

Maria Alice Carvalho Hipólito

Avaliação da eficácia do Apitraz e Bayvarol no controlo da varroose em efetivos apícolas

Trabalho de Projeto

Mestrado em Tecnologias da Produção Animal



Dezembro, 2018

Maria Alice Carvalho Hipólito

Avaliação da eficácia do Apitraz e Bayvarol no controlo da varroose em efetivos apícolas

Trabalho de Projecto

Mestrado em Tecnologias da Produção Animal

Trabalho efectuado sob orientação de
Prof. Doutor Jorge Oliveira

Trabalho co-orientado por
Prof. Doutora Sância Pires

Dezembro, 2018



“As doutrinas expressas neste trabalho são da exclusiva responsabilidade do autor.”

“Quando as abelhas desaparecerem da face da Terra, o homem tem apenas quatro anos de vida. Sem abelhas não há polinização, não há reprodução da flora, sem flora não há animais, sem animais não haverá raça humana.”

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Dedico esta dissertação à minha família em primeiro lugar, ao meu marido Tiago pelo apoio e pelo investimento financeiro neste trabalho de investigação que também é um pouco dele, à minha filhota Lara que ainda no meu ventre, me acompanhou nesta tão dura, mas tão gratificante etapa. Aos restantes familiares pela ausência, pela não comparência, pela impossibilidade de combinar o que quer que fosse naquele verão de 2016. A eles um obrigado pela ausência e pela paciência!

Aos bons amigos, sobretudo aqueles que conheci em Viseu e que muitas vezes me fizeram seguir em frente. Destaco-te a ti, Marcelo, pelo incentivo de fazermos juntos este mestrado! À Marina e sobretudo à Susana que sempre me mostraram que a nossa força de vontade é o limite quando definimos algum objetivo.

Aos meus orientadores (orientador e co-orientadora), Prof. Doutor Jorge Oliveira e Prof. Doutora Sância Pires, aqueles que eu fazia questão que me acompanhassem nesta etapa, neste trabalho e sobretudo numa das áreas que me fizeram crescer como Engenheira Zootécnica e que me fazem orgulhar do trabalho que desempenho todos os dias.

Aos laboratórios que forneceram os medicamentos Apitraz 500 mg, a Calier Portugal, SA, e o Apilifevar, a Chemicals Laif SPA, este último na pessoa do Eng. Serranito.

Ao Luís do laboratório de Patologia Apícola da Escola Superior de Bragança pelo apoio na realização das análises das amostras recolhidas neste trabalho (um total de 100 amostras (60 amostras na fase inicial deste trabalho e mais 40 após o termino do mesmo).

Aos estagiários, António e Douglas, pelo apoio no trabalho de campo efetuado entre Maio e Junho.

Agradeço ainda a todos aqueles que tornaram este trabalho possível, ajudando de alguma forma ou porque simplesmente se cruzaram no meu caminho nesta tão dura etapa, tornando-a um pouco mais leve!

RESUMO

A morte e o desaparecimento de colónias de abelhas melíferas e mesmo de apiários inteiros têm vindo a preocupar cientistas do mundo inteiro. Os ácaros da espécie *Varroa spp.* são apontados como um dos principais factores envolvidos nesta problemática.

O crescente aparecimento de resistência destes ácaros aos acaricidas, devido à utilização sucessiva da mesma molécula ou por má aplicação das existentes, criou a necessidade de desenvolver novos métodos de controlo. Além disso, a utilização de protocolos de tratamento combinando com mais de um acaricida, têm-se apresentado como uma boa alternativa à utilização convencional de apenas um medicamento.

Assim, este trabalho teve como principal objetivo avaliar a eficácia real da utilização de dois produtos homologados em Portugal para o controlo da varroose: Apitraz 500 mg e Bayvarol 3,6 mg.

Foram previamente selecionadas colónias positivas para a varroa, recorrendo a dois métodos de avaliação: o uso de tabuleiros de contagem de varroa, e através do diagnóstico laboratorial. Foram implementados ensaios experimentais em dois apiários (Bragança e Carrazeda de Ansiães), com 24 colónias cada um e estabelecidos, por apiário, 4 grupos experimentais: um grupo controlo de 5 colónias (sem tratamento) e 3 grupos de tratamento, um com 5 colónias que foram permanentemente tratadas com Apitraz 500 mg, e dois com 14 colónias (7+7) que foram alternadamente tratadas com Apitraz e Bayvarol nos dois tratamentos. Foram realizadas três aplicações de cada tratamento por períodos de 42 dias cada, com monitorização da queda de ácaros por colónias durante esse período e medição da temperatura. No tratamento controlo final foi usado o ApilifeVar.

Foi avaliada a eficácia da utilização dos tratamentos no combate à varroose através de análise de variância, usando o SPSS, 25.

O tratamento exclusivo com Apitraz apresentou melhores resultados com uma taxa de eficácia de 98,1%. Os tratamentos cruzados, Apitraz+Bayvarol apresentou uma eficácia de 96,9% e o Bayvarol+Apitraz 94,7%. No entanto, globalmente, não se verificaram diferenças significativas ($p \geq 0,05$) entre os resultados destes três tratamentos, apesar de todos eles evidenciarem diferenças significativas relativamente ao grupo sem tratamento contra a varroa ($p < 0,05$).

Não existe, neste trabalho, evidência de acréscimo de eficácia na utilização cruzada de medicamentos em comparação com a utilização estreme de Apitraz. Provavelmente, não há ainda riscos de resistência nestes apiários controlados.

PALAVRAS-CHAVE: *Apis mellifera*; *Varroa destructor*; tratamento combinado; Apitraz; Bayvarol; Portugal.

ABSTRACT

EFFICACY EVALUATION OF THE APITRAZ AND BAYVAROL FOR VARROA CONTROL IN APIARIES

The death and disappearance of colonies of honeybees and even entire apiaries have been worrying scientists around the world. The mites of the species *Varroa* spp. are pointed out as one of the main factors involved in this problem.

The increasing appearance of resistance of these mites to acaricides, due to the successive use of the same molecule or by misapplication of existing ones, created the need to develop new control methods. In addition, the use of combined treatment protocols with more than one acaricide has been presented as a good alternative to the conventional use of only one product.

Thus, the main objective of this study was to evaluate the actual efficacy of the use of two products approved in Portugal for the control of varroosis: Apitraz 500 mg and Bayvarol 3.6 mg.

Positive colonies for varroa were previously selected, using two methods of evaluation: the use of varroa counting trays and through laboratory diagnosis. Experimental trials were carried out in two apiaries (Bragança and Carrazeda de Ansiães), with 24 colonies each, and established, by apiary, four experimental groups: a control group of 5 colonies (without treatment) and 3 treatment groups, one with 5 colonies which were permanently treated with Apitraz 500 mg and two with 14 colonies (7 + 7) that were alternately treated with Apitraz and Bayvarol in both treatments. Three applications of each treatment were performed for periods of 42 days each, with monitoring of mite drop by colonies and measurement of the temperature during this period. In the final control treatment, the ApilifeVar was used.

The efficacy of the use of treatments to combat varroosis was evaluated through analysis of variance, using SPSS, 25.

The exclusive treatment with Apitraz presented better results with an efficacy rate of 98.1%. Cross-treatments, Apitraz+Bayvarol showed an efficacy rate of 96.9% and Bayvarol+Apitraz, 94.7%. However, in general, there were no significant differences ($p \geq 0.05$) between the results of these three treatments, although all showed significant differences compared to the group without treatment against varroa ($p < 0.05$).

There is no evidence in this study of increased cross-drug efficacy compared to the single use of Apitraz. There is probably still no risk of resistance in these controlled apiaries.

KEYWORDS: *Apis mellifera*; *Varroa destructor*; combined treatment; Apitraz; Bayvarol; Portugal.

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS	III
RESUMO.....	IV
ABSTRACT	VI
ÍNDICE GERAL	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	X
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	XI
ÍNDICE DE TABELAS.....	XII
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. SETOR APÍCOLA NACIONAL: EVOLUÇÃO E ESTADO ATUAL.....	3
2.2. BIOLOGIA DA ABELHA	6
2.3. PRINCIPAIS DOENÇAS APÍCOLAS: ASPETOS GERAIS.....	10
2.4. A VARROOSE.....	15
2.4.1 Biologia do ácaro <i>Varroa destructor</i>	15
2.4.2 Sinais, diagnóstico e consequências	19
2.4.3 Monitorização e controlo.....	23
2.4.4 Meios de combate	25
2.4.4.1 Métodos químicos.....	25
a) Amitraz (Apitraz 500 mg)	28
b) Flumetrina (Bayvarol 3,6 mg).....	29
c) Apilife VAR (timol 8,00 g, óleo de eucalipto 1,72 g, cânfora racémica 0,39 g e Levomentol 0,39 g)	30
2.4.4.2 Métodos alternativos	32
2.5. UTILIZAÇÃO DE ACARICIDAS EM PORTUGAL E SUA EFICÁCIA.....	36
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	41
3.1. ENQUADRAMENTO E OBJETIVOS DO ENSAIO	41
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	41
3.2.1 Localização dos ensaios	41
3.2.2 Abelhas e tipo de colmeia usada.....	43
3.2.3 Maneio habitual nos apiários	44
3.2.4 Estrados sanitários.....	45

3.2.5 Selecção prévia de colónias para o ensaio.....	45
3.2.6 Desenho experimental.....	46
3.2.7 Medições e análises.....	48
3.2.7.1 Temperaturas interna das colmeias e exterior.....	48
3.2.7.2 Contagem de queda de varroas na fase pré-ensaio.....	49
3.2.7.3 Contagem de queda de varroas durante os tratamentos.....	49
3.2.7.4 Avaliação da eficácia dos tratamentos	50
3.2.7.5 Edição de dados e análises estatísticas.....	50
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
3.3.1 Evolução das temperaturas	50
3.3.2 Avaliação inicial (pré-ensaio) das colmeias.....	54
3.3.3 Avaliação geral do efeito dos tratamentos na contagem de varroas	55
3.3.4 Eficácia dos tratamentos de acordo com a localização do apiário	58
3.3.4.1 Bragança	58
3.3.4.2 Carrazeda de Ansiães.....	60
3.3.5 Avaliação global da eficácia dos tratamentos	63
4. CONCLUSÕES	70
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Abelha com pólen (Casaca, 2010)	4
Figura 2. Apiário experimental da ESAB com colónias Langstroth (fotografia original, 2016). 5	
Figura 3. Abelhas e a sua rainha (Moreira & Farinha, 2011)	7
Figura 4. Mapa com as zonas controladas em Portugal em 2018 (GGP, 2017)	11
Figura 5. Varroa fêmea (Hifarmax, 2018)	16
Figura 6. Abelha morta recolhida em tabuleiro sanitário, com várias varroas acopladas (fotografia original, 2016)	16
Figura 7. Ciclo de vida da <i>Varroa destructor</i> (adaptado de Allsop, 2006, citado por Pascoal (2012)	17
Figura 8. <i>Varroa destructor</i> em criação de zângãos (zzzangano, 2016)	20
Figura 9. Abelhas saudáveis (direita) e com sinais evidentes da acção do vírus das asas deformadas e o vírus da paralisia aguda (Abelhas do Agreste, 2015)	20
Figura 10. Criação operculada com <i>Varroa destructor</i>	21
Figura 11. Tabuleiro de uma colónia do apiário de Bragança, com <i>Varroa destructor</i>	22
Figura 12. Colmeia tratada com Apitraz 500 mg (fotografia original, 2012)	28
Figura 13. Colmeia tratada com Bayvarol 3,6 mg (Bacci, 2014)	29
Figura 14. Procedimento de aplicação de timol (adaptado de bula Apilife Var)	30
Figura 15. Colmeia com tratamento de ApilifeVar (original, 2016)	32
Figura 16. Pormenor da diferença do tamanho de alvéolo de zângão (à esquerda) e de obreira (à direita), em lâmina de cera alveolada (fotografia original, 2016)	34
Figura 17. Pormenor de uma colmeia com estrado sanitário (fotografia original, 2018)	36
Figura 18. Localização da área de estudo (Adaptado de http://portugal.veraki.pt)	42
Figura 19. Pormenor do apiário de Carrazeda de Ansiães (fotografia original, 2016)	43
Figura 20. Pormenor de um estrado sanitário (fotografia original, 2016)	45
Figura 21. Desenho gráfico com a descrição dos tratamentos efetuados e as colónias usadas (Adaptado de Pettis, 2012)	47
Figura 22. Pormenor de uma colmeia com sensor de recolha de temperatura interna e externa (fotografia original, 2016)	48

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Evolução da varrose em Portugal de 2010 a 2014 (GPP, 2017).....	14
Gráfico 2. Resultados das análises laboratoriais em 2014 (% de positivos) (DGAV, 2016)..	14
Gráfico 3. Evolução da temperatura média no exterior e no interior das colmeias no apiário de Bragança	51
Gráfico 4. Evolução da temperatura média no exterior e no interior das colmeias no apiário de Carrazeda de Ansiães	52
Gráfico 5. Queda média diária de varroa no apiário de Bragança, durante todo o ensaio, de acordo com o tratamento	56
Gráfico 6. Queda média diária de varroa no apiário de Carrazeda de Ansiães, durante todo o ensaio, de acordo com o tratamento.....	57
Gráfico 7. Eficácia global média (desvios padrão em linhas de erro) do uso dos tratamentos completos contra a varroa, no apiário de Bragança	60
Gráfico 8. Eficácia global média (desvios padrão em linhas de erro) do uso dos tratamentos completos contra a varroa, no apiário de Carrazeda de Ansiães	61
Gráfico 9. Distribuição da eficácia dos tratamentos contra a varroa, na primeira aplicação .	63
Gráfico 10. Distribuição da eficácia dos tratamentos contra a varroa, na segunda aplicação	63
Gráfico 11. Distribuição da eficácia dos tratamentos contra a varroa, na terceira aplicação	64
Gráfico 12. Distribuição da eficácia dos tratamentos contra a varroa, no tratamento completo	64
Gráfico 13. Eficácia global média (desvios padrão em linhas de erro) do uso dos tratamentos completos contra a varroa.....	66

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição regional da atividade apícola registada (GPP, 2017)	5
Tabela 2. Ciclo biológico da <i>Apis mellifera</i> (Pascoal, 2013, adaptado de Cicco, 2011)	8
Tabela 3. Ciclo evolutivo da abelha adulta <i>Apis mellifera</i> (Pascoal, 2013 adaptado de Cicco, 2011)	9
Tabela 4. Lista das doenças de declaração obrigatória em Portugal e as consideradas endémicas (GPP, 2017).....	10
Tabela 5. Datas de aplicação dos tratamentos nos apiários de Bragança e Carrazeda de Ansiães.....	48
Tabela 6. Mortalidade (colapso) de colónias durante o ensaio.....	53
Tabela 7. Queda total de varroas durante o período inicial de controlo de infestação das colónias, por tipo de tratamento usado posteriormente em cada apiário e no global.....	54
Tabela 8. Eficácia do uso dos tratamentos contra a varroa, por ordem de aplicação e tratamentos completos, no apiário de Bragança	59
Tabela 9. Eficácia do uso dos tratamentos contra a varroa, por ordem de aplicação e tratamentos completos, no apiário de Carrazeda de Ansiães	62
Tabela 10. Eficácia do uso dos tratamentos contra a varroa, por ordem de aplicação e tratamentos completos.....	65

1. INTRODUÇÃO

Com a evolução da civilização humana, a apicultura e, em especial, a produção e comercialização do mel passou a ser uma atividade económica de relevo.

As abelhas, como todos os organismos vivos, são suscetíveis a várias doenças, parasitas e predadores, cuja ação pode ter um efeito prejudicial no seu normal desenvolvimento, e mais importante na sua produtividade. A crescente morte e/ou desaparecimento de colónias e mesmo de apiários inteiros, tem instaurado grandes níveis de preocupação a nível mundial.

O Decreto-Lei n.º 203/2005, de 25 de Novembro, enquadra a sanidade apícola e fixa a tramitação a seguir em caso de suspeita ou aparecimento de doenças das abelhas, competindo à Direção Geral de Veterinária (DGV) tomar as medidas de sanidade veterinária. A criação de zonas controladas permite monitorizar e erradicar certas doenças, sendo que nestas regiões há obrigatoriedade de efetuar pelo menos 2 tratamentos anuais contra a varroose e de recolher pelo menos uma vez por ano, abelhas e criação para serem sujeitas a análises anatomopatológicas (DGAV, 2017b). A Varroose é uma doença parasitária externa das abelhas causada por um ácaro denominado por *Varroa destructor* e a abelha *Apis mellifera* não tem conseguido criar mecanismos de resistência ao parasita, pelo que se verifica atualmente uma mortalidade elevada, sobretudo no hemisfério norte, transformando-se num dos grandes desafios sanitários dos apicultores em todo o mundo. Assim, o também conhecido por colapso das colónias ou *colony collapse disorder*, levou à necessidade de formação de grupos de trabalho que investiga esta causa. A rede COLOSS é o melhor exemplo encontrado, 55 países de todo o Mundo colaboram no desenvolvimento de medidas urgentes de combate e gestão desta doença (COLOSS, 2012). Também no sentido de melhorar a saúde da colmeia, foi criada a rede BEE DOC (BEE DOC, 2012), que engloba 11 investigadores de diversas áreas e de toda a Europa e tem como principal objetivo colmatar falhas no conhecimento de doenças das abelhas, principalmente da nosebose, varroose, três viroses e dois pesticidas utilizados regularmente na apicultura (tiacloprid e tau-fluvalinato). Estuda também genes ligados a maior resistência à doença e o impacto da atividade apícola na saúde das abelhas, com o objetivo de desenvolver novos métodos de diagnóstico e de profilaxia. Destes grupos fazem parte especialistas de várias áreas, como biólogos, médicos veterinários e engenheiros (BEE DOC, 2012; Pascoal, 2012).

Este trabalho de projeto ocorreu entre 18 de Janeiro de 2016 e 20 de Setembro de 2016, perfazendo 8 meses de trabalho de campo na totalidade. Durante este período de tempo realizam-se varias tarefas, podendo dividir este trabalho em duas fases: a seleção prévia de colmeias a usar neste estudo (que implicavam deslocações sucessivas entre Carrazeda de Ansiães e Braga, contagem de varroas e análise anatomopatológicas de 60 amostras de favo e abelhas) e numa segunda fase a recolha de dados e por conseguinte a contagem de varroas (em Carrazeda de Ansiães e em Bragança, estas que distam cerca de 110km entre elas, e ainda a realização de análises anatomopatológicas novamente a 40 colmeias que restaram deste trabalho).

Os principais objetivos deste trabalho consistiram em avaliar a eficácia de combate da varroose, utilizando tratamentos combinados de acaricidas homologados, mais concretamente o Apitraz 500 mg (Amitraz), o Bayvarol 3,6 mg (Flumetrina) e como medicamento de controlo o APILIFE VAR (timol 8 g, óleo de eucalipto 1,72 g, cânfora racêmica 0,39 g e o levomentol 0,39 g).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. SETOR APÍCOLA NACIONAL: EVOLUÇÃO E ESTADO ATUAL

A apicultura é uma atividade relevante na economia mundial e nacional. Este facto deve-se à função de polinização das abelhas melíferas e ao valor dos produtos e sub-produtos resultantes desta atividade (Pires, 2006).

O setor apícola em Portugal, tal como no resto da União Europeia, é uma atividade tradicionalmente ligada à agricultura, normalmente encarada como um complemento ao rendimento das explorações, sendo porém de assinalar um crescente universo de apicultores para os quais a apicultura é a base das receitas de exploração (designados de apicultores profissionais e com um efetivo superior a 150 colmeias obrigatoriamente) (PAN 2017-2019; GPP, 2017). Assim, embora tenha como o seu principal interesse a produção de produtos oriundos da colónia (mel, cera, própolis, etc.), o papel das abelhas como polinizadoras, aumentando a diversidade da flora e a produtividade de explorações frutícolas têm um maior impacto na economia do nosso país (GPP, 2017), embora não haja rendimento associado ao serviço de polinização em Portugal como é conhecido em outros países (nos EUA por exemplo, o serviço de polinização traduz-se em mais de 50% do rendimento do apicultor). Um estudo da Plataforma Intergovernamental sobre Biodiversidade e Serviços dos Ecossistemas que foi encomendado pela ONU em 2012 e desenvolvido ao longo de dois anos por cerca de 80 especialistas, sobre os ecossistemas de 60 regiões em todo o mundo, indica que em todo o mundo, pelo menos 75% das culturas alimentares dependem, de alguma forma, da polinização. A produção agrícola dependente de animais polinizadores aumentou 300% durante os últimos 50 anos. Só a produção de cereais e frutas, que depende diretamente da polinização entre 5% a 8%, representa cerca de 213 a 523 mil milhões de euros (Rosa, 2016). E se as necessidades de um país em mel podem ser suprimidas através da importação, já é impensável equacionar a competitividade da nossa agricultura, com particular destaque para a fruticultura, sem equacionar a existência de uma atividade apícola que a suporte (Figura 1).

Em termos de realidade do setor pode dizer-se que existia em 2015 em Portugal cerca de 11 mil apicultores registados, correspondendo a um universo de, aproximadamente, 33 mil apiários e 626 mil colmeias (GPP, 2017). Isto em comparação com o ano de 2010 em que estavam registados 17 291 apicultores, com

um total de 38 203 apiários e 562 557 colónias, o que traduz uma diminuição no número de apicultores e número de apiários e um aumento do número de colónias por apicultor, o que demonstra a profissionalização do setor, conforme Tabela 1 (GPP, 2013).



Figura 1. Abelha com pólen (Casaca, 2010).

No entanto, apenas 4% dos apicultores são profissionais, ou seja, têm um valor igual ou superior a 150 colónias, e representam 58% do efetivo apícola nacional, com um valor médio de 351 colmeias por apicultor e produtividade de 22 kg de mel por colmeia. E os restantes, apicultores não profissionais, com menos de 50 colmeias/apicultor, sendo que abaixo das 25 colmeias é considerado autoconsumo, verificando-se uma produção média de mel de 16 kg por colmeia nestes casos (GPP, 2017). Em termos de dimensão regional e dimensão média pode dizer-se que há uma forte dispersão da atividade pelo país, destacando:

- O Norte é a região onde se situa um maior número de apicultores (34% do total);
- O Algarve é a região do Continente com menor número de apicultores, mas onde se localizam os apicultores de maior dimensão;

- Os Açores são a região de Portugal com menor número de apicultores, de apiários e de colmeias.

Tabela 1. Distribuição regional da atividade apícola registada (GPP, 2017).

	Apicultores		Apiários		Colmeias		Total de apiários por apicultor	Total de colmeias por apicultor
	Valor absoluto	% da região	Valor absoluto	% da região	Valor absoluto	% da região		
NORTE CENTRO LVT ALT ALG RAM RAA	3 657	34%	9 055	27%	211 987	34%	2	58
	3 549	33%	8 302	25%	126 108	20%	2	36
	910	9%	2 572	8%	42 957	7%	3	47
	1 214	11%	5 331	16%	118 576	19%	4	98
	837	8%	7 584	22%	116 216	19%	9	139
	346	3%	650	2%	5 503	1%	2	16
	185	2%	382	1%	5 052	1%	2	27
	Média							3,6

De todas as colónias existentes em Portugal em 2015, apenas 5% diziam respeito a cortiços núcleos. O modelo mais utilizado é a Lusitana (usado sobretudo na zona norte do país), Reversível (usado sobretudo na zona sul do país) e Langstroth (Figura 2) (usado na zona centro do país e no distrito de Bragança (GPP 2017)).



Figura 2. Apiário experimental da ESAB com colónias Langstroth (fotografia original, 2016).

Este setor tem sofrido alguns constrangimentos, no entanto o principal problema atual que o setor enfrenta são as doenças das abelhas que têm dizimado as colónias. Um estudo realizado em 2013 acerca das vantagens e desvantagens da apicultura Portuguesa em modo de produção biológico revelou que a eficácia dos tratamentos contra a *Varroa* era evidenciada como o maior obstáculo neste setor. No entanto também eram apontados problemas no preço de comercialização do produto e o volume de produção ainda reduzido (Gomes *et al.*, 2013).

Assim dada a necessidade de desenvolver métodos alterativos e mais eficientes para controlar as doenças das abelhas a DGAV criou uma lista de doenças de declaração obrigatória e criou regras para a regulação do setor apícola. As doenças de declaração obrigatória a nível nacional são: Loque americana, Loque europeia, Acarapisose, Varroose, Aethinose por *Aethina túmida*, Tropilaelapsiose por *Tropilaelaps sp.*, e apenas em zonas controladas a Ascosferiose e Nosemose (Decreto-Lei n.º 203/2005, 2005).

Para controlo e erradicação das doenças de declaração obrigatória das abelhas, foram criadas zonas controladas, onde se procede a um controlo sistemático das doenças realizado por uma entidade gestora reconhecida pela DGAV. Todo o trânsito de abelhas, enxames, colónias e/ou os seus produtos e qualquer material destinado à apicultura para dentro de uma zona controlada, carece de uma autorização prévia da autoridade sanitária nacional (DGAV, 2017b).

2.2. BIOLOGIA DA ABELHA

De acordo com Moreira e Farinha (2011), as abelhas atuais tiveram origem num antepassado comum semelhante a uma vespa, há cerca de 100 milhões de anos. Estes autores referem ainda que, o que distingue as abelhas das vespas verdadeiramente é o facto de as primeiras possuírem estruturas especializadas para a recolha e transporte de pólen. De acordo com Moreira e Farinha (2011), existem hoje 10 ou 11 famílias de abelhas que englobam 20 000 espécies, entre as quais se encontra a abelha comum, cujo nome científico – *Apis mellifera* – significa “abelha que traz mel”. Moreira e Farinha (2011) afirmam ainda que as atuais abelhas produtoras de mel pertencem todas ao género *Apis* e englobam 7 espécies: *A. florea*, *A. andreniformis*, *A. dorsata*, *A. cerana*, *A. Koschevnikovi*, *A. mellifera* e *A. nigrocincta*.

A abelha doméstica, *Apis mellifera*, é um inseto da ordem *Hymenoptera*, da família *Apidae* e sub-família *Apinae*. Em Portugal, existe uma raça autóctone, a *Apis mellifera iberiensis*, raça de aptidão melífera que não beneficia de qualquer proteção legal e que, atualmente, se encontra cruzada com as três principais raças europeias, bem como com a abelha do Norte de África que, no Centro e Sul do nosso país, representa cerca de 20% (Ramos e Carvalho, 2007).

Das 20 mil espécies diferentes da família a que faz parte, a *Apis mellifera* é a espécie que mais intervém na polinização da flora, sendo descritos como insetos sociais que vivem em colónias com várias castas (rainha, obreiras e zângãos) (Ramos e Carvalho, 2007) e encontram-se a maior parte do tempo em abrigos na natureza ou em colmeias e cortiços. Numa colmeia podemos encontrar de 10 000 (no inverno) a 50 000 ou mais abelhas (no verão), sendo que apenas uma é rainha (Figura 3). Podem existir de 200 a 1000 zângãos e o restante trata-se de obreiras (Godinho, 2012; Pascoal, 2012).



Figura 3. Abelhas e a sua rainha (Moreira e Farinha, 2011).

Como qualquer inseto, a abelha doméstica apresenta um exosqueleto revestido por quitina e o corpo dividido em cabeça, tórax e abdómen (Hooper, 1976).

É de referir que tanto o tórax, como o abdómen são constituídos por vários segmentos, unidos por membranas (Pereira *et al.*, 2003). O ciclo de vida da criação (Tabela 2) e da abelha adulta (Tabela 3) vai influenciar o ciclo de vida de alguns agentes patogénicos, como é o caso da varroa (Cicco, 2011).

Tabela 2. Ciclo biológico da *Apis mellifera* (Pascoal, 2013, adaptado de Cicco, 2011).

Tempo de vida adulta	Obreira	Rainha	Zangão
1º ao 3º dia	Ovo	Ovo	Ovo
3º dia	Eclosão do ovo	Eclosão do ovo	Eclosão do ovo
3º ao 8º dia	Larva	Larva	Larva
8º dia	Larva	Célula é operculada	Larva
8º ao 9º dia	Célula é operculada e a larva tece o casulo	A larva tece o casulo	Célula é operculada e a larva tece o casulo
10º ao 10º dia ½	Pré-Pupa	Pré-Pupa	A larva termina de tecer o casulo
11º dia	Pré-pupa	Pupa	Pré-Pupa
12º dia	Pupa	Pupa	Pré-Pupa
16º dia	Pupa	inseto adulto	Pupa
21º dia	Inseto adulto	---	---
24º dia	---	---	Inseto adulto

Assim, o período de tempo que vai desde a operculação do alvéolo e até à desoperculação do mesmo, pode aumentar a probabilidade da entrada de varroas para esse alvéolo (Godinho, 2009). Depois de sair do respetivo alvéolo, a abelha desempenha várias funções dependendo da sua idade (Tabela 3), o que leva a estar mais ou menos exposta ao parasita (Cicco, 2011; Neto, 2009). A rainha pode chegar a pôr 1500 a 2000 ovos por dia na fase mais ativa da postura, sendo essa a sua principal função. Esta pode ter uma longevidade de 5 anos, embora seja habitualmente substituída por outra nova ao fim de 2 a 3 anos pelo apicultor, devido à

redução da postura. Como esta é a progenitora de todas as obreiras, irá transmitir-lhes o seu património genético e respetivas características comportamentais à colónia (Hooper, 1976). Assim, é diretamente responsável por várias características intrínsecas à colónia, tal como a coesão do enxame, a intolerância a outras rainhas e mesmo o instinto de limpeza (Neto, 2009; Hooper, 1976).

Tabela 3. Ciclo evolutivo da abelha adulta *Apis mellifera* (Pascoal, 2013, adaptado de Cicco, 2011).

Tempo de vida adulta	Obreira	Rainha	Zangão
1º ao 3º dia	Incubação e limpeza	Rainha jovem	Vive só na colmeia
4º dia	Alimentação das larvas	Rainha Jovem	Primeiros voos para o exterior
5º dia	Alimentação das larvas	Voo nupcial	Procura da rainha para acasalamento
5º ao 6º dia	Alimentação das larvas, produção de geleia real e primeiros voos para o exterior	Rainha é alimentada	Procura da rainha para acasalamento
8º ao 12º dia	Produção de geleia real e de cera	Ganho de peso	Procura da rainha para acasalamento ou morte ao acasalar
13º ao 19º dia	Proteção da colmeia	Início da postura	Procura de rainha para acasalamento ou morte ao acasalar
21º ao 30º dia	Proteção da colmeia	Postura	Morte
31º dia	Proteção da colmeia	Postura	---
31º ao 45º dia	Coleta de pólen e néctar	Postura	---
55º dia	Morte	Postura	---
720º ao 1450º dia	---	Postura, possível enxameação e morte	---

2.3. PRINCIPAIS DOENÇAS APÍCOLAS: ASPETOS GERAIS

Existem vários organismos que podem afetar a vida da abelha doméstica, tanto diretamente, como alterando a qualidade da cera e do mel produzido na colmeia (Jean-Prost, 1987). Na fase larvar são afetadas principalmente por afeções bacterianas (Loque americana e Loque europeia), fungos (Ascosferiose) e virais, e na fase adulta por doenças infligidas por protozoários (Nosemose), ácaros (Varroose e Acarapisose) e insetos (Ramos e Carvalho, 2007).

Em Portugal existe a obrigatoriedade de declaração de determinadas doenças (Tabela 4), nomeadamente: Loque americana, Loque europeia, Acarapisose (apenas em zonas controladas), Varroose, Nosemose (apenas em zonas controladas), Aethinose por *Aethina tumida*, *Tropilaelaps* por *Tropilaelaps* sp.

Tabela 4. Lista das doenças de declaração obrigatória em Portugal e as consideradas endémicas (GPP, 2017).

Doença das abelhas de declaração obrigatória a nível nacional Decreto Lei nº 203/2005, de 25 de novembro	Doença endémica em Portugal
Loque americana.	x
Loque europeia	
Acarapisose.	x
Varroose	x
Aethinose por <i>Aethina tumida</i> .	
<i>Tropilaelaps</i> por <i>Tropilaelaps</i> sp.	
Ascosferiose (unicamente em zonas controladas).	x
Nosemose (unicamente em zonas controladas).	x

Assim pode concluir-se que existem doenças de declaração obrigatória a nível nacional e outras que apenas o são em zonas controladas. Então importa ainda fazer uma distinção entre o que são as zonas controladas e aquelas que não o são:

- Zonas endémicas não controladas – zonas em que a ausência da doença não foi demonstrada, não se procedendo a controlo sistemático das doenças;
- Zonas controladas (Figura 4) - zonas em que a ausência da doença não foi demonstrada, na qual se procede a controlo sistemático das doenças,

levadas a efeito por entidade gestora reconhecida pela DGAV. As entidades Gestoras das Zonas Controladas devem cumprir o disposto no Normativo elaborado pela DGAV.

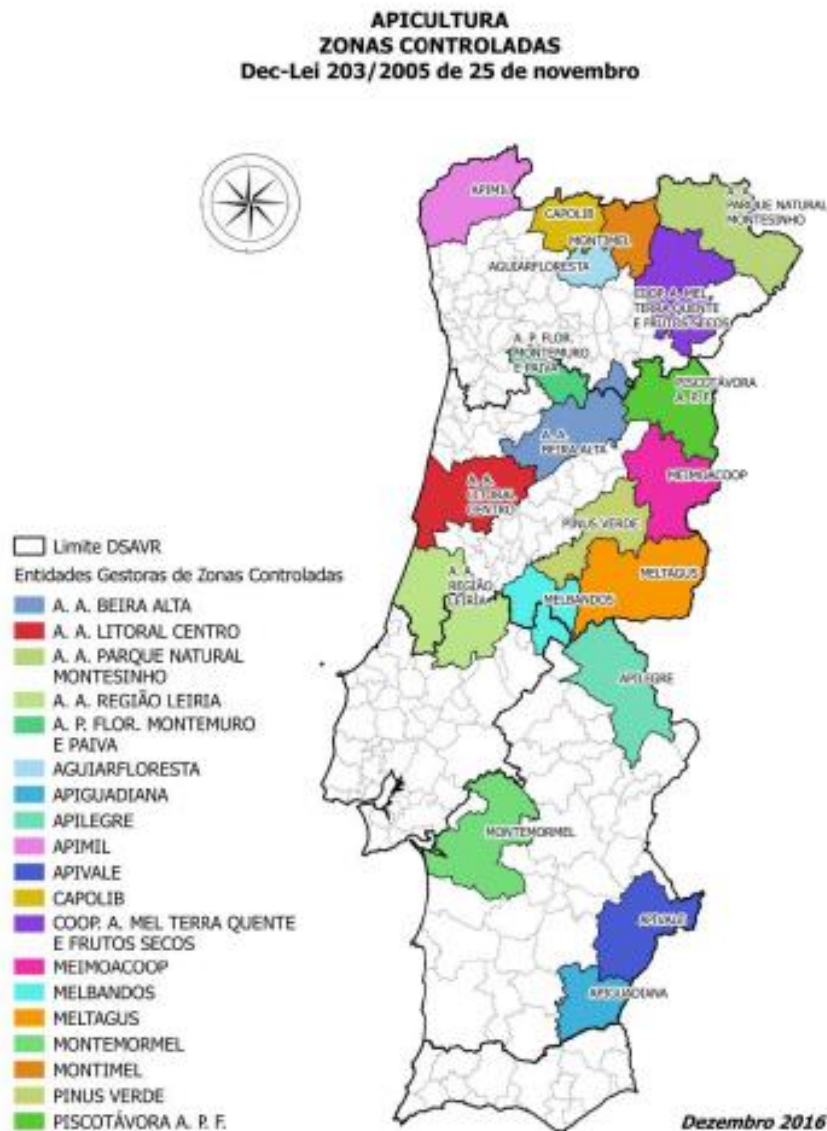


Figura 4. Mapa com as zonas controladas em Portugal em 2018 (GGP, 2017).

Independentemente da zona do país, a doença mais comum em Portugal é a varroose, e esta doença tem sido apoiada no Programa Apícola Nacional (PAN) desde 1997 numa ação de luta direcionada ao seu combate. Esta ação assenta num procedimento de aquisição de medicamento por parte do Estado e a sua entrega de forma avulsa numa primeira fase somente aos apicultores registados (até 2010) e desde 2011 que assenta na comparticipação de cerca de 75% do valor do

medicamento adquirido exclusivamente pelas associações do setor (exceto na região Autónoma da Madeira e Açores), totalizando dois tratamentos anuais contra a varroose e ainda na entrega de quadros e ceras para melhoria de condições higio-sanitárias dos apiários e ainda a realização de análises anatomopatológicas (obrigatoriedade de duas recolhas anuais nas zonas controladas; Figura 4).

A criação e ampliação de zonas controladas desde 2008 dinamizou a recolha de amostras e a existência de dados acerca da varroose que permitem verificar que a percentagem de apiários positivos à doença tem sido estável nos últimos 5 anos. Ainda em relação à realização de análises anatomopatológicas, importa dizer que apenas 4 organismos a nível nacional estão credenciados para a sua realização: Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária I.P. (laboratório de referência); Laboratório da Direção Regional de Agricultura e Pescas do Centro – Alcains, Laboratório Regional de Veterinária dos Açores e o laboratório do Instituto Politécnico de Bragança (aquele que foi utilizado neste trabalho) (GPP, 2017; DGAV, 2017b).

É de referir que o estatuto de zona controlada, por si só, não garante a ausência de doenças na área em causa, mas pressupõe a existência de uma vigilância e prevenção constantes das ocorrências epidemiológicas e sendo assim existe uma obrigatoriedade de diagnóstico e adoção de medidas de controlo de doenças de declaração obrigatória e a existência de uma autorização previa para a introdução de abelhas nestas zonas controladas (GPP, 2017). As Organizações de Apicultores denominadas Entidades Gestoras da Zona Controlada desenvolvem as ações de profilaxia sanitária constantes do Programa Sanitário Apícola homologado pela DGAV para o efeito.

De acordo com vários autores, a varroose é a doença das abelhas que mais afeta o setor apícola. Segundo Le Conte *et al.* (2010), este ácaro é considerado como um dos principais culpados do desaparecimento de colónias na Europa e nos EUA. Por isso, o futuro da apicultura em Portugal tem de se basear em profissionalização de todos os intervenientes do setor, unindo-os de forma a combater eficazmente esta doença (Pires, 2004). Apesar da obrigatoriedade de registo, e da distância mínima entre apiários ser de 400 m (de 11 a 30 colmeias móveis) ou de 800 m (de 31 a 100 colmeias móveis) (Decreto-Lei n.º 203/2005, 2005), isto nem sempre acontece, o que dificulta o trabalho da autoridade sanitária e aumentando a dispersão do parasita (Quintans, 2012).

A queda natural de varroas adultas está parcialmente associada ao número de varroas existentes na colónia. Para se conseguir assegurar que a colónia sobrevive ao Inverno, deve conhecer-se após a cresta o número de ácaros existente, pois durante o período de colheita de mel as colónias por norma não são tratadas ou não deveriam ser devido ao perigo de contaminação do mel. Em países da Europa central, as colónias são tratadas em novembro e dezembro, altura em que não têm criação, tornando assim mais eficaz o tratamento por não haver ácaros encerrados em alvéolos (Pascoal, 2012).

Frequentemente, colónias que não são (eficazmente) tratadas morrem antes do fim da próxima época de produção (Agosto/Setembro) e sobretudo se a queda diária de varroas exceder os seguintes valores: Outubro/Novembro: 3 varroas; Dezembro/Janeiro: 10 varroas; Fevereiro/Abril: 15 varroas; Maio/Junho: 20 varroas (Murilhas e Casaca, 2004).

No entanto, Pascoal (2012) refere outros valores de queda de varroas no seu trabalho e refere que é necessário intervir se forem contadas 15 fêmeas de *Varroa* sp. numa colmeia. O risco médio, entre 100 a 999 ácaros por colmeia, irá ter um impacto económico, devendo tratar-se o mais depressa possível, e no caso de haver mais de 1000 ácaros, que representa um risco alto de colapso eminente da colónia, devem ser retiradas as alças com mel e tratar imediatamente, voltando a repetir o tratamento no outono. Assim, até considerado um grau de infestação baixo se contadas menos de 15 fêmeas de *Varroa destructor* numa colónia em 24h, médio se forem contadas entre 15 a 999 fêmeas e alta se forem contadas 1000 ou mais fêmeas (BCMAL, 2008).

Já as regras do *European working group for the coordination of research on integrated Varroa control* (CA3686 Working Group, 2006), indicam que para se realizar um estudo de investigação à infestação de uma colónia apenas devem ser incluídas colónias com queda diária de 1 a 42 varroas mortas durante um dia (Pascoal, 2012).

Embora existam populações de abelhas que resistam à varroa, sem receberem tratamento durante vários anos, criando um estado de equilíbrio entre o parasita e as próprias abelhas, tal não costuma acontecer no nosso país, principalmente devido ao clima mediterrânico, propício para o desenvolvimento da varroa. Isto deve-se ao facto de haver criação o ano inteiro na colmeia, aumentando a velocidade de infestação e a multiplicação do ácaro, principalmente no caso de haver criação de zangão (Locke e Fries, 2011, citados por Pascoal, 2012).

A loque americana, a acarapisose, a ascosferiose e a nosemose são também doenças com diagnóstico frequente no nosso território (Gráfico 1; DGAV, 2017b).

No âmbito do Programa Apícola Nacional e segundo dados recolhidos em 2014 pôde assim realizar-se uma análise à percentagem de doenças positivas nesse ano. De acordo com o Gráfico 2, pode dizer-se que a doença com mais expressão a nível nacional é assim a varroose, com 35% da totalidade da amostragem, seguindo-se a nosemose com 19%, a ascosferiose com 3% e por fim a loque americana com 2%. Estas quatro doenças perfazem um total de 60%, não se percebendo, contudo, o que aconteceu com os restantes 40% da amostra. Pode ainda acrescentar-se que foram várias as doenças sem nenhuma expressão a nível nacional, sendo elas a Loque Europeia, a Acarapisose, a Aethinose e a Tropilaelaps.

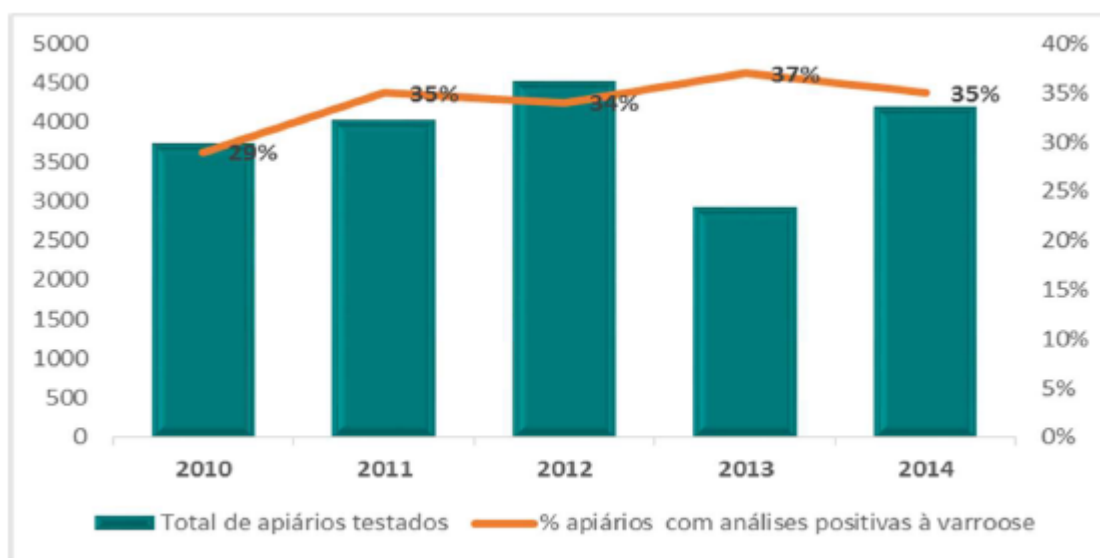


Gráfico 1. Evolução da varroose em Portugal de 2010 a 2014 (GPP, 2017).

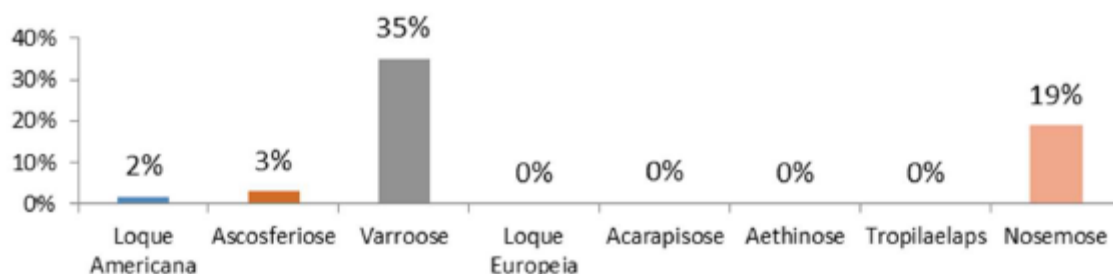


Gráfico 2. Resultados das análises laboratoriais em 2014 (% de positivos) (DGAV, 2016).

2.4. A VARROOSE

2.4.1 Biologia do ácaro *Varroa destructor*

O ácaro varroa foi observado pela primeira vez na abelha *A. cerana* por Edward Jacobson em 1904 e por isso foi descrito posteriormente pelo entomologista Holandês A. C. Oudemans como *Varroa jacobsonii*. Depois este acaro passou a infestar colônias de *A. mellifera* que causou impacto na apicultura a nível mundial. Anderson e Trueman (2000) avaliaram exemplares de varroa de todo o mundo e a partir de sequências de DNA concluíram que se tratava de mais de uma espécie deste ácaro, denominando a espécie que parasitava a *Apis mellifera* de *Varroa destructor* (Figura 5). Assim, a Varroose é o principal problema da patologia apícola ocidental e impossível de erradicar no atual estado do conhecimento humano (Murilhas e Casaca, 2004). Assim está presente em todos os continentes e a nível nacional tem estatuto de doença endémica e por isso está presente em todos os apiários. É provocada pelo ácaro *Varroa destructor*, anteriormente designado por *Varroa Jacobsom* (Anderson e Trueman, 2000) e tem como hospedeiro a abelha europeia (*Apis mellifera*), afetando tanto as abelhas adultas como a criação, sendo um parasita externo que vive exclusivamente em abelhas adultas (Figura 6) alimentando-se da sua hemolinfa e reproduzindo-se apenas na criação (Büchler, 1994; Murilhas e Casaca, 2004). Nas abelhas adultas podem encontrar-se varroas principalmente na região abdominal, especialmente entre os esternitos onde estão protegidos e próximos das membranas intersegmentares (Hifarmax, 2018).

A preocupação com a *Varroa destructor* assenta no fato de estar espalhada por todo mundo e ter alcançado altos índices de infestação causando danos diretos as abelhas, e para além disso tornou-se um vetor para diversas doenças virais como vírus de paralisia aguda de abelhas (ABPV) e o vírus que deforma as asas (DWV) (Bernardi e Venturino, 2016).

As fêmeas (Figura 6) têm corpo oval achatado, de cor castanho-avermelhado, e dimensões de cerca de 1,6 x 1,1 mm (Murilhas e Casaca, 2004). O macho é de cor mais clara, tem o corpo mais pequeno e apresenta formato diferente (as patas mais compridas que a fêmea), apresentando assim um dimorfismo sexual acentuado (Shapiro, 2011). As fêmeas possuem quatro pares de pernas com ventosas para a

sua fixação nas abelhas e duas quelíceras (primeiros apêndices cefálicos dos aracnídeos), enquanto os machos possuem as quelíceras modificadas possuindo um dígito móvel com estrutura tubular para transferência do sêmen. Apenas a fêmea consegue parasitar as abelhas por possuir um aparelho bucal com a função picador-sugador que perfura o exoesqueleto e sugam sua hemolinfa, tornando-as débeis e aptas a contrair outra doença, diminuindo o seu tempo de vida (Rosenkranz *et al.*, 2010). O macho sem a capacidade de se alimentar não chega a sair do alvéolo e morre após a cópula com suas irmãs (Murilhas e Casaca, 2004).



Figura 5. Varroa fêmea (Hifarmax, 2018).



Figura 6. Abelha morta recolhida em tabuleiro sanitário, com várias varroas acopladas (fotografia original, 2016).

O ciclo de vida da fêmea da *Varroa* caracteriza-se por fases distintas: desenvolvimento, reprodução e fase forética (Figura 7).

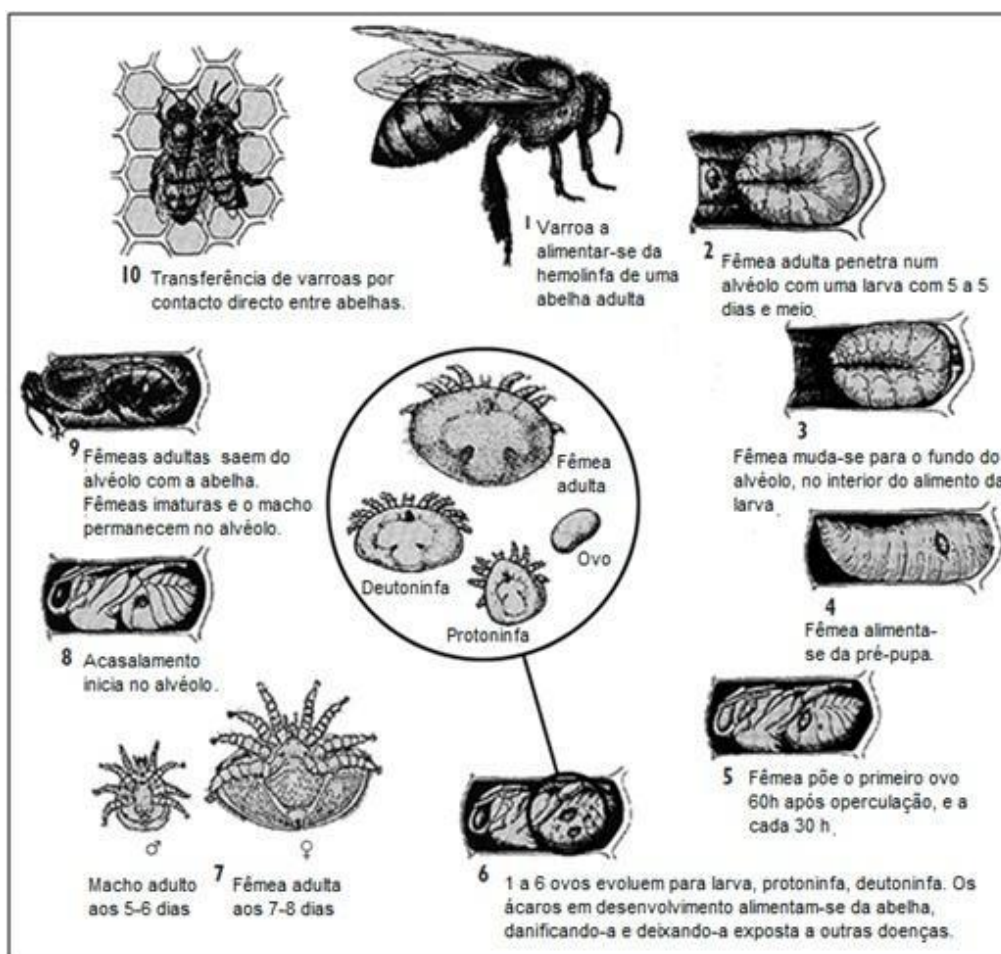


Figura 7. Ciclo de vida da *Varroa destructor* (adaptado de Allsop, 2006, citado por Pascoal (2012)).

A primeira fase que envolve o desenvolvimento e a reprodução ocorre dentro do alvéolo, desde a fase de ovo até o indivíduo ficar adulto e sexualmente maduro, sendo que este estágio leva aproximadamente 13 a 14 dias (Silva, 2010). Neste período as varroas sugam a hemolinfa da larva/pupa que está no alvéolo para realizar sua postura (Jean-Prost, 1987; Hifarmax, 2018), demonstrando preferência pela criação de zangão, ao invés da criação de obreiras, apesar de estar perfeitamente adaptadas a esta (Murilhas e Casaca, 2004).

As varroas fêmeas adultas e fecundadas saem da célula junto com seu hospedeiro: a abelha e inicia a fase forética, podendo passar de uma abelha para outra. Já os machos (por não se conseguirem alimentar) e as fêmeas imaturas morrem, ou são removidos pelas abelhas (Murilhas e Casaca, 2004; Calderón *et al.*

2010). Na fase forética, a varroa é totalmente dependente da abelha onde pode viver durante meses parasitando, já sem a abelha não é capaz de sobreviver morrendo em poucos dias (Murilhas e Casaca, 2004).

Seguindo a biologia de reprodução da espécie pode descrever-se começando pela entrada da fêmea adulta entra num alvéolo não operculado onde se irá alimentar de hemolinfa da larva, com o objetivo de realizar a postura de ovos e se reproduzir, pouco depois da operculação (Murilhas e Casaca, 2004). A operculação ocorre por volta do 9.º dia de vida da abelha, e o primeiro ovo (haploide) dá origem a um ácaro macho por volta do 11º dia. A cada 30 horas nasce uma nova fêmea (diploide), que irá acasalar com este macho, quando ambos estiverem férteis (Godinho, 2009). O ácaro fica fértil logo após a última muda, sendo que o macho atinge a maturidade sexual cerca de 20 horas antes da primeira fêmea para que esteja apto a fecundá-las (Rosenkranz *et al.*, 2010).

Na abelha obreira, o alvéolo fica operculado cerca de 11 dias, apenas duas fêmeas irão ser fecundadas e outra poderá sair fértil. No caso do zangão, o alvéolo fica operculado cerca de 14 dias, há possibilidade de três fêmeas serem fecundadas e outra ficar fértil nesse tempo. Daí haver preferência do ácaro para o alvéolo de zangão que é mais largo que o de obreira (Godinho, 2009).

Este facto é exacerbado pelo maior número de abelhas que visitam estes alvéolos, por ser necessário maior quantidade de alimento para o zangão, e por haver maior libertação de feromonas por parte destes do que das obreiras, o que atrai a Varroa (Silva, 2010). Com a desoperculação termina o desenvolvimento dos ácaros e as fêmeas imaturas e os machos irão morrer pouco tempo depois, como já foi descrito. Em casos de colónias muito infestadas de Varroa, é possível que entre mais do que uma fêmea por alvéolo, possibilitando cruzamentos entres ácaros que não sejam irmãos (Murilhas e Casaca, 2004). As fêmeas adultas irão sair do alvéolo no corpo de uma abelha adulta, ou irão simplesmente para outro alvéolo vizinho. Estas podem sobreviver até 10 dias na colmeia, e de algumas horas a 9 dias no exterior, consoante a temperatura e humidade ambiental (Jean-Prost, 1987). Como o aquecimento global, os invernos têm sido cada vez mais curtos e menos rigorosos, o que permite a permanência de criação na colmeia durante mais tempo ou mesmo o ano inteiro. Este fator leva à possibilidade de reprodução do Varroa durante todo o ano e dificulta o seu combate (Murilhas, 2008).

2.4.2 Sinais, diagnóstico e consequências

Quando o número de ácaros é baixo, a colônia não apresenta sinais do parasitismo. No entanto, se a infestação for grande, as consequências podem ser nefastas e haver grandes alterações no número de abelhas e criação. Regra geral, as colônias muito infestadas podem não mostrar sinais óbvios de infestação até final do verão, podendo inclusive obter-se 'boas' produções. Contudo, um olhar mais atento mostrará ácaros nas abelhas adultas e uma grande infestação na criação de obreira e de zângão (se existente), muitas vezes com mais de uma varroa por célula (Murilhas e Casaca, 2004).

Uma abelha recém-nascida, parasitada pelo ácaro, pode apresentar uma redução de peso de 6 a 25%, comparada com abelhas não parasitadas. Quando a infestação é grande as atividades exercidas pelas abelhas são reduzidas, diminuindo a produtividade, e o enfraquecimento da colônia pode mesmo levar ao colapso da mesma. Segundo Murilhas e Casaca (2004), se o manejo apícola for insuficiente, o número de varroas irá aumentar até ao ponto em que a colônia irá apresentar sinais graves de desorganização social e poderá abandonar a colmeia ou mesmo colapsar. As infestações mais graves dificultam consideravelmente a substituição das abelhas mais velhas, por outras mais novas.

Da mesma forma que quando a varroa parasita os zangãos isso pode afetar a sua capacidade de fertilização da rainha durante o voo nupcial, com a redução também da qualidade do esperma, uma vez que com a diminuição do peso do zangão diminui também a vesícula seminal. Assim, machos infestados com Varroa apresentam diminuição do desempenho do voo, produção de esperma e eficiência no acasalamento (Figura 8).

De acordo com Vilas-Boas (2008), os sinais visuais sintomáticos de varroose são: ácaros sobre as abelhas, criação em mosaico, abelhas deformadas e abelhas com asas roídas.

Uma abelha parasitada reduz o tempo de vida em 50%, perde 10% do seu peso por ácaro, e sofre uma diminuição de proteína de 60%. Se uma abelha for parasitada por mais de 6 ácaros a abelha morre poucos dias depois de nascer ou morre mesmo no alvéolo (Hifarmax, 2018). Um dos primeiros sinais consiste no aparecimento de obreiras com asas deformadas (Figura 9), que se deve à introdução,

direta ou indireta, do deformed wing vírus (DWV) pelo ácaro. Com o aumento da infestação, aumenta o número de obreiras doentes e podem ser vistas algumas a rastejar em frente à colmeia, sem conseguir levantar voo. O ponto de rutura dá-se quando a morte de obreiras ultrapassa a taxa de nascimento, levando por isso ao colapso da colónia, podendo decorrer apenas três semanas dos primeiros sinais a este ponto, segundo Calderone (2002), ou entre 2 a 4 semanas, segundo Murilhas e Casaca (2004).



Figura 8. *Varroa destructor* em criação de zângãos (zzzangano, 2016).



Figura 9. Abelhas saudável (direita) e com sinais evidentes da acção do vírus das asas deformadas e o vírus da paralisia aguda (Abelhas do Agreste, 2015).

Assim, a *Varroa* provoca danos diretos e indiretos no seu hospedeiro. O ácaro provoca diretamente malformações e diminuição do tempo de vida média da abelha, e indiretamente possibilita a contaminação da abelha afetada, por outras doenças. A diminuição do número de obreiras na colmeia irá diminuir a sua capacidade de limpeza, o que no caso de presença de ascosferiose irá aumentar a sua prevalência na criação. O ácaro pode também transportar na sua cutícula esporos de *Paenibacillus larvae*, agente da loque americana. Outro dos sinais também observados diz respeito à diminuição de produção, mas passa muitas vezes despercebido aos olhos do apicultor (Hoyo e Cabrera, 2004). Da mesma forma que a passagem, através das abelhas adultas, de varroas hospedadas em colónias muito infestadas (ou à beira da morte) para outras colónias, é uma das formas mais comuns de disseminação da varroose. Esta 'contaminação natural' pode-se dar em qualquer altura do ano. Em locais pertencentes às chamadas "zonas controladas" é necessário proceder à recolha de amostras anatomopatológicas 2 vezes por ano, o que permite um maior controlo desta doença.

O diagnóstico deste parasita pode ser feito a olho nu em abelhas adultas (Hoyo e Cabrera, 2004), sendo de fácil execução ou até pela colocação de tabuleiros de detecção de varroas. No entanto quando a colónia está no auge de produção, apenas se encontram nas abelhas adultas 15% das varroas (Goodwin e Eaton, 2001).

Podemos determinar o grau de infestação da colmeia, observando um número ou uma área certa da criação de obreiras ou de zangãos, visto que a maioria dos ácaros *Varroa destructor* (cerca 85%) se encontram em alvéolos operculados (Figura 10) (BCMAL, 2008).



Figura 10. Criação operculada com *Varroa destructor*.

As abelhas ocidentais são muito sensíveis à varroa, obrigando ao tratamento sistemático das colmeias e ocasionalmente, as substâncias utilizadas levam a problemas como o desenvolvimento de resistências por parte do parasita e a contaminação dos produtos apícolas com resíduos, pelo que é ainda necessária investigação com vista à solução deste problema (Pajuelo, 2016).

Conhecer o grau de parasitação das colmeias pode ser determinante para decidir sobre o momento de aplicação do tratamento (Pires *et al.*, 2006).

Um teste que pode ser realizado é o teste do *sugar shake*. Este permite obter alta sensibilidade e especificidade, mas com baixos custos e sem prejuízo para as abelhas, utilizando cerca de 300 abelhas para um recipiente, onde será colocado uma colher de sopa de açúcar em pó. De seguida, deve-se girar o recipiente, de modo a que todas as abelhas fiquem cobertas com o açúcar, que irá provocar a queda dos ácaros (aproximadamente 70%) presentes nas abelhas e aumentar o seu instinto de limpeza. Por fim, com o auxílio de uma rede, deve-se separar os ácaros e realizar a sua contagem (Goodwin e Eaton, 2001; Pascoal, 2012). Outro método de diagnóstico é a utilização de estrados sanitários, que consistem em estrados que substituem o fundo da colmeia, habitualmente fechado, por uma grelha com uma gaveta coletora por baixo (Figura 11). Segundo Pajuelo (2016), os estrados sanitários são um método muito preciso, embora exija alguma manipulação e os valores podem variar de estação para estação.

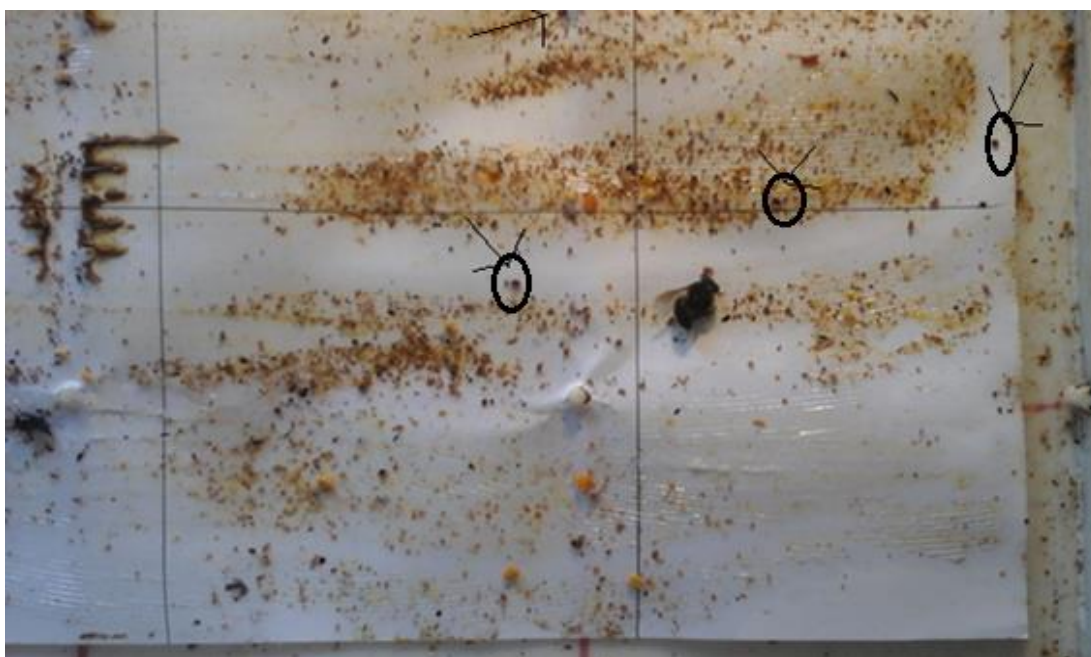


Figura 11. Tabuleiro de uma colónia do apiário de Bragança, com *Varroa destructor*

Assim, a Varroa cai naturalmente para a grelha e depois para a gaveta, onde é colocada uma substância com propriedades adesivas, de modo a não poderem fugir. Por fim, basta recolher a gaveta e fazer uma observação direta, podendo também assim avaliar o grau de infestação da colmeia pela contabilização da queda diária de ácaros *Varroa destructor* (Serrano *et al.*, 2002; Pascoal, 2012). Este método pode ser utilizado normalmente ao longo do ano, ou especialmente no momento da colocação de acaricidas (Murilhas e Casaca, 2004), sendo considerado um teste altamente sensível e específico, mas também moroso e altamente dispendioso (Goodwin e Eaton, 2001).

2.4.3 Monitorização e controlo

Inicialmente pensava-se que com a ajuda de eficazes varroacidas sintéticos esta doença seria resolvida ou até mesmo erradicada, hoje sabe-se que a varroa e a varroose vieram para ficar. Assim importa conhecer o problema e combatê-lo, para isso pode introduzir-se o conceito de monitorização.

A monitorização passa pela estimativa periódica da infestação do apiário e das colónias, sabendo que a infestação é variável, variando em cada ano e em cada local. Assim sabendo a população de varroas existente num dado período permite monitorizar a evolução da infestação.

A vigilância apertada das populações de varroas nas colónias indica como a infestação está a evoluir, podendo e devendo esta informação ser utilizada para decidir qual a estratégia de tratamento a utilizar numa dada situação concreta.

É aconselhável vigiar (monitorizar) cerca de 20 a 30 % das colónias que tiver em cada apiário, pois os níveis de infestação podem variar de colónia para colónia e de apiário para apiário (Murilhas & Casaca, 2004)

O objetivo de controlar as populações de ácaros varroa nas colónias é mantê-los num nível que permita a colónia desenvolver-se normalmente, não comprometendo por isso a sua sobrevivência e por sua vez a sua capacidade produtiva. Para isso, não é necessário eliminar todos os ácaros, mas quantas mais varroas sobreviverem, mais rápido serão repostas as populações e mais depressa se atingirão, de novo, níveis de infestação considerados perigosos e capazes de provocar estragos graves nas colónias.

O combate a esta infestação foi, ao longo das últimas décadas, um objeto de trabalho por parte de investigadores e apicultores, estudando alternativas a nível genético, biotecnológico e métodos de tratamento químico.

Os meios de combate à Varroa, permitem controlar esta população e podem ser de vários tipos, nomeadamente a nível do manejo no apiário e restantes infraestruturas, com a utilização de compostos naturais e químicos (Pascoal, 2012), podendo apontar-se duas grandes classes de métodos de luta: métodos biotecnológicos e tratamentos químicos (Murilhas e Casaca, 2004). O primeiro método serve-se de técnicas de manejo que permitem reduzir as populações de varroa na colónia tirando proveito das particularidades do ciclo da varroa e/ou do comportamento das obreiras. Enquanto a segunda grande classe de métodos, os químicos, baseiam-se na utilização de substâncias acaricidas para matar as varroas, podendo ser aplicadas directamente sobre as abelhas (por exemplo, por pulverização, gotejamento, fumigação, evaporação / sublimação), ou transferidas para as abelhas a partir de tiras de plástico (ou outras substâncias retardadoras da libertação dos princípios activos com que estão impregnadas). É obviamente na classe dos tratamentos químicos que se encontram quer os tratamentos homologados (testados, provados e autorizados pelas entidades competentes), quer outros não homologados (frequentemente implementados por alguns apicultores, mas sem suficiente garantia de eficácia terapêutica ou de segurança para o utilizador, para a colónia, para a qualidade alimentar dos seus produtos, ou para o ambiente).

Para a seleção do melhor método de combate à varroose a utilizar deve ter-se em conta as condições climáticas naquela altura, se corresponde a um período de produção de mel, o tipo de colónia, o tamanho do apiário (exige mais conhecimento e disponibilidade por parte do apicultor) o desenvolvimento da população da própria Varroa e o manejo aplicado no determinado apiário, por exemplo no caso da produção em modo biológico (Imdorf *et al.*, 2003); Vilas Boas, 2008).

Como solução de último recurso para apicultores pouco experientes a indicação existente é a utilização de produtos químicos e consiste na utilização alternada de princípios químicos homologados (Apivar, Apitraz, entre outros), em dois tratamentos anuais: um no fim do Inverno e outro no fim do Verão.

2.4.4 Meios de combate

2.4.4.1 Métodos químicos

Nos meios de combate com recurso a produtos químicos importa fazer uma distinção entre aqueles cujas substâncias ativas são substâncias químicas de síntese e aqueles que são constituídos por outras substâncias químicas que se podem encontrar espontaneamente na natureza, por exemplo, alguns ácidos orgânicos (como os ácidos fórmico, láctico, oxálico, etc.) ou alguns óleos essenciais (como o timol, o eucaliptol, etc.). Alguns apicultores designam os primeiros produtos por varroacidas fortes e os segundos por varroacidas fracos e ainda por tratamentos alternativos ao conjunto destes produtos.

Importa distinguir ainda o modo de atuação destes produtos: por contato, por evaporação, sistémicos ou mistos. Os primeiros atuam por contato direto com o ácaro ou indiretamente através de seu hospedeiro (a abelha) que transfere para o ácaro o princípio activo que se impregnou no seu corpo ao tocar nas tiras acaricidas (por exemplo o Apivar, Apitraz, Apistan e Bayvarol), os segundos atuam por evaporação e o ácaro é atingido pela exposição a uma dose letal presente na atmosfera interna da colmeia (como é o caso dos óleos essenciais, embora estes também funcionem por contato) e por fim os terceiros são acaricidas inicialmente ingeridos pelas abelhas que vão afectar os ácaros da varroa quando estes posteriormente ingerem a hemolinfa e/ou tecidos gordos das abelhas (não há referência em Portugal de algum produto homologado). Os produtos que tem duas formas de atuação, como por exemplo os óleos essenciais que atuam por contato e por evaporação, designam-se de produtos de atuação mista.

Das 3 vias de atuação, a de contato é a que apresenta, na maioria dos casos, mais fiabilidade, pois as abelhas, em geral, contactam frequentemente com as tiras varroacidas, impregnando-se com o princípio activo, o que permite disseminá-lo pela colónia. A eficácia desta classe de varroacidas está muito pouco dependente das temperaturas externas, ao contrário dos produtos que funcionam por evaporação. Por outro lado, os acaricidas de contacto têm um período de actuação prolongado o que aumenta significativamente a sua eficácia mesmo em colónias com cria presente (6 semanas de utilização). Finalmente os limiares entre as doses letais para os ácaros e as doses letais para as abelhas estão muito distantes (na ordem das 1000 vezes, isto

é, a dose letal para os ácaros é cerca de um milésimo da dose que mata as abelhas), diminuindo bastante o risco de sobredosagem.

Em Portugal apenas é permitido o uso de produtos homologados para tratamento da varroose e que constem na lista de produtos veterinários publicados na DGAV, e estes produtos para constarem na lista de produtos homologados tem de apresentar estudos científicos exaustivos, nos quais se recolheram eficácia, qualidade e segurança do produto (para as abelhas, para o consumidor e para o ambiente), havendo ainda assim produtos que por vezes não demonstram a eficácia sugerida pelos fabricantes e são retirados do mercado ou substituídos por outros (por exemplo o Bayvarol 3,6 mg que foi substituído pelo PolyVar *yellow*® 275 mg, em que a substância ativa é a mesma mas a quantidade utilizada foi alterada).

O processo de homologação é moroso e dispendioso e requer a execução de diversos estudos ao nível das dosagens, eficácias e efeitos adversos, embalagem e armazenamento. A sua instrução é efetuada por uma empresa privada interessada na comercialização, pelo que a relação lucro/custo tem de ser favorável (Vilas-Boas, 2008).

No entanto, cada produto é homologado para um determinado país e segundo as atuais leis europeias, um produto homologado no país vizinho pode não ser homologado no nosso país. Outra questão a considerar é a circulação de colmeias de outros países e no caso concreto de Portugal sobretudo da vizinha Espanha, onde a transumância traz milhares de colónias a Portugal e onde essas colónias são tratadas com medicamentos veterinários diferentes dos autorizados em Portugal.

Segundo Pascoal (2012), esta era uma das razões pelo qual em Portugal existem poucos medicamentos químicos naturais, uma vez que os custos de homologação são elevados e os produtos não carecem de grande desenvolvimento tecnológico, limitando assim os preços a aplicar e o respetivo lucro. No entanto, atualmente pode dizer-se que esta tendência inverteu-se e assistimos nos últimos anos ao aumento dos produtos que utilizam substâncias químicas naturais. Neste momento estes produtos são superiores em número aos de produção química de síntese (9 no total contra 5 produtos químico de síntese), fato este talvez impulsionado por haver quase ausência de medicamentos para uso em apicultura biológica nos últimos anos.

Os medicamentos de uso veterinário de síntese química atualmente homologados em Portugal têm como principal princípio ativo o amitraz (Apivar®, Apitraz 500 mg e Amicel Varroa) e o fluvalinato (Apistan®) e a flumetrina (PolyVar 275 mg vem substituir o Bayvarol® 3,6 mg, retirado em 2017). Apesar disto, este e outros

compostos químicos proibidos ou homologados em outros países ainda são utilizados frequentemente, como o clorfenvinfos, Klartan® (fluvalinato), Acadrex® (fenvalerato), permetrina e outras misturas feitas pelos próprios apicultores, falando-se por isso de medicamentos de uso apícola não homologados para o efeito, devido à ausência de comprovação científica. O tratamento da varroose com recurso a produtos químicos de síntese é regra geral muito eficaz e seguro, sendo fácil de aplicar, podem ser utilizados de forma exclusiva (sozinhos mas de preferência alternando a substância química), mas poderão trazer problemas de resíduos apícolas se for mal feita a sua aplicação, as varroas podem desenvolver níveis crescentes de resistência e por fim são mais caros comparativamente com outros tipos de luta (Murilhas e Casaca, 2004).

Neste momento (em 2018), existem 9 medicamentos para controlo da varroose à base de substâncias químicas naturais (dois destes medicamentos entraram em 2017 para a lista dos medicamentos de usos veterinário e 2 em 2018) como é o caso do timol e outros óleos essenciais, o ácido oxálico e o ácido fórmico, ficando a aguardar esta iniciativa ainda o ácido láctico (atualização feita pela DGAV a 18 de Setembro de 2018).

Assim, os princípios ativos de síntese natural que se podem utilizar em Portugal são atualmente quatro: um óleo essencial, o timol (Apiguard® e Thymovar®), uma mistura de vários óleos essenciais (APILIFE VAR) e dois ácidos orgânicos, o ácido oxálico (API – Bioxal, 886 mg/g, o Oxuvar 5,7% 41 mg/ml e o Dany's BienenWohl 39,4 mg/ml) e o ácido fórmico (MAQS Ácido Formico 68,2g, VarroMed 5 mg/ml+44 mg/ml) e VarroMed 75 mg+660 mg, podendo estes produtos serem utilizados no modo de produção biológica). No entanto, ainda são usados de forma ilegal alguns óleos essenciais: ácido oxálico, ácido láctico, ácido fórmico e outros compostos orgânicos ilegais (Maia *et al.*, 2011). O uso de forma errada destes compostos pode levar à deposição de resíduos no mel em quantidades perigosas para a saúde humana (Vilas Boas, 2008) e, por isso, o estabelecimento de limites máximos de resíduos relativos à utilização dos vários ácidos e óleos essenciais torna-se essencial. No caso concreto do ácido oxálico este está contemplado com a possibilidade de se tornar num tratamento ecológico alternativo para a varroose e neste momento existe uma grande expectativa nesse sentido depois da Argentina ter criado aquele que diz ser o “produto perfeito”, este à base de ácido oxálico: Aluen CAP e num estudo realizado nesse país concluiu-se que a eficácia dos tratamentos aplicados mostraram 91% para o Aluen CAP e 94% para o já conhecido amitraz (Coppe *et al.*, 2017). O grande impacto deste produto tem a ver com o

custo (alguns cêntimos por colónia) comparativamente com o Apitraz ou outros produtos (com a ajuda forfetaria do estado fica a cerca de 1,25€ por colónia). Em Portugal ainda não existe informação científica acerca deste produto inovador e bastante recente.

a) Amitraz (Apitraz 500 mg)

A substância ativa do Apitraz 500 mg® é o amitraz e apresenta-se como tiras para uso em colmeias, usando-se 2 tiras por colmeia. Atua de forma mista, por contacto e sistémico (Figura 12), não podendo ser utilizado durante o fluxo de néctar, contrariamente ao que foi referido por Pascoal (2012). Embora também haja resistências por parte de Varroa a este composto, regra geral tem uma boa eficácia (Murilhas e Casaca, 2004; CAP, 2007) e entre os apicultores é das substâncias de síntese mais utilizadas. O modo de libertação lenta permite uma eficácia contra a Varroose, sendo que o modo de acção do Amitraz é do tipo neurotóxico. O amitraz é um parasiticida pertencente ao grupo inseticida da formamida, o principal mecanismo de ação é a inibição dos recetores octopaminérgicos no Sistema Nervoso Central dos ectoparasitas, induzindo o aumento da atividade neuronal, comportamento anormal, desapego e morte. Assim, a abelha contacta com a tira de amitraz impregnando a cutícula exterior da varroa e conseqüentemente o amitraz atua contra o ácaro (DGAV, 2016).



Figura 12. Colmeia tratada com Apitraz 500 mg (fotografia original, 2012).

b) Flumetrina (Bayvarol 3,6 mg)

A substância ativa do Bayvorol 3,6 mg® é a flumetrina, sendo que também se encontra na forma de tiras plásticas suspensas entre os quadros (Figura 13). Atua de forma mista, por contacto e sistémico, não podendo ser utilizado durante o fluxo de néctar (DGAV, 2017a)

As tiras são colocadas na zona central do ninho da colónia, entre os quadros, de forma a que as abelhas possam circular sobre elas e são colocadas 4 tiras de uma só vez numa colónia considerada normal (Bacci, 2014) e metade dessa dose para colmeias jovens ou com menos população. A flumetrina é um ectoparasiticida do grupo dos piretróides sintéticos e segundo os conhecimentos atuais, os piretróides sintéticos interferem com o canal de sódio da membrana da célula nervosa durante a excitação, resultando em descargas prolongadas e repetitivas e, por último, na morte do parasita. Segundo informação da Bayer, que consta na bula do Polyvar que usa a mesma substância química (flumetrina) que o Bayvarol, existem registos da ocorrência de resistência a piretróides em ácaros Varroa, no entanto como a eficácia descrita é de mais de 95% o que aconselham é apenas a rotatividade de substâncias químicas (DGAV, 2017a).

Este produto é ainda descrito pelo fabricante, Bayer, como: “estando concebido de tal forma que com um mínimo de produto necessário, alcança a plena eficácia. A quota de êxito é de quase 100% em varroa suscetível e a ausência de problemas nas abelhas depois de tratadas e resíduos no mel, requisitos para uma boa produção de mel” (Bayer, 2018; DGAV,2017).



Figura 13. Colmeia tratada com Bayvarol 3,6 mg (Bacci, 2014).

c) Apilife VAR (timol 8,00 g, óleo de eucalipto 1,72 g, cânfora racêmica 0,39 g e Levomentol 0,39 g)

O APILIFE VAR® tem como principal substância ativa o timol 8,00 g e ainda óleo de eucalipto 1,72 g, cânfora racêmica 0,39g e levomentol 0,39 g.

O APILIFE VAR encontra-se na forma de uma esponja celulósica verde com cerca de 7,5 x 5,0 x 0,5 cm, embebida em óleos essências colocadas sobre os quadros no ninho (Figuras 14 e 15) (Bula Apilife Var, 2018) e tanto atua por contacto, como também por evaporação. A sua eficácia é influenciada fortemente pela temperatura na colmeia, devendo ser aplicado quando as temperaturas diurnas se encontram entre os 20 °C e os 30 °C (idealmente entre os 20 °C e 25 °C), sendo que perde eficácia abaixo dos 15 °C e acima dos 30 °C. Acima dos 30 °C ainda aumenta o stress e a mortalidade das abelhas adultas e criação, devendo ser aplicado no início da primavera ou, preferencialmente, depois da última cresta (Bula Apilife Var, 2018; Murilhas e Casaca, 2005). Embora o modo de ação do timol não seja conhecido, acredita-se que afete o ácaro Varroa a nível do sistema nervoso (Health Canada Pest Management Regulatory Agency, 2010).



Figura 14. Procedimento de aplicação de timol (adaptado de bula Apilife Var).

A aplicação das tiras deve ser feita aplicando 1 tira a cada 7 dias para cada colmeia, sendo o tratamento completo com 4 tiras para cada colmeia. Cada saco traz 2 tiras e estas podem ser divididas em 3 ou 4 partes, e posiciona-se num dos quatro

cantos sobre o ninho, longe da criação colocada no centro da colmeia (Figura 15). Depois deve fechar-se a colmeia e deixar atuar durante 7 dias. Repetir o tratamento 4 vezes consecutivas, não sendo aconselhável em colmeia de caixa múltipla, pois poderá ser ineficaz o tratamento. No final do tratamento deve remover-se os eventuais resíduos presentes da aplicação.

O timol encontra-se presente naturalmente no mel em concentrações de até 0,16 mg/kg (Working Group, 2006; Vilas Boas, 2008), o qual deve ser utilizado sob condições ambientais ótimas, variando a sua eficácia consoante a região e o clima em que se encontram as colmeias (Colin, 2002). A sua eficácia para matar Varroas varia de 66 a 98%, consoante o método de aplicação (Goodwin e Eaton, 1999). A utilização de produtos orgânicos em proporções apropriadas e fora da época de recolha de néctar para combate à varroose, de acordo com diversos estudos, não apresenta quaisquer inconvenientes na qualidade do mel obtido, não se registando, globalmente, alteração das propriedades físico-químicas do mel (Vilas-Boas, 2008). Contudo, a aplicação destes princípios activos não é completamente inócua, pois é possível verificar-se um ligeiro acréscimo da concentração destes compostos no mel, quando comparado com os valores encontrados para colónias não tratadas. Este acréscimo é, no entanto, insignificante e impercetível para o consumidor, dados que os valores obtidos são confortavelmente inferiores ao expectável para os diversos tipos de mel comercializados. Em todo o caso, e por questões de segurança do consumidor, é recomendável que qualquer tratamento sanitário seja efetuado fora da época de coleta de néctar, como aliás está regulamentado (Murilhas e Casaca, 2004).

Para não haver acumulação de resíduos de timol no mel, o tratamento deve ser aplicado após serem retiradas as alças com mel. O primeiro tratamento deve ser aplicado após a última cresta (final do verão), devendo ficar na colmeia durante 3 a 4 semanas. Logo após este período, deve ser efetuado novo tratamento igual ao anterior (Andermatt BioVet AG, 2007). Este medicamento deve ser armazenado a temperaturas inferiores a 30 °C e nunca devem ser guardadas embalagens abertas (Andermatt BioVet AG, 2007).



Figura 15. Colmeia com tratamento de ApilifeVar (original, 2016).

A eficácia entre as colmeias pode variar, conforme as condições circundantes (condições climáticas; nível de infestação; reinfestação; população de abelhas; força da colônia; área de criação; mortalidade das abelhas; etc.). Portanto, o medicamento veterinário deve ser utilizado como um tratamento entre os usados dentro de um plano de luta integrada e a queda do ácaro deve ser regularmente monitorizada. Colmeias com uma queda média superior a um ácaro por dia, duas semanas depois do último tratamento, necessitam de um tratamento adicional no inverno ou na primavera (preferivelmente com outro princípio ativo).

2.4.4.2 Métodos alternativos

A definição de métodos alternativos é suficientemente ampla que engloba todas, excluindo-se apenas os métodos químicos com recurso a substâncias sintéticas preparadas em laboratório. Estes últimos, utilizados sistemática e regularmente, foram a primeira barreira com capacidade de eliminar ou minimizar os efeitos causados pela Varroa, no entanto, e porque são produtos estranhos à

composição do mel que libertam resíduos, em especial para a cera e própolis, são proibidos no modo de produção biológico, este que rege de regulação própria (Vilas-Boas, 2008).

Os métodos alternativos não utilizam substâncias químicas, podendo ser combinados ou integrados com as atividades de manejo e tendo maior eficácia em infestações pequenas a médias. São métodos baratos, no entanto podem mostrar-se insuficientes por si só, quando utilizados sozinhos, e sem recurso a um sistema de protecção integrada, podendo em caso de uma grande infestação serem insuficientes e ser necessário recorrer a produtos químicos. Todos os métodos alternativos exigem muita disponibilidade do apicultor, e técnicas de manejo correctas, sob pena de comprometer a colónia (Murilhas e Casaca, 2004; Pascoal, 2012).

Idealmente, a abelha melífera deveria ser capaz de sobreviver à infestação de Varroa criando mecanismos próprios que lhe permitissem, senão eliminar, coexistir com o ácaro. Vários investigadores têm desenvolvido trabalhos para seleccionar colónias de abelhas *Apis melífera* que apresentem comportamentos pró-activos e nestes casos, a abelha seria capaz de identificar e eliminar as larvas infestadas, bem como detetar os ácaros sobre as abelhas adultas, deteriorando-os. Assim o manejo genético consiste em utilizar rainhas conhecidas como tendo grande aptidão de limpeza e protecção das colónias contra doenças (Osterlund, 2008, citado por Pascoal, 2012).

Este comportamento higiénico das abelhas pode ser medido através de um teste fácil, a remoção cuidada de um pedaço de criação operculada com um número de alvéolos conhecido (por exemplo, contar 10 alvéolos da horizontal e 10 na vertical, obtendo 100 alvéolos intactos) e congelá-lo algumas horas. Seguidamente, volta-se a colocar o pedaço exactamente na mesma posição, no mesmo favo da mesma colónia e contabilizar-se os alvéolos limpos de criação morta após 24 horas, fazendo uma média simples do resultado obtido.

De um modo geral, a remoção de 90% das larvas em época de floração melífera será aceitável e indicadora de um bom desempenho, podendo baixar até aos 75% em época de escassez alimentar, baixas temperaturas e de redução da população (Neto, 2009). Aplicando este comportamento higiénico ao problema da varroose, este pode ser medido através da introdução voluntária de ácaros em alvéolos de criação de obreiras e depois calcula-se a percentagem que foi limpa ao fim de 24h (Serrano *et al.*, 2001).

A desvantagem da seleção genética encontra-se na adaptabilidade dos ecótipos selecionados para com os diferentes climas e na consequente redução da variabilidade genética que, no futuro, poderá condicionar a reação da espécie perante outros desafios, sanitários ou não (Murilhas e Casaca, 2004).

Alguns exemplos de meios de combate com métodos alternativos podem passar pela remoção da criação de zangão e bloqueio da postura (Murilhas e Casaca, 2004). No caso da remoção da criação de zangão pode descrever-se esta técnica como fácil de utilizar, não utiliza químicos, não requer equipamento próprio, bem tolerado pela colmeia, mas de eficácia limitada pois apenas ajuda a atrasar o crescimento das populações de varroa. Esta técnica consiste por isso na retirada de criação de zangão da colmeia através da colocação de quadros de cera moldada (com 5 cm de largura) ou quadros com cera moldada estampada com células de zangão no ninho (junto aos quadros com criação) que as abelhas irão utilizar e que será retirada quando toda a criação estiver operculada e antes da eclosão desta (Figura 16). Esta criação tem de ser destruída, podendo o quadro ser novamente reutilizado para o mesmo efeito e este processo pode ser repetido algumas vezes durante a primavera (que é a fase que de maior postura e de nascimento de zangãos).

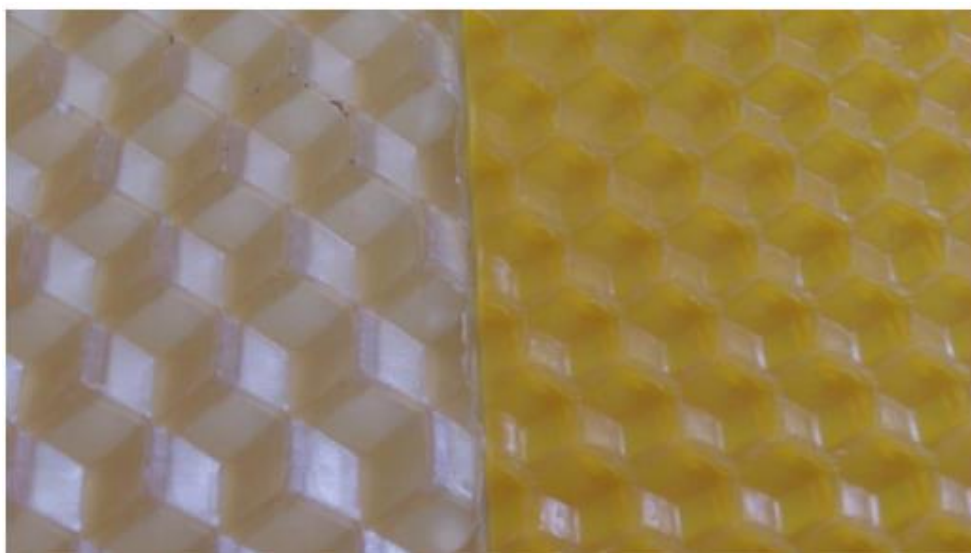


Figura 16. Pormenor da diferença do tamanho de alvéolo de zângão (à esquerda) e de obreira (à direita), em lâmina de cera alveolada (fotografia original, 2016).

No caso do bloqueio da postura, este método pode ser muito eficaz na redução de varroa da colónia, não utiliza químicos mais uma vez, no entanto consome muito tempo e experiência por parte do apicultor. Este método baseia-se no

confinamento da rainha, esta que é confinada a um determinado quadro (A), nove dias depois é confinada a outro quadro (B) e o anterior fica disponível no ninho para ser infetado pelas varroas e termina após 9 dias com o terceiro quadro (C) a ser confinado e o primeiro quadro (A) a ser retirado da colmeia (ficando somente o quadro (B) no ninho). Após mais 9 dias o quadro (B) é retirado (já operculado), a rainha é libertada ou substituída. O quadro (C) fica no ninho mais 9 dias, perfazendo esta data é também retirado. Basicamente através do confinamento da rainha consegue-se quadros com criação para posterior infestação e a sua eliminação da colónia.

Outra técnica de manejo consiste em polvilhar as abelhas com açúcar em pó, de modo a aumentar o seu instinto higiénico. Trata-se de um método eficaz, sem efeitos secundários, pouco dispendioso em termos económicos, mas dispendioso em termos de tempo e pode atrair outros insetos para a colmeia, como formigas (Pires, 2005; Hamdan, 2009).

Outra alternativa assenta na discussão do número de quadros da colmeia; autores, como Rodrigues (2011), sugerem a colocação de 11 quadros no ninho em vez dos tradicionais 10, e assim demonstrou que aumentando a área de criação, aumentava a temperatura da colmeia, permitindo que o ciclo da abelha no alvéolo seja encurtado em 1,5 a 2 dias, nascendo mais cedo, o que leva a que menor quantidade de varroas saiam maduras do alvéolo. E o facto de aumentar a temperatura da criação de 33 °C para 35 °C leva também à disposição de alvéolos de zangão apenas na periferia dos quadros e também a reprodução destes ácaros pode mesmo cessar, caso a temperatura chegue aos 37 °C (Pascoal, 2012).

A utilização de estrados sanitários sem a gaveta coletora (Figura 17) também diminui o número de Varroa destrutor na colmeia, visto que estas caem diretamente para o solo, sem possibilidade de voltar a subir para os quadros (Serrano *et al.*, 2002). Estudos mais antigos (1977 e 1990) indicavam que a uma temperatura de 41° C, os ácaros presentes em abelhas adultas morriam em 5 minutos, e se a temperatura dos alvéolos com criação fosse superior a 36,5° C reduziria significativamente a taxa reprodutiva do varroa (Colin, 2002).



Figura 17. Pormenor de uma colmeia com estrado sanitário (fotografia original, 2018).

2.5. UTILIZAÇÃO DE ACARICIDAS EM PORTUGAL E SUA EFICÁCIA

O *European working group for the coordination of research on integrated Varroa control* (2006) criou *guidelines* para a avaliação da eficácia de tratamentos contra varroose em colónias de abelhas melíferas. Este grupo refere que estudos de investigação deste tipo contém erros e estes devem ser minimizados para não influenciarem os resultados obtidos. A eliminação dos erros seria o mais sensato, contudo sendo impossível por vezes, importa saber que existe uma lista que foi criada nestas *guidelines* e que na realização deste tipo de trabalhos tomaram-se medidas no sentido de os diminuir.

Embora não fosse objetivo deste estudo também era necessário o estudo da eficácia do tratamento e efeitos deste nas abelhas a longo prazo.

Assim, para avaliar a eficácia de tratamento contra a *Varroa*, devem ser realizados os seguintes passos:

- Utilizar estrados sanitários, com folha autocolante, protegida com uma rede, a uma distância superior a 0,8 cm. A rede deve cobrir todo o fundo da colmeia e não se encontrar obstruída por própolis;
- O grupo de controlo deve ter pelo menos o mesmo número de colmeias que os restantes;

- Após aplicação dos acaricidas deve ser feita a contagem de queda de Varroa em intervalos regulares. O intervalo entre contagens varia consoante o tipo de ação do acaricida aplicado. Estes valores devem ser comparados com colónias sem tratamento;
- Depois do tratamento testado, deve ser aplicado um acaricida controlo com um princípio ativo diferente para avaliar o número de Varroas restantes na colmeia;
- A eficácia é calculada pelo número de Varroas mortas durante o tratamento em análise, a dividir pelo número de Varroas mortas durante o tratamento em análise e o tratamento controlo (Pascoal, 2012):

$$\text{Eficácia (\%)} = \frac{\text{número de varroas caídas durante o tratamento}}{\text{número de varroas totais caídas após o tratamento final de controlo}} \times 100$$

Pela inexistência de dados recentes acerca dos acaricidas aplicados em Portugal e segundo os dados existentes mais recentes (rastreamento nacional de 2006) referem que nos 208 apiários que foi feita a recolha de dados sobre o manejo, foram identificados 13 diferentes produtos comerciais contra a varroose, com duração média de tratamento de 1 a 2 meses, aplicados na maioria dos apiários em Janeiro e Julho (Santos *et al.*, 2007).

Sabe-se contudo que atualmente a maioria dos apicultores estão inscritos em associações do setor e como tal o medicamento para a varroose é adquirido através destas, aproveitando o incentivo do estado de 75% do valor do mesmo. Assim estão disponíveis para cada associação todos os tratamentos que contam na lista dos medicamentos de usos veterinário e são escolhidos aqueles que cada associação julga irem ao sentido dos apicultores. Por exemplo na Associação de Apicultores da Terra Quente os medicamentos que costumam estar disponíveis nos últimos dois anos são: Apivar, Apistam, Apitraz e Thymovar ou ApilifeVar (para o modo de produção biológico).

Em média os apicultores realizaram dois tratamentos por ano, colocando o composto de quatro a seis semanas, principalmente no início do ano e antes da colheita de mel (janeiro a março) e depois da cresta (junho a setembro). Destes apicultores, 83% substituíram 3 quadros com cera velha por cera nova laminada, na primavera (Maia *et al.*, 2005).

A eficácia de um produto, neste caso de um varroacidas, é descrita como o número de ácaros caídos durante os 42 dias/ácaros que caíram com tratamento choque ou de controlo (x 100, para obter a %).

A eficácia de tratamento do ácido fórmico, o ácido oxálico e o timol, todos de origem natural, foram obtidos em 2005, e indicavam que os três compostos tinham eficácia elevada no combate da Varroa, mas que o ácido oxálico também levava a um enfraquecimento da colmeia e a uma alta mortalidade de abelhas (Barros *et al.*, 2005). O ácido fórmico, presente naturalmente no mel, pode apresentar eficácia de tratamento da varroose de mais de 95%, caso evaporarem 7 a 10 gramas deste ácido por dia numa colmeia (Colin, 2002).

Estudos realizados pela universidade de Évora, em parceria com a Evoramel, CRL, acerca das substâncias químicas de origem natural permitem obter eficácias globais que permitem remover cerca de 80 %, 70 % e 90 % do número total de varroas existentes numa dada colónia, respetivamente através de tratamentos com ácido fórmico (65%, em esponjas Mitegone), ácido oxálico (duas aplicações, 3.5 % em solução de 1 kg de sacarose num litro de água) e timol (duas aplicações, Apiguard ou Thymovar) (Murilhas e Casaca, 2004). Paralelamente, outro dado relevante é o aumento de produtos para a varroose, disponíveis na lista de medicamentos de usos veterinário homologados, com base nestes produtos químicos de origem natural. Nos últimos dois anos foram autorizados mais 4 novos produtos para a varroose e o princípio ativo de 2 deles é o ácido oxálico e os outros 2 é o ácido fórmico. Acerca do timol pode dizer-se que um estudo realizado já em 1991 por Chiesa concluiu que o tratamento de Varroa com timol em pó tinha, em média, uma eficácia de tratamento de 96,7%.

Também em 2005 , um outro estudo acerca da eficácia de varroacidas, agora químicos de síntese, concretamente acerca da eficácia atual do apistan (amitraz) e do apivar (fluvalinato) na luta contra a varroose em Portugal em colaboração com 3 instituições de ensino (a Universidade de Trás os Montes e Alto Douro, a Universidade de Évora e o Instituto Politécnico de Bragança) conclui que haveria ocorrência de graves prejuízos em apiários de apicultores onde já era evidente a grande probabilidade de existência de populações de varroa resistentes aquelas substâncias utilizadas: fluvalinato e/ou amitraz (Murilhas *et al.*, 2005). Concluíram ainda que nessas colónias haveria de incorrer em níveis de morbilidade / taxas de mortalidade

acrescidas, se continuassem a ser tratadas com esta substância ativa (Murilhas *et al.*, 2005).

A duração dos tratamentos químicos de síntese deve ser no máximo de 6 semanas, consoante a indicação do fabricante, exatamente para obter o melhor desempenho do produto. Uma concentração excessivamente elevada de substâncias ativas pode ser tóxica para as abelhas, e poderia resultar em resíduos nos produtos da colmeia., bem como uma concentração excessivamente baixa pode fazer com que os parasitas se tornem resistentes à substância activa (DGARL, S/D).

Em 2007, apicultores nacionais queixavam-se de uma alarmante diminuição da eficácia do amitraz no combate da Varroa. Foi realizado um estudo com 4000 colmeias, das quais 1579 forneceram dados conclusivos, indicando que 272 destas teriam uma população de Varroa tolerante ao amitraz (utilizando como limite inferior de eficácia os 80%) (Pires *et al.*, 2007). Ainda em 2007, colónias que continham populações de Varroa tolerantes ao fluvalinato, não foram tratadas durante 4 meses, após o qual lhes foi aplicado fluvalinato, demonstrando uma média de eficácia de tratamento de 86% (Pascoal, 2012). Assim, conclui-se que populações tolerantes que deixaram de estar em contacto sucessivamente e/ou de maneira inapropriada com o fluvalinato, rapidamente ficam suscetíveis a este composto (Pires *et al.*, 2007). Os mesmos resultados foram encontrados em colmeias com ácaros resistentes ao amitraz, mas com média de eficácia de 78% (Pires *et al.*, 2007). Num ensaio combinado Apistan® (fluvalinato)+Apiguard® (amitraz) (e ácido oxálico como controlo), realizado em Itália no ano 2008, foi obtida uma média de eficácia de tratamento de 94,32% ($\pm 7,28\%$), apresentando apenas uma colmeia com eficácia abaixo de 90% (75%) (Nunes e Relva, 2011).

Pascoal (2012), no Posto Apícola da Tapada, realizou um ensaio combinando Thymovar® (timol)+Apistan® (fluvalinato) (trocando assim a ordem dos princípios ativos em relação aos ensaios referidos anteriormente), de março a maio de 2011, e usando o amitraz (Apivar®) como controlo. A média de eficácia de tratamento obtida foi de 97,16% ($\pm 3,54\%$), sendo que a eficácia mais baixa foi de 90% e a mais alta perto de 100%. Comparando este ensaio com o que foi realizado em Itália em 2008, conclui-se que ambos são uma boa aposta para lutar contra a Varroa, e que o melhor protocolo a utilizar é aquele em que o timol é aplicado em primeiro lugar, visto ter maior eficácia de tratamento e ser mais fácil escolher o dia com temperaturas mais adequadas para a sua colocação (Nunes e Relva, 2011; Pascoal, 2012).

Em suma a eficácia de tratamento é importantíssima para o desenvolvimento futuro da colmeia, bem como o estudo de novos protocolos de tratamento combinando dois ou mais acaricidas no combate a populações de varroa resistentes.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. ENQUADRAMENTO E OBJETIVOS DO ENSAIO

Os ácaros da Varroa geralmente aumentam lentamente no início da infestação e os sinais clínicos podem ser observados a qualquer momento durante a estação ativa. Os primeiros sinais clínicos de infestação podem ser reconhecidos e este parasitismo é geralmente letal, exceto em algumas áreas, como na América Latina tropical (De Jong, 1997; Ritter *et al.*, 1984). A vida útil dos ácaros em larvas ou abelhas adultas depende da temperatura e humidade, podendo variar de alguns dias a alguns meses.

Como a Varroa é um ácaro ubiqüitário e presente em quase todo o mundo, afetando milhares de milhões de abelhas, é importante que se continue a procurar melhores métodos de controlar este parasita (Potts *et al.*, 2010). Devido à incorreta aplicação dos acaricidas, e à sucessiva utilização das mesmas moléculas químicas nas mesmas colónias, o aparecimento de resistências é cada vez maior (Pires *et al.*, 2006; Pires *et al.*, 2007). Isto faz com que o estudo de novos protocolos de tratamento combinando dois ou mais acaricidas seja importante no combate a populações de Varroa resistentes a certos acaricidas (Nunes e Relva, 2011).

Este ensaio teve como principal objetivo testar a eficácia atual do Apitraz 500 mg (amitraz) e do Bayvarol 3,6 mg (flumetrina) para controlo da varroose da abelha *Apis mellifera* em Portugal e em modo de produção convencional, realizando tratamentos combinados destes acaricidas homologados. Este estudo torna-se importante para verificar a eficácia de ambos os produtos que têm um sistema de atuação idêntico (contato), mas usam substâncias químicas distintas.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Localização dos ensaios

O ensaio decorreu no apiário experimental da Escola Superior Agrária de Bragança, localizado na Quinta do Pinheiro Manso, freguesia de Sé e Santa Maria,

Bragança e na freguesia de Beira Grande, concelho de Carrazeda de Ansiães (Figura 18).

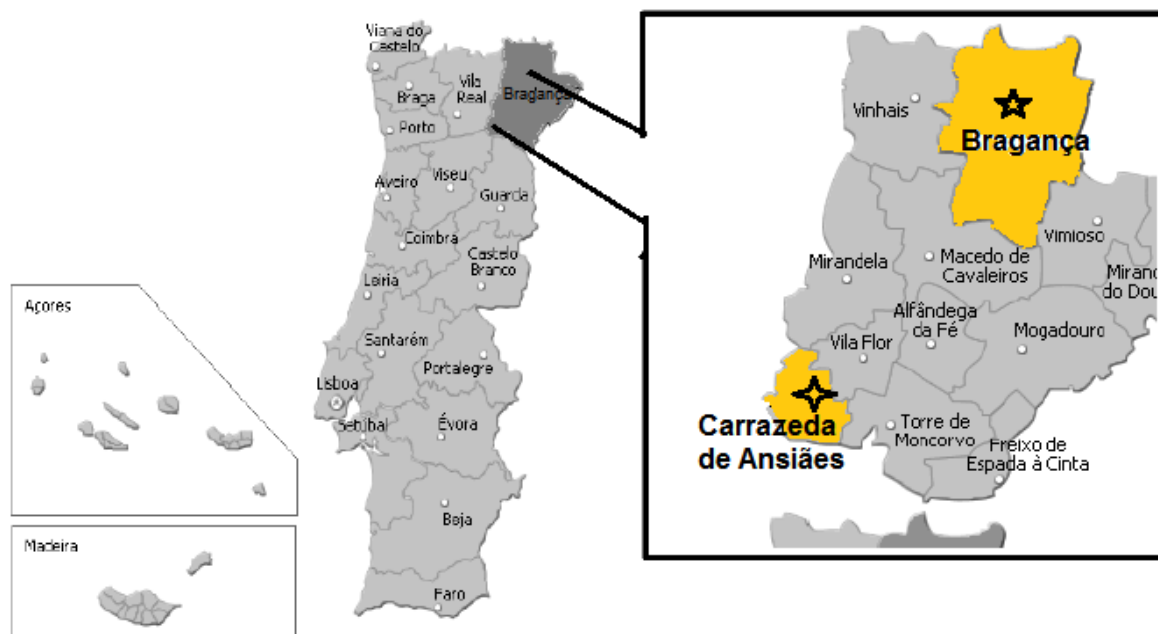


Figura 18. Localização da área de estudo (Adaptado de <http://portugal.veraki.pt>).

Segundo Gonçalves (1991) em Trás-os-Montes distinguem-se dois territórios homogéneos do ponto de vista macro-climático, geomorfológico e agrário, nomeadamente a “Terra Fria” e a “Terra Quente”.

Assim atendendo à localização e falando somente do distrito de Bragança pode incluir-se Bragança na Terra Fria (envolve os concelhos de Bragança e Vinhais) e Carrazeda de Ansiães na Terra quente (envolve os concelhos de Carrazeda de Ansiães, Vila Flor, Alfandega da Fé, Freixo de Espada à Cinta, Torre de Moncorvo, Macedo de Cavaleiros e Mirandela).

A “Terra Fria”, pertencente à Zona de Montanha, corresponde às áreas montanhosas que se situam acima dos 1000 m e que se caracterizam por paisagens arbustivas, entrecortadas por zonas de prado, onde se estabeleceram nas últimas décadas grandes áreas florestais com base em espécies exóticas. Um dos aspectos característicos do clima é o facto de ocorrerem 20 a 30 dias com queda de neve e o período livre de geadas apenas ser seguro nos meses de Julho ou Agosto. No entanto, nas situações topográficas favoráveis à acumulação de ar frio a ocorrência de geada verifica-se em todos os meses do ano. A “Terra Quente” caracteriza-se por apresentar

um período livre de geadas mais longo, desde início de Abril a meados de Novembro. Há no entanto que ter em atenção o facto de nesta região, devido à topografia, ocorrerem fenómenos de inversão térmica muito acusados, que levam a que nas situações de fundo de vale, o período livre de geadas se aproxime em muitos anos do da Terra Fria, tal como acontece na baixa de Mirandela e no Vale da Vilariça (Gonçalves, 1991).

O local onde estão inseridos estes apiários é caracterizado por conter inúmeras espécies da flora autóctone, onde se destaca o rosmaninho em Carrazeda de Ansiães e o carvalho e castanheiro em Bragança. O apiário de Carrazeda de Ansiães encontra-se virado para Sul, protegido de ventos fortes e dividido em quatro filas de colónias, dispersas pelo local (Figura 19), num total de 24 colmeias.



Figura 19. Pormenor do apiário de Carrazeda de Ansiães (fotografia original, 2016).

Por sua vez, o apiário de Bragança, encontra-se virado a sul-este, ficando junto a uma mancha de carrascos e sobreiros e tendo também 24 colmeias (Figura 2).

3.2.2 Abelhas e tipo de colmeia usada

As abelhas presentes nos dois apiários utilizados são da subespécie *Apis mellifera iberiensis*, nativa de Portugal, Espanha e Gibraltar, conhecida por ser resistente a temperaturas mais baixas do que abelhas de outras subespécies (Godinho, 2012).

As colmeias usadas nos dois apiários são do tipo *Langstroth*, com uma largura de 43 cm, comprimento de 51 cm e altura de 24 cm, contendo 10 quadros no ninho.

3.2.3 Maneio habitual nos apiários

O maneio dos apiários assenta na realização do mesmo tipo de tarefas em todos eles, variando apenas a data de realização das mesmas que é influenciada pela colheita de mel. Assim, as tarefas comuns são a colheita de amostras, alimentação artificial, desdobramentos, introdução de rainhas, destruição de alvéolos, tratamentos fitossanitários e colocação de alças. Em Bragança, se fosse estabelecida uma ordem cronológica ao longo do ano poderíamos falar da aplicação de alimento de Inverno até Fevereiro, em Março a realização da 1ª estimulação com alimento líquido e a aplicação de varroacidas, em Abril os desdobramentos e acompanhamento de colónias que estão com problemas no arranque da floração, substituição de rainhas e possivelmente a colocação de alças. Estas tarefas mantêm-se até final de Julho e por volta de Setembro temos a cresta e a aplicação de varroacida novamente e a revisão ao estado geral das colónias, sendo por vezes necessário juntar alguma mais fraca. Antes de terminar o ano aplica-se alimento de inverno e prepara-se as colónias para as temperaturas negativas que aí vem.

No caso de Carrazeda de Ansiães até fim de Janeiro faz-se alimentação de Inverno, em Fevereiro aplica-se alimento líquido e varroacidas, em Março iniciam os desdobramentos e acompanhamento de colónias que estão com problemas no arranque da floração, substituição de rainhas e possivelmente a colocação de alças. Estas tarefas mantêm-se até final de Maio/Junho e por volta de Julho temos a cresta e a aplicação de varroacida novamente. Em Outubro faz-se a revisão ao estado geral das colónias, sendo por vezes necessário juntar alguma mais fraca e avalia-se a possibilidade de infestação por varroa. Ainda em Novembro ano aplica-se alimento de inverno e prepara-se as colónias para a hibernada.

Assim a observação das colónias é frequente, todos os meses, possibilitando uma intervenção mais rápida e eficaz em caso de anomalia, como presença de doença, falta de nutrientes, pilhagem e outros.

3.2.4 Estrados sanitários

Os estrados sanitários utilizados no ensaio são específicos para a colmeia Langstroth, substituindo o fundo de madeira por uma grelha com dimensão suficiente para a passagem do ácaro, mas impossibilitando a passagem das abelhas. As Varroas são assim recolhidas para um tabuleiro revestido com cartolina branca com vaselina (Figura 20), de modo a facilitar a visualização e a contagem dos ácaros, sendo que neste caso ainda se dividiu a folha em 12 pequenos retângulos.



Figura 20. Pormenor de um estrado sanitário (fotografia original, 2016).

3.2.5 Seleção prévia de colónias para o ensaio

As atividades que foram desenvolvidas na primeira fase deste trabalho, que assentou na seleção de colónias a usar, na colocação de tabuleiros para a deteção de varroa de forma aleatória e durante um período de 24h, seguindo a técnica descrita por Calatayud e Verdú (1993) que permite avaliar a população de ácaros nas colmeias, recolhendo e contando os ácaros obtidos a partir dos estrados das colmeias para prognosticar o seu grau de infestação e a sua rapidez de crescimento (Pires, 2006).

Posteriormente foram marcadas aquelas colónias que apresentaram um número superior a 50 varroas/estrado/24h, 60 colónias no total (número superior ao que precisávamos: apenas eram necessárias 48 colónias, 24 para Carrazeda e 24

para Bragança) e foi feita uma recolha de abelhas adultas (entre 50-70 abelhas adultas vivas ou mortas recentemente) e de favo com criação (aberta e fechada e de dimensão não inferior a 12cm x 12cm). A necessidade de um número de amostras maior do que aquele que era necessário (60 em vez de 48 amostras) deveu-se apenas à necessidade de que aquele número de amostras de colónias seria conseguido, uma vez que amostra era limitada.

A recolha de amostras realizou-se de acordo com o protocolo existente atualmente (Manual de Sanidade Apícola, 2007). As análises foram realizadas num dos laboratórios oficiais nacionais (Laboratório de Anatomia Patológica da Escola Superior Agrária de Bragança). A seleção das colónias para o ensaio realizou-se com base na contagem de varroas nos estrados sanitários e ainda na análise anatomopatológica positiva à varroose.

3.2.6 Desenho experimental

Para perceber qual o melhor método de aplicação dos dois acaricidas estudados (Apitraz e Bayvarol), foram utilizados dois grupos de 24 colónias cada um, em dois locais com características climáticas distintas: Carrazeda de Ansiães (Terra Quente Transmontana) e Bragança (Terra Fria Transmontana). Em Bragança estavam as colónias numeradas de 1 a 24 e este era o apiário nº 1 e em Carrazeda de Ansiães estavam as colónias do número 25 a 48 e este era o apiário nº 2. Em cada grupo estavam 24 colónias e essas foram divididas em 4 grupos: 5 colónias não levaram tratamento do início do ensaio até ao fim, 5 colónias foram permanentemente tratadas com Apitraz (nos dois tratamentos), 7 colónias foram tratadas com Apitraz no primeiro tratamento e com Bayvarol no segundo tratamento e por fim 7 colónias foram tratadas com Bayvarol no primeiro tratamento e Apitraz no segundo tratamento (Figura 21). O número de colónias em cada tratamento cumpre o número mínimo de 5 colónias necessárias para a validade deste tipo de estudos e nos grupos em que se pretendia verificar a eficácia do cruzamento dos produtos acaricidas optou-se por ter uma amostra ligeiramente maior (7 colónias), possibilitando uma maior recolha de dados.

No final dos dois tratamentos realizados, procedeu-se, em todas as colónias tratadas a um terceiro tratamento, este de controlo, com um produto biológico homologado para o tratamento da varroose, ApilifeVar.



Figura 21. Desenho gráfico com a descrição dos tratamentos efetuados e as colônias usadas (Adaptado de Pettis, 2012).

O tratamento em Bragança iniciou-se a 20/04/2016 com o primeiro tratamento, a 03/06/2016 fez-se o segundo tratamento e por fim a 16/07/2016 (1ª aplicação) do terceiro tratamento com um produto de controlo (Tabela 5). O tratamento de controlo consistiu em 4 aplicações que por ordem cronológica foram a 16/07/2016 (1ª aplicação), a 22/07/2016 (2ª aplicação), a 30/07/2016 (3ª aplicação) e por fim a 08/08/2016 (4ª aplicação). O tratamento em Carrazeda de Ansiães iniciou-se mais tarde, a 28/04/2016 fez-se o primeiro tratamento, a 13/06/2016 realizou-se o segundo tratamento e por fim a 25/07/2016 (1ª aplicação) o terceiro tratamento, este também com o mesmo produto de controlo. O tratamento de controlo consistiu em 4 aplicações que por ordem cronológica foram a 25/07/2016 (1ª aplicação), a 01/08/2016 (2ª aplicação), a 07/08/2016 (3ª aplicação) e por fim a 13/08/2016 (4ª aplicação).

Após o início da aplicação do terceiro tratamento (controlo), fez-se a recolha de dados por mais 42 dias. O período de tempo entre cada tratamento eram sempre 42 dias, de acordo com o período máximo que o produto deve estar na colónia segundo as regras do fabricante (período igual para todos os produtos).

Aquando da aplicação do terceiro tratamento de controlo e uma vez que as temperaturas estavam acima dos 30 °C, houve necessidade de fazer a aplicação de uma alça a cada uma das colônias, uma vez que apresentaram agitação excessiva e afastamento das abelhas para as zonas onde não estavam as placas de timol. Estas meias alças, bem como as que foram colocadas para colheita de mel (mel que será usado unicamente para alimentação durante o Inverno) foram retiradas apenas após terminar este estudo.

Tabela 5. Datas de aplicação dos tratamentos nos apiários de Bragança e Carrazeda de Ansiães.

Tratamentos	Bragança	Carrazeda de Ansiães
1º Tratamento	20/04/2016	28/04/2016
2º Tratamento	03/06/2016	13/06/2016
3º Tratamento; 1ª Aplicação	16/07/2016	25/07/2016
3º Tratamento; 2ª Aplicação	22/07/2016	01/08/2016
3º Tratamento; 3ª Aplicação	30/07/2016	07/08/2016
3º Tratamento; 4ª Aplicação	08/08/2016	13/08/2016

3.2.7 Medições e análises

3.2.7.1 Temperaturas interna das colmeias e exterior

Os dados meteorológicos foram recolhidos em cada apiário em 3 colónias, com recurso a um termómetro, uma à entrada do apiário, outra a meio do apiário e a última à saída do apiário (Figura 22). Estas colónias foram sempre as mesmas do início ao fim do trabalho, à exceção do apiário de Carrazeda em que morreu uma colónia e a temperatura começou a ser medida na colónia seguinte. Em cada dia de contagem foi recolhida a temperatura, até mesmo na contagem prévia e o período de registo da temperatura variou entre os 3 e os 7 dias, conforme eram as contagens de varroa.

Em relação às temperaturas recolhidas importa referir que esta análise pretende mostrar a evolução da temperatura em zonas distintas (Terra Quente e Terra Fria) e perceber como evoluem as temperaturas exteriores e interiores das colónias.



Figura 22. Pormenor de uma colmeia com sensor de recolha de temperatura interna e externa (fotografia original, 2016).

3.2.7.2 Contagem de queda de varroas na fase pré-ensaio

A queda natural de varroas adultas está parcialmente associada ao número de varroas existentes na colónia, por isso a contabilização antes de iniciar-se o tratamento revela a intensidade da infestação e permite perceber se começamos com pontos de partida iguais ou diferentes neste sentido. A queda de Varroas por morte natural foi contabilizada na semana de a 8 a 20 de Abril de 2016 em Bragança e de 16 a 28 de Abril em Carrazeda de Ansiães. A cada 4 dias houve uma contagem, perfazendo o total de 3 contagens no período de 12 dias. Os estrados sanitários foram colocados sucessivamente em todas as colmeias do apiário, com uma folha de cartolina untada com vaselina e sendo higienizados e desinfetados entre cada utilização. A contagem foi realizada a olho nu e com auxílio de uma lupa manual.

3.2.7.3 Contagem de queda de varroas durante os tratamentos

As contagens de varroas foram realizadas com intervalo de 3 dias até 7 dias no máximo consoante as condições climatéricas e a disponibilidade de deslocação (entre os apiários distam mais de 100 km). Os tabuleiros ou estrados sanitários foram sempre revestidos com uma folha de cartolina untada com vaselina de forma a não se perder varroas na contagem devido ao período de tempo que decorria entre as contagens.

O primeiro tratamento fez-se em Bragança (dai que essas colónias tenham ficado com o número de registo 1 a 24) e ocorreu a 20/04/16, o 2^o tratamento a 03/06/2016 e o terceiro e último tratamento ocorreu a 16/07/2016. O primeiro tratamento fez-se em a 28/04/16 (começou depois de Bragança, abrange as colónias 25 a 48), o 2^o tratamento a 13/06/2016 e o terceiro e último tratamento ocorreu a 25/07/2016. O período de tempo entre os vários tratamentos correspondeu a 42 dias, período máximo de aplicação do produto indicado na bula do medicamento. Em cada contagem foi registada a hora de recolha dos tabuleiros coletores, selecionada consoante as condições meteorológicas, sendo recolocados os tabuleiros imediatamente no momento da retirada.

3.2.7.4 Avaliação da eficácia dos tratamentos

A eficácia de tratamento foi calculada para cada colmeia, utilizando o número da queda estimada de Varroas e aplicada na seguinte fórmula:

$$\text{Eficácia (\%)} = \frac{\text{número de varroas caídas durante o tratamento}}{\text{número de varroas totais caídas após o tratamento final de controlo}} \times 100$$

Foi também calculada a média de eficácia para cada grupo, nos dois apiários de modo a poder compará-los entre si.

3.2.7.5 Edição de dados e análises estatísticas

Os dados recolhidos no campo durante os ensaios foram compilados para bases de dados criadas no excel, nomeadamente os registos de temperatura interna (na colmeia) e externa, os valores de queda natural de varroas na fase inicial de avaliação de infestação e os valores de queda de varroas durante o período do ensaio de campo.

Efetuámos análises descritivas para as variáveis em estudo, de acordo com os tratamentos aplicados e o grupo controlo, considerando a colónia (colmeia) a unidade experimental.

Para avaliação das diferenças do número de varroas caídas das colónias, por tratamento, na fase pré-ensaio, bem como na avaliação da eficácia, por tratamento, utilizamos a análise de variância (ANOVA). Foi aplicado, quando se justificava, o teste de comparação múltipla de médias LSD (*Least Significance Differences*).

O nível de significância considerado foi 0,05. Os testes estatísticos foram produzidos usando o programa IBM SPSS Statistics, versão 25.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Evolução das temperaturas

O registo das temperaturas externas e internas permite tirar várias conclusões no trabalho e sobretudo permite perceber o seu desenvolvimento ao longo de um ciclo

produtivo na colmeia. A temperatura externa influencia a temperatura interna e ambas influenciam a vida na colmeia.

No Gráfico 3 observam-se as temperaturas no apiário de Bragança, Terra Fria Transmontana, e verifica-se que a temperatura interior (linha vermelha) ronda os 32 °C a 12/04/2016, altura em que se iniciou a contagem prévia e atinge um pico máximo a 29/07/2016 com valores acima dos 40 °C e termina com valores semelhantes aqueles registados no início do trabalho.

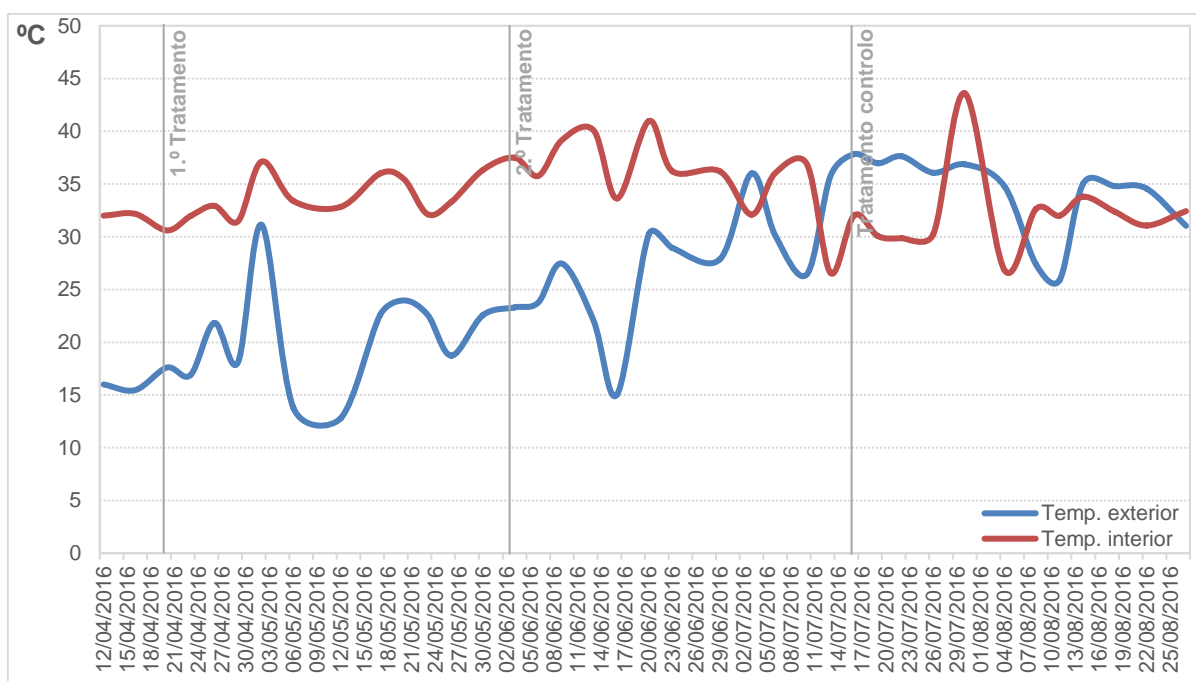


Gráfico 3. Evolução da temperatura média no exterior e no interior das colmeias no apiário de Bragança.

Durante todo o trabalho as temperaturas são sempre superiores a 25 °C. Quanto à temperatura exterior (linha azul) verifica-se que começa nos 16 °C, atinge um pico a 30/04/2016 atingindo os 31 °C e descendo logo depois para os valores mais baixos registados, cerca de 13 °C. A temperatura volta a subir e a descer, repetindo este ciclo 4 vezes ao longo de todo este período, sendo que a temperatura máxima registada são 37 °C.

As temperaturas ocorridas no dia de aplicação dos tratamentos e no caso concreto da aplicação de produtos químicos (varroacidas) este fator é importante pois pode influenciar diretamente a eficácia das aplicações, sobretudo quando os produtos

são óleos essenciais como o timol. A aplicação do ApilifeVar ocorreu entre 16/07/2016 e 08/08/2016 e neste período a temperatura exterior esteve sempre acima dos 37 °C.

No caso de Carrazeda de Ansiães, Terra Quente Transmontana, verifica-se, no Gráfico 4, que a temperatura interior (linha vermelha) ronda os 31 °C no início deste trabalho, apresenta algumas oscilações entre o valor máximo de 47 °C a 09/08/2016 e o valor mínimo de 23 °C a 13/07/2016.

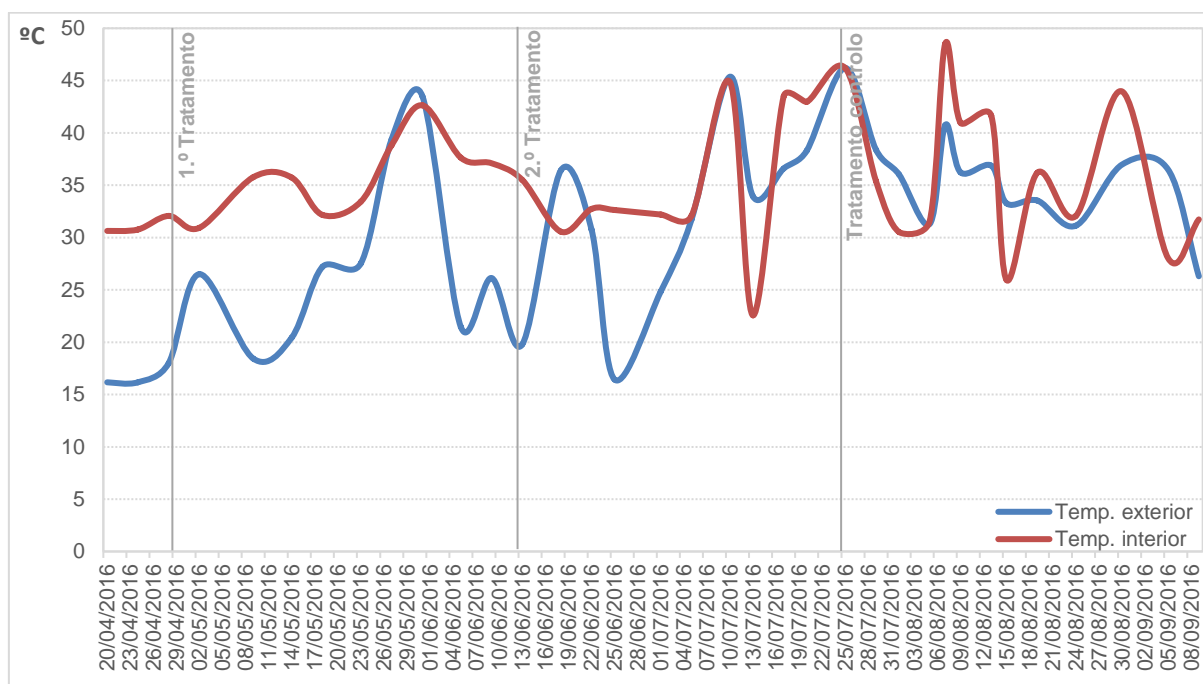


Gráfico 4. Evolução da temperatura média no exterior e no interior das colmeias no apiário de Carrazeda de Ansiães.

Durante todo o trabalho, as temperaturas são sempre superiores a 25 °C. Quanto à temperatura exterior (linha azul) verifica-se que começa nos 16 °C/17 °C, atinge vários picos, sendo que o valor máximo registado foi a 19/07/2016, com mais de 45 °C. O valor mínimo registado foram os 17 °C.

Pode também verificar-se que a temperatura exterior ocorrida no dia de aplicação dos tratamentos e no caso da aplicação do ApilifeVar, que ocorreu entre 25/07/2016 e 13/08/2016, também esteve sempre acima dos 30 °C.

Segundo Jean-Prost (1987), um aumento da propagação do medicamento pela colmeia pode ser conseguido com baixas temperaturas, tal como a elevada taxa de humidade relativa e a elevada precipitação, pois as abelhas coletoras permanecem

na colmeia durante mais tempo, aumentando a temperatura interna nesta, bem como o contacto entre abelhas e o acaricida, e mesmo entre as próprias abelhas.

O ApilifeVar, tal como o thymovar, deve ser aplicado durante 4 semanas (Andermatt BioVet AG, 2007) tendo em conta as temperaturas adequadas (idealmente entre os 20 °C e os 25 °C). No entanto, no caso concreto destes dois locais, a temperatura foi muito superior ao recomendado pelo que o timol deve ter evaporado muito rapidamente da colónia (Murilhas e Casaca, 2005; Andermatt BioVet AG, 2007; CAP, 2007). Nestas colónias era evidente o afastamento das abelhas das zonas onde estavam as talas do ApilifeVar, no entanto por diversas questões não foi possível reajustar o protocolo. No entanto foi colocada uma meia alça a cada colónia para minimizar estes efeitos de evaporação excessiva.

Segundo Pascoal (2012), os valores de queda de varroas tende a aumentar com o aumento da temperatura, o que nos indica poder haver maior libertação do princípio ativo em temperaturas mais elevadas, no entanto não se verificou nestes dois apiários.

Ambos os locais apresentavam temperaturas médias superiores a 30 °C durante o tratamento, contrariando indicação do fabricante, pelo que este fator pode ter influenciado a evaporação do produto ou ainda estar relacionado com o colapso do maior número de colmeias neste período onde ocorreu a aplicação (Tabela 6).

Tabela 6. Mortalidade (colapso) de colónias durante o ensaio.

Tratamento	1.º	2.º	Controlo
Sem tratamento		1 (Carrazeda)	1 (Carrazeda) + 1 (Bragança)
Apit+Apit+Apilife			1 (Carrazeda)
Apit+Bay+Apilife			1 (Carrazeda)
Bay+Apit+Apilife		1 (Bragança)	1 (Carrazeda) + 1 (Bragança)

Na Tabela 6 podemos verificar que durante o 1º tratamento não ocorreu mortalidade nas colónias em estudo, contudo durante o 2º tratamento houve 2 colónias que morreram (uma em cada apiário) e durante o 3º tratamento houve 6 colónias que morreram. No tratamento ApilifeVar houve mortalidade superior nas colónias sem tratamento e nas colónias do tratamento Bayvarol+Apitraz+ApilifeVar.

No total houve uma redução de efetivo de 16,7%, 20,8% em Carrazeda e 12,5% em Bragança.

3.3.2 Avaliação inicial (pré-ensaio) das colmeias

A avaliação inicial das colónias pretendia mostrar o estado de infestação das mesmas, a intensidade de infestação, para assim perceber se iniciamos o estudo no mesmo ponto de partida em todas as colónias.

Na Tabela 7 analisamos os valores de queda de varroa na fase pré-ensaio e, através das somas dos valores de queda, podemos verificar que, no caso de Bragança, não há diferença significativa nos valores encontrados (média entre 673,7 e 751,0) entre tratamentos ($p > 0,05$), no entanto em Carrazeda há diferença entre tratamentos (média entre 667,3 e 1017) ($p < 0,05$).

Tabela 7. Queda total de varroas durante o período inicial de controlo de infestação das colónias, por tipo de tratamento usado posteriormente em cada apiário e no global.

Tratamentos	N	Média ± DP	Mínimo	Máximo
<i>Bragança</i>				
Sem tratamento	5	751,0 ± 363,7	198	1114
Apitraz+Apitraz+Apilifevar	5	719,4 ± 346,1	300	1263
Bayvorol+Apitraz+Aplilifevar	7	682,7 ± 309,7	336	1128
Apitraz+Bayvorol+Apilifevar	7	673,7 ± 232,3	395	983
$p=0,972$ (ns)				
<i>Carrazeda de Ansiães</i>				
Sem tratamento	5	903,8 ± 323,3 ^{a,b}	550	1210
Apitraz+Apitraz+Apilifevar	5	1017,4 ± 111,3 ^b	922	1156
Bayvorol+Apitraz+Aplilifevar	7	667,3 ± 249,0 ^a	418	973
Apitraz+Bayvorol+Apilifevar	7	703,4 ± 74,7 ^a	588	816
$p=0,030$ (*)				
<i>Global</i>				
Sem tratamento	10	827,4 ± 334,3	198	1210
Apitraz+Apitraz+Apilifevar	10	868,4 ± 288,8	300	1263
Bayvorol+Apitraz+Aplilifevar	14	675,0 ± 270,1	336	1128
Apitraz+Bayvorol+Apilifevar	14	688,6 ± 166,5	395	983
$p=0,206$ (ns)				

Em termos de valores mínimos e máximos registados pode dizer-se que de uma forma geral, o valor mínimo foi encontrado no grupo de controlo com uma média

de 198 e o máximo foi de 1263 no grupo Apitraz+Apitraz. A utilização de colónias com números muito elevados de queda de Varroas pode prejudicar o ensaio por morte dessas colónias em casos de infestação massiva da colmeia por este ácaro. Por outro lado, podemos aferir se o tratamento é eficaz em colónias com grandes infestações de *Varroa destructor*, e não apenas na presença de pequena quantidade destes ácaros (Pascoal, 2012), facto que também se verificou neste trabalho.

Com isto, podemos concluir que apesar de todos os esforços no sentido de uniformizar as colónias (as 3 fases de selecção), os pontos de partida em termos de infestação eram diferentes, com valores de queda diferentes. Nesta fase, após a selecção de colónias a utilizar, juntamente com a pressão para iniciar o trabalho sob pena de as colmeias voltarem a ficar diferentes em termos de população e a não existência de colónias opcionais, não permitiu que fossem seleccionadas outras colónias.

No entanto, embora os valores de infestação se mostrem diferentes no mesmo ponto de partida, o facto de haver mais varroas, aparentemente não influenciou negativamente os tratamentos. Posteriormente verificaremos que, as colónias que obtiveram maior eficácia no uso dos tratamentos nos dois apiários foram as onde se usou Apitraz+Apitraz e, coincidentemente, foram aquele grupo que tinha uma taxa de infestação superior aos restantes, nomeadamente no apiário de Carrazeda de Ansiães (1017 no grupo Apitraz+Apitraz, contra 667,3 no grupo Bayvarol+Apitraz, 703,4 no grupo Apitraz+Bayvarol e sem tratamento com 903,8).

Apesar de tudo, de um modo global, não verificámos diferenças significativas nesta fase pré-ensaio nos níveis de infestação entre tratamentos ($p>0,05$).

3.3.3 Avaliação geral do efeito dos tratamentos na contagem de varroas

O Gráfico 5 mostra a queda de varroa diária no apiário durante todo o ensaio, em Bragança, nas colónias sem tratamento (5 colónias), nas colónias que fizeram tratamento com Bayvorol+Apitraz+Apilifevar (7 colónias), nas colónias que fizeram Apitraz+Apitraz+Apilifevar (5 colónias) e nas colónias que fizeram Apitraz+Bayvarol+Apilifevar (7 colónias). O primeiro registo de dados foi realizado a 23/04/2016 e o último a 27/08/2016. No apiário de Bragança, em 20/04/2016, foi feito o primeiro tratamento; em 03/06/2016 realizou-se o segundo tratamento e em

16/07/2016 teve lugar o terceiro tratamento. O controlo foi aplicado a todos os grupos, exceto ao grupo sem tratamento.

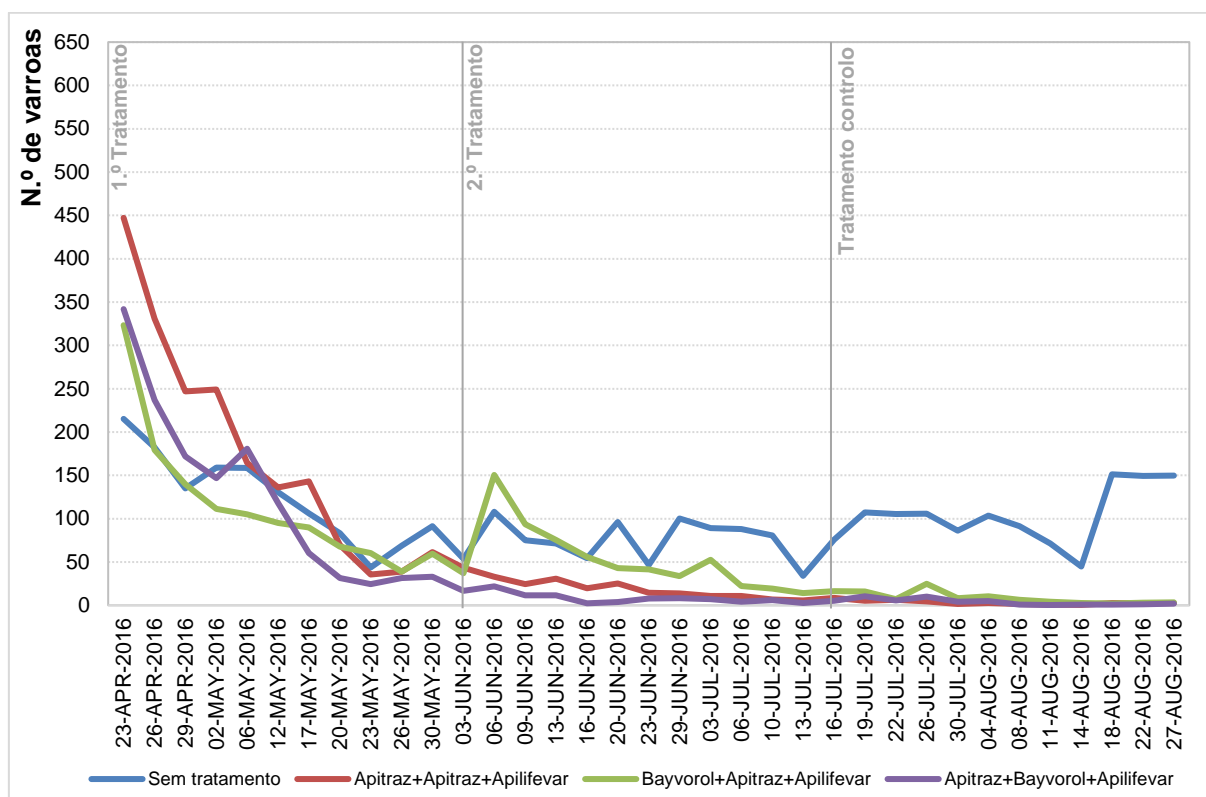


Gráfico 5. Queda média diária de varroa no apiário de Bragança, durante todo o ensaio, de acordo com o tratamento.

No Gráfico 5 podemos analisar que no início deste tratamento os valores de queda diária de varroa resultante da ação dos acaricidas apresentavam valores elevados. Em todos os grupos houve aumento do número de queda diária de varroas logo após o tratamento realizado a 20/04/2016 à exceção do grupo Bayvorol+Apitraz+ApilifeVar em que os valores de queda reduziram drasticamente. Também é evidente que as colónias do grupo sem tratamento apresentavam uma queda diária superior aquela apresentada pelos grupos em tratamento e termine mesmo com o aumento do número de queda diária de varroas (passou das quase 300 varroas na fase inicial para as mais de 400 na fase final), embora não encontre nenhuma explicação para este fato que é visível. Da mesma forma, o comportamento das linhas é mais ou menos semelhante entre os vários grupos, à exceção do grupo controlo, e todos os grupos acabam com valores de queda diários muito próximos de 0. No entanto, os tratamentos que tiveram um comportamento mais rápido e evidente

na queda diária de varroa foram aqueles em que foi aplicado Apitraz na 1ª fase, mantendo depois a persistência ao longo dos restantes tratamentos.

Em Carrazeda de Ansiães o primeiro registo de dados foi a 28/04/2016 e o último a 05/09/2016. O Gráfico 6 mostra a queda de varroa diária no apiário durante todo o ensaio, em Carrazeda de Ansiães, nas colónias sem tratamento (5 colónias), nas colónias que fizeram tratamento com Bayvorol+Apitraz+Apilifevar (7 colónias), nas colónias que fizeram Apitraz+Apitraz+Apilifevar (5 colónias) e nas colónias que fizeram Apitraz+Bayvarol+Apilifevar (7 colónias). No apiário de Carrazeda, foi realizado o primeiro tratamento a 28/04/2016, a 13/06/2016 o segundo tratamento e em 16/07/2016 realizou-se o terceiro tratamento. O controlo foi aplicado a todos os grupos, menos ao grupo sem tratamento.

No conjunto dos dois locais em estudo conclui-se que de acordo com Nunes e Relvas (2011) poderíamos observar uma ação do timol mais exuberante que a ação de outras substâncias químicas de síntese, que por sua vez, apresentam uma ação mais estável e duradoura, no entanto não foi o que se verificou neste trabalho. Na aplicação do 3º tratamento, este de controlo, não há maior queda de varroas registadas nesse período, mantendo-se uma queda diária estável, quer em Carrazeda como em Bragança.

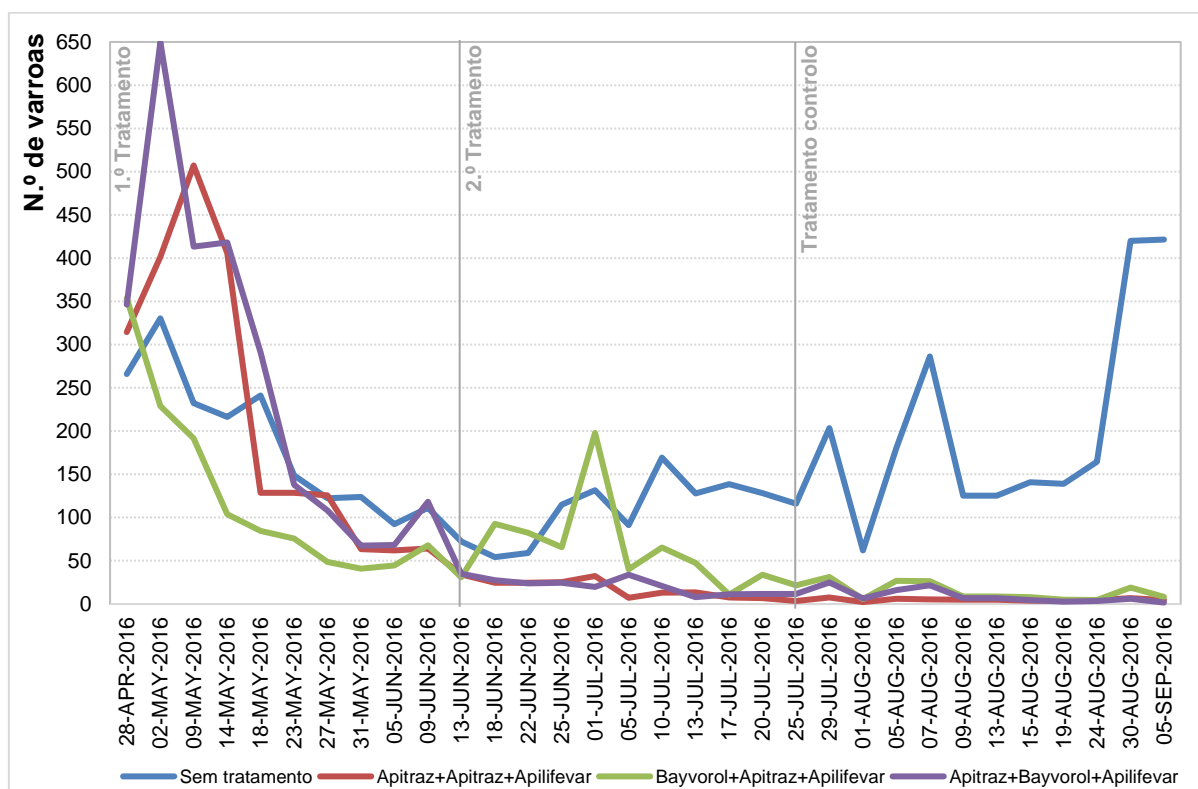


Gráfico 6. Queda média diária de varroa no apiário de Carrazeda de Ansiães, durante todo o ensaio, de acordo com o tratamento.

3.3.4 Eficácia dos tratamentos de acordo com a localização do apiário

De seguida apresentam-se os resultados que permitem comparar a eficácia de cada um dos tratamentos e em cada um dos locais: Bragança (apiário 1) e Carrazeda de Ansiães (apiário 2).

3.3.4.1 Bragança

A média representa a eficácia do tratamento e pode ver-se a eficácia individual em cada um dos tratamentos e por fim no último bloco do quadro 1 a eficácia dos tratamentos completos, como um todo.

Como exposto na Tabela 8, nos primeiros tratamentos de varroa no apiário de Bragança, aquele que demonstrou mais eficácia foi o tratamento com Apitraz+Bayvorol+Apilifevar (7 colónias) (91,3%), onde o mínimo e o máximo oscilam entre 84,1 e 100,0, seguindo-se o tratamento com Apitraz+Apitraz+Apilifevar (5 colónias) com uma eficácia de 87,1%, registando-se um mínimo de 80,6 e um máximo de 91,9. O primeiro tratamento com menor eficácia foi Bayvorol+Apitraz+Aplilifevar (7 colónias) (65,3%), com diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Nos segundos tratamentos, o que mais eficácia teve foi o tratamento com Bayvorol+Apitraz+Aplilifevar (7 colónias) (30,4%) com um mínimo e um máximo a oscilarem entre 15,5 e 42,7 (sendo este o de menor eficácia nos primeiros tratamentos), seguindo-se a eficácia do grupo sem tratamento (5 colónias) (25,4%), com um mínimo de 15,1 e um máximo de 36,3, revelando-se o tratamento com Apitraz+Bayvorol+Apilifevar (6 colónias) o menos eficaz (7,3%), oscilando o mínimo e o máximo entre 3,9 e 12,2 (sendo este o mais eficaz nos primeiros tratamentos), resultando em relevância estatisticamente significativa ($p = 0,000$). No caso do grupo sem tratamento (4 colónias), não foi realizado qualquer tratamento final de controlo, considerando-se o número total de varroas contadas no final do ensaio, o número total de varroas existentes nas colmeias, onde se regista uma eficácia de 22,7%, sendo o mínimo 3,2 e o máximo 32,8. O tratamento com menor eficácia foi com Apitraz+Apitraz+Apilifevar (5 colónias) (1,5%), sendo o mínimo 0,7 e o máximo 2,5, com diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

Tabela 8. Eficácia do uso dos tratamentos contra a varroa, por ordem de aplicação e tratamentos completos, no apiário de Bragança.

Tratamentos	N	Média ± DP	Mínimo	Máximo
<i>Primeiros tratamentos</i>				
Sem tratamento	5	56,5 ± 23,6 ^a	37,1	84,9
Apitraz+Apitraz+Apilifevar	5	87,1 ± 4,3 ^b	80,6	91,9
Bayvorol+Apitraz+Aplilifevar	7	65,3 ± 10,0 ^a	52,2	77,9
Apitraz+Bayvorol+Apilifevar	7	91,3 ± 5,7 ^b	84,1	100,0
<i>p=0,000 (***)</i>				
<i>Segundos tratamentos</i>				
Sem tratamento	5	25,4 ± 9,3 ^b	15,1	36,3
Apitraz+Apitraz+Apilifevar	5	11,4 ± 4,2 ^a	7,4	18,1
Bayvorol+Apitraz+Aplilifevar	7	30,4 ± 9,4 ^b	15,5	42,7
Apitraz+Bayvorol+Apilifevar	6	7,3 ± 3,8 ^a	3,9	12,2
<i>p=0,000 (***)</i>				
<i>Tratamento de controlo</i>				
Sem tratamento †	4	22,7 ± 13,5 ^b	3,2	32,8
Apitraz+Apitraz+Apilifevar	5	1,5 ± 0,8 ^a	0,7	2,5
Bayvorol+Apitraz+Aplilifevar	7	4,2 ± 2,0 ^a	1,6	6,6
Apitraz+Bayvorol+Apilifevar	6	2,9 ± 1,2 ^a	1,3	5,0
<i>p=0,000 (***)</i>				
<i>Tratamentos completos</i>				
Sem tratamento	4	77,3 ± 13,5 ^a	67,2	96,8
Apitraz+Apitraz+Apilifevar	5	98,5 ± 0,8 ^b	97,5	99,3
Bayvorol+Apitraz+Aplilifevar	7	95,8 ± 2,0 ^b	93,4	98,4
Apitraz+Bayvorol+Apilifevar	6	97,1 ± 1,2 ^b	95,0	98,7
<i>p=0,000 (***)</i>				

† No caso das colónias sem tratamento, não foi realizado qualquer tratamento de controlo, considerando-se o número total de varroas contadas no final do ensaio, genericamente, o número total de varroas existentes nas colmeias. Letras diferentes em coluna implicam eficácias de tratamento diferentes ($p < 0,05$).

Em termos de tratamentos completos (Tabela 8 e Gráfico 7), verifica-se que os valores médios de eficácia nos grupos tratados com algum medicamento estão muito próximos ($p > 0,05$), apresentando apenas diferenças significativas o grupo sem tratamento. Contudo, o tratamento com mais eficácia foi o Apitraz+Apitraz+Apilifevar (5 colónias) (98,5%), com um mínimo e um máximo a oscilarem entre 97,5 e 99,3. O

grupo sem tratamento (4 colónias) foi o que revelou menor eficácia (77,3%), oscilando o mínimo e o máximo entre de 67,2 e 96,8.

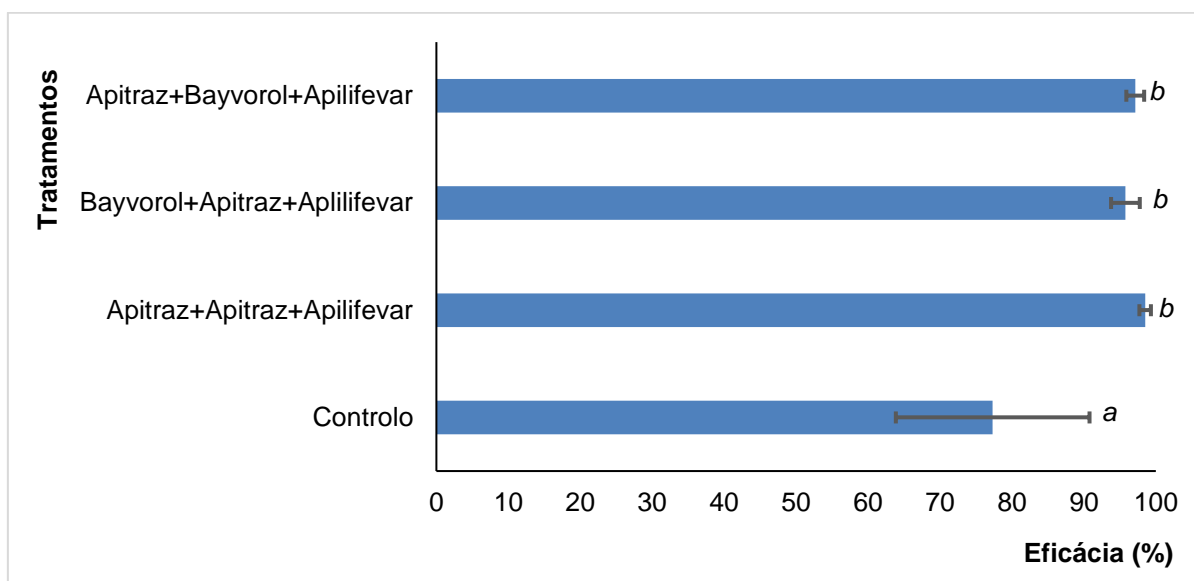


Gráfico 7. Eficácia global média (desvios padrão em linhas de erro) do uso dos tratamentos completos contra a varroa, no apiário de Bragança.

3.3.4.2 Carrazeda de Ansiães

Na Tabela 9 constam os resultados obtidos em relação ao uso dos tratamentos contra a varroa, por ordem de aplicação e tratamentos completos, no apiário de Carrazeda de Ansiães. Assim, constata-se que nos primeiros tratamentos, aquele que revela maior eficácia é o que se aplicou o produto Apitraz+Apitraz+Apilifevar (91,2%) (5 colónias), oscilando o mínimo e o máximo entre 86,9% e 98,4%), sendo o de menor eficácia o tratamento com Bayvorol+Apitraz+Aplilifevar (70,2%) (5 colónias), com um mínimo de 48,2% e um máximo de 99,7%, passando a ser este o de maior eficácia no segundo tratamento (24,2%) (7 colónias), oscilando o mínimo e o máximo entre 0,3% e 41,7%. Regista-se a mesma eficácia para o tratamento com Apitraz+Apitraz+Apilifevar (5 colónias) e para Apitraz+Bayvorol+Apilifevar (7 colónias) (6,9%, respetivamente).

Há a registar que o tratamento com Apitraz+Apitraz+Apilifevar foi o de maior eficácia no primeiro tratamento, mas com menor eficácia no segundo tratamento. Em relação ao tratamento de controlo, o tratamento com maior eficácia (6,5%) foi o relativo ao produto Bayvorol+Apitraz+Aplilifevar (6 colónias), onde o mínimo é 1,9% e o máximo 11,0%, com menor eficácia no primeiro tratamento e maior eficácia no

segundo tratamento. O tratamento com Apitraz+Apitraz+Apilifevar (4 colónias) revelou menor eficácia (2,4%), registando um mínimo de 1,9% e um máximo de 3,9% de eficácia. De realçar que o uso deste produto no primeiro tratamento foi o que registou maior eficácia, mas com menor eficácia no segundo tratamento. Em relação aos valores obtidos nos tratamentos completos, constata-se que o Apitraz+Apitraz+Apilifevar (4 colónias) teve maior eficácia (97,6%), oscilando o mínimo e o máximo entre 96,1% e o 98,1% de eficácia, o que é igual no momento do primeiro tratamento, mas diferente do segundo tratamento e no tratamento de controlo, onde a eficácia deste produto foi menor. O que obteve menor eficácia foi o tratamento completo com Bayvorol+Apitraz+Aplilifevar (6 colónias) (93,5%), onde o mínimo é 89,0% e o máximo 98,1%, coincidente com o nível de eficácia no primeiro tratamento. Todavia, difere em relação ao segundo tratamento e no tratamento de controlo, onde se revelou o mais eficaz.

No caso do tratamento de controlo, não foi realizado qualquer tratamento final, considerando-se o número total de varroas contadas no final do ensaio, o número total de varroas existentes nas colmeias.

A análise do Gráfico 8 mostra que a eficácia no grupo sem tratamento (controlo) no apiário de Carrazeda de Ansiães é mais baixa ($p < 0,05$) em relação aos restantes tratamentos, verificando-se estes estatisticamente iguais ($p > 0,05$).

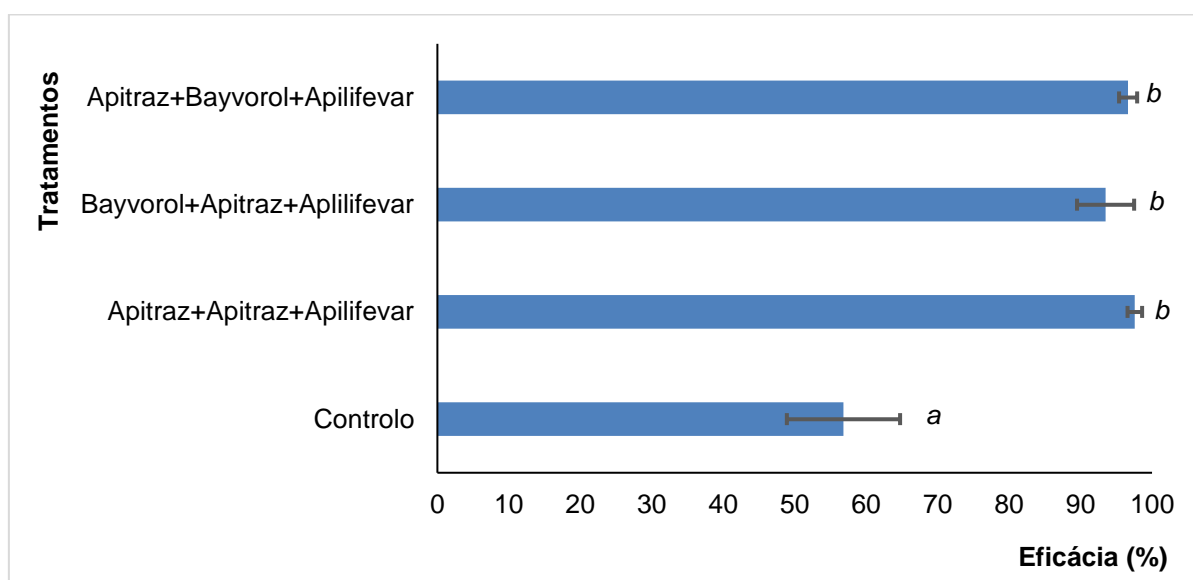


Gráfico 8. Eficácia global média (desvios padrão em linhas de erro) do uso dos tratamentos completos contra a varroa, no apiário de Carrazeda de Ansiães.

Tabela 9. Eficácia do uso dos tratamentos contra a varroa, por ordem de aplicação e tratamentos completos, no apiário de Carrazeda de Ansiães.

Tratamentos	N	Média ± DP	Mínimo	Máximo
<i>Primeiros tratamentos</i>				
Sem tratamento	5	47,9 ± 29,8 ^a	29,2	100,0
Apitraz+Apitraz+Apilifevar	5	91,2 ± 4,5 ^c	86,9	98,4
Bayvorol+Apitraz+Aplilifevar	7	70,2 ± 17,5 ^b	48,2	99,7
Apitraz+Bayvorol+Apilifevar	7	90,2 ± 5,0 ^c	84,8	99,4
		$p=0,001$ (***)		
<i>Segundos tratamentos</i>				
Sem tratamento	4	22,0 ± 4,7 ^b	17,7	28,5
Apitraz+Apitraz+Apilifevar	5	6,9 ± 3,7 ^a	1,6	11,2
Bayvorol+Apitraz+Aplilifevar	7	24,2 ± 14,8 ^c	0,3	41,7
Apitraz+Bayvorol+Apilifevar	7	6,9 ± 3,5 ^a	0,6	11,1
		$p=0,003$ (**)		
<i>Tratamento de controlo</i>				
Sem tratamento †	4	43,2 ± 7,9 ^b	33,2	52,5
Apitraz+Apitraz+Apilifevar	4	2,4 ± 1,0 ^a	1,9	3,9
Bayvorol+Apitraz+Aplilifevar	6	6,5 ± 4,0 ^a	1,9	11,0
Apitraz+Bayvorol+Apilifevar	6	3,3 ± 1,3 ^a	2,3	5,6
		$p=0,000$ (***)		
<i>Tratamentos completos</i>				
Sem tratamento	4	56,8 ± 7,9 ^a	47,5	66,8
Apitraz+Apitraz+Apilifevar	4	97,6 ± 1,0 ^b	96,1	98,1
Bayvorol+Apitraz+Aplilifevar	6	93,5 ± 4,0 ^b	89,0	98,1
Apitraz+Bayvorol+Apilifevar	6	96,7 ± 1,3 ^b	94,4	97,7
		$p=0,000$ (***)		

† No caso das colónias sem tratamento, não foi realizado qualquer tratamento de controlo, considerando-se o número total de varroas contadas no final do ensaio, genericamente, o número total de varroas existentes nas colmeias. Letras diferentes em coluna implicam eficácias de tratamento diferentes ($p<0,05$).

Constata-se ainda que as temperaturas e a disposição das colmeias nos dois locais foram diferentes, no entanto foram aplicados os mesmos tratamentos a cada grupo de colmeias. Contudo a eficácia dos tratamentos é quase a mesma em Bragança e em Carrazeda de Ansiães e estatisticamente pode este dado não ser significativo. Porém, verifica-se que a taxa de eficácia oscila entre os 95,8 (valor mínimo) e 98,5 (valor máximo), sendo que o grupo sem tratamento representa 77,3% de eficácia.

3.3.5 Avaliação global da eficácia dos tratamentos

Foram analisados os dois apiários em conjunto (Bragança e Carrazeda de Anciães), e podemos analisar a dispersão dos valores de eficácia dos tratamentos consoante a ordem de tratamento (aplicação) e no caso dos tratamentos completos (Gráficos 9 a 12).

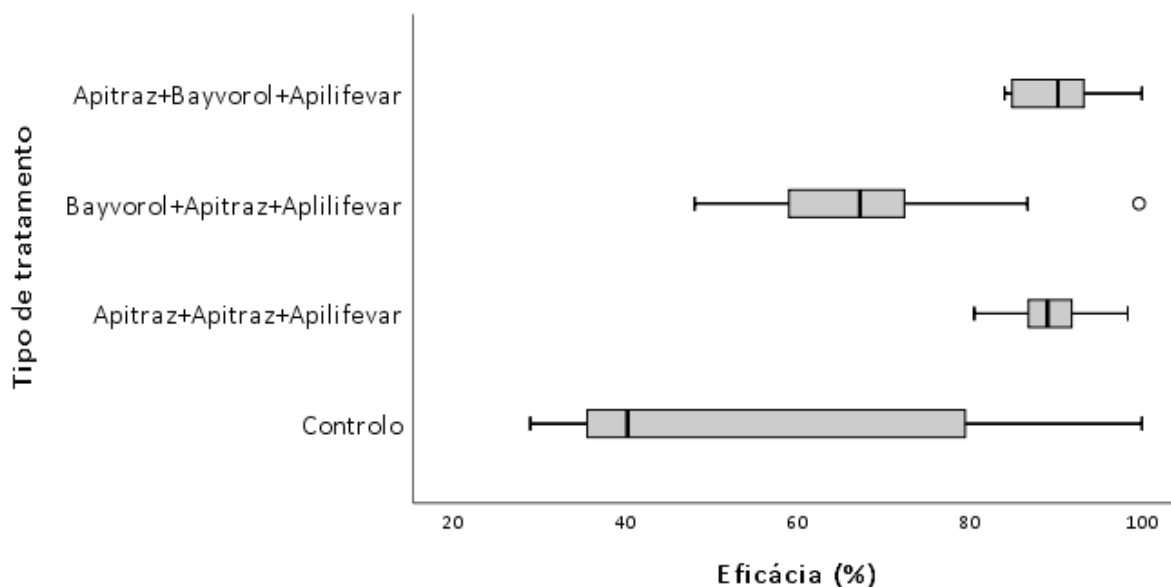


Gráfico 9. Distribuição da eficácia dos tratamentos contra a varroa, na primeira aplicação.

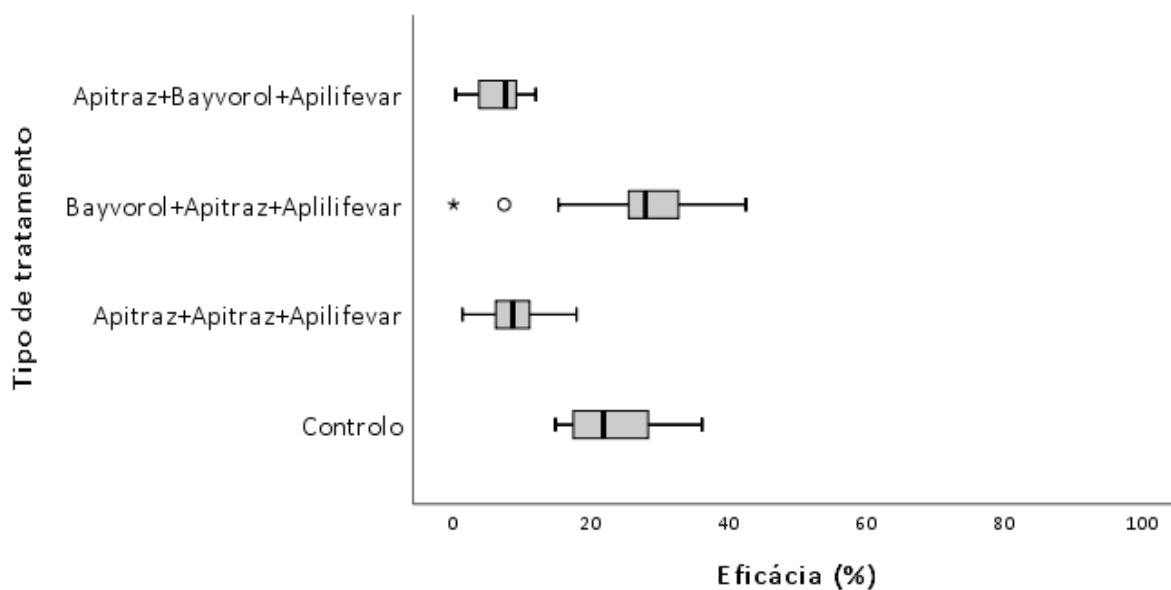


Gráfico 10. Distribuição da eficácia dos tratamentos contra a varroa, na segunda aplicação.

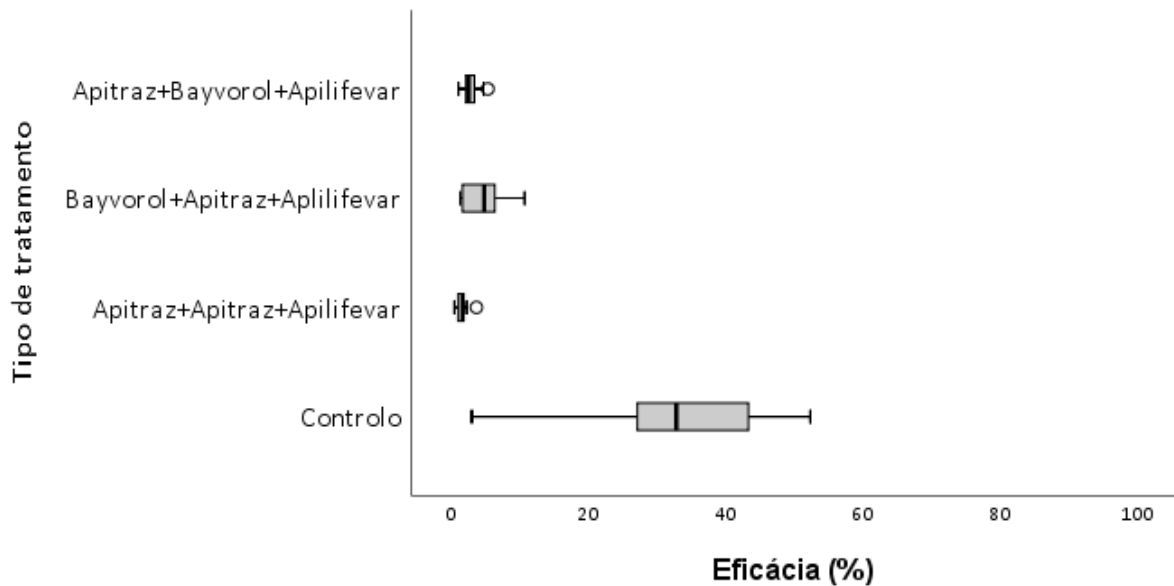


Gráfico 11. Distribuição da eficácia dos tratamentos contra a varroa, na terceira aplicação.

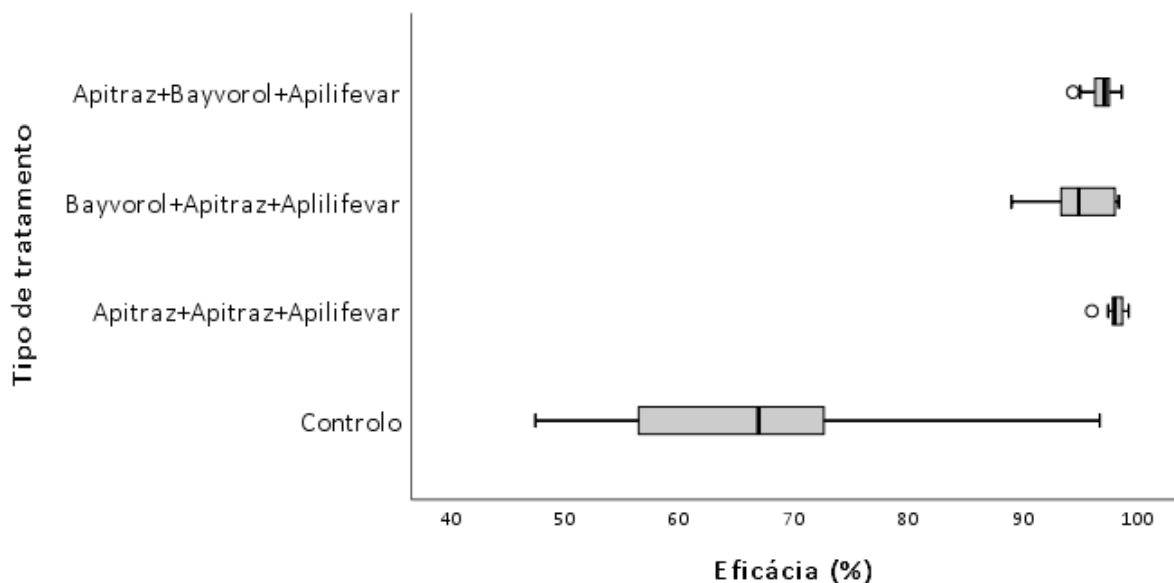


Gráfico 12. Distribuição da eficácia dos tratamentos contra a varroa, no tratamento completo.

Na tabela 10 são agrupados os dados de ambos os apiários (Carrazeda de Ansiães e Bragança) em termos das diferentes eficácias em cada aplicação. Na primeira aplicação do tratamento, o produto Apitraz+ Bayvarol+Apilifevar tem uma maior eficácia (90,7%), com um mínimo e um máximo a oscilarem entre 84,1 e 100,0 em relação aos restantes e o tratamento Bayvarol+Apitraz+Apilifevar uma menor eficácia (67,8%), variando o mínimo e o máximo entre 48,2 e 99,7, enquanto na segunda aplicação aquele que apresenta melhores resultados é o Bayvarol+Apitraz+Apilifevar (27,3%), oscilando o mínimo e o máximo entre 0,3 e 42,7, sendo este o menos eficiente

na primeira aplicação, e o que apresenta uma menor eficácia é Apitraz+Bayvorol+Apilifevar (7,1%), com um mínimo de 0,6 e um máximo de 12,2, exatamente o que apresentava melhor eficácia no primeiro tratamento. Na terceira aplicação, o tratamento que revela melhor eficácia é Bayvorol+Apitraz+Aplilifevar (5,3%), oscilando o mínimo e o máximo entre 1,6 e 11,0, uma situação reiterante em relação à segunda aplicação, mas com inferior eficácia na primeira aplicação.

Tabela 10. Eficácia do uso dos tratamentos contra a varroa, por ordem de aplicação e tratamentos completos.

Tratamentos	N	Média ± DP	Mínimo	Máximo
<i>Primeiros tratamentos</i>				
Sem tratamento	10	52,2 ± 25,8 ^a	29,2	100,0
Apitraz+Apitraz+Apilifevar	10	89,2 ± 4,7 ^c	80,6	98,4
Bayvorol+Apitraz+Aplilifevar	14	67,8 ± 13,9 ^b	48,2	99,7
Apitraz+Bayvorol+Apilifevar	14	90,7 ± 5,2 ^c	84,1	100,0
		<i>p=0,000 (***)</i>		
<i>Segundos tratamentos</i>				
Sem tratamento	9	23,9 ± 7,4 ^b	15,1	36,3
Apitraz+Apitraz+Apilifevar	10	9,1 ± 4,4 ^a	1,6	18,1
Bayvorol+Apitraz+Aplilifevar	14	27,3 ± 12,3 ^b	0,3	42,7
Apitraz+Bayvorol+Apilifevar	13	7,1 ± 3,5 ^a	0,6	12,2
		<i>p=0,000 (***)</i>		
<i>Tratamento de controlo</i>				
Sem tratamento †	8	32,9 ± 15,0 ^b	3,2	52,5
Apitraz+Apitraz+Apilifevar	9	1,9 ± 1,0 ^a	0,7	3,9
Bayvorol+Apitraz+Aplilifevar	13	5,3 ± 3,2 ^a	1,6	11,0
Apitraz+Bayvorol+Apilifevar	12	3,1 ± 1,2 ^a	1,3	5,6
		<i>p=0,000 (***)</i>		
<i>Tratamentos completos</i>				
Sem tratamento	8	67,1 ± 15,0 ^a	47,5	96,8
Apitraz+Apitraz+Apilifevar	9	98,1 ± 1,0 ^b	96,1	99,3
Bayvorol+Apitraz+Aplilifevar	13	94,7 ± 3,2 ^b	89,0	98,4
Apitraz+Bayvorol+Apilifevar	12	96,9 ± 1,2 ^b	94,4	98,7
		<i>p=0,000 (***)</i>		

† No caso das colónias sem tratamento, não foi realizado qualquer tratamento de controlo, considerando-se o número total de varroas contadas no final do ensaio, genericamente, o número total de varroas existentes nas colmeias.

Letras diferentes em coluna implicam eficácias de tratamento diferentes ($p < 0,05$).

Na análise aos tratamentos completos, conclui-se que o tratamento que repetiu a aplicação do produto comercial Apitraz+Apitraz+Apilifevar apresentou melhores resultados com uma taxa de eficácia de 98,1%, sendo o mínimo 96,1 e o máximo 99,3, seguindo-se o produto Apitraz+Bayvorol+Apilifevar com uma eficácia de 96,9% e com valores mínimos e máximos entre 94,4 e 98,7, em terceiro lugar surge o produto comercial Bayvarol+Apitraz+ApilifeVar com uma eficácia de 94,7% e com valores mínimos e máximos entre 89 e 98,4. Entre o grupo sem tratamento e os restantes registam-se diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

A análise do Gráfico 13 revela que a eficácia no grupo sem tratamento (controlo) é a mais baixa. Em relação aos restantes tratamentos, verifica-se que estatisticamente são iguais ($p > 0,05$).

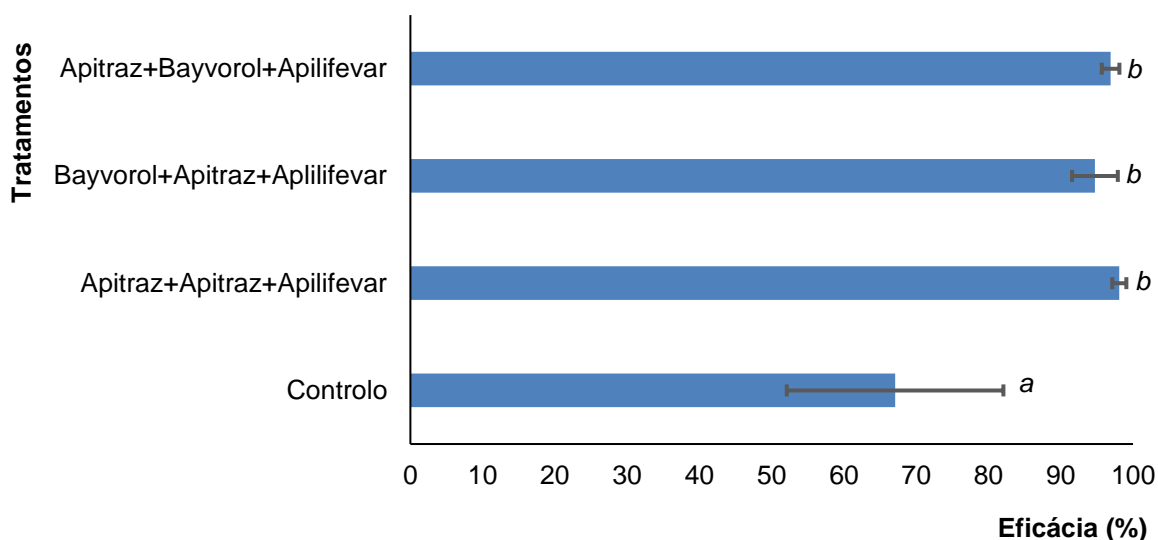


Gráfico 13. Eficácia global média (desvios padrão em linhas de erro) do uso dos tratamentos completos contra a varroa.

Devido à inexistência de um ensaio com as mesmas substâncias ativas, torna-se crucial comparar a eficácia de cada produto ao invés do grupo de aplicação, ou seja, trabalhos que usaram a substância Apitraz e Bayvarol em vez de Apitraz+Bayvarol e vice-versa. Existem diversos trabalhos realizados em torno da eficácia de varroacidas homologados em Portugal e a nível europeu.

Em 2005, um estudo acerca da eficácia do Apitraz e Apivar conclui que haviam prejuízos em apiários de apicultores onde já era evidente a grande probabilidade de existência de populações de varroa resistentes ao fluvalinato e/ou amitraz a nível

nacional, colónias de abelhas que hospedam populações de varroa resistentes ao amitraz deverão incorrer em níveis de morbidade/taxas de mortalidade acrescidas, se continuarem a ser tratadas com esta substância ativa. A eficácia média nacional dos testes de campo efetuados em colónias com varroas consideradas resistentes ao amitraz foi de 60,1%, rondando apenas cerca de dois terços do valor expectável em populações de varroa ainda suscetíveis. O número médio de varroas estudadas (14) por teste de campo efetuado em colónias com populações de varroas consideradas resistentes ao amitraz confere credibilidade à anterior consideração sobre a eficácia expectável de tratamentos com amitraz nessas mesmas colónias. Também quanto à eficácia média dos testes de campo com amitraz, regra geral não se verificam diferenças médias relevantes de distrito para distrito. Também neste caso, deverá ser prudentemente ponderada a redução significativa do uso generalizado deste princípio activo na luta contra a varroose, de modo a permitir uma regressão natural do desenvolvimento de populações de varroa também crescentemente resistentes ao amitraz (Murilhas *et al.*, 2005).

A Federação Francesa das Organizações de Sanidade Apícola (FNOSAD) realiza, anualmente, desde 2007, uma monitorização de campo, sobre a eficácia dos medicamentos veterinários acaricidas autorizados em França, para o tratamento do ácaro *Varroa*. Segundo Benoit Siefert e Raphael Massard do Laboratoire Vetopharma em France, o produto Apivar é o mais efetivo dos produtos, desde o primeiro ano de monitorização, com uma eficácia média entre 97% e 98%, indo ao encontro dos valores obtidos neste trabalho (Vandame, 2014). Em 2012, durante os meses de março a maio, com aplicação de Thymovar® (timol), Apistan® (fluvalinato) e Apivar® (amitraz, como controlo), foram obtidas eficácias de 90% a quase 100%, e média de $97,16 \pm 3,54\%$ (Vandame, 2014).

Ainda em 2012, um trabalho realizado por Mathieu Pascoal (Pascoal, 2012) com objetivo de determinar a eficácia e qual o melhor método de aplicação de dois acaricidas homologados em Portugal no controlo de *Varroa destructor*, o timol (Thymovar®) e o fluvalinato (Apistan®). Para determinar o valor de eficácia de tratamento, foi aplicado um terceiro acaricida como controlo (amitraz). Em termos de eficácia o grupo em que foi usado timol no 1º tratamento e fluvalinato no 2º tratamento teve 87,3%, apresentando valores mínimo e máximo de 72,6% e 97,9%, respetivamente e o grupo em que usou fluvalinato no 1º tratamento e timol no 2º tratamento apresentou média de eficácia 91,2%, com valores entre 72,1% e 99%.

Comparando os valores de média dos dois grupos, conclui-se que não apresentaram diferença significativa ($p=0,304$).

Em 2013, um estudo realizado em França, em Alsace, com três produtos orgânicos, um deles o ApilifeVar conclui que este usado em 3 aplicações com 1 semana de intervalo teve 73% de eficácia ($\pm 17\%$) (Ballis, 2013). Num estudo semelhante em 2010, obteve 82% de eficácia, mas a eficácia deste produto anda entre 80 a 95% segundo o autor. Ainda assim, os dados obtidos não são suficientes para fazer uma recomendação deste produto para uma só aplicação ou para utilização como tratamento único (eficácia inferior a 95%) e sim como um complemento de outro tratamento. Segundo o mesmo trabalho, apenas o Apivar (a substância química é o Apitraz) oferece a eficácia necessária para isso ($>95\%$), embora não fosse testado neste estudo. O uso de outras substâncias químicas é importante para garantir que não há desenvolvimento de resistências ao Apitraz (Ballis, 2013).

Também em 2014, foram testadas cerca de 300 colónias de abelhas surgindo a evidência de que a eficácia média obtida nesse ano pelo Apivar® (Apitraz) e Apistan® foi elevada (97% e 96%, respetivamente), mas envolve tempos de tratamento longos (70 dias e 56 dias, respetivamente) (Vandame, 2014).

Acerca da duração da aplicação dos tratamentos, um outro estudo realizado também em 2014, em França com Apivar, Apilife Var®, Apistan® e MAQS® revela a velocidade de ação dos acaricidas sobre os ácaros. A este respeito e para estes quatro fármacos, o número de dias necessários para ir abaixo do limiar de 1000 varroas revelou que o Apivar® requer uma média de 29 dias, e 23, 14 e 2 dias com Apilife Var®, Apistan® e MAQS®. Assim o Apivar (Apitraz) demonstrou ser o mais lento (demora 29 dias) e o mais rápido atinge esse limiar em apenas 2 dias (o MAQS). Esta informação indica que a seleção dos produtos a utilizar num dado momento varia consoante a urgência ou gravidade da infestação (Vandame, 2014).

Pajuelo (2016) refere que os produtos químicos de síntese mais aconselháveis para uso acaricida são os que usam amitraz, até que apareçam problemas de falta de eficácia ou de resistências, sem revelar valores exatos de eficácia para esta substância. Outra solução possível é a substância tau-fluvalinato, onde refere que apresentou eficácia superior a 95%.

Apesar de não ter sido encontrada diferença entre os dois grupos, os valores de eficácia obtidos foram superiores aos obtidos nos últimos anos em Portugal, aquando da aplicação de apenas um acaricida.

Sabe-se que para fornecer proteção suficiente para as abelhas através de um único tratamento anual, o tratamento deve eliminar mais de 95% dos ácaros da varroa na colónia (Ballis, 2013).

A aplicação individual de amitraz tem uma eficácia média demonstrada de 96% e 97% e o grupo que demonstrou mais eficácia neste trabalho foi aquele que usou Apitraz nos dois tratamentos, com valores de eficácia de 98,1%. A eficácia individual do Apitraz é muito semelhante aquela obtida na combinação de acaricidas em que um dos tratamentos é feito com Apitraz e este é exatamente o 1º tratamento, com um valor de 96,9% de eficácia. Quando se usa o Apitraz em 2º fase ou como segundo tratamento, a eficácia baixa para os 94,7%.

Apesar disso, as médias de eficácia obtidas são superiores a valores obtidos por alguns autores nos últimos anos, em casos de aplicação de apenas um dos dois acaricidas em estudo, como o caso do fluvalinato com valores abaixo dos 86% (Al-Ghamdi, 2007; Pires *et al.*, 2007), do timol com eficácia de 73% (Ballis, 2013), do amitraz com resultados de 78% (Pires *et al.*, 2007) e de mais de 95% (Pajuelo, 2016).

Podemos assim concluir que estes protocolos terapêuticos são ambos uma boa escolha para o controlo de *Varroa destructor*, de preferência juntamente com outras técnicas de manejo que reduzam a reprodução destes ácaros e minimizem o impacto causado na colónia.

4. CONCLUSÕES

Como se sabe, a eficácia pode variar, como já referido, pelas condições ambientais e pela presença de populações de *Varroa destructor* resistentes a certos acaricidas. Neste trabalho a eficácia média foi superior no grupo Apitraz+Apitraz+ApilifeVar com 98,1%, seguindo-se o grupo Apitraz+Bayvarol+ApilifeVar com 96,9% e por fim o grupo que demonstrou menos eficácia nos tratamentos foi o que usou Bayvarol+Apitraz+ApilifeVar com uma média de eficácia de 94,7%. Estas diferenças de eficácia obtidas não são estatisticamente significativas e os valores de eficácia obtidos foram superiores aos obtidos nos últimos anos em Portugal, aquando da aplicação de apenas um acaricida. Podemos assim concluir que estes protocolos terapêuticos são ambos uma boa escolha para o controlo de *Varroa destructor*, de preferência juntamente com outras técnicas de manejo que reduzam a reprodução destes ácaros. Verifica-se que no grupo sem tratamento a taxa de infestação era continua no tempo, originando o colapso de algumas colónias durante o ensaio.

Em termos de eficácia conclui-se ainda que houve melhores resultados quando se usou unicamente Apitraz e quando na realização de dois tratamentos o 1º deles era o Apitraz. Talvez este fato esteja relacionado com colónias que não apresentam resistência a este produto, no entanto não foram realizados testes nesse sentido. Assim, nos grupos onde foi aplicada apenas a substância química Apitraz, a resposta ao tratamento foi muito boa e, por isso pode colocar-se a questão da necessidade ou não de alternar produtos químicos.

Na realização da contagem de varroas na fase pré-ensaio, concluímos tratar-se de dois apiários heterogéneos, apresentando colónias com diferentes graus de infestação deste parasita. Este fator não influenciou por sua vez os resultados, pois as colónias mais eficazes em termos de queda diária de varroa eram precisamente as que estavam mais infetadas. Da mesma forma, a queda de varroas não acompanhou as flutuações de temperatura, e no caso do ApilifeVar nem se notou que foi feita a aplicação, mas aqui talvez as temperaturas altas que ocorreram tenham influenciado.

Visto que a queda de ácaros apresentou picos de contagens consistentes com os picos de aumento de temperatura, acreditamos que estes protocolos sejam dependentes da temperatura ambiental. Assim, a escolha entre os dois protocolos

deverá pender mais pelas condições ambientais e o local onde será aplicado, do que propriamente a eficácia.

Neste ensaio não foi avaliado o ponto de vista económico, pelo que seria necessário comparar os resultados da produção de mel (e outros produtos da apicultura), entre grupos e entre estes e um grupo controlo, e os custos de cada tratamento.

Durante o ensaio (e mesmo durante a sua preparação) foram encontradas várias dificuldades. Assim, o número de colónias disponíveis era limitado e não permitiu que os grupos fossem exatamente homogéneos entre si e entre as colónias de cada grupo, bem como as temperaturas altas que ocorreram aquando da aplicação do ApilifeVar que também dificultaram o trabalho, obrigando a mais operações de maneo para tentar minimizar os possíveis erros, evidenciando o não controlo dos fatores ambientais e climatéricos. A ocorrência de precipitação também dificultou a tarefa de recolha dos tabuleiros, tendo mesmo de ser adiada por vezes.

Na continuação deste trabalho, e de modo a obter resultados de maior eficácia e confiança, deveriam ser feitas algumas alterações a este desenho experimental, tais como: a redução do período de ensaio para não haver coincidência da aplicação de produtos como são os óleos essenciais, quer tanto em pleno Verão, como em pleno Inverno ou mesmo fim de Outono ou início de Primavera, devido às temperaturas ideais de evaporação. De preferência, deveriam ser escolhidas colónias com populações de *Varroa* semelhantes, que não ponham em causa a viabilidade do enxame, não resistentes aos acaricidas em estudo (realizando testes prévios). Como se sabe, a eficácia pode variar, como já referido, pelas condições ambientais e pela presença de populações de *Varroa destructor* resistentes a certos acaricidas.

Por fim deveria ter-se estudado a opção Bayvarol+Bayvarol+ApilifeVar, da mesma forma que se estudou a substância Apitraz (Apitraz+Apitraz+ApilifeVar). No grupo sem tratamento deveria ter sido feito também o tratamento controlo final, como nos restantes grupos.

Os objetivos do estudo foram cumpridos e tem muito interesse para o setor apícola este tipo de trabalhos, isentos de comissões e influência e que apenas procuram testar eficácias de produtos nas condições atuais de determinado local. Os produtos utilizados no estudo foram todos adquiridos pela interessada, à exceção do ApilifeVar que foi gratuitamente cedido pelo laboratório.

Julgo ser de interesse um estudo onde possam ser analisados os diversos produtos que atualmente compõe a lista dos medicamentos de uso veterinário autorizados em Portugal para a apicultura, sobretudo pela diversidade de produtos químicos de origem natural.

Por fim termino, reforçando a necessidade de proteger as abelhas das suas doenças e predadores, continuando a ser um dos pontos mais críticos da moderna apicultura a nível mundial.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adjlane, N., Haddad, N., Tarek, O. (2013). Evaluation of the efficacy of different acaricides against *Varroa destructor* on *Apis mellifera intermissa* in Algeria. *Acarina*, 21(2), 141–146.

Allsopp, M. (2006). Analysis of *Varroa destructor* infestation of Southern African honeybee populations. Dissertation submitted in fulfilment of the requirements for the degree of Master of Science. Pretoria: Faculty of Natural & Agricultural Science – University of Pretoria.

Almeida, C.M.V.B. (2010). Detecção de contaminantes no mel. Dissertação de Mestrado em Segurança Alimentar. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa.

Andermatt BioVet AG (2007). Thymovar® – Package leaflet. Consultado em 06/07/2016. Disponível em: http://www.biovet.ch/en/images/stories/ABV/Produkte/THYMOVAR®/THYMOV R®- Package_leaflet.pdf

Annoscia, D., Del Piccolo, F., Nazzi, F. (2012). How does the mite *Varroa destructor* kill the honeybee *Apis mellifera*? Alteration of cuticular hydrocarbons and water loss in infested honeybees. *Journal of Insect Physiology*, 58(12), 1548–1555.

Bacci, M. (2014). Tratamientos y productos para el control de Varroa - Blog de Apicultura de Corona; Corona, Espanha. Consultado em 23/10/2017. Disponível em <http://coronaapicultores.blogspot.com/2014/03/diferrentes-tratamientos-para-el.html>

Ballis, A. (2013). Lutte contre *Varroa destructor*: comparaison des médicaments MAQS™, HopGuard® et ApilifeVar®. Essai technique 2013. Alsace. France. Consultado em 06/06/2016. Disponível em http://www.alsace.chambagri.fr/fileadmin/documents_alsace/INTERNET/elevage/apiculture/ESSAIS-TECHNIQUES-2013_comparaison_MAQS_Hopguard_Apilife.pdf

Barros, A.I.R.N.A., Nunes, F.H.F.M., Costa, M.M.F. (2009). Manual de Boas Práticas na Produção de Cera de Abelha. FNAP, 1: 6-10.

Barros, L., Álvares, R., Dias, L., Pires, S., Vilas-Boas, M. (2005). Performance of alternative acaricides in organic beekeeping under Portuguese northeast conditions [abstract]. Apimondia abstracts Ireland, 39. Dublin: Apimondia.

Bayer (2018) Bayvarol Tiras. Espanha. Consultado em: 12/10/2018. Disponível em <https://www.sanidadanimal.bayer.com.mx/es/productos/bayvarol-tiras/>.

BEE DOC (2012). Bees in Europe & the Decline Of Honeybee Colonies. Consultado em 11/10/2016. Disponível em <http://www.bee-doc.eu/index.php>.

Bernardi, S., Venturino, E. (2016). Viral epidemiology of the adult *Apis Mellifera* infested by the *Varroa destructor* mite. Heliyon, 2(5), e00101.

Bogdanov, S., Charrière, J.-D., Imdorf, A., Kilchenmann, V., Fluri, P. (2002) Determination of residues in honey after treatments with formic and oxalic acid under field conditions, Apidologie 33, 299-409.

British Columbia Ministry of Agriculture and Lands [BCMAL] (2008). Varroa mite detection methods. Consultado em 11/11/2016. Disponível em http://www.agf.gov.bc.ca/apiculture/factsheets/222_vardetect.htm

CA3686 Working Group (2006). Technical guidelines for the evaluation of treatments for control of varroa mites in honey bee colonies. Evaluation of treatments for control of varroa mites in honey bee colonies: I. Standards for experimental protocols. 9 pp. Consultado em 20/09/2016. Disponível em <https://www.agroscope.admin.ch/dam/agroscope/de/dokumente/themen/nutztiere/bienen/guidelines-trials.pdf.download.pdf/GuidelinesTrials.pdf>.

Calderone, N.W. (2002). Evaluation of drone brood removal for management of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in the Northeastern United States. Cornell University Master Beekeeper Program. Consultado em 13/10/2018, disponível em http://www.masterbeekeeper.org/pdf/research_summary_05.pdf

Chiesa, F. (1991). Effective control of varroa using powdered thymol. Apidologie, 22, 135-145.

Cicco, L.H.S. (2011). Ciclo evolutivo das abelhas. Acedido em 07/04/2016, disponível em <http://www.saudeanimal.com.br/abelha25.htm>

COLOSS (2012). Prevention of COlony LOSSes network. Consultado em 10/01/2018. Disponível em <https://coloss.org/core-projects/colony-losses-monitoring/>

Confederação dos Agricultores de Portugal [CAP] (2007). Manual de sanidade apícola: sintomas – profilaxia – controlo. Lisboa: FNAP.

Coppe, G. Fontana, S. Jones, I. (S/D). Evolução da Eficácia de AluenCap. INTA Chubut e Departamento de Nutrição do Ministério da Produção. Consultado em: 20/11/2018. Disponível em https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_evaluacion_de_la_eficacia_de_aluen_cap_trelew_0.pdf.

Crespo, R.J., Crespo, L.R., Viader, S.A., Guardia López, A. (2011). Field trial on the efficacy of commercial miticides for *Varroa destructor* (Acari: *varroidae*) control in Olavarria county (province of Buenos Aires, Argentina). RIA, 37(3), 6 pp.

De Jong, D. (1997). Varroa and other parasites of brood. In: Pests, Predators and Diseases of Honey Bees, Third Edition, Morse R.A., ed. A. I. Root, Medina, Ohio, USA, 231–279.

Decreto-Lei n.º 203/2005, de 25 de novembro. Diário da República – I Série-A. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa.

Delaplane, K.S., Steen, J. van der, Guzman-Novoa, E. (2013). Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera* colonies. Journal of Apicultural Research, 52(1), 1–12.

DGARL (S/D). Folheto Informativo. Utilização do medicamento para a varrose. Consultado em 20/09/2018. Disponível em: http://www.drapc.min-agricultura.pt/base/documentos/utilizacao_medicamento_varrose.pdf

DGAV (2015). Plano de luta contra a varrose. Direção Geral de Alimentação e Veterinária - Direção de Serviços de Proteção Animal. Lisboa. 13 pp.

DGAV (2016). Resumo das Características do Medicamento Apitraz 500 mg. Portugal. Consultado em 20/09/2016. Disponível em <http://docplayer.com.br/60182244-Resumo-das-caracteristicas-do-medicamento.html>.

DGAV (2017a). Resumo das Características do Medicamento ApilifeVar. Portugal. Consultado em: 24/10/2018.

DGAV (2017b). Programa Sanitário Apícola. Consultado em 10/09/2016. Disponível em: http://www.dgv.min-agricultura.pt/xeov21/attachfileu.jsp?look_parentBoui=23071869&att_%20display=n&att_download=y.

Dietemann, V., Nazzi, F., Martin, S.J., Anderson, D.L., Locke, B., Delaplane, K.S., Ellis, J.D. (2013). Standard methods for varroa research. *Journal of Apicultural Research*, 52(1), 1–54.

Direção Geral de Veterinária [DGV] (2008). Doenças das abelhas – diagnóstico, tratamento e profilaxia. Lisboa: Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas.

Direção Geral de Veterinária [DGV] (2011). Programa Sanitário Apícola 2011. Lisboa: Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas.

Gabinete de Planeamento, Políticas e Administração Geral [GPP] (2010). Programa Apícola Nacional, Triénio 2008-2010. Consultado em 20 de Outubro de 2018.

Gabinete de Planeamento, Políticas e Administração Geral [GPP] (2013). Programa Apícola Nacional, Triénio de 2011-2013. Consultado em 20 de Outubro de 2018.

Gabinete de Planeamento, Políticas e Administração Geral [GPP] (2017). Programa Apícola Nacional, Triénio 2017-2019. Consultado em 20 de Outubro de 2018.

Gomes, M., Dias, L.G., Cabo, P., Vilas-Boas, M., Casaca, J. (2013). Vantagens e dificuldades da apicultura Portuguesa em modo de produção biológico. 7º Congresso Florestal Nacional. Vila Real

Gonçalves, D.A. (1991). Terra Quente – Terra Fria (1ª Aproximação). Instituto Politécnico de Bragança.

Goodwin, M., Van Eaton, C. (2001). Control of Varroa - A guide for New Zealand Beekeepers. Minister of Agriculture and Forestry, New Zealand.

Hamdan, K. (2009). Powdered sugar dusting in bee colonies as *Varroa* control - a beefriendly way to knock down *Varroa* mites. Consultado em 17/08/2016. Disponível

em http://www.countryrubes.com/images/Powdered_sugar_dusting_in_bee_colonies_a_Varroa_control_updated_9_09_09l.pdf

Hamdan, K. (2009). Preventing beeswax combs from wax moth damage. Consultado em 17/08/2016. Disponível em http://countryrubes.com/template/images/Preventing_beeswax_combs_from_wax_moth_damage.pdf

Health Canada Pest Management Regulatory Agency (2010). Thymol. Consultado em 10/10/2018. Disponível em http://publications.gc.ca/collections/collection_2011/sc-hc/H113-9-2010-18-eng.pdf.

Hooper, T. (1976). Guia do Apicultor. Publicações Europa-América, Lda. Mem-Martins, 269 pp.

Hoyo, M., Cabrera, C.G. (2004). Varroa, un problema con solución. Salta: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

Ibrahin, A., Reuter, G.S., Spivak, M. (2007). Field Trial of honey bee colonies breed for mechanisms of resistance against *Varroa destructor*, *Apidologie* 38, 67-76.

Imdorf, A., Charrière, J., Kilchenmann, V., Bogdanov, S., Fluri, P. (2003). Alternative strategy in central Europe for the control of *Varroa destructor* in honey bee colonies, *Apiacta* 38, 258-285.

Le Conte, Y., Ellis, M., Ritter, W. (2010). Varroa mites and honey bee health: can Varroa explain part of the economy losses? *Apidologie*, 41, 353-363.

Leza, M.M., Lladó, G., Miranda-Chueca, M.A. (2015). Comparison of the efficacy of Apiguard (thymol) and Apivar (amitraz) in the control of *Varroa destructor* (Acari: *Varroidae*). *Spanish Journal of Agricultural Research*, 13(3), 05–01.

Lima, A.S., Crauser, D., Le Conte, Y., Vilas-Boas, M., Figueiredo, A.C. (2014). Potencialidade acaricida de óleos essenciais da flora aromática portuguesa no controlo da *Varroa destructor*. Acta de resumos do III Congresso Ibérico de Apicultura. 38.

Locke, B., Fries, I. (2011). Characteristics of honey bee colonies (*Apis mellifera*) in Sweden surviving *Varroa destructor* infestation. *Apidologie*, 42, 533-542. France: EDP sciences.

- Maia, M., Pereira, O., Pires, S., Murilhas, A. (2005). Beekeeping in Portugal. An updated overview focused on coping with *Varroa* [abstract]. Apimondia abstracts Ireland 2005, 39,172. Dublin: Apimondia.
- Milani, N. (1999). The Resistance of *Varroa jacobsoni* Oudemans to acaricides, Apidologie 30(2-3), 229-234.
- Murilhas, A. e Casaca, J. (2004). Conviver com a Varroa em Portugal – um contributo para a adopção de boas práticas apícolas de convivência com a Varroa. Relatório do Projecto AVAPInt – apicultura, varroose, ambiente e protecção integrada (AGRO 354/01). Universidade de Évora, Évora. 32 pp.
- Murilhas, A.M.C. (2008). Apicultura e polinização: Em que medida poderemos evitar um desastre anunciado? O Apicultor. Revista de Apicultura, 62: 7-10.
- Neto, J.G. (2009). Manual de criação de rainhas autóctones em Portugal. Lisboa: Federação Nacional dos Apicultores de Portugal.
- OIE (2008). Varroosis of honey bees. In Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees). Vol. 1, 6th Edition. Paris, France. 424-430.
- Osterlund, E. (2008). Sustainable beekeeping. Bee Culture, June 2008, 34-37. Consultado em 20/09/2018. Disponível em <http://www.elgon.se/story-2008/SustainableBeek.pdf>.
- Pajuelo, A.G. (1999). Manual de Sanidad Apícola. Asociacion Provincial de Apicultores de Guadalajara, Guadalajara, España. 32 pp.
- Pajuelo, A.G. (2016). Varroa: Tratamentos. Espanha. Consultado em 10/11/2016. Disponível em <https://apinevada.com/media/files/news/AGPajueloVarroa.pdf>.
- Pascoal, M.A.A. (2012). Avaliação da eficácia de nova estratégia de combate à varroose da abelha (*Apis mellifera*) em Portugal: tratamento combinado de acaricidas homologados. Tese de Mestrado. UTL-Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa.
- Pereira, F.M., Lopes, M.T.R., Camargo, R.C.R., Vilela, S.L.O. (2003). Produção de Mel: Morfologia e Biologia das Abelhas *Apis mellifera*. Consultado em: 10/10/2017. Disponível em <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mel/SPMel/morfologia.h m>.

Pires, S. (2005). Contribuição para o estudo do comportamento higiénico associado ao ácaro *Varroa destructor* em colónias de abelhas melíferas portuguesas. Tese de Doutoramento. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. Vila Real.

Pires, S., Murilhas, A., Pereira, Ó., Maia, M. (2006). Eficácia actual do apistan e do apivar na luta contra a varroose em Portugal: relatório final. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Universidade de Évora, Instituto Politécnico de Bragança. 112 pp.

Quintans, S. (2012). Sanidade Apícola. Curso Técnico de Apicultura. Venda Nova: Direcção Geral de Alimentação e Veterinária-Ministério da Agricultura, Mar, Ambiente e Ordenamento do Território.

Ramos, J.M., Carvalho, N.C. (2007). Estudo morfológico e biológico das fases de desenvolvimento de *Apis mellifera*. Revista Científica Electrónica de Engenharia Florestal, 6(10): 21 pp.

Ricardo, S. (2013). A exportação do mel português: um estudo exploratório sobre as motivações, barreiras e estratégias. Dissertação para obtenção de grau de mestre em Empreendedorismo e Internacionalização. Instituto Superior de Contabilidade e Administração do Porto, Porto: 21-58.

Ritter, W., Leclercq, E., Koch, W. (1984). Observations des populations d'abeilles et de *Varroa* dans les colonies à différents niveaux d'infestation. Apidologie, 14, 389–400.

Rosa, A. (2016) – Esta abelha pode valer 523 mil milhões de euros. Jornal Expresso, Secção de Economia. Consultado em 20/09/16. Disponível em <https://expresso.sapo.pt/economia/2016-03-04-Esta-abelha-pode-valer-523-mil-milhoes-de-euros#gs.Js86N1l>.

Rosenkranz, P., Aumeier, P., Ziegelmann, B. (2010). Biology and control of *Varroa destructor*. Journal of Invertebrate Pathology, 103, Supplement, S96–S119.

Santos, F., Vaz, Y., Bragança, M., Valério, M.J., Quintans, S. (2007). Resultados do rastreio apícola nacional 2006. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias, 102, 381.

Schmidt, S.V., Neira, C.M., Carrillo, L.I.R. (2008). Evaluación comparativa de los acaricidas bayvarol (flumetrina) y apilife var (timol, eucaliptol, mentol y alcanfor) en el

control del acaro *Varroa destructor* Anderson & Trueman en época primaveral. *Agro Sur*, 36(1), 8–14.

Serrano, J.M.F., Pires, S.M.A., Puerta, F.P. (2001). Comportamento higiénico de *Apis mellifera* ibérica em células de criação de obreiras artificialmente infestadas com o parasita *Varroa*. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 96: 71-74.

Siefert, B., Massard, R. (S/D). Atualização sobre acaricidas à base de amitraz. Laboratoire Vetopharma, France. Consultado em 10/11/2016. Disponível em <http://esa.ipb.pt/cia2014/images/apr/BenoitSiefert.pdf>.

Silva, C.M.R. (2010). Luta contra *Varroa destructor* Anderson & Trueman: avaliação de estratégias biotécnicas e bioquímicas com o óleo de *Mentha cervina* L. Tese de mestrado. ISA-Faculdade de Agronomia, Lisboa.

Vandame, J. (2014). Médicaments de lutte contre *Varroa destructor*. Tests d'efficacité 2014. FNOSAD, France. Disponível em <http://ecbiz193.inmotionhosting.com/~nodglo5/wp-content/uploads/2016/04/FNOSAD-2014-study-high-quality.pdf>.

Vieira, G.H.C., Andrade, W.P., Nascimento, D.M. (2012). Use of essential oils for controlling the *Varroa destructor* acarus in *Apis mellifera*. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 42(3), 317–322.

Vilas-Boas, M. (2008). Manual de Apicultura em Modo de Produção biológico, FNAP, Agosto de 2008.

Werner, R. (1999). Co-adaptation of *Apis cerana* Fabr. and *Varroa jacobsoni* Oud. Department of Horticulture, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Sansai, Chiang Mai, Thailand. Consultado em 09/10/2016. Disponível em https://www.apidologie.org/articles/apido/pdf/1999/02/Apidologie_0044-8435_1999_30_2-3_ART0002.pdf