

O APICULTOR[®]



R E V I S T A D E A P I C U L T U R A

ISSN - 0873-2981 • ANO 28 N.º 111 - Jan./ Mar. 21 - € 7,00 (iva incl.) Periodicidade Trimestral

- A Importância das Abelhas
- Guia de Méis Monoflorais Ibéricos
- Composição Genética Materna das Abelhas da Madeira
- Higiene, Segurança e Saúde no Trabalho Apícola
- Coexistências (12)
- Consultório Apícola

PORTUGUESE
BEEKEEPING
MAGAZINE

ÍNDICE

3

A Importância das Abelhas

7

Guia de Méis Monoflorais Ibéricos
(continuação)

19

Composição Genética Materna das
Abelhas da Madeira

23

Higiene, Segurança e Saúde no
Trabalho Apícola

27

Coexistências (12)

33

Consultório Apícola

35

Concurso Nacional de Mel

39

Mel na Culinária

EDITORIAL

Feliz Ano Novo...

As expectativas eram elevadas, mas 2021 entrou da pior forma. Mais vírus, novas estirpes, novo confinamento.

Por aqui também fomos forçados a confinamento e ao fatídico isolamento profiláctico e por isso esta edição também sofreu o seu atraso. Mas... o que não nos mata, fortalece-nos e não nos demove dos nossos objectivos nem das nossas convicções e por isso aqui está a edição n.º 111 com conteúdos que esperamos poder abstrair-vos ainda que por breves momentos desta pandemia.

Em parceria com a Revista My Planet “A importância das Abelhas” é um texto a não perder. Continuamos com o “Guia de Méis Monoflorais Ibéricos”, e a “Composição Genética Materna das Abelhas da Madeira”. Não deixem de colaborar com o projecto Beekeeper Safety, “Higiene, Segurança e Saúde no Trabalho Apícola”. Nesta edição e como não poderia faltar contamos com 12ª Coexistências e com o Consultório Apícola.

Enviem-nos as V. questões, experiências, participem! Mais ou menos confinados, continuaremos aqui para vós.

Fiquem bem, fiquem a salvo, cuidem de vós e dos outros.

Até breve!

Publicação Trimestral n.º 111 (Janeiro / Março) 2021

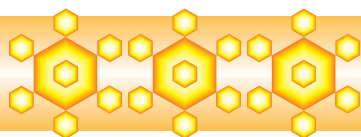
PROPRIETÁRIO: **EDICAIS-Publicidade Exterior, Lda** • Sede Redação e de Edição: Lg. Fontainhas, Lt.1-B, 2.º Dt.º - 2750-623 CASCAIS • Cont. 504344374 Tel. 214 835 286 • e-mail: oapicultor@oapicultor.com • www.oapicultor.com • **Director:** A.França Gouveia • **Membros do conselho de administração / Detentores de mais de 5% do capital:** A.França Gouveia; Marta França • **Coordenadores:** Carlos Paixão, Patrícia Ferreira • **Editores:** A.França Gouveia • **Colaboraram neste Número:** *Revista “My Planet”;* *Laboratórios Apinevada, Pajuelo Consultores Apícolas;* *Dora Henriques, Ana R.Lopes, Helena Ferreira, M. Alice Pinto; Sância Pires, Vitor Martins, Getúlio Igrejas, Paulo Coelho, Ana Machado, Sofia Nunes, Nuno Carvalho; Valdemiro Pereira (Aidos da Vila); Hifarmax* • **Publicidade:** A.Pissarra Tel.: 214 835 286 • **Grafismo:** Paixão Design • **Impressão Gráfica:** MX3 Artes Gráficas, Lda. Parque Ind. Alto Bela Vista, Pav. 50 2735-340 Cacém • **Reg. Publicação** n.º 116913 • **Reg. Empresa Jornalística** n.º 216912 • **Depósito Legal** n.º 84876/94 • **ISSN** - 0873-2981 Tiragem: 2.500 exemplares

Os conceitos em artigos ou outros escritos assinados, são da responsabilidade dos seus autores e podem não reflectir a opinião da revista. É permitida a reprodução dos trabalhos publicados, desde que citada a fonte e informada a revista.

ESTATUTO EDITORIAL

A REVISTA O APICULTOR define-se como publicação periódica informativa independente e pluralista relacionada com a temática da Apicultura. A REVISTA O APICULTOR, para além da responsabilidade de informar, pretende ser um auxiliar de consulta no dia-a-dia dos Apicultores e Associados. A REVISTA O APICULTOR é independente de qualquer tipo de poder, económico ou político, ou de qualquer grupo de pressão. A REVISTA O APICULTOR rege-se pelo escrupuloso cumprimento das normas éticas e deontológicas que regulamentam o jornalismo.

Composição Genética Materna das Abelhas da Madeira



Comparação com as populações dos arquipélagos dos Açores e das Canárias e de Portugal continental

Dora Henriques, Ana R. Lopes, Helena Ferreira, M. Alice Pinto
Centro de Investigação de Montanha (CIMO),
Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Sta. Apolónia, 5300-
253 Bragança
Autor correspondente: Maria Alice Pinto, apinto@ipb.pt

O ADN mitocondrial é um dos marcadores moleculares mais usados globalmente no estudo da diversidade genética da abelha melífera (*Apis mellifera* L.). Uma das razões para a sua ampla utilização deve-se à particularidade de este marcador ser transmitido intacto pela rainha aos seus descendentes (obreiras e zangãos), o que significa que todos os indivíduos da colónia vão partilhar o mesmo tipo de ADN mitocondrial. Consequentemente, se quisermos conhecer a linhagem materna de uma colónia, basta analisar o ADN mitocondrial de um único indivíduo.

O genoma mitocondrial da abelha melífera tem um tamanho aproximado de 16400 pares de bases (pb-número de nucleótidos), representando 37 genes e várias regiões intergénicas. A região do ADN mitocondrial que tem sido mais usada nos estudos da abelha melífera é a que se situa entre os genes que codificam para o ARN de transferência da leucina (tRNA^{leu}) e para o citocromo oxidase 2 (COX2). Esta região tem sido estudada através do teste *Dra*I. Para tal, depois de se extrair o ADN de uma abelha, este é sujeito a uma da Reação em Cadeia da Polimerase

(vulgarmente conhecida por PCR) para amplificar a região tRNA^{leu}-COX2. Seguidamente, o produto da PCR é tratado com a enzima de restrição *Dra*I, que corta o ADN em sítios específicos. O produto da digestão com a *Dra*I é analisado por eletroforese em gel de agarose que vai separar os fragmentos cortados de acordo com o seu tamanho (Figura 1). Esta técnica permite identificar os diferentes variantes (também conhecidos como haplótipos) numa população de abelhas a partir da determinação do tamanho do fragmento antes da digestão com a *Dra*I e do número e tamanho de fragmentos após digestão. Por exemplo, uma amostra que produza por PCR um fragmento com um tamanho de 814 pb, que depois é cortado pela *Dra*I em três sítios específicos dando origem a quatro fragmentos com 47 pb, 93 pb, 190 pb e 484 pb, vai ser identificada como sendo do haplótipo A14 (Figura 1).

O teste *Dra*I permite identificar as colónias pelos seus haplótipos, que podem pertencer a cinco linhagens distintas: A (Africana), M (Europeia Ocidental), C (Europeia Oriental), O (Médio Oriente) e Y (Etiópia).

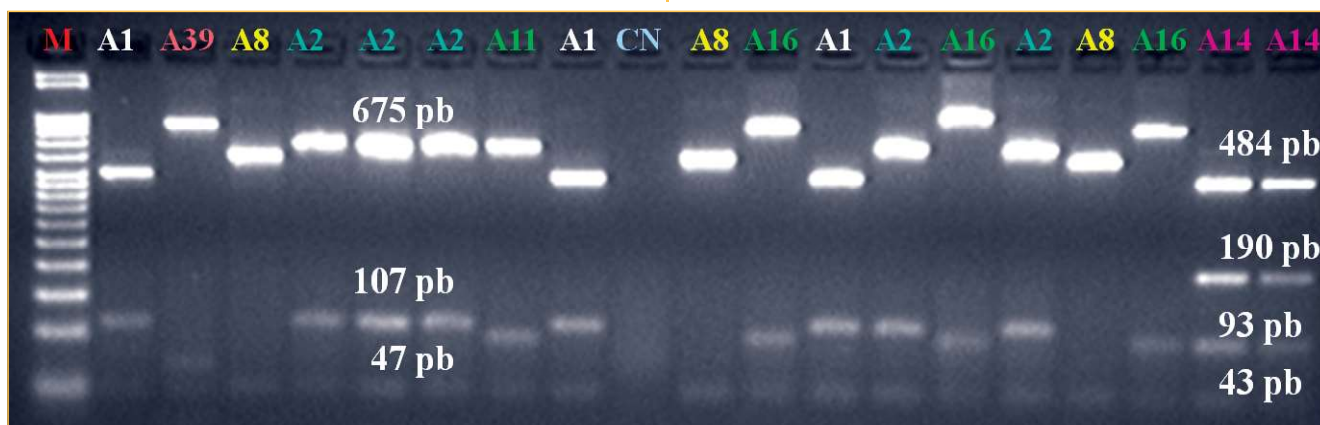


Figura 1. Haplótipos da linhagem Africana detetados numa eletroforese em gel de agarose. M - marcador molecular (origina bandas de tamanho conhecido, permitindo estimar o tamanho dos fragmentos das amostras); CN - controlo negativo.

Composição Genética Materna das Abelhas da Madeira

Por sua vez, dentro da linhagem Africana, este teste permite distinguir entre as sub-linhagens A_I, A_{II}, A_{III} e Z. Os inúmeros estudos mitocondriais da abelha ibérica (*Apis mellifera iberiensis*) mostram que a metade nordeste da Península Ibérica é ocupada predominantemente por haplótipos pertencentes à linhagem M, enquanto a metade sudoeste é ocupada predominantemente por haplótipos pertencentes à linhagem A (Figura 2; Cánovas *et al.* 2008; Chávez-Galarza *et al.* 2017; Pinto *et al.* 2013; Pinto *et al.* 2012). Por sua vez, dentro da linhagem A, à exceção da sub-linhagem Z, as sub-linhagens A_I, A_{II}, A_{III} estão todas presentes, fazendo da Península Ibérica um *hot spot* de diversidade materna (Cánovas *et al.* 2008; Chávez-Galarza *et al.* 2017; Pinto *et al.* 2013; Pinto *et al.* 2012).

O estudo de Chávez-Galarza *et al.* (2017) é um dos geograficamente mais exaustivos até agora realizados na Península Ibérica, com 711 colónias amostradas em 2010 ao longo de 3 transetos Norte-Sul (ver no número 90 da revista “O Apicultor”, 2015). Neste estudo, a análise da região intergénica tRNA^{leu}-COX2 das 711 colónias mostra que na metade Africana da Península Ibérica os haplótipos da sub-linhagem A_I são os mais comuns no Sul de Portugal e de Espanha, enquanto os haplótipos da sub-linhagem A_{III} estão praticamente confinados ao norte de Portugal e parte da Galiza (Figura 2). Além disso, este estudo mostra uma frequência muito reduzida de colónias (1 em 711)

com origem na linhagem C, sugerindo que o legado genético da abelha ibérica está (pelo menos até 2010) relativamente bem preservado (Cánovas *et al.* 2008; Chávez-Galarza *et al.* 2017; Pinto *et al.* 2013; Pinto *et al.* 2012). O mesmo não se pode dizer das populações de abelhas de muitas das ilhas da Macaronésia, onde a introdução e propagação de enxames e rainhas da linhagem C têm sido feitas em grande escala, de acordo com os dados genéticos obtidos com o teste *DraI* (Figura 2).

Entre os arquipélagos da Macaronésia, o das Canárias tem sido, desde a década de 90 do século passado, o mais amplamente estudado (De La Rúa *et al.* 2001; De la Rúa *et al.* 1998; Miguel *et al.* 2015; Muñoz and De la Rúa 2012). A generalidade das publicações mostra que os haplótipos mais comuns nas Canárias são os Africanos da sub-linhagem A_{III} seguidos da sub-linhagem A_I. Porém, os haplótipos da linhagem C são também relativamente frequentes, principalmente em Tenerife (Figura 2). Mais recentemente, também o arquipélago dos Açores foi alvo de um estudo mitocondrial de larga escala (Ferreira *et al.* 2020), com 638 colónias amostradas nas oito ilhas, onde havia abelhas até 2015, e em dois períodos diferentes (2009-2011 e 2014-2015). Os resultados deste estudo foram apresentados no número 107 da revista “O Apicultor”, em 2020. Tal como reportado para as Canárias, a maioria das colónias dos Açores pertencem à linhagem A, sendo a sub-linhagem A_{III}

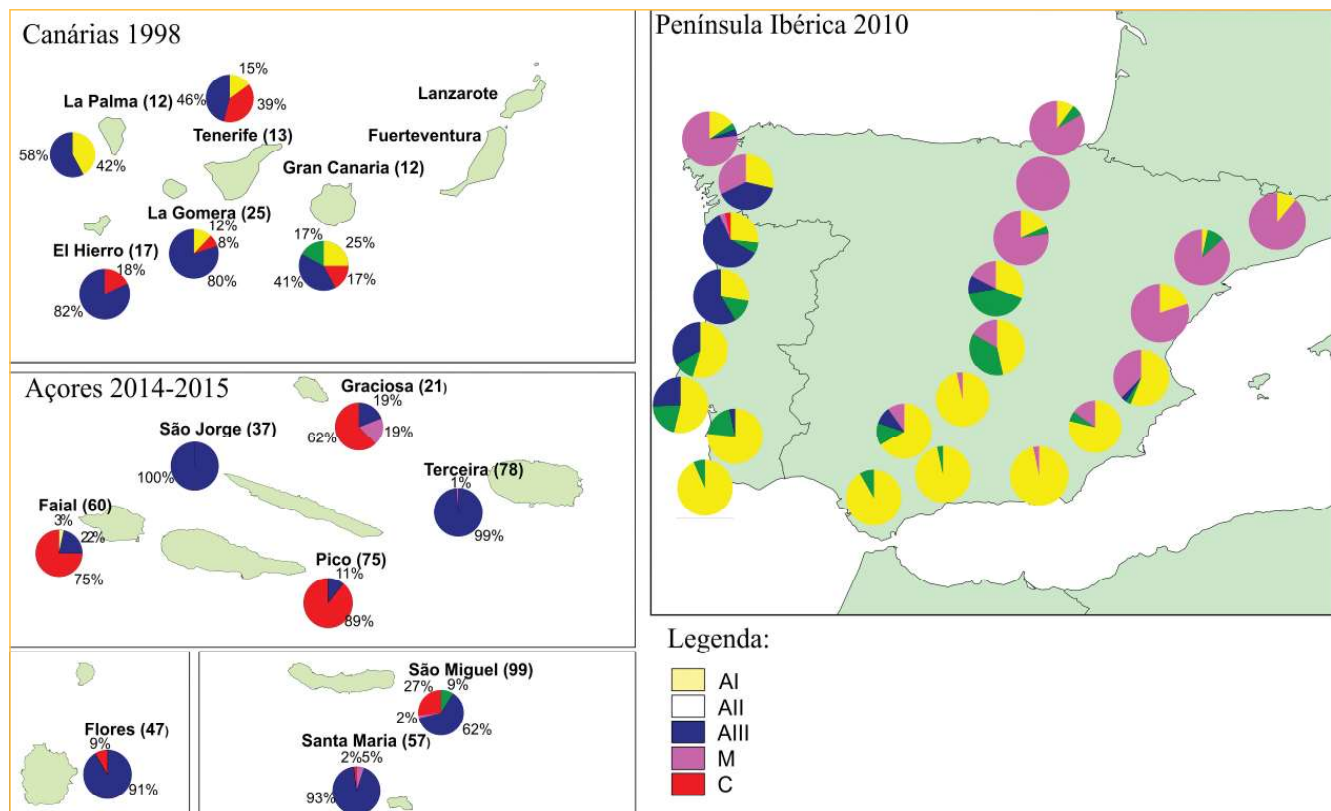


Figura 2. Padrão genético materno obtido com o teste *DraI* para as populações de abelhas das Canárias (De la Rúa *et al.* 1998), Açores (Ferreira *et al.* 2020) e Península Ibérica (Chávez-Galarza *et al.* 2017).

Composição Genética Materna das Abelhas da Madeira

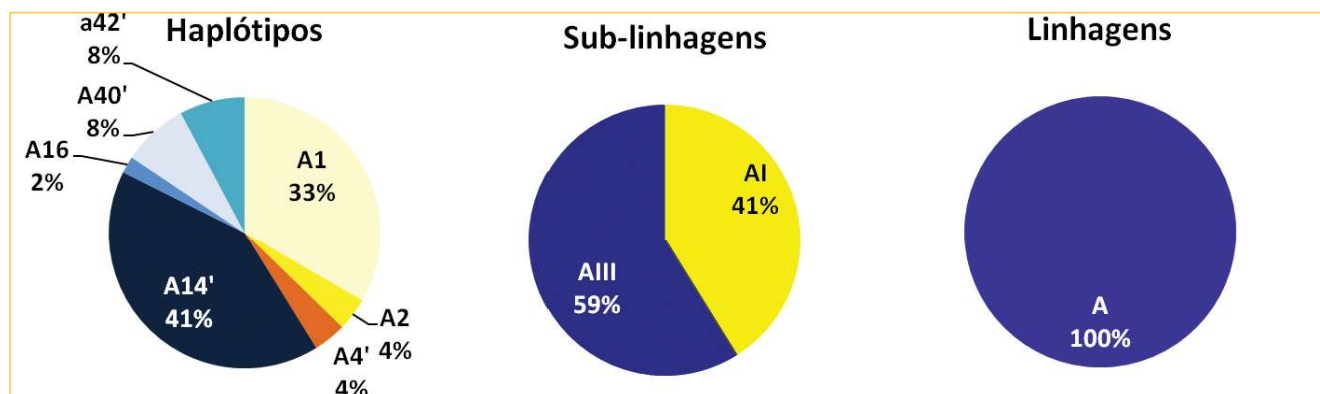


Figura 3. Proporções dos haplótipos, e respetivas sub-linhagens (A_I , A_{II} , A_{III}), da população da Madeira.

a mais comum. Porém, contrariamente às Canárias, nas ilhas do Pico, Faial e Graciosa são os haplótipos da linhagem C que apresentam as frequências mais elevadas com 89%, 75% e 62%, respetivamente (Figura 2). A presença da linhagem C nos Açores deve-se à introdução de rainhas das subespécies *A. m. ligustica* e, alegadamente, *A. m. caucasica*, no âmbito de um programa de melhoramento implementado na década de 1980 e também pelos apicultores (Ferreira *et al.* 2020). A introdução e propagação de rainhas pertencentes à linhagem C nas Canárias e Açores constitui uma ameaça à integridade genética das populações locais, tipicamente de origem Africana, cujo fundo génico tem sido moldado pela seleção natural ao longo tempo.

Um outro estudo do ADN mitocondrial levado a cabo pela nossa equipa na Madeira mostra que, curiosamente, as abelhas desta ilha são geneticamente

mais próximas das abelhas das Canárias do que das dos Açores. No conjunto das 51 colónias amostradas em 2010 foram detetados sete haplótipos, todos pertencentes à linhagem Africana. Tal como nas ilhas das Canárias, o haplótipo Africano mais comum na Madeira é o A14' (41%) enquanto nos Açores é o A14, ambos da sub-linhagem A_{III} . Outra diferença importante entre os dois arquipélagos Portugueses é que o segundo haplótipo mais frequente na Madeira é o A1 (33%), sub-linhagem A_I , enquanto nos Açores este haplótipo é raro. Além disso, não foram detetados haplótipos da linhagem C (Figuras 2 e 3).

A sub-linhagem A_{III} é a mais frequente na Madeira, Açores e Canárias, sugerindo que as populações destes arquipélagos têm uma origem comum. Uma vez que esta sub-linhagem é também a mais frequente no norte de Portugal e é rara no resto da Península Ibérica (Chávez-Galarza *et al.* 2017; Pinto *et al.*

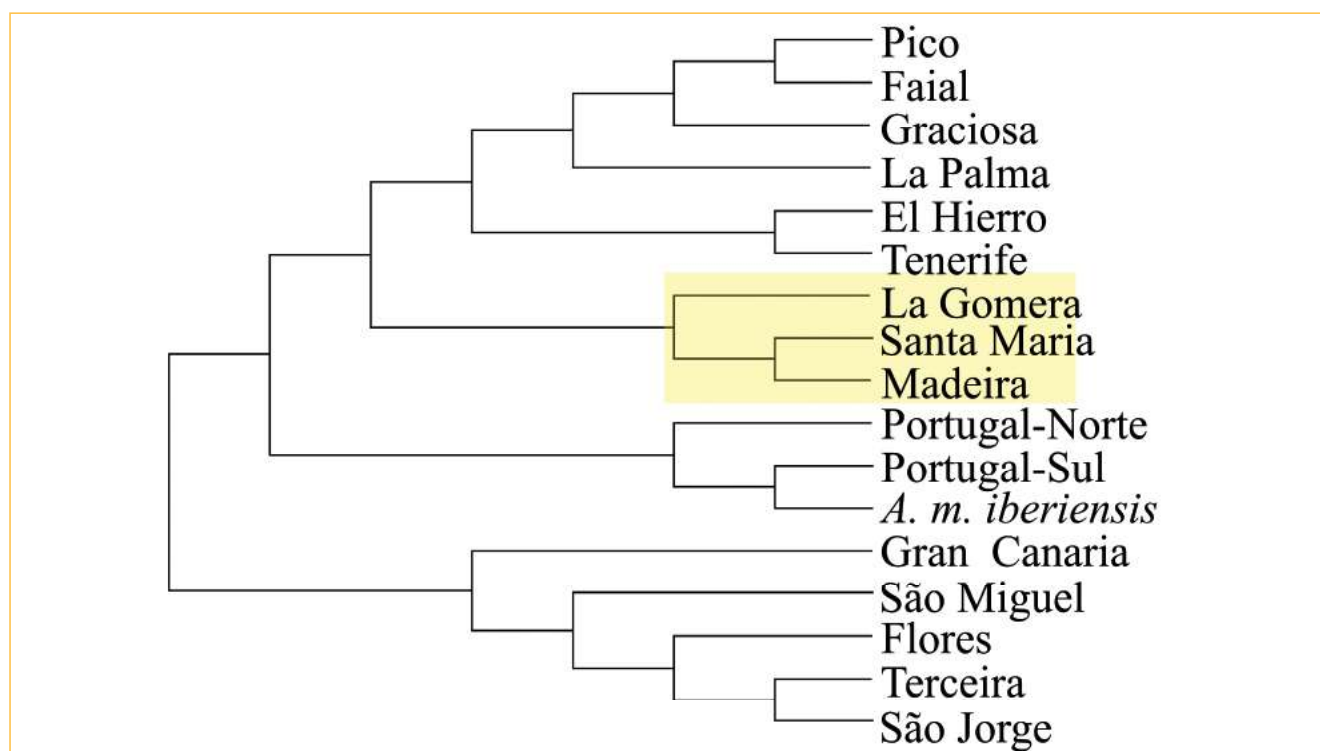


Figura 4. Dendrograma obtido usando distâncias genéticas calculadas para a região intergénica tRNA^{leu}-COX2.

Composição Genética Materna das Abelhas da Madeira

2013; Pinto *et al.* 2012) e em África (Franck *et al.* 2001), é provável que a origem histórica das abelhas da Macaronésia seja o norte de Portugal continental (Ferreira *et al.* 2020). A não deteção de haplótipos da linhagem C na Madeira sugere que, pelo menos até 2010, a importação de rainhas exóticas tem tido pouca expressão.

O dendrograma representado na Figura 4 mostra as relações genéticas entre as diferentes populações da Macaronésia e da Península Ibérica. Verifica-se que as populações geneticamente mais próximas da população da Madeira são as de La Gomera e Santa Maria. De facto, estas duas ilhas contêm uma proporção elevada de colónias A14' (La Gomera: 80%; Santa Maria: 60%) e uma proporção reduzida de colónias da linhagem C (La Gomera: 8%; Santa Maria: 2%; Figura 2). Estes resultados sugerem que, havendo necessidade de se introduzir enxames no arquipélago da Madeira a origem deveria ser La Gomera ou preferencialmente Santa Maria pois, juntamente com São Miguel, Terceira, São Jorge, Graciosa e Corvo, esta ilha foi recentemente reconhecida pela Comissão Europeia como sendo indemne de varroose.

Durante mais de uma década, a atividade apícola esteve extinta em Porto Santo, devido a um surto de Loque Americana que dizimou todas as colónias. Recentemente, face ao interesse crescente pela apicultura em Porto Santo, a DRADR autorizou a introdução de enxames da Terceira. Do ponto de vista genético, teria sido mais interessante que a origem tivesse sido Santa Maria, uma vez que não só a população seria geneticamente mais próxima da existente antes do episódio de Loque Americana, como também provavelmente melhor adaptada. Porém, apesar da oportunidade perdida do uso do conhecimento científico na tomada de decisão, é compreensível que outros fatores tenham sido ponderados na escolha da população da Terceira como dadora de genes.

Agradecimentos

O nosso profundo agradecimento aos inúmeros apicultores da Madeira e dos Açores que tiveram a amabilidade de autorizar a colheita de abelhas nos seus apiários e aos Veterinários e Técnicos da Direção Regional de Agricultura dos Açores (Divisões de Intervenção Veterinária) e da Madeira pela amostragem e transporte das amostras, incluindo Nuno Salvador, Janyne Sousa, Ivan Castro, Alcino Silva, Célia Mesquita, Ana Jorge, José Dias, Paulo, Rico, Pedro Leal, Vagner Paulos, Luis Xavier, Luís Silva, Martins Silva, Carlos Gouveia, Ana Carina Coimbra, João Ramos, João Arruda, Edgardo Melo, João Luís, e Moniz da Ponte. Um agradecimento especial para Paula Vieira, Frank Aguiar, José Guerreiro e Berta Correia pelo trabalho adicional de coordenação da amostragem. Este estudo teve o apoio financeiro do COMPETE 2020 – POCI (Programa Operacional

para a Competividade e Internacionalização) e da Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) através do projeto “BeeHappy: Bee (*Apis mellifera* L.) Health in the Azores: comparing ePidemiological Patterns in a unique natural laboratory” (POCI-01-0145-FEDER-029871). Os autores agradecem ainda à FCT pelo apoio financeiro ao CIMO (UIDB/00690/2020) através de fundos nacionais FCT/MCTES.

Referências Bibliográficas

- Cánovas, F., De la Rúa, P., Serrano, J., Galián, J. (2008) Geographical patterns of mitochondrial DNA variation in *Apis mellifera iberiensis* (Hymenoptera: Apidae) Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research 46:24-30
- Chávez-Galarza, J., Garnery, L., Henriques, D., Neves, C. J., Loucif-Ayad, W., Jonhston, J. S., Pinto, M. A. (2017) Mitochondrial DNA variation of *Apis mellifera iberiensis*: further insights from a large-scale study using sequence data of the tRNA^{leu}-cox2 intergenic region Apidologie 48:533-544
- De La Rúa, P., Galián, J., Serrano, J., Moritz, R. F. (2001) Genetic structure and distinctness of *Apis mellifera* L. populations from the Canary Islands Molecular Ecology 10:1733-1742
- De la Rúa, P., Serrano, J., Galián, J. (1998) Mitochondrial DNA variability in the Canary Islands honeybees (*Apis mellifera* L.) Molecular ecology 7:1543-1547
- Ferreira, H., Henriques, D., Neves, C., Machado, C., Azevedo JC, Franco, T., Pinto, M. (2020) Historical and contemporaneous human-mediated processes left a strong genetic signature on honey bee populations from the Macaronesian archipelago of the Azores Apidologie
- Franck, P., Garnery, L., Loiseau, A., Oldroyd, B., Hepburn, H., Solignac, M., Cornuet, J.-M. (2001) Genetic diversity of the honeybee in Africa: microsatellite and mitochondrial data Heredity 86:420-430
- Miguel, I., Garnery, L., Iriando, M., Baylac, M., Manzano, C., Steve Sheppard, W., Estonba, A. (2015) Origin, evolution and conservation of the honey bees from La Palma Island (Canary Islands): molecular and morphological data Journal of Apicultural Research 54:427-440
- Muñoz, I., De la Rúa, P. (2012) Temporal analysis of the genetic diversity in a honey bee mating area of an island population (La Palma, Canary Islands, Spain) Journal of Apicultural Science 56:41-49
- Pinto, M. A., Henriques, D., Neto, M., Guedes, H., Muñoz, I., Azevedo, J. C., De la Rúa, P. (2013) Maternal diversity patterns of Ibero-Atlantic populations reveal further complexity of Iberian honeybees Apidologie 44:430-439
- Pinto, M. A., Muñoz, I., Chávez-Galarza, J., De la Rúa, P. (2012) The Atlantic side of the Iberian Peninsula: a hot-spot of novel African honey bee maternal diversity Apidologie 43:663-673.