultor captura enxames, deve colocá-los em quarentena e estas colónias devem ser alvo de vigilância. As colónias devem ser monitorizadas com frequência, de forma minuciosa, dando especial atenção à criação e a possíveis alterações, sobretudo na primavera, pois corresponde ao período em que existe mais criação na colónia (CAP, 2007; LOCKE et al., 2019).



Figura 2. A. Quadro de criação de abelhas obreiras (*Apis mellifera*) operculado e saudável B. Quadro de criação afetado por Loque americana (*Paenibacillus larvae*) com uma distribuição irregular e salteada. C. Teste do “palito” positivo à Loque americana, Algarve, Portugal. Fonte: autores.

Loque europeia

A Loque europeia é uma doença bacteriana contagiosa, que afeta a criação não operculada de várias espécies de abelhas, designadamente *A. mellifera*, *A. cerana* e *A. laboriosa*. O agente etiológico desta doença é *Melissococcus plutonius* Bailey & Collins, 1983 (Lactobacillales: Enterococcaceae), uma bactéria Gram positiva, microaerófila ou anaeróbica que se encontra dispersa mundialmente. A epidemiologia da doença é influenciada pela estirpe bacteriana envolvida, o que se traduz num desenvolvimento diferente entre países. Nos últimos anos, a incidência de Loque europeia tem aumentado em alguns países europeus, como é o caso da Suíça com a ocorrência de surtos graves desde 1997 e a Noruega em 2010. A Loque europeia tornou-se a doença da criação mais frequente no Reino Unido (ERBAN et al., 2017).

A Loque europeia e a Loque americana são doenças de declaração obrigatória, devido ao seu caráter contagioso e dificuldade de erradicação (OIE, 2019). Em Portugal, estas doenças são também de declaração obrigatória, ainda que não diagnosticada.

Doenças Fúngicas

Nosemose

A Nosemose é uma doença provocada por fungos microsporídios *Nosema* spp. Durante décadas, a Nosemose foi atribuída exclusivamente à *Nosema apis* Zander, 1909 (Dissociodihaplophasida: Nosematidae) nas abelhas europeias *A. mellifera*. No ano de 1996 foi descoberta uma nova espécie de *Nosema* spp. Nas abelhas asiáticas *A. cerana*, designada *N. ceranae* (OIE, 2018). Este fungo disseminou-se por outros países da Europa, assim como na América do Norte e do Sul, com consequências devastadoras para as colónias em todo o mundo.

A apicultura global, com as trocas comerciais intensivas e a apicultura transumante contribuíram para a disseminação dos esporos infecciosos e resistente de *Nosema* spp. (BAKI et al., 2016; MAÑES et al., 2018). *N. ceranae* é mais prevalente nos países quentes e tem capacidade de infetar as colónias durante todo o ano, enquanto *N. apis* é mais prevalente nas regiões temperadas, apresentando um padrão sazonal que se reflete numa baixa prevalência no verão, um pico no outono, com aumento ligeiro no inverno, atingindo o pico no início da primavera (MAÑES et al., 2018; OIE, 2019). A Nosemose é uma doença de declaração obrigatória em Portugal apenas nas zonas controladas. Esta não é uma doença de notificação obrigatória à OIE (OIE, 2019).

As abelhas infetam-se pela ingestão de alimento e água contaminados com esporos de *Nosema* spp., através das atividades de limpeza ou pelo processo de trofalaxia. *Nosema* spp. propaga-se rapidamente na colónia, afetando as três castas de abelhas, apesar dos zângãos e das abelhas forrageiras serem mais afetados, assumindo um papel preponderante na transmissão do agente. A transmissão entre colmeias pode ocorrer devido à pilhagem e à livre circulação dos zângãos (DIVYA et al., 2018; OIE, 2019; MURA et al., 2020). Após a infeção de uma célula epitelial, o desenvolvimento de numerosos esporos maduros demora três dias no caso de *N. apis* e quatro dias no caso de *N. ceranae*. Estes esporos acumulam-se no intestino grosso e provocam inflamação intestinal e diarreia (BAKI, et al., 2016; MAÑES et al., 2018; MATOVIC et al., 2020; OIE, 2019). Posteriormente são expelidos nas fezes, podendo contaminar a água, o alimento

(mel, pólen e geleia) e as estruturas da colmeia (quadro, cera e material apícola) (MAÑES et al., 2018). As larvas *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae) foram apontadas como um agente de disseminação destes esporos. Foi também confirmada a disseminação dos esporos por via aérea, pela ação do vento (SULBORSKA et al., 2019). O abelharouco (*Merops apiaster* Linnaeus, 1758 (Coraciiformes: Meropidae) que se alimenta de abelhas é também apontado como um dos agentes disseminadores dos esporos de *N. ceranae*, tendo sido identificada a presença de esporos nas fezes e nos ninhos desta ave migratória (VALERA et al, 2017; HERNÁNDEZ et al., 2018). Os esporos de *N. apis* permanecem viáveis mais de um ano nas fezes, quatro meses no mel e na cera, e 4,5 anos nos cadáveres das abelhas infetadas. Os esporos da *N. ceranae* são resistentes à dessecação, mas são muito sensíveis à congelação. A contaminação fecal da cera, especialmente nos quadros usados para a criação e de outras superfícies internas da colmeia atuam como fonte de infeção para a próxima geração de abelhas. A presença de esporos vazios no interior do epitélio parasitado é considerada uma evidência de que a autoinfeção é uma característica comum ao ciclo biológico destes agentes (HERNÁNDEZ et al., 2018; OIE, 2019). A alteração do funcionamento do intestino desenvolve transtornos no metabolismo dos carboidratos, no consumo de alimento e na resposta imunitária, tornando as abelhas mais vulneráveis a inseticidas e a outras doenças, nomeadamente à Ascoseferiose. O intestino das abelhas afetadas apresenta cor branca e friável (CLÉMENT; ROTGÉ, 2012; DIVYA et al., 2018; MAÑES et al., 2018; OIE, 2019). A infeção por *Nosema* spp. leva a alterações nas feromonas das abelhas, o que se traduz num início precoce da atividade forrageira, alterando o comportamento das colónias. Embora ambas as espécies de *Nosema* afetem a viabilidade, as colónias apresentam quadros clínicos distintos, dependendo da espécie responsável pela infeção.

Os casos de infeção por *N. apis* são facilmente identificados devido à presença de diarreia e de abelhas mortas na colónia (DIVYA et al., 2018). A recolha de amostras representativas, com número suficiente de abelhas de diferentes castas é essencial para a obtenção de um diagnóstico fidedigno. As amostras devem ser enviadas de imediato para o laboratório, devidamente acondicionadas em caixas de cartão. O diagnóstico laboratorial consiste na estimativa do número de esporos de *Nosema* spp. em amostras de 50 a 100 abelhas (OIE, 2019). A observação microscópica permite a identificação dos esporos de *Nosema* spp., mas a técnica de PCR é considerada o melhor método por ser mais sensível, pois permite a deteção de baixos níveis de infeção que passam despercebidos na avaliação microscópica e permite a distinção de *N. apis* e *N. ceranae* (OIE, 2019). Como diagnósticos diferenciais devem ser consideradas a Acarapisose, Amebiase, doenças virais e envenenamento por pesticidas (TORRÓNTEGUI, 2020).

Considerando que ambos os microsporídios se encontram disseminados mundialmente, o tratamento das abelhas contribui para prevenir a propagação da infeção nas colónias não infetadas (OIE, 2019). O antibiótico fumagilina é eficiente contra *N. apis* e *N. ceranae*, embora em determinadas circunstâncias não atue em *N. ceranae*. A sua utilização é permitida nos Estados Unidos da América, mas não se encontra autorizada na União Europeia devido ao limite máximo de resíduos no mel. Assim, têm sido descritos alguns tratamentos alternativos, como a utilização de extratos de plantas, extratos

de algas e timol. A aplicação de ácido oxálico diminui a percentagem de abelhas infetadas por *N. ceranae* (GLAVINIC et al., 2017; MARTÍNEZ, 2019).

Pela escassez de tratamentos na Europa, as boas práticas sanitárias de manejo apícola e os métodos profiláticos desempenham a melhor forma de controlo da doença. A utilização de rainhas saudáveis e a substituição anual ou bianual da rainha pode ser vantajosa. Quando detetada a infeção por *Nosema* spp. deve proceder-se à substituição dos quadros com frequência, e desinfeção adequada do material apícola e das colmeias para eliminação dos esporos através da utilização de um maçarico. No caso de infeção por *N. ceranae*, a congelação do material é utilizada para reduzir a viabilidade dos esporos. As colónias severamente afetadas devem ser eliminadas e o material deve ser desinfectado e esterilizado. O aquecimento do mel a 60°C e da cera a 100°C durante 30 minutos permite eliminar os esporos de *N. apis*. A suplementação proteica ou a adição de suplementos alimentares de pólen pode ser necessária para prevenir as deficiências nutricionais na colónia, em caso de falha da floração, deficiência proteica ou infestação descontrolada por *V. destructor*, que pode favorecer uma rápida evolução da Nosemose (GLAVINIC et al., 2017; MARTÍNEZ, 2019).

Ascoseferiose

A Ascoseferiose, também designada de doença da “cria de giz” (*chalkbrood*), é uma doença fúngica invasiva da criação operculada e não operculada, cujo agente etiológico é *Ascosphaera apis* (Maaßen ex Claussen) L.S.Olive & Spiltoir (Onygenales: Ascosphaeraceae) (KANE; FAUX, 2021).

Esta é considerada a doença micótica mais frequente na abelha melífera (*A. mellifera*) em Portugal (CABO et al., 2013). A Ascoseferiose é mais frequente durante a primavera, momento em que o crescimento do fungo é mais favorável, devido às condições das colmeias frias, húmidas e mal ventiladas (BAILÓN ENCARNACIÓN, 2013; FAO, 2018). As abelhas adultas desempenham um papel importante na transmissão da doença no interior da colónia, entre colónias e entre apiários. A apicultura transumante, o comércio e as práticas de manejo apícola inadequadas, tais como o intercâmbio de material e utensílios contaminados, constituem importantes veículos de disseminação da doença entre apiários (ALBO et al., 2017; FAO, 2018; JARA et al., 2018; OWEN, 2020). Ascoseferiose encontra-se distribuída mundialmente e a sua incidência tem aumentado nos últimos anos, tornando-se um problema grave na apicultura (FAO, 2018). A Ascoseferiose não é uma doença de notificação obrigatória internacionalmente. Contudo é uma doença de declaração obrigatória em alguns países, nomeadamente em Portugal, unicamente nas zonas controladas, tal como descrito no Decreto-Lei nº 203/2005 (PORTUGAL, 2005; FAO, 2018).

O diagnóstico baseia-se no exame clínico e observação de múmias no fundo da colmeia, ou na

criação operculada ou não operculada (Figura 3). O diagnóstico definitivo é obtido mediante análise laboratorial para pesquisa de ascósporos nas múmias. Também é possível recorrer à cultura microbiológica para pesquisa de esporos. No caso de múmias brancas, é necessário recorrer à cultura em meio agar para permitir o crescimento, reprodução e formação de esporos. A presença e quantificação de *A. apis* pode ser realizada com recurso a técnicas de biologia molecular, como PCR (CASTAGNINO et al., 2020).

Não existe tratamento antifúngico descrito para a Ascoseferiose. No entanto, vários estudos *in vitro* demonstraram que os óleos essenciais provenientes de algumas plantas aromáticas podem ser uma ferramenta eficaz devido aos seus efeitos antifúngicos. Os óleos essenciais que contêm carofileno, carvacrol, citral, dialil-sulfeto, E-cinamaldeído, eugenol, isotiocianato e timol apresentam uma ação fungicida mais forte (ALBO et al., 2017; TUTUN et al., 2018). A utilização dos óleos essenciais deve ser combinada com programas integrados de gestão da doença (ALBO et al., 2017; TUTUN et al., 2018). A profilaxia consiste na aplicação de medidas de manejo que eliminem fatores predisponentes extrínsecos, como evitar a abertura frequente da colmeia para a proteger contra a humidade e o frio, e fatores intrínsecos como a escassez de alimento (PADILLA et al., 2014). Deve evitar-se a instalação das colmeias em locais húmidos e pouco soalheiros. As colmeias devem ser elevadas em relação ao solo para favorecer a ventilação. Está recomendada a manutenção de colónias fortes e bem alimentadas, e a utilização de rainhas jovens, prolíficas e com bom comportamento higiénico. Os apicultores devem inspecionar a criação regularmente. A eliminação dos quadros infetados é a forma mais eficaz de eliminar os esporos e evitar a propagação da doença (REUTER; SPIVAK, 2016). A higienização do material apícola por irradiação (radiação gama) é um método eficaz na eliminação dos esporos, no entanto não acessível a todos os apicultores (PADILLA et al., 2014; CASTAGNINO et al., 2020).

Doenças Virais

Apis mellifera são afetadas por vírus e alguns deles destacam-se pela sua ampla distribuição e são possíveis agentes etiológicos de doenças das colónias em Portugal, incluindo: vírus da paralisia aguda (ABPV), vírus da paralisia crónica (CBPV), vírus da criação ensacada (SBV) e vírus das asas deformadas (DWV).

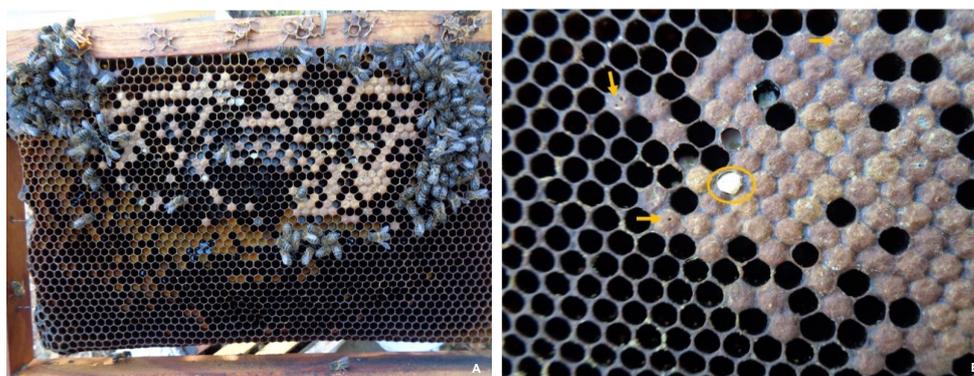


Figura 3. A. Quadro de criação afetado por Ascoseferiose, com um padrão salteado e presença de múmias nas células. B. Presença de múmias nas células não operculadas, devido ao crescimento de *Ascosphaera apis* (círculo). O opérculo da célula que contém a múmia encontra-se perfurado (seta), Algarve, Portugal. Fonte: autores.

Vírus da paralisia crónica (CBPV)

O CBPV, conhecido como síndrome da abelha negra, encontra-se distribuído mundialmente. Este vírus infeta apenas abelhas adultas e é encontrado mais frequentemente em colónias infestadas por *V. destructor*. O CBPV apresenta tropismo para as células do sistema nervoso e tegumentar, originando duas síndromes distintas, que podem ocorrer simultaneamente na mesma colónia. A síndrome do tipo 1 ocorre devido ao tropismo do vírus para as células do sistema nervoso e caracteriza-se pelo tremor das asas e do corpo, e a paralisia das abelhas infetadas. A síndrome do tipo 2, conhecida como “black robbers”, resulta do tropismo para as células do sistema tegumentar e caracteriza-se por paralisia, perda de pelo do abdómen e escurecimento da abelha, que leva à rejeição pela colónia e ataque pelos indivíduos saudáveis da colónia (MAÑES et al., 2018). As colónias severamente afetadas podem entrar em colapso (COULONA et al., 2018).

Vírus da paralisia aguda (ABPV)

O ABPV foi descoberto, durante investigação do CBPV (CARRILLO-TRIPP et al., 2016). Este vírus encontra-se disperso mundialmente, embora com uma presença mais acentuada na Europa. *V. destructor* transmite o ABPV quando regurgita a hemolinfa, cada vez que muda de hospedeiro para se alimentar. A sua prevalência nas colmeias varia ao longo do ano, atingindo o pico no final do verão (RUBIANO, 2016). Embora este vírus afete todas as fases da vida da abelha, apenas se observa sintomatologia nas abelhas adultas. A sintomatologia aguda inclui tremores nas asas e no corpo, paralisia progressiva em dois a quatro dias, incapacidade de voar e perda de pelos, culminando com a morte do animal infetado (RUBIANO, 2016). Algumas abelhas vagueiam para longe da colmeia a que pertencem antes de morrer. Na criação, observa-se uma disposição em mosaico. Não existe um tratamento específico para o vírus, pelo que é essencial combater as infestações por *V. destructor* de forma eficaz (CLÉMENT; ROTGÉ, 2012).

Vírus da criação ensacada (SBV)

A doença da criação ensacada ocorre devido à presença do vírus *Morator aetatulae*, que se encontra amplamente distribuído pelas colónias de *A. mellifera* em todos os continentes. Este vírus apresenta maior prevalência durante a primavera, quando ocorre o desenvolvimento da colónia e existe maior número de larvas de abelhas obreiras suscetíveis (LEVIN et al., 2016; MAÑES et al., 2018). Embora a infeção pelo SBV seja frequentemente assintomática, podem ocorrer infeções que se caracterizam pela falha na metamorfose da cria, com acumulação de líquido entre a larva e a cutícula que a envolve, constituindo um “saco” característico. A cor das larvas altera-se de branco-pérola para amarelo-pálido, com a evolução da doença (RUBIANO, 2016). A morte das larvas ocorre pouco tempo depois da operculação, antes de atingir a fase de pupa. Os restos larvares acabam por secar, transformando-se numa escama não aderente. As abelhas responsáveis pela manutenção da criação podem infetar-se devido à rutura do “saco”. O vírus aloja-se nas glândulas hipofaríngeas e pode ser transmitido à criação através do alimento. Na análise da colmeia, os quadros apresentam criação irregular e alguns opérculos aparecem perfurados pelas obreiras. Os sinais podem ser confundidos com os da Loque americana (LOCKE et al., 2019; MAÑES et al., 2018). De um modo geral, as colónias são capazes de controlar esta doença,

embora possam surgir surtos em momentos de escassez de alimento, condições climáticas adversas ou presença de uma rainha com baixa capacidade de postura de ovos. Assim, o controlo da doença passa pela suplementação da colónia com alimento ou pela introdução de uma rainha jovem. Caso o número de células afetadas seja elevado, recomenda-se a eliminação dos quadros com criação doente (MAÑES et al., 2018). É importante realizar o diagnóstico diferencial com a Loque Europeia e a Loque Americana (MARTINEZ, 2019).

Vírus das asas deformadas (DWV)

O DWV foi identificado em 1982, no Japão. A estreita relação deste vírus com *V. destructor* terá levado à sua distribuição mundial (LOCKE, 2015; RUBIANO, 2016). A sintomatologia do DWV consiste na presença de abelhas recém-nascidas deformadas ou com desenvolvimento insuficiente das asas, encurtamento do corpo e redução da esperança média de vida das abelhas em 50 a 75% (Figura 4) (LOCKE, 2015; RUBIANO, 2016).



Figura 4. Abelha obreira normal (*Apis mellifera*) (à esquerda) e abelha obreira infetada pelo vírus das asas deformadas (DWV) (à direita), Algarve, Portugal. A abelha infetada pelo DWV apresenta as asas deformadas e com um desenvolvimento insuficiente, e encurtamento do corpo. Fonte: autores.

CONCLUSÕES

As doenças de etiologia parasitária constituem o principal problema sanitário do setor apícola, com graves repercussões económicas. Em Portugal, a Varroose é uma doença com carácter endémico, constituindo o principal problema enfrentado pelo setor apícola do país. *Varroa destructor* atua como vetor de outros agentes, predispondo ao desenvolvimento de doenças como a Loque americana e a Ascosferiose, que no seu conjunto podem culminar na morte da colónia.

O manuseio sanitário adequado, assim como a correta higienização de todo o material apícola, é essencial para a prevenção e controlo das doenças apícolas. Assim, é possível concluir que as práticas de manuseio de cada apicultor têm um enorme impacto na saúde e na produtividade das abelhas melíferas em Portugal.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho é apoiado/financiado por Fundos Nacionais através da FCT - Fundação para a Ciência e a Tecnologia, no âmbito dos projetos UIDB/04033/2020 (CITAB) e LA/P/0126/2020 (Inov4Agro).

REFERÊNCIAS

- ALBO, G. N.; REYNALDI, J.; CÓRDOBA, S. Chalkbrood: pathogenesis and the interaction with honeybee defenses. *International Journal of Environmental & Agriculture Research*, v.3, p. 71-80, 2017.
- ALONSO-SALCES, R.; CUGNATA, N.; GUASPARI, E.; PELLEGRINI, M.; AUBONE, I.; PIANO, F.; ANTUNEZ, K.; FUSELLI, S. Natural strategies for the control of *Paenibacillus larvae*, the causative agente of american foulbrood in honey bees: a review. *Apidologie*, v.48, p. 387-400, 2016. [10.1007/s13592-016-0483-1](https://doi.org/10.1007/s13592-016-0483-1).
- ALI, M. A. Studies on Bee Venom and Its Medical Uses. *International Journal of Advancements in Research & Technology*, v.1, n. 2, p.69-83, 2012.
- BAILÓN ENCARNACIÓN, M. Repercusión potencial en la cabaña apícola española de agentes nosógenos detectados en colonias de "*Apis mellifera iberiensis*". 2013. 239f. Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid.2013.
- BAKI, A. A. S. A.; MARES, M.; DKHIL, M. A.; QURAI SHY, S.A. First detection of *Nosema* sp., microsporidian parasites of honeybees (*Apis mellifera*) in Riyadh city, Saudi Arabia. *King Saud University King Saud University Science*, v.28, p. 396-399, 2016. [10.1016/j.jksus.2016.05.005](https://doi.org/10.1016/j.jksus.2016.05.005)
- BEIMS, H.; BUNK, B.; ERLER, S.; MOHR, K.I.; SPROER, C.; PRADELLA, S.; GUNTHER, G.; ROHDE, M.; OHE, W.; STEINERT, M. Discovery of *Paenibacillus larvae* ERIC V: Phenotypic and genomic comparison to genotypes ERIC I-IV reveal different inventories of virulence factors which correlate with epidemiological prevalences of American Foulbrood. *International Journal of Medical Microbiology*, v.310, p. 1-11, 2020. [10.1016/j.ijmm.2020.151394](https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2020.151394).
- BERNARDI, S.; VENTURINO, E. Viral epidemiology of the adult *Apis mellifera* infested by the *Varroa destructor* mite. *Heliyon*, v. 2, p. 1-43, 2016. [10.1016/j.heliyon.2016.e00101](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2016.e00101).
- CABO, P.; DIAS, L. G.; VILAS-BOAS, M.; GOMES, M. A. Apicultura em Modo de Produção Biológico: Identificação dos principais entraves à sua expansão. *Alimentar mentalidades, vencer a crise global - Atas do ESADR*, p. 2215-2235. 2013.
- CAPRI, E.; MARCHIS, A. Bee health in Europe - Facts & figures 2013. Opera Research Center. 2013.
- CARRECK, N.; ANDREE, M.; BRENT, C.; FOSTER, D.; DADE, H.; ELLIS, J.; HATJINA, F.; ENGLESDORP, D. Standard methods for *Apis mellifera* anatomy and dissection. *Journal of Apicultural Research*. v. 52, p.1-39, 2013. [10.3896/IBRA.1.52.4.03](https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.4.03).
- CARRILLO-TRIPP, J.; DOLEZAL, A.; GOBLIRSCH, M.; MILLER, W.; TOTH, A.; BONNING, T. In vivo and in vitro infection dynamics of honey bee viruses. *Scientific Reports*, v.6, p. 1-12, 2016. [10.1038/srep22265](https://doi.org/10.1038/srep22265).
- CASTAGNINO, G.; MATEOS, G.; MEANA, A.; MONTEJO, L.; ITURRALDE, Z.; VICENTE, L.; SIMÓN, C.; TERESA, M. Etiology, symptoms and prevention of chalkbrood disease: a literature review. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*. v.21, p. 1-16, 2020. [10.1590/s1519-9940210332020](https://doi.org/10.1590/s1519-9940210332020).
- CENTRO DE COMPETÊNCIAS DA APICULTURA E BIODIVERSIDADE (CCAB). Plano de ação, Castelo Branco, Portugal. 2018. 26p.
- CLÉMENT, H.; ROTGÉ, M.P. Tratado de apicultura y los productos de la colmena. 1.ed. Espanha: ediciones Omega, S.A, 2012. 528p.
- CONFEDERAÇÃO DOS AGRICULTORES DE PORTUGAL (CAP). Manual de sanidade apícola, Portugal. 2007. 36p.
- COULONA, M.; SCHURRA, F.; MARTELA, A.; COUGOULEA, M.; BÉGAUDA, A.; MANGONIA, P.; DALMONB, A.; ALAUXB, C.; CONTEB, Y.; THIÉRYA, R.; CHABERTA, M.; DUBOIS, E. Metabolisation of thiamethoxam (a neonicotinoid pesticide) and interaction with the chronic bee paralysis virus in honeybees. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. p.10-18, 2018. [10.1016/j.pestbp.2017.10.009](https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2017.10.009).
- DEGRANDI-HOFFMAN, G.; CHEN, YC. Nutrition, immunity and viral infections in honey bees. *Current Opinion in Insect Science*, v. 10, p. 170-176, 2015. [10.1016/j.cois.2015.05.007](https://doi.org/10.1016/j.cois.2015.05.007).
- DENMARK, H.; CROMROY, H.; SANFORD, M. Honey bee tracheal mite, *Acarapis woodi* (Rennie) (Arachnida: Acari: Tarsonemidae). *DPI Entomology Circular of Florida University, IFASExtension*, v.267. p. 1-3. 2000. [10.32473/edis-in329-2000](https://doi.org/10.32473/edis-in329-2000).
- DIREÇÃO GERAL DE ALIMENTAÇÃO E VETERINÁRIA (DGAV). Abelhas. Disponível em: <https://www.dgav.pt/animais/conteudo/recursos-geneticos-animais/racas-autoctones/abelhas/>. Acedido em 08 de outubro. 2023.
- DIREÇÃO GERAL DE ALIMENTAÇÃO E VETERINÁRIA (DGAV). Programa Sanitário Apícola. Portugal. 2020.
- DIREÇÃO GERAL DE ALIMENTAÇÃO E VETERINÁRIA (DGAV). Programa Sanitário Apícola. Portugal. 2019.
- DIREÇÃO GERAL DE ALIMENTAÇÃO E VETERINÁRIA (DGAV). Programa Sanitário Apícola. Portugal. 2016.
- DIVYA, K.; RANA, B.; SHARMA, H.; CHAUHAN, A. Preliminary studies on *Nosema ceranae*: a microsporidian infecting *Apis mellifera* in India. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, v.6, p. 62-65, 2018.
- DUTTO, M.; FERRAZZI, P. *Megaselia rufipes* (Diptera: Phoridae): a new cause of facultative parasitoidism in *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research*, v.53, p. 141-145, 2014. [10.3896/IBRA.1.53.1.15](https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.1.15).
- ELLIS, J.; NALEN, C. *Varroa* mite, *Varroa destructor* anderson and trueman (Arachnida: Acari: Varroidae). *Entomology and Nematology Department. UF/IFAS Extension*. p. 1-3, 2019.
- ERBAN, T.; LEDVINKA, O.; KAMLER, M.; HORTOVA, B.; NESVORNA, M.; TYL, J.; TITERA, D.; MARKOVIC, M.; HUBERT, J. Bacterial community associated with worker honeybees (*Apis mellifera*) affected by European foulbrood.

- PeerJ - Journal of Life and Environmental Sciences, v. 5, p. 3816, 2017. [10.7717/peerj.3816](https://doi.org/10.7717/peerj.3816).
- ERBAN, T.; SOPKO, B.; KADLIKOVA, K.; TALACKO, P.; HARANT, K. Varroa destructor parasitism has a greater effect on proteome changes than the deformed wing virus and activates TGF- β signaling pathways. Scientific Reports, v.9, p. 1-19, 2019. [10.1038/s41598-019-45764-1](https://doi.org/10.1038/s41598-019-45764-1).
- FELICIOLI, A. La *Senotainia tricuspis*, mosca presente in Italia. APIMARCA, v.2, p. 1- 4, 2012.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Main bee diseases: good beekeeping practices - Thematic catalogue for smallholder farmers to promote innovation. Rome, Italy: FAO, 2018. 46p.
- GAY, J.; MENKHOFF, I. El gran libro de las abejas. 1.ed. Alemanha: Fackelträger, 2014. 320p.
- GLAVINIC, U.; STANKOVIC, B.; DRASKOVIC, V.; STEVANOVIX, J.; PETROVIC, T.; LAKIC, N.; STANIMIROVIC, Z. Dietary amino acid and vitamin complex protects honey bee from immunosuppression caused by *Nosema ceranae*. Plos One, v.12, p. 1-18, 2017. [10.1371/journal.pone.0187726](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187726).
- HADDAD, N.; ADJLANE, N.; AYAD, W.; SHEBL, M.; SABA, M.; ALBABA, I.; OBEID, D.; SABAH, M.; GIUST, M.; FELICIOLI, A. Presence and infestation rate of *Senotainia tricuspis* (Meigen) (Diptera, Sarcophagidae) on honey bees in the Mediterranean region. Journal of Apicultural Research, v.54, p. 121-122, 2015. [10.1080/00218839.2015.1099988](https://doi.org/10.1080/00218839.2015.1099988).
- HAMIDA, B.; COLIN, M.; BALL, B.; KILANI, M. Enemies of bees. 1.ed. Zaragoza, España: Centre International de Hautes Etudes Agronomiques Mediterraneennes – CIHEAM. 1999. 147- 165p.
- HENRIQUES, D.; LOPES, A.; FERREIRA, H.; NEVES, C.; PINTO, M. Composição genética das populações de abelha melífera (*Apis mellifera* L.) da Macaronésia. Instituto Politécnico de Bragança. 2019.
- HERNÁNDEZ, R.; BARTOLOME, C.; CHEJANOVSKY, N.; CONTE, Y.; DALMON, A.; DUSSAUBAT, C.; PALENCIA, P.; MEANA, A.; PINTO, M.; SOROKER, V.; HIGES, M. *Nosema ceranae* in *Apis mellifera*: a 12 years. Environmental Microbiology, v.20, p. 1302-1329, 2018. [10.1111/1462-2920.14103](https://doi.org/10.1111/1462-2920.14103).
- JARA, L.; LÓPEZ, D.; MUÑOZ, I.; RÚA, P. Epidemiological Survey of *Ascosphaera apis* in Small-Scale Migratory *Apis mellifera iberiensis* Colonies. Sociobiology, v.65, p. 285-290, 2018. [10.13102/sociobiology.v65i2.2685](https://doi.org/10.13102/sociobiology.v65i2.2685).
- KANET, T. R.; FAUX, C. M. Honey bee medicine for the veterinary practitioner. USA: Wiley Backwell, 2021. 812p.
- KHEZRI, M.; MOHARRAMI, M.; MODIRROUSTA, H.; TORKAMAN, M.; ROKHZAD, B.; KHANBABAIE, H. Prevalence of American foulbrood in asymptomatic apiaries of Kurdistan, Iran. Veterinary World, v.11, p. 281-285, 2018. [10.14202/vetworld.2018.281-285](https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.281-285).
- LEBLANC, L.; NEZAMI, S.; YOST, D.; TSOURKAS, P.; AMY, P. Isolation and characterization of a novel phage lysin active against *Paenibacillus larvae*, a honeybee pathogen. Bacteriophage, v.5, 2015. [10.1080/21597081.2015.1080787](https://doi.org/10.1080/21597081.2015.1080787).
- LEVIN, S.; SELA, N.; CHEJANOVSKY, S. Two novel viruses associated with the *Apis mellifera* pathogenic mite *Varroa destructor*. Scientific Reports, v.6, p. 37710, 2016. [10.1038/srep37710](https://doi.org/10.1038/srep37710).
- LOCKE, B.; LOW, M.; FORSGREN, E. An integrated management strategy to prevent outbreaks and eliminate infection pressure of American foulbrood disease in a commercial beekeeping operation. Preventive Veterinary Medicine, v.167, p. 48-52, 2019. [10.1016/j.prevetmed.2019.03.023](https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.03.023).
- MALDONADO-GONZÁLEZ, A. P.; TENORIO-BELTRÁN, L. E.; VÁZQUEZ-ROMERO, Y. I.; VILLALOBOS-RODRÍGUEZ, M. A.; VELÁZQUEZ-ORDÓÑEZ, V.; ORTEGA-SANTANA, C.; VALLADARES-CARRANZA, B. Varroasis: enfoque ambiental y económico. Una Revisión. Revista Electrónica de Veterinaria, v.18, n.9, p. 1-12, 2017.
- MAÑES, A.; PASCUAL, M.; HERNÁNDEZ, T. 40 Q&A sobre Sanidad y producción apícola. 1.ed. Madrid, España: SERVET, 2018. 176p.
- MARTÍNEZ, J.L. Principales enfermedades de las abejas. 4. ed. Madrid, España: Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación Secretaria General Técnica Centro de Publicaciones, 2019. 255p.
- MATOVIC, K.; VIDANOVIC, D.; MANIC, M.; STOJILJKOVIC, M.; RADOJICIC, S.; DEBELJAK, Z.; SEKLER, M.; CIRIC, J. Twenty-five-year study of *Nosema* spp. in honey bees (*Apis mellifera*) in Serbia. Saudi Journal of Biological Sciences, v.27, p. 518-523, 2020. [10.1016/j.sjbs.2019.11.012](https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.11.012).
- MATYSUAK, E.; POPIELA, E.; OWCZAREK, B.; STEFANIAK, K.; JELEN, K.; LODEI, N.; KULA, D.; NEUBERG, J.; MIGDAL, P.; BAGINSKA, N.; ORWAT, F.; DABROWSKA, B.; ROMAN, A.; GÓRSKI, A. Phages in Therapy and Prophylaxis of American Foulbrood – Recent Implications From Practical Applications. Frontiers in Microbiology, v.11, p. 1-16, 2020.
- MOREIRA, L.; FARINHA, N.; NETO, J.; CASACA, J.; NEVES, A. Apicultura em Portugal –Manual Técnico, 1. ed., Portugal: FNAP – Federação Nacional dos Apicultores de Portugal, 2019. 230p.
- MORSE, R.; FLOTTUM, K. Honey bee pests, predators and diseases. 3. ed., Ohio-USA: Root Company, Ohio, USA, 1997. 718p.
- MURA, A.; PUSCEDDU, M.; THEODOROU, P.; ANGIONI, A.; FLORIS, I.; PAXTON, R.; SATTÀ, A. Propolis consumption reduces *Nosema ceranae* infection of european honey bees (*Apis mellifera*). Insects, v.11, p. 124, 2020. [10.3390/insects11020124](https://doi.org/10.3390/insects11020124).
- MURILHAS, A.; CASACA, J. Conviver com a Varroa em Portugal. 1. ed. Évora, Portugal: Universidade de Évora

- /AGRO 354-2001. Agro 354 / 01, AVAPInt - Apicultura, Varroose, Ambiente e Protecção integrada p.1-35, 2004. 32p.
- NAZZI, F.; CONTE, Y. Ecology of *Varroa destructor*, the major ectoparasite of the western honey bee, *Apis mellifera*. Annual Review of Entomology, v.61, p. 417-432, 2016. [10.1146/annurev-ento-010715-023731](https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010715-023731).
- NIZAR, H.; ALAA, A.; NOUREDDINE, A.; FARES, K.; OUDDOUMI, S. Diagnosis of *Paenibacillus larvae* from honeybees in Jordan according to microbiological and chemicals techniques. Asian Journal of Animal Sciences, v.9, p. 1-12, 2015. [10.3923/ajans.2015.318.329](https://doi.org/10.3923/ajans.2015.318.329).
- OIE. Apinae (Infection of honey bees). In: OIE - Terrestrial Animal Health Code – volume 1, 2019. Section 9. 4p.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDADE ANIMAL (OIE). Nosemosis de las abejas melíferas. In: OIE – Terrestrial Manual (Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres). 2018. cap.3.2.4. 7p.
- OWEN, R. The Australian Beekeeping Manual. 2.ed. Austrália: Exisle Publishing Pty Ltd, 2020. 368p.
- PADILLA, F.; FLORES, M.; CAMPANO, F. Control de la Ascospferiosis (*Ascospheera apis*) mediante el uso de fondos higiénicos de rejilla. Actas Iberoamericanas de Conservación Animal, v.4, p. 289-291, 2014.
- PAPIĆ, B.; DIRICKS, M.; KUSAR, D. Analysis of the Global Population Structure of *Paenibacillus larvae* and Outbreak Investigation of American Foulbrood Using a Stable wgMLST Scheme. Frontiers in Veterinary Science, v.8, p.1-15, 2021. [10.3389/fvets.2021.582677](https://doi.org/10.3389/fvets.2021.582677).
- PEIXOTO, C.; OLIVEIRA, M.; CARVALHO, C. Current status of *Acarapis woodi* mite infestation in Africanized honey bee *Apis mellifera* in Brazil. Florida Entomologist, v.102, p. 775-777, 2019. [10.1653/024.102.0416](https://doi.org/10.1653/024.102.0416).
- PINTO, M.; CHÁVEZ-GALARZA, J.; HENRIQUES, D. Estrutura Genética da Abelha Ibérica (*Apis mellifera iberensis*). Revelada por marcadores do DNA mitocondrial e nuclear (SNPs). O Apicultor. 2015.
- PIRES, S.; CADAVEZ, V.; VALÉRIO, M. Prevalence and geographical distribution of *Senotainia tricuspis* (Meigen). World Organisation for Animal Health (OIE), Apimondia. Standing Commission for Bee Health, v.11, 2011.
- PORTUGAL. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Diário da República n.º 227/2005, Série I-A de 25 de Novembro de 2005. Decreto-Lei 203/20, 2005.
- RAMÍREZ, M.; CALDERÓN, R. Situación del pequeño escarabajo, *Aethina tumida*, en colmenas de abejas africanizadas (*Apis mellifera*) en Costa Rica: muestreo de apiarios 2014- 2017. Revista Ciencias Veterinarias, v.36, p. 19-26, 2018. [10.15359/rcv.36-1.2](https://doi.org/10.15359/rcv.36-1.2).
- REID, M.; MATHESON, A. Practical beekeeping in New Zeland. 4.ed. New Zeland: Exisle Publishing, 2011. 288p.
- REUTER, G.; SPIVAK, M. Honey bee diseases and pests. Department of Entomology and Minnesota Extension Service, University of Minesota, p.1-34, 2016.
- RITTER, W.; ESCOBAR, J.E. Enfermedades de las abejas. 1.ed. España: Editorial Acribia S.A., 2001. 154p.
- ROTH, M.; WILSON, J.; TIGNOR, K.; GROSS, A. Biology and management of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies. Journal of Integrated Pest Management, v.11, p. 1-8, 2020. [10.1093/jipm/pmz036](https://doi.org/10.1093/jipm/pmz036).
- RUBIANO, V. Análisis virológico y epidemiológico del síndrome de despoblamiento de las colmenas en España: estudio de causas y consecuencias. 2016.163f. Tesis doctoral, Universidade Complutense de Madrid. Madrid., España. 2016.
- STEPHAN, J.; MIRANDA, J.; FORSGREN, E. American foulbrood in a honeybee colony: spore-symptom relationship and feedbacks. BMC Ecology, v.20, p.1-14, 2020. [10.1186/s12898-020-00283-w](https://doi.org/10.1186/s12898-020-00283-w).
- TORRÓNTEGUI, R. A. L. Abejas medicina veterinaria (Spanish Edition). 1. ed. España: Independently published, 2020. 181p.
- TRAYNOR, K.; MONDET, F.; MIRANDA, J.; TECHER, M.; KOWALLIK, V.; ODDIE, M.; CHANTAWANNAKUL, P.; MCAFEE, A. *Varroa destructor*: a complex parasite, crippling honey bees worldwide. Trends in Parasitology, v.7, p. 592-606, 2020. [10.1016/j.pt.2020.04.004](https://doi.org/10.1016/j.pt.2020.04.004).
- TUTUN, H.; KOC, N.; KART, A. Plant essential oils used against some bee diseases. Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, v.6, p. 34-45, 2018. [10.24925/turjaf.v6i1.34-45.1502](https://doi.org/10.24925/turjaf.v6i1.34-45.1502).
- SULBORSKA, A.; HORECKA, B.; CEBRAT, M.; KOWALCZYK, M.; SKRZYPEK, T.; KAZIMIERCZAK, W.; TRYTE, M.; BORSUK, G. Microsporidia *Nosema* spp. - obligate bee parasites are transmitted by air. Scientific Reports, v.9, p. 14376, 2019. [10.1038/s41598-019-50974-8](https://doi.org/10.1038/s41598-019-50974-8).
- VALERA, F.; MORACHO, T.; YUAN, H.; MUÑOZ, I.; RÚA, P.; HERNÁNDEZ, R.; CHEN, Y.; HIGES, M. Any role for the dissemination of *Nosema* spores by the blue-tailed bee-eater *Merops philippinus*? Journal of Apicultural Research, v.56, p. 262-269, 2017. [10.1080/00218839.2017.1306375](https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1306375).
- VAQUEIRO, E. M. J. La Sanidad en el Colmenar. 1. ed. España: Ediciones Mundi-Prensa, 2017. 120p.
- VIDAL-NAQUET, V. N. Honeybee Veterinary Medicine: *Apis mellifera* L. 1. ed. United Kingdom: 5m Publishing, 2015. 284p.
- VILAREM, C.; PIOUS, V.; VOGELWEITH, F.; VÉTILLARD, A. *Varroa destructor* from the Laboratory to the Field: Control, Biocontrol and IPM Perspectives—A Review. Insects, v.12, p. 800, 2021. [10.3390/insects12090800](https://doi.org/10.3390/insects12090800).
- WISHNIE, D. C. The veterinarian's role in honey bee health. Honey bees: a guide for veterinarians. 1.ed. USA: American Veterinary Medical Association, 2017. 56p.
- ZEMENE, Z.; BOGALE, B.; DERSO, S.; BELETE, S.; MELAKU, S.; HAILU, H. A review on varroa mites of honey bees. Academic Journal of Entomology, v.8, p.150-159, 2015. [10.5829/idosi.aje.2015.8.3.95259](https://doi.org/10.5829/idosi.aje.2015.8.3.95259).