

UFRRJ
INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DISSERTAÇÃO

**Cria Ensacada Brasileira em *Apis mellifera* Linnaeus
no Estado do Rio de Janeiro: Perdas, Zoneamento,
Palinologia e Microbiologia**

Marta Rodrigues Pacheco

2007



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**CRIA ENSACADA BRASILEIRA EM *Apis mellifera* Linnaeus
NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO: perdas, zoneamento,
Palinologia e Microbiologia**

MARTA RODRIGUES PACHECO

Sob a Orientação da Professora
Maria Cristina Affonso Lorenzon

e Co-orientação dos Professores
Ângela de Oliveira
Ronald Bastos Freire

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências** no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal

Seropédica, RJ
Agosto de 2007

638.155

P116c

T

Pacheco, Marta Rodrigues, 1963-

Cria ensacada brasileira em *Apis mellifera* Linnaeus no Estado do Rio de Janeiro : perdas, zoneamento, palinologia e microbiologia / Marta Rodrigues Pacheco. - 2007.

60f. : il.

Orientador: Maria Cristina Affonso Lorenzon.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Zootecnia. Inclui bibliografias.

1. Abelha - Doenças - Rio de Janeiro (Estado) - Teses. 2. Abelha - Toxicologia - Teses. 3. Barbatimão - Toxicologia - Teses. I. Lorenzon, Maria Cristina Affonso, 1955-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Zootecnia. III. Título.

Bibliotecário: _____

Data: ___/___/___

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

MARTA RODRIGUES PACHECO

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências** no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de Concentração em Produção Animal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM -----/-----/-----

Maria Cristina Affonso Lorenzon. Dra.
UFRRJ
(Orientadora)

Ortrud Monika Barth. Dra. FIOCRUZ

Miliane Moreira Soares de Souza. Dra.
UFRRJ

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), que me concedeu a bolsa de mestrado.

À orientadora Maria Cristina A. Lorenzon, que participou ativamente nos trabalhos.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e aos professores, técnicos e estudantes que me ajudaram na pesquisa de microbiologia para compor o capítulo III:

- Pesquisadores: Ângela de Oliveira (bactérias), Gilberto Flausino (meios de cultura), Carlos Alberto da Rocha Rosa, Glória Maria Direito, Marcelo Elias Fraga, Sérgio Gaspar de Campos, Ronald Bastos Freire (micotoxicologia).
- Estudantes: Âguida Aparecida de Oliveira, Ana Claudia Marassi, Bruno Oliveira de Carvalho, Kelly Moura Keller, Larissa Resende Vieira, Luiz A. Moura Keller, Marco Antonio A. Rodrigues, Miriam Gomes Abreu, Ricardo Braga, Tatiana de Almeida.

À Ortrud Monika Barth, pesquisadora da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) e da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), que identificou os tipos polínicos para o capítulo II.

Aos apicultores que participaram da pesquisa com amostragem ou com apoio, sobretudo: Adilson de Lacerda, Claudio Henrique Silveira, Jacques de Botton, Marco Antonio Gonçalves, Miguel Fernando de Almeida, Monica Stobans, Paulo Sant'Anna, Pedro Getúlio Cardoso, Nelson Victor de Oliveira Filho, Walter Gressler, apiários Leão e Fumel.

Ao Serviço Nacional de Aprendizagem do Cooperativismo (SESCOOP) e à Organização das Cooperativas Brasileiras do Estado do Rio de Janeiro (OCB) que disponibilizaram os questionários do censo apícola de 2006, ao estudante Bruno O. de Carvalho que me ajudou na coleta de dados sobre perdas de colméias, aos apicultores que preencheram o anexo sobre doenças de abelhas para o zoneamento da CEB e à Fundação Jardim Botânico do Rio de Janeiro onde consultei o acervo do herbário para o zoneamento do “barbatimão” no capítulo I.

Aos órgãos, instituições e pessoas que colaboraram na pesquisa, em especial: Superintendência do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA-RIO), Dr. Pedro Cabral e Celso Merola, Federação das Associações de Apicultores do Estado do Rio de Janeiro (FAERJ), Associação Apícola do Rio de Janeiro (API-RIO), Câmara Setorial para o Desenvolvimento Apícola no Estado do Rio de Janeiro da Secretaria de Estado de Agricultura, Abastecimento, Pesca e Desenvolvimento do Interior (SEAAPI), Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural (EMATER), Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (PESAGRO) e professor José Eduardo Serrão, da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

À família e aos amigos.

RESUMO GERAL

PACHECO, Marta Rodrigues. **Cria ensacada brasileira em *Apis mellifera* L. no estado do Rio de Janeiro: perdas, zoneamento, Palinologia e Microbiologia.** 2007. 60p Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.

A cria ensacada brasileira (CEB) é uma doença descrita no Brasil que acomete as larvas de abelhas melíferas quando são alimentadas com o pólen de algumas árvores tais como *Stryphnodendron* (Mimosoidea), conhecidas popularmente por “barbatimão”. Estas plantas contêm substâncias tóxicas, como os taninos, que provocam uma alta mortalidade nas larvas pré-pupas. A crescente perda de colméias em diferentes épocas e regiões do estado do Rio de Janeiro associada à dificuldade de encontrar as árvores incriminadas como tóxicas nas proximidades de apiários afetados pela CEB, permite sugerir a hipótese de que a doença não é causada pelo pólen do “barbatimão” neste estado. Levanta-se ainda a hipótese de que as doenças de abelhas representam uma causa significativa para as perdas de colméias observadas no estado do Rio de Janeiro. Para testar estas hipóteses, objetivou-se fazer um levantamento da ocorrência de perdas de colméias, analisar a sobreposição da CEB com a distribuição geográfica de *S. pollyphyllum* e *S. adstringens*, verificar o consumo do pólen destas plantas pelas *Apis* em condições naturais e iniciar investigações microbiológicas e toxicológicas. Na fase preliminar, pesquisou-se a extensão, distribuição e causas de perdas de colméias e a sua relação com as doenças de abelhas. Para isto, foram levantados dados de perdas relativos ao censo apícola elaborado no estado do Rio em 2006. Realizou-se também um estudo comparativo entre o zoneamento da CEB e o de *Stryphnodendron* no estado do Rio de Janeiro. Posteriormente, buscaram-se os tipos polínicos, especialmente de “barbatimão”, presentes em amostras de colméias localizadas em regiões de ocorrência da CEB. Finalmente, isolaram-se e identificaram-se bactérias e fungos presentes em amostras de pólen apícola, pão de abelhas e larvas mortas de colméias com CEB, e investigou-se a presença de micotoxinas. Resultados do censo do estado mostraram que as doenças de abelhas constituíram a principal causa de perdas de colméias. Não houve sobreposição entre a ocorrência da cria ensacada brasileira e a de *Stryphnodendron* no estado do Rio de Janeiro e também não foi observado pólen de *Stryphnodendron* em qualquer amostra analisada, indicando que: a doença que ocorre no estado do Rio de Janeiro com sintomas semelhantes a CEB não é causada pelo pólen de “barbatimão”. Prevaleceu durante a CEB pólen de *Anadenanthera*. *Bacillus* foi a bactéria mais freqüente, identificando-se: *B. thuringiensis*, *B. alvei*, *B. apiarius*, *B. megaterium* e *B. polymyxa*. A microbiota foi composta principalmente por *Penicillium* e *Aspergillus*, este com duas espécies potencialmente patogênicas e toxígenas: *A. niger* e *A. parasiticus*. Aflatoxinas B1 e G1 estiveram presentes em amostras de pólen apícola e pão de abelhas de um apiário pesquisado. Faz-se necessário realizar outros estudos para afirmar a etiologia da CEB no estado do Rio de Janeiro.

Palavras-chave: Apicultura. Doença. Flora.

ABSTRACT

PACHECO, Marta Rodrigues. **Brazilian sac brood in *Apis mellifera* L. in the Rio de Janeiro state (Brazil): losses, zoning, Palinology and Microbiology**. 2007. 60p Dissertation (Master Science in Animal Science). Instituto de Zootecnia, Departamento de Produção Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.

The Brazilian sac brood (BSB) is a described disease in Brazil that attacks honey bees when they are fed with the pollen of certain trees as *Stryphnodendron* (Mimosoidea), commonly known as “barbatimão”. These plants contain toxic substances as tannins that lead to a high mortality at the pre-pulps. The crescent loss of hives at different periods and regions of Rio de Janeiro state associated to the difficulty of finding the trees suspected of being intoxicated near the infected apiaries permits suggesting a hypothesis that the disease is not caused by the “barbatimão” pollen. It still raises hypothesis that the bee diseases represent a significant cause for the hives losses observed in the state of Rio de Janeiro. To verify the hypothesis it was evaluated a survey of beekeeping losses, it was analyzed the geographical overlap between occurrence of BSB and distribution of *S. pollyphyllum* and *S. adstringens*. And also for this reason it was made the check out the pollen consumption of these plants for the *Apis* at natural conditions and it was initiated microbiological and toxic investigations. For the first approach it was researched the extension, distribution and reasons for the hive losses and its relation to the bees diseases. For this, the 2006 apiarian census was consulted. A comparative study was done in relation to the area of occurrence of BSB and the simultaneous existence of *Stryphnodendron* and the pollinic types specially of the “barbatimão” that were present in the hives samples. Finally it was isolated and identified bacteria, fungi and mycotoxins in the apiarian pollen, bee bread and dead larvae of bee hives with BSB. The results of the census allowed seeing that the bees disease was the main reason for the loss of the hives. There wasn't the superposition between the BSB *Stryphnodendron* in Rio de Janeiro. It wasn't observed *Stryphnodendron* pollen in none of the analyzed samples. The results suggest that the disease that occurs in Rio de Janeiro state with similar symptoms to BSB is not caused by “barbatimão” pollen. The *Anadenanthera* pollen was the majority in the study regions. *Bacillus* was the most frequent bacteria genus and the species were *B. thuringiensis*, *B. alvei*, *B. apiarius*, *B. megaterium* and *B. polymyxa*. The mycobiota was mainly composed of *Penicillium* and *Aspergillus*, with two potentially pathogenic and toxic species: *A. niger* and *A. parasiticus*. Aflatoxins B1 and G1 were presented in apiarian pollen and bee bread samples of a studied apiarian. It is necessary to realize other researches to confirm the etiology of BSB in the state of Rio de Janeiro.

Key words: Apiculture. Disease. Flora.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| INTRODUÇÃO GERAL | 1 |
| CAPÍTULO I – PERDAS DE COLMÉIAS E SUA RELAÇÃO COM A OCORRÊNCIA DA CRIA ENSACADA BRASILEIRA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO | 2 |
| RESUMO | 3 |
| ABSTRACT | 4 |
| 1 INTRODUÇÃO | 5 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS | 6 |
| 2.1 Local da Pesquisa | 6 |
| 2.2 Consulta ao Censo Apícola (2006) do Estado do Rio de Janeiro | 6 |
| 2.3 Anexo do Censo Apícola do Estado do RJ: questionários sobre a descrição da doença | 7 |
| 2.4 Consulta ao Herbário | 7 |
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 8 |
| 3.1 Perdas de Colméias de Abelhas Africanizadas segundo Censo Apícola | 8 |
| 3.2 Causas das Perdas de Colméias de Abelhas Africanizadas Apontadas pelos Apicultores | 10 |
| 3.2.1 Doenças de abelhas nos municípios | 11 |
| 3.3 Responsável pelo Diagnóstico de Doenças | 11 |
| 3.4 Anexo do Censo Apícola sobre Sintomas de Doenças | 12 |
| 3.4.1 Características dos apicultores | 12 |
| 3.4.2 Sintomas de doenças | 13 |
| 3.4.3 Municípios pesquisados com cria ensacada brasileira | 13 |
| 3.4.4 Período de ocorrência da cria ensacada brasileira | 14 |
| 3.4.5 Tratamentos efetuados nas colméias com cria ensacada brasileira | 14 |
| 3.5 Consulta ao Herbário do JB | 15 |
| 4 CONCLUSÕES | 17 |
| 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 18 |
| CAPÍTULO II – PRINCIPAIS TIPOS POLÍNICOS PRESENTES EM COLMÉIAS DE <i>Apis mellifera</i> Linnaeus (Hymenoptera, Apidae) AFETADAS POR CRIA ENSACADA BRASILEIRA | 20 |
| RESUMO | 21 |
| ABSTRACT | 21 |
| 1 INTRODUÇÃO | 22 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS | 23 |
| 2.1 Área de Estudo | 23 |
| 2.2 Amostragem | 23 |
| 2.3 Metodologia | 23 |
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 25 |
| 3.1 Ocorrência de Cria Ensacada Brasileira nos Apiários | 25 |
| 3.2 Tipos Polínicos nas Amostras | 25 |
| 3.3 Tipos Polínicos por Município | 27 |
| 3.4 Recomendações de Pesquisa | 29 |
| 4 CONCLUSÕES | 30 |
| 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 31 |

| | |
|--|----|
| CAPÍTULO III – IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS, FUNGOS E MICOTOXINAS EM COLMÉIAS DE <i>Apis mellifera</i> Linnaeus (Hymenoptera, Apidae) AFETADAS POR CRIA ENSACADA BRASILEIRA | 34 |
| RESUMO | 35 |
| ABSTRACT | 36 |
| 1 INTRODUÇÃO | 37 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS | 39 |
| 2.1 Área de Estudo | 39 |
| 2.2 Amostragem | 39 |
| 2.3 Análises Bacteriológicas | 39 |
| 2.3.1 Isolamento e identificação de bactérias | 39 |
| 2.3.1.1 Pesquisa de <i>Bacillus</i> | 40 |
| 2.4 Análises Micotoxicológicas | 40 |
| 2.4.1 Isolamento e identificação de fungos | 40 |
| 2.4.1.1 Pesquisa de <i>Fusarium</i> | 40 |
| 2.4.1.2 Pesquisa de <i>Penicillium</i> | 40 |
| 2.4.1.3 Pesquisa de <i>Aspergillus</i> | 41 |
| 2.4.2 Perfil toxígeno | 41 |
| 2.4.3 Ocorrência de micotoxinas | 41 |
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 42 |
| 3.1 Características dos Apiários Pesquisados | 42 |
| 3.2 Isolamento e Identificação de Bactérias | 42 |
| 3.3 Isolamento e Identificação de Fungos | 44 |
| 3.4 Ocorrência de Micotoxinas | 45 |
| 3.5 Recomendações de Pesquisa | 45 |
| 4 CONCLUSÕES | 46 |
| 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 47 |
| CONCLUSÕES GERAIS | 52 |
| ANEXOS | 53 |

INTRODUÇÃO GERAL

A apicultura mundial vive às expensas do uso maciço de medicamentos para tentar controlar uma série de doenças que afetam as colméias de abelhas melíferas e há décadas o mel perdeu seu posto de orgânico pelo alto teor de resíduos químicos.

As abelhas africanizadas utilizadas na apicultura brasileira são consideradas resistentes às doenças e o Brasil é visto como um país de poucos problemas na área de sanidade apícola. No entanto, para alcançar a posição de orgânico comercializando mel de qualidade e reconhecido no mercado como livre de resíduos de medicamentos, faz-se necessário que haja uma vigilância constante sobre a ocorrência de doenças.

A cria ensacada brasileira (CEB) é uma doença que cursa com alta e rápida mortalidade de larvas pré-pupas nas colméias afetadas. A doença tem se constituído em um grave problema para a apicultura nos estados do Sudeste onde tem gerado prejuízos substanciais. Os sintomas são muito semelhantes aos da cria ensacada européia, a virose de abelhas com a maior difusão mundial, porém sem diagnóstico no Brasil. A larva acumula líquido ecdisial abaixo da cutícula, não realiza a muda para o estágio pupal e ocorre escurecimento da região cefálica e depois de todo o seu corpo. Algumas espécies arbóreas ricas em taninos e conhecidas vulgarmente pelo nome de “barbatimão”, como *Stryphnodendron polyphyllum* e *S. adstringens*, foram responsabilizadas pela mortalidade de cria observada nos estados de São Paulo e Minas Gerais.

Apesar de estar comprovada a toxidez de *S. polyphyllum* e *S. adstringens* para as larvas de abelhas, levanta-se a hipótese de que estas espécies florais não estejam envolvidas na etiologia da CEB no estado do Rio de Janeiro já que a doença parece estar ocorrendo em regiões onde a presença do “barbatimão” é insignificante para provocar tão alta mortalidade. Levanta-se ainda a hipótese de que as doenças de abelhas representem uma parcela significativa dentro dos fatores de perda de colméias e, portanto, um fator agravante para a produção apícola no estado do Rio de Janeiro.

Objetiva-se no presente estudo: i) sistematizar os dados de perdas contidos no censo apícola do estado do Rio de Janeiro de 2006, ii) verificar os fatores responsáveis por tais perdas, iii) verificar a ocorrência da cria ensacada brasileira (CEB), iv) comparar o zoneamento da CEB e seu período de ocorrência com a distribuição geográfica e época de floração de *S. polyphyllum* e *S. adstringens*, v) definir os tipos polínicos em amostras de colméias de abelhas africanizadas sujeitas à cria ensacada brasileira, com especial atenção para a identificação dos grãos de pólen de *Stryphnodendron*, vi) investigar a ocorrência de microrganismos e micotoxinas em colméias afetadas pela cria ensacada brasileira.

O primeiro capítulo refere-se ao estudo de perdas de colméias e sua relação com as doenças de abelhas, em especial a cria ensacada brasileira. As regiões e períodos de ocorrências da CEB são confrontados com a presença e época de floração das espécies de “barbatimão” incriminadas como tóxicas para as larvas de abelhas.

O segundo capítulo destina-se à investigação das fontes polínicas utilizadas na alimentação de colméias afetadas pela CEB a fim de confirmar se o “barbatimão” está realmente sendo consumido pelas larvas doentes em condições naturais.

No terceiro capítulo apresenta-se o resultado de pesquisas microbiológicas e micotoxicológicas em amostras de larvas mortas, pólen apícola e pão de abelhas de colméias atingidas pela CEB no estado do Rio de Janeiro.

CAPÍTULO I

PERDA DE COLMÉIAS E SUA RELAÇÃO COM A OCORRÊNCIA DA CRIA ENSACADA BRASILEIRA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

RESUMO

Nesta pesquisa objetivou-se analisar as perdas de colméias na produção apícola do estado do Rio de Janeiro em relação à ocorrência, distribuição e causas, com especial referência às doenças de abelhas e, também, caracterizar a doença cria ensacada brasileira (CEB) em *Apis mellifera* L. neste estado comparando os municípios atingidos com a distribuição geográfica de *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. 1837 e *S. adstringens* (Mart.) Coville 1910, espécies conhecidas como “barbatimão”. A pesquisa sobre as perdas de colméias e doenças de abelhas foi realizada através de consulta aos questionários do “Censo e Diagnóstico da Apicultura no Estado do Rio de Janeiro” de 2006. As informações sobre as espécies de “barbatimão” foram obtidas por revisão de literatura e análise de exsicatas no acervo do herbário da Fundação Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Os dados sobre perdas, doenças e CEB foram analisados por frequência e os de zoneamento por confronto geográfico. As perdas de colméias atingiram 61% dos apiários no estado. As doenças de abelhas constituíram a principal causa para as perdas (54%) seguida pelo ataque de formigas (22%) e pela fuga de enxames (14%). As doenças predominaram nas regiões Serrana, Noroeste Fluminense, Baixada Litorânea, Médio Paraíba e Centro-Sul Fluminense. Os municípios que apresentaram maior número de relatos de CEB foram Sapucaia e Petrópolis. A CEB ocorreu em todos os meses do ano, com maior incidência de outubro a março e manifestou-se em período de abundância de floração e quando havia fartura de alimento na colméia. *S. polyphyllum* é a única espécie do gênero encontrada no estado do Rio segundo a literatura e as exsicatas depositadas no herbário do Jardim Botânico. A sobreposição geográfica foi baixa entre as ocorrências de CEB e as de *Stryphnodendron* spp no estado do Rio de Janeiro.

Palavras-chave: Apicultura. Censo apícola. Doença de abelhas.

ABSTRACT

This issue aimed to analyze the hives losses at beekeeping in the state of Rio de Janeiro due to extension, distribution and causes, especially those related to bee diseases. The Brazilian sac brood (BSB) was characterized in this region and there was made a comparison among the geographical distribution of BSB occurrences and geographical distribution of *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. 1837 e *S. adstringens* (Mart.) Coville 1910, commonly known as “barbatimão”. This research adopted the utilization of the formulary called “The Census and Diagnosis of Apiculture in the State of Rio de Janeiro” for the year of 2006. The information about the “barbatimão” occurrence was obtained through bibliography revision and vouchers analysis of Jardim Botânico collection of Rio de Janeiro. The losses got to 61% of the apiary. The bee disease seemed to be the principal reason for the losses (54%) followed by the ant attack (22%) and by the swarm absconding (14%). The disease predominates at regions Serrana, Noroeste Fluminense, Baixada Litorânea, Médio Paraíba e Centro-Sul Fluminense. The communities, which presented the majority of the BSB cases, were Sapucaia and Petrópolis. The BSB occurred the whole year mainly from October to March and when the supers of the hives were filled up with honey. *S. polyphyllum* is the only species of the genus found in the state of Rio de Janeiro. The geographical overlap between the BSB and the *Stryphnodendron* spp was low in the state of Rio de Janeiro.

Key-words: Apiculture. Apiarian census. Bee disease.

1 INTRODUÇÃO

A história da apicultura brasileira foi cenário de duas fases distintas: a apicultura amadora a partir das abelhas européias, e a profissional, a partir da abelha polihíbrida africanizada (GONÇALVES, 1994; 2004). O profissionalismo apícola se evidenciou pelo aumento da produtividade apícola (SOMMER, 1996). Ao longo de décadas, a apicultura brasileira se viu livre de doenças clássicas de abelhas, que afligem os apicultores em todo mundo (DE JONG, 1996). As abelhas africanizadas utilizadas na apicultura brasileira são consideradas resistentes às doenças (DE JONG, 1996) e o Brasil é visto como um país de poucos problemas na área de sanidade apícola.

Situação ímpar vem ocorrendo no estado do Rio de Janeiro, onde a apicultura revela sinais de improdutividade, sendo necessária uma análise conjuntural para determinar os fatores que freiam o desenvolvimento de sua apicultura. Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2002), a produção brasileira de mel aumentou em média 21% no período entre 1999 e 2002, enquanto a do estado do Rio de Janeiro foi reduzida em 14% no mesmo período. A ocorrência de doenças de abelhas representa um dos fatores para explicar tal redução na produtividade (MESSAGE, 1992; 2002). O censo estadual apícola de 1994 (COAPI-RIO, 1994) questionou 726 apicultores sobre a ocorrência de doenças e revelou que 20% dos apicultores apresentavam problemas entre setembro e março, durante a safra de mel.

A cria ensacada brasileira (CEB) é uma doença que cursa com alta e rápida mortalidade das larvas pré-pupas (MESSAGE, 2002). A colméia doente costuma apresentar invasão de outros insetos como formigas e forídeos (*Pseudohylocera kertesii*), ou fuga de enxames. CARVALHO (1998) indicou, através de testes em laboratório, ser o pólen de *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. 1837 (Mimosoideae) o responsável pela CEB. Como nenhum vírus foi encontrado em estudo anterior dessa doença no Brasil (MESSAGE et al., 1995), o pólen de *S. polyphyllum* foi responsabilizado pela mortandade observada neste país e a doença passou a ser chamada cria ensacada brasileira (MESSAGE, 1997). CASTAGNINO (2002) observou mortalidade na cria de *Apis mellifera* durante a época de florescimento de *S. adstringens* (Mart.) Coville 1910 (Mimosoideae) e atribuiu também ao pólen desta árvore a causa da cria ensacada brasileira. Estas espécies florais são ricas em taninos e conhecidas vulgarmente pelo nome de “barbatimão”.

Apesar de estar comprovada a toxidez de *S. polyphyllum* e *S. adstringens* para as larvas de abelhas, levanta-se a hipótese de que estas espécies florais não estejam envolvidas na etiologia da CEB no estado do Rio de Janeiro, pois se suspeita que a distribuição geográfica dessas espécies não apresenta coincidência com os locais de ocorrência da doença e que esta se manifesta fora do período de floração de tais plantas. Levanta-se ainda a hipótese de que as doenças de abelhas representem uma parcela significativa dentro dos fatores de perda de colméias e, portanto, um fator agravante para a produção apícola no estado do Rio de Janeiro.

Objetiva-se no presente estudo: i) sistematizar os dados de perdas contidos no censo apícola do estado do Rio de Janeiro de 2006, ii) verificar os fatores responsáveis por tais perdas, iii) verificar a ocorrência da cria ensacada brasileira (CEB), iv) comparar o zoneamento da CEB com a distribuição geográfica de *S. polyphyllum* e *S. adstringens*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local da Pesquisa

A pesquisa sobre perdas de colméias e doenças de abelhas foi desenvolvida a partir da consulta ao banco de dados do censo apícola do estado do Rio de Janeiro, realizado em 2006, que está armazenado na Organização das Cooperativas Brasileiras (OCB-RJ).

2.2 Consulta ao Censo Apícola (2006) do Estado do Rio de Janeiro

As consultas foram realizadas em 1436 questionários do projeto “Censo e Diagnóstico da Apicultura no Estado do Rio de Janeiro”, aprovado pela Câmara Setorial de Apicultura da Secretaria de Estado de Agricultura, Abastecimento, Pesca e Desenvolvimento do Interior (SEAAPI). Este programa foi implementado em 75 municípios do estado durante dois anos, 2005 a 2006 e contou com a parceria da OCB-RJ, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural (EMATER-RIO), Serviço de Apoio às Micros e Pequenas Empresas (SEBRAE-RIO), Federação das Associações de Apicultores do Estado do Rio de Janeiro (FAERJ) e Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

Foram selecionadas informações relativas ao perfil de sanidade apícola do estado através das seguintes questões contidas nos questionários do censo apícola (Anexo A):

- Houve perda de colméias nos últimos cinco anos? (Quesito 17)
- Houve algum caso de doença nos últimos cinco anos? (Quesito 14)

Quando havia descrição, anotava-se as causas da perda na questão 17 e o responsável pelo diagnóstico da doença na questão 14. Os dados foram tabulados a partir dos questionários que apresentaram resposta positiva às perguntas 17 ou 14, ou seja, aqueles apiários que tiveram perda de colméias ou, doença de abelhas nos últimos cinco anos. Os questionários que apresentaram resposta negativa a estas perguntas foram apenas quantificados por município.

As respostas dos 1436 questionários foram reunidas por municípios e os municípios foram agrupados por regiões, segundo a divisão político-administrativa do estado do Rio de Janeiro (IBGE, 1998) em: Médio Paraíba, Centro-Sul Fluminense, Serrana, Metropolitana, Norte Fluminense, Noroeste Fluminense, Baixada Litorânea e Costa Verde. Dentre os 92 municípios que compõem o estado, participaram da pesquisa 75, a saber, em cada região (Anexo B):

- Médio Paraíba: Barra do Piraí, Barra Mansa, Itatiaia, Piraí, Quatis, Resende, Rio Claro, Rio das Flores, Valença e Volta Redonda;
- Centro-Sul Fluminense: Areal, Comendador Levy Gasparian, Engenheiro Paulo de Frontin, Mendes, Miguel Pereira, Paraíba do Sul, Paty do Alferes, Sapucaia, Três Rios e Vassouras;
- Serrana: Bom Jardim, Carmo, Cordeiro, Duas Barras, Macuco, Nova Friburgo, Petrópolis, Santa Maria Madalena, São José do Vale do Rio Preto, Sumidouro, Teresópolis e Trajano de Moraes;
- Metropolitana: Duque de Caxias, Itaboraí, Itaguaí, Mangaratiba, Maricá, Magé, Niterói, Nova Iguaçu, Paracambi, Rio de Janeiro, São Gonçalo, Seropédica e Tanguá;

- Norte Fluminense: Campos dos Goytacazes, Carapebus, Cardoso Moreira, Conceição de Macabu, Macaé, Quissamã, São Fidélis, São Francisco de Itabapoana e São João da Barra;
- Noroeste Fluminense: Aperibé, Bom Jesus de Itabapoana, Cambuci, Itaocara, Itaperuna, Laje de Muriaé, Miracema, Natividade, Porciúncula, Santo Antonio de Pádua e Varre-Sai;
- Baixada Litorânea: Araruama, Cabo Frio, Cachoeiras de Macacu, Casimiro de Abreu, Iguaba Grande, Rio Bonito, Rio das Ostras, São Pedro da Aldeia, Saquarema e Silva Jardim.

A região Costa Verde não constituiu objeto de estudo no censo estadual apícola e, portanto, os municípios de Itaguaí e Mangaratiba foram avaliados na região Metropolitana.

Os dados foram analisados por frequência e descritos em gráficos para compor as figuras. Os municípios foram agrupados por categorias de perdas: menos de 50%, mais de 50% e mais de 80% dos apicultores com perdas de colméias.

2.3 Anexo do Censo Apícola do Estado do RJ: questionários sobre a descrição da doença.

O censo apícola do ERJ elaborou um questionário para melhor monitorar os dados devido a doenças, em especial para identificar casos da cria ensacada brasileira, que segundo a FAERJ (informação não publicada), vem assolando os apiários.

O trabalho de caracterização das doenças no estado do Rio de Janeiro foi realizado através da distribuição de questionários em eventos de apicultura e associações apícolas durante os anos de 2005 e 2006. Junto aos questionários, foi acoplada uma cartilha educativa (Anexo C) com informações sobre como identificar doença em cria de abelhas, reconhecer os principais sinais da CEB, coletar amostras e enviá-las para o laboratório e introduzir medidas preventivas.

Através dos questionários, foram obtidas as informações relativas à ocorrência das doenças, tais como: município de ocorrência, época acometida, abundância de floração, presença de mel e pólen na colméia, observação de mudança climática, proximidade da mata, intervalo de revisão, número de colméias por apiário, tempo de exercício na apicultura, perda estimada, sintomas e sinais da doença e manejo adotado quanto a tratamento e destino das caixas para o seu controle.

Os dados foram analisados por frequência e descritos em gráficos para compor as figuras. Os municípios foram agrupados em categorias de perdas: mais de 50% e menos de 50% dos apicultores com perdas de colméias devido a doenças de abelhas e municípios com perdas por outras causas.

2.4 Consulta ao Herbário

A distribuição geográfica de *Stryphnodendron polyphyllum* e *S. adstringens* no estado do Rio de Janeiro foram pesquisadas através de consulta ao acervo de exsicatas pertencente ao herbário da Fundação Jardim Botânico do Rio de Janeiro e por revisão de literatura.

Os dados de distribuição das plantas foram sobrepostos com os municípios de ocorrências da cria ensacada brasileira informados nos questionários do censo sobre doenças.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Perdas de Colméias de Abelhas Africanizadas segundo Censo Apícola

As perdas de colméias foram expressivas no estado do Rio: dos 1436 questionários consultados, 875 possuíam relatos de perdas contra 562 sem perdas (Figura 2). Isso significa que 61% dos apicultores sofreram prejuízos por perdas de colméias, cuja estimativa gira pelo menos em torno de mais de um milhão de reais (LORENZON, 2006).

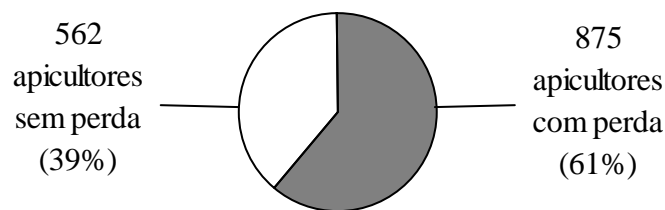


Figura 2. Contagem e porcentagem de apicultores com perda e sem perda. Estado do Rio de Janeiro. 2005-2006.

Todas as regiões discriminadas neste estudo tiveram mais de 50% do total de apicultores com perdas de colméias, conforme descrito na tabela 1.

Tabela 1. Apicultores com perdas de colméias por região. Estado do Rio de Janeiro. 2005-2006.

| Regiões | Nº de apicultores por região | Nº de apicultores com perda | Frequência de apicultores com perda |
|-----------------------|------------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| Serrana | 223 | 151 | 68% |
| Baixada Litorânea | 116 | 78 | 67% |
| Noroeste Fluminense | 127 | 84 | 66% |
| Centro-Sul Fluminense | 276 | 170 | 62% |
| Metropolitana | 184 | 107 | 58% |
| Norte Fluminense | 246 | 139 | 57% |
| Médio Paraíba | 264 | 146 | 55% |
| TOTAL | 1436 | 875 | 61% |

Fonte: Censo apícola do estado do Rio de Janeiro. 2006.

Dos 75 municípios pesquisados, as perdas de colméias foram relatadas em 72, sendo apenas três isentos: Duque de Caxias, Nova Iguaçu e Saquarema. O grupo de municípios com perdas acentuadas (mais de 50%) foi representado por 57 municípios: Aperibé, Araruama, Areal, Bom Jardim, Cabo Frio, Cachoeiras de Macacu, Campos dos Goytacazes, Carapebus, Cardoso Moreira, Casimiro de Abreu, Comendador Levy Gasparian, Cordeiro, Duas Barras, Engenheiro Paulo de Frontin, Iguaba Grande, Itaboraí, Itaguaí, Itaocara, Itaperuna, Itatiaia,

Laje de Muriaé, Macaé, Macuco, Mangaratiba, Maricá, Magé, Miguel Pereira, Miracema, Nova Friburgo, Paracambi, Paty do Alferes, Petrópolis, Piraí, Porciúncula, Quatis, Quissamã, Resende, Rio Bonito, Rio Claro, Rio das Ostras, Santa Maria Madalena, São Fidélis, São Gonçalo, Santo Antonio de Pádua, São João da Barra, São José do Vale do Rio Preto, São Pedro da Aldeia, Sapucaia, Seropédica, Silva Jardim, Sumidouro, Teresópolis, Trajano de Moraes, Três Rios, Valença, Varre-Sai e Vassouras. O grupo de municípios que apresentaram perdas baixas (menos de 50%) somou apenas 15 municípios: Barra do Piraí, Barra Mansa, Bom Jesus do Itabapoana, Cambuci, Carmo, Conceição de Macabu, Mendes, Natividade, Niterói, Paraíba do Sul, Rio das Flores, Rio de Janeiro, São Francisco de Itabapoana, Tanguá e Volta Redonda.

A tabela 2 destaca os 22 municípios com valores iguais ou superiores a 80% dos apicultores sofrendo perdas de colméias.

Tabela 2. Municípios que apresentam mais de 80% dos apicultores com perdas de colméias. Estado do Rio de Janeiro. 2005-2006.

| Municípios | Nº de apicultores por município | Nº de apicultores com perda | % de apicultores com perda |
|-------------------------|---------------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| Aperibé | 2 | 2 | 100% |
| Areal | 5 | 4 | 80% |
| Bom Jardim | 4 | 4 | 100% |
| Cachoeiras de Macacu | 4 | 4 | 100% |
| Carapebus | 2 | 2 | 100% |
| Cordeiro | 3 | 3 | 100% |
| Duas Barras | 10 | 9 | 90% |
| Iguaba Grande | 9 | 8 | 89% |
| Itaocara | 11 | 9 | 82% |
| Itaperuna | 8 | 7 | 88% |
| Itatiaia | 8 | 8 | 100% |
| Macuco | 2 | 2 | 100% |
| Magé | 2 | 2 | 100% |
| Mangaratiba | 9 | 8 | 89% |
| Petrópolis | 22 | 18 | 82% |
| Porciúncula | 14 | 12 | 86% |
| Quissamã | 5 | 4 | 80% |
| Rio Bonito | 30 | 27 | 90% |
| São José Vale Rio Preto | 10 | 10 | 100% |
| São Pedro da Aldeia | 14 | 12 | 86% |
| Sapucaia | 16 | 13 | 81% |
| Três Rios | 18 | 16 | 89% |

Fonte: Censo apícola do estado do Rio de Janeiro (2006).

Os resultados apresentados mostram que os apicultores apresentaram perdas substanciais, para a produção e rentabilidade de seu negócio. As perdas de colméias revelam-se também como um dos fatores responsáveis pela baixa produtividade apícola observada neste estado e um fator negativo para o desenvolvimento da apicultura do estado do Rio de Janeiro.

3.2 Causas das Perdas de Colméias de Abelhas Africanizadas Apontadas pelos Apicultores

A abrangência das causas de perdas incluiu análises em torno de nove itens: doença, manejo e enfraquecimento, fuga de enxames, predadores (formigas), pragas (traças de cera, cupins), furto de colméias, envenenamento por agrotóxico, fogo e enchente.

Dentre os 875 questionários pesquisados com perdas de colméias, 54% trouxeram algum esclarecimento sobre as causas para as perdas, perfazendo um total de 472 apiários investigados nesta análise. Os demais (403 questionários), que não trouxeram informação sobre os motivos que levaram às perdas de colméias, não foram considerados para os cálculos de frequência.

As doenças de abelhas constituíram a principal causa para as perdas de colméias, foram notificadas em 253 questionários, compondo um montante maior do que 50% das causas de perdas em relação a todas as outras causas declaradas pelos apicultores. Sucedendo o problema de doenças de abelhas, segue-se o ataque de predadores (formigas), relatado em 116 questionários. A fuga de enxames representou a terceira causa mais freqüente para as perdas de colméias constando em 66 questionários. Pragas de cera (traça) e de caixa (cupim) foram declaradas em 18 questionários. Erros de manejo e enfraquecimento da colônia apareceram em sete questionários, furto de colméias em cinco, fogo em quatro, utilização de agrotóxico em dois e enchente em apenas um, totalizando, juntos, 19 questionários. A figura 3 mostra a participação percentual das causas para as perdas de colméias, onde englobou-se os últimos cinco itens no item outros motivos.

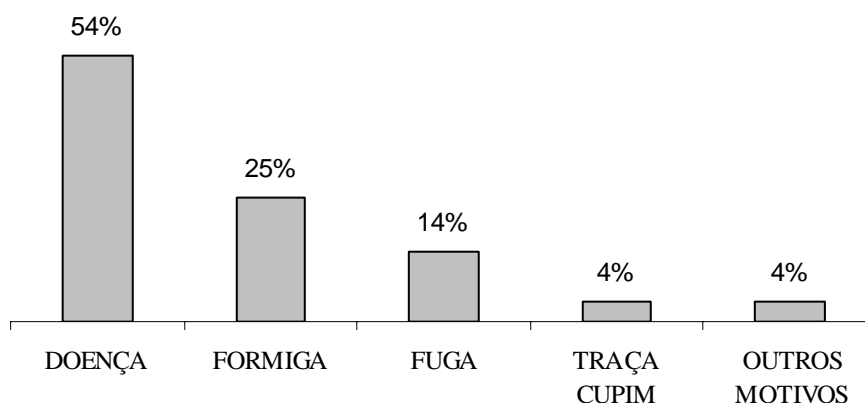


Figura 3. Proporção entre perdas declaradas pelos apicultores nos questionários do censo apícola. Estado do Rio de Janeiro. 2005-2006.

Considerando que a declaração pelos apicultores de certas causas de perdas, tais como: traças, predadores, fuga e enfraquecimento de enxames, possam ser na realidade sinais importantes de doenças, como as loques de crias e a cria ensacada, a participação das doenças se ampliará para 97%, como causa para as perdas de colméias.

Quando se analisa a ocorrência de doenças nos municípios do estado, verifica-se que esta representa a maior causa para as perdas em cinco das regiões: Serrana (100%), Noroeste Fluminense (92%), Baixada Litorânea (88%), Médio Paraíba (81%) e Centro-Sul Fluminense (50%).

A presença de formigas foi a principal causa de perdas para a região Metropolitana (47%), atingindo os municípios do Rio de Janeiro, Itaboraí, Itaguaí, Mangaratiba, Maricá, Niterói, São Gonçalo e Seropédica. As formigas também foram uma causa de perdas importante para a região Centro-sul Fluminense (36%) que exibiu notificações em Comendador Levy Gasparian, Miguel Pereira, Paraíba do Sul, Três Rios e Vassouras. A região Norte Fluminense apresentou 28% das declarações de perdas devidas ao ataque de

formigas, todas relatadas no município de São Fidelis. As presenças de traça e cupim foram pouco citadas como causa de perdas de colméias sendo reportada principalmente na região Metropolitana (9%) e envolvendo os municípios do Rio de Janeiro, Itaboraí e Mangaratiba.

A fuga de enxames foi a principal causa de perdas na região Norte Fluminense (54%) e atingiu os municípios de Cardoso Moreira e São Fidelis. Problemas de manejo e enfraquecimento do enxame foram relatados nos municípios de Campos dos Goytacazes, Maricá, Miguel Pereira, Paraíba do Sul, Resende e Três Rios. Furtos de colméias apareceram em notificações de Bom Jesus do Itabapoana, Iguaba Grande, Maricá, Niterói e São Pedro da Aldeia. Perdas por uso de agrotóxico foram declaradas em São Fidelis e Itaboraí; por fogo em Mangaratiba, Paraíba do Sul, Paty do Alferes e Seropédica; e por enchente em Resende.

Diante destes resultados as doenças de abelhas revelam um quadro preocupante no cenário apícola fluminense. A presença de formigas e a fuga de enxames também são causas de perdas importantes no estado e podem ser sinais de doença.

3.2.1 Doenças de abelhas nos municípios

As doenças de abelhas foram observadas em 52 municípios correspondendo a 69% dos municípios pesquisados no estado do Rio de Janeiro.

O grupo de municípios que apresentaram mais de 50% dos apiários com perdas de colméias devido a doenças de abelhas foi: Aperibé, Areal, Barra Mansa, Cachoeiras de Macacu, Cambuci, Carmo, Casimiro de Abreu, Cordeiro, Itatiaia, Macaé, Macuco, Magé, Mendes, Paracambi, Petrópolis, Rio Bonito, São José do Vale do Rio Preto, Sapucaia e Tanguá.

O grupo de municípios que apresentaram doença de abelhas em menos de 50% dos apiários foi: Araruama, Bom Jardim, Bom Jesus do Itabapoana, Campos dos Goytacazes, Duas Barras, Engenheiro Paulo de Frontin, Iguaba Grande, Itaboraí, Itaguaí, Itaocara, Maricá, Miguel Pereira, Nova Friburgo, Paraíba do Sul, Paty do Alferes, Piraí, Porciúncula, Quatis, Quissamã, Resende, Rio Claro, Rio de Janeiro, Santa Maria Madalena, São Fidélis, São Pedro da Aldeia, Seropédica, Silva Jardim, Sumidouro, Teresópolis, Trajano de Moraes, Valença, Varre-Sai e Vassouras.

Os municípios que tiveram perdas de colméias sem relato de doença foram: Barra do Piraí, Cabo Frio, Carapebus, Cardoso Moreira, Comendador Levy Gasparian, Conceição de Macabu, Itaperuna, Laje do Muriaé, Mangaratiba, Miracema, Natividade, Niterói, Rio das Flores, Rio das Ostras, Santo Antonio de Pádua, São Francisco de Itabapoana, São Gonçalo, São João da Barra, Três Rios e Volta Redonda.

O censo estadual apícola de 2006 não apresenta dados de quais doenças podem estar acometendo os apiários. Alguns questionários trouxeram, na forma de observação, relatos sobre a ocorrência de varroatose e cria ensacada brasileira. Nenhuma outra doença de abelhas foi citada pelos apicultores.

O alto índice de perdas por doença reflete a falta de um programa de sanidade apícola no estado. A baixa citação das causas envolvidas sugere que há pouco conhecimento pelos apicultores sobre as doenças que vêm afetando os seus apiários.

3.3 Responsável pelo Diagnóstico de Doenças

Os apicultores que responderam afirmativamente à ocorrência de doenças foram questionados sobre o responsável pelo seu diagnóstico. A grande maioria dos casos de doença foi diagnosticada pelo próprio apicultor (188 questionários) e apenas uma pequena parte por

técnicos do governo (15 questionários) ou, por contratado (seis questionários). A figura 4 mostra a participação percentual de cada categoria para a efetivação do diagnóstico de doença no apiário. Entre os 253 questionários, 44 não trouxeram essa informação (17%).

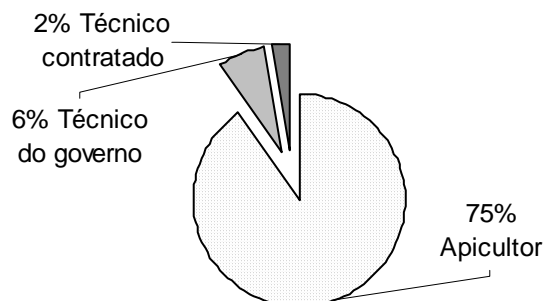


Figura 4. Proporção de responsabilidade pelo diagnóstico de doenças. Estado do Rio de Janeiro. 2005-2006.

Os dados indicam uma fraca assistência ao apicultor, tanto pública como privada, no que tange ao principal problema para as perdas na apicultura do estado do Rio de Janeiro que são as doenças de abelhas. A falta de um serviço de diagnóstico técnico provavelmente conduz o apicultor à responsabilidade de fazê-lo. Este quadro revela que a sanidade apícola não tem merecido a devida atenção dos veterinários, técnicos e órgãos competentes em sanidade no estado.

O alto índice de perdas e de desassistência técnica, em especial por doenças, pode favorecer a dispersão de vetores de doenças de abelhas e da redução da qualidade dos produtos apícolas. É possível que os apicultores, ao assumir o diagnóstico de doenças, possam estar inclusive aplicando uma medida de controle inadequada, como a utilização de substâncias químicas, favorecendo a contaminação dos produtos apícolas.

Em 2006, o Ministério da Agricultura aprovou o Regulamento Técnico do Programa Nacional de Sanidade Apícola. O regulamento define as competências dos órgãos públicos, apicultores, veterinários, técnicos e laboratórios no combate às doenças de abelhas e padroniza ações profiláticas, de diagnóstico e de saneamento dos apiários e estabelecimentos que manipulam, processam ou comercializam os produtos apícolas (MAPA, 2006). A aplicação destas medidas poderá prevenir a introdução de doenças exóticas e controlar ou erradicar aquelas já existentes no país.

3.4 Anexo do Censo Apícola sobre Sintomas de Doenças

3.4.1 Características dos apicultores

Os apicultores que participaram da pesquisa preenchendo os questionários sobre doenças realizaram inspeções na colméia com frequência quinzenal (65%), mensal (16%) ou acima desse período (19%). Metade deles têm certificação de curso, até 20 anos de exercício na apicultura e sofrem perda anual entre 90 e 100% das colméias devido a doenças.

Foram preenchidos apenas 31 questionários sobre os sintomas de doenças, todos estes conduzem a sintomatologia de cria ensacada brasileira (CEB).

3.4.2 Sintomas de doenças

Os sintomas e sinais mais relatados foram: cria morta, opérculos perfurados, presença de forídeos nos favos e alteração na coloração da larva para cinza, marrom ou cinza-escuro. A figura 5 mostra a quantidade de todos os sintomas e sinais que foram marcados pelos apicultores nos questionários.

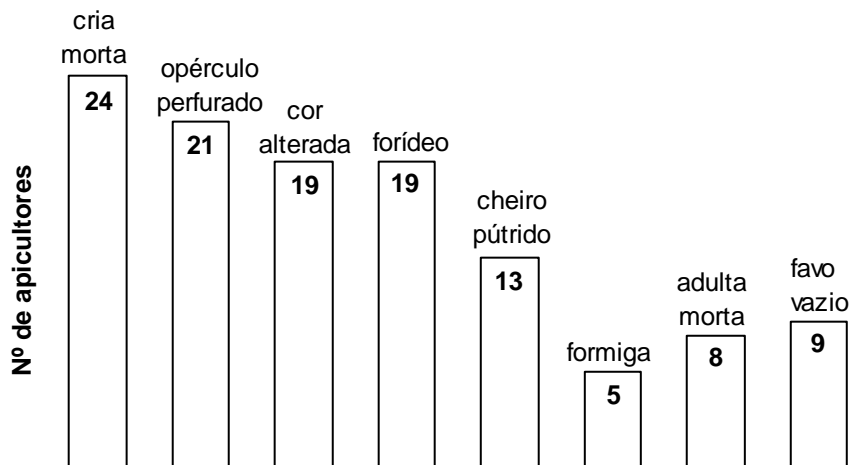


Figura 5. Sintomas e sinais da cria ensacada brasileira. Estado do Rio de Janeiro. 2005-2006.

3.4.3 Municípios pesquisados com cria ensacada brasileira

Os questionários foram obtidos em apenas 14 municípios: Petrópolis, Sapucaia, Magé, Piraí, Rio Bonito, Itaboraí, Carmo, Cachoeiras de Macacu, Itaguaí, Mendes, Niterói, Paraíba do Sul, Tanguá, e Teresópolis (Tabela 3).

Tabela 3. Distribuição dos apicultores pesquisados com CEB por município. Estado do Rio de Janeiro. 2005-2006.

| Apicultores | Municípios |
|-------------|----------------------|
| 6 | Petrópolis |
| 6 | Sapucaia |
| 3 | Magé |
| 3 | Piraí |
| 3 | Rio Bonito |
| 2 | Itaboraí |
| 1 | Carmo |
| 1 | Cachoeiras de Macacu |
| 1 | Itaguaí |
| 1 | Mendes |
| 1 | Niterói |
| 1 | Paraíba do Sul |
| 1 | Tanguá |
| 1 | Teresópolis |

Segundo a Federação das Associações de Apicultores do Estado do Rio de Janeiro (FAERJ), a CEB também foi notificada em: Silva Jardim, Guapimirim, Três Rios e São José do Vale do Rio Preto.

3.4.4 Período de ocorrência da cria ensacada brasileira

Segundo os dados destes questionários, a CEB prevaleceu durante as estações da primavera e verão, no período compreendido entre outubro e março (Figura 6).

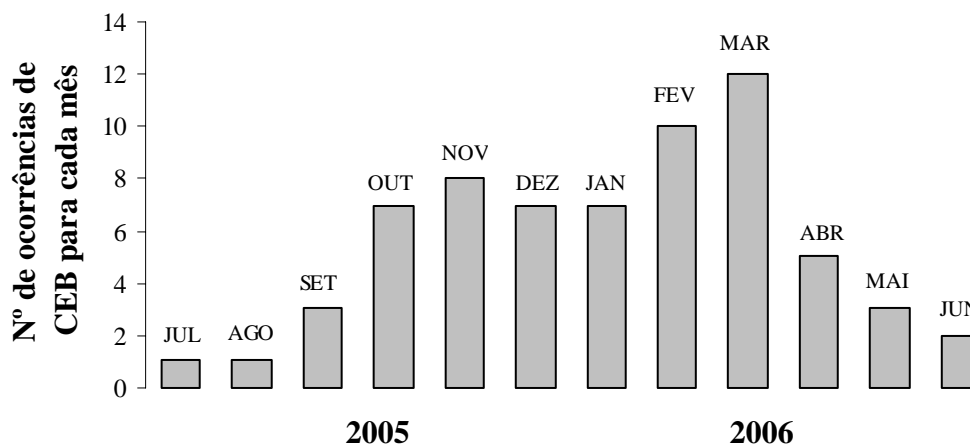


Figura 6. Ocorrência da cria ensacada brasileira ao longo do ano, declarada pelos apicultores. Estado do Rio de Janeiro. 2005-2006.

Verifica-se um aspecto curioso, o período de ocorrência da CEB varia conforme a região. Na região do Médio Paraíba predominou em outubro, na região Metropolitana em novembro, na região da Baixada Litorânea em novembro e dezembro, na região Serrana em janeiro e na região Centro-Sul em fevereiro.

Os dados de período da doença coincidem com os resultados para a questão sobre época de produção de mel. A CEB predominou em época de florações abundantes (Figura 7), definida pelos apicultores pela presença de colméias fortes, com melgueiras repletas de mel e alta presença de pólen no ninho. A abundância de alimento na colméia foi relatada por 90% dos apicultores.

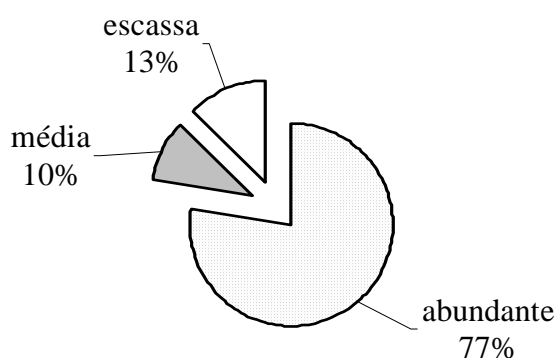


Figura 7. Abundância da floração durante a CEB: porcentagem de apiários. Estado do Rio de Janeiro. 2005-2006.

3.4.5 Tratamentos efetuados nas colméias com cria ensacada brasileira

Uma vez detectada a CEB, a maioria dos apicultores (85%) não realizou tratamento algum na colméia afetada. Metade desses apicultores guardou as caixas perdidas pela CEB no

depósito e a outra metade preferiu queimar ou, desinfetar as caixas com problema. Dentre aqueles que instituíram algum tipo de tratamento, dois medicaram com terramicina, dois migraram as colméias para outro local e um retirou o pólen dos favos.

Os dados sugerem que a cria ensacada brasileira permanece sem um controle efetivo implantado nos apiários. Não há um tratamento indicado e a medida preventiva de migração das colméias foi pouco utilizada pelos apicultores, provavelmente pela dificuldade de realização dessa atividade.

3.5 Consulta ao Herbário do Jardim Botânico

As amostras de *Stryphnodendron polyphyllum* coletadas para herborização foram provenientes de árvores com altura entre quatro e 30 metros, habitando principalmente mata de encosta. *S. polyphyllum* é freqüente nos cerrados e campos rupestres do Nordeste, e em florestas no Sudeste (MORIM, 2006). Pode ser encontrado no Amazonas, Rio de Janeiro e Minas Gerais (CORRÊA, 1926). Segundo OCCHIONI MARTINS (1981), esta é a única espécie do gênero existente no estado do Rio de Janeiro. Sua presença, porém, não é freqüente neste estado, ocorrendo nas beiradas de mata, áreas degradadas ou, formações secundárias (OCCHIONI MARTINS, 1974). *S. polyphyllum* foi observado em 14 exsicatas, provenientes de coleta em oito municípios do estado: Itatiaia, Nova Iguaçu, Nova Friburgo, Santa Maria Madalena, Teresópolis, Silva Jardim, Macaé e Paraty. A tabela 4 mostra a distribuição das exsicatas por municípios e anos da coleta.

Tabela 4. Distribuição das exsicatas de *Stryphnodendron polyphyllum* por município. Estado do Rio de Janeiro. 2006

| Exsicatas | Municípios | Ano da Coleta |
|-----------|----------------------|---------------|
| 1 | Itatiaia | 1918 |
| 1 | Nova Iguaçu | 1996 |
| 1 | Nova Friburgo | 1881 |
| 1 | Santa Maria Madalena | 1934 |
| 1 | Teresópolis | 1979 |
| 1 | Silva Jardim | - |
| 1 | Macaé | 1987 |
| 7 | Paraty | 1989 a 1994 |

Fonte: Jardim Botânico do Rio de Janeiro

Os municípios de Sapucaia e Petrópolis participaram com o maior número de notificações de CEB (40%) e Paraty com a maior quantidade de exsicatas de *S. polyphyllum* (50%).

Confrontando os dados dos questionários com os das exsicatas, verifica-se que Itatiaia, Nova Iguaçu, Nova Friburgo, Santa Maria Madalena, Silva Jardim, Macaé e Paraty não apresentaram qualquer declaração sobre ocorrências de CEB, mas foram encontradas exsicatas de *S. polyphyllum* provenientes destes municípios. No entanto, Piraí, Mendes, Paraíba do Sul, Sapucaia, Carmo, Petrópolis, Rio Bonito, Cachoeiras de Macacu, Itaboraí, Itaguaí, Magé, Niterói e Tanguá tiveram ocorrências de CEB declarada nos questionários, mas não foram encontradas exsicatas de *S. polyphyllum* coletadas nestes municípios. Teresópolis foi o único município que apresentou coincidência entre a ocorrência de *S. polyphyllum* revelada pelas exsicatas e a ocorrência de CEB informada nos questionários (Tabela 5).

Tabela 5. Municípios do estado do Rio de Janeiro que apresentaram questionários sobre a cria ensacada brasileira (CEB) e exsicatas de *Stryphnodendron polyphyllum* (“barbatimão”).

| Regiões | Municípios | CEB | “barbatimão” |
|---------------|----------------------|----------------------|--------------|
| MÉDIO PARAÍBA | Itatiaia | N | S |
| | Piraí | S | N |
| METROPOLITANA | Itaboraí | S | N |
| | Itaguaí | S | N |
| | Magé | S | N |
| | Niterói | S | N |
| | Nova Iguaçu | N | S |
| | Tanguá | S | N |
| | BAIXADA LITORÂNEA | Cachoeiras de Macacu | S |
| | Rio Bonito | S | N |
| | Silva Jardim | N | S |
| | SERRANA | Carmo | S |
| | Nova Friburgo | N | S |
| | Petrópolis | S | N |
| | Santa Maria Madalena | N | S |
| | Teresópolis | S | S |
| | CENTRO -SUL | Mendes | S |
| | Paraíba do Sul | S | N |
| | Sapucaia | S | N |
| | NORTE | Macaé | N |
| COSTA VERDE | Paraty | N | S |

Legenda: S = sim, presença de CEB ou “barbatimão”; N= não, ausência.

Fonte: Jardim Botânico do Rio de Janeiro e Censo Apícola do Rio de Janeiro. 2006.

A distribuição geográfica de *Stryphnodendron adstringens* revela que essa espécie não ocorre no estado do Rio de Janeiro (OCCHIONI MARTINS, 1990). Não foi encontrada nenhuma exsicata no acervo do herbário do Jardim Botânico e nenhuma referência bibliográfica sobre a ocorrência de *S. adstringens* neste estado. *S. adstringens* é planta característica de cerrados e campos, tanto em formações primárias como secundárias, encontrada geralmente em áreas desmatadas ou degradadas, do Pará até São Paulo e em Mato Grosso do Sul (LORENZI, 2002; OCCHIONI MARTINS, 1980).

Os resultados indicam que *S. adstringens* não pode estar envolvida na etiologia da CEB que vem ocorrendo no estado do Rio de Janeiro porque não existe neste estado e que há pouca sobreposição geográfica entre a CEB e o *S. polyphyllum* no estado do Rio.

4 CONCLUSÕES

As perdas de colméias são significativas no estado do Rio de Janeiro atingindo 61% dos apiários pesquisados. As doenças de abelhas constituem o principal motivo para as perdas, seguida pelo ataque de formigas e pela fuga de enxames, que também podem ser sinais de doença.

A cria ensacada brasileira ocorre durante todos os meses do ano, principalmente em período de floração abundante e fartura de alimento na colméia.

Em 75% dos casos, é o próprio apicultor quem faz o diagnóstico da doença. O manejo mais adotado para o controle é não realizar tratamento algum e guardar as caixas com problemas no depósito.

A CEB é observada em 14 municípios: Petrópolis, Sapucaia, Magé, Piraí, Rio Bonito, Itaboraí, Carmo, Cachoeiras de Macacu, Itaguaí, Mendes, Niterói, Paraíba do Sul, Tanguá, e Teresópolis.

Stryphnodendron polyphyllum é a única espécie do gênero existente no estado do Rio de Janeiro. A comparação entre o zoneamento da CEB e a distribuição geográfica de *S. polyphyllum* revela sobreposição de dados apenas para o município de Teresópolis.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 137, de 5 de junho de 2006. Regulamento Técnico do Programa Nacional de Sanidade Apícola – PNSAp. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, n.109, p.1-6, 8 jun. 2006.

CARVALHO, A. C. P. **Pólen de *Stryphnodendron polyphyllum* como agente causador da cria ensacada brasileira em *Apis mellifera* L.** 1998. 60p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1998.

CASTAGNINO, G. L. B. **Efeito do fornecimento de substituto de pólen na redução da mortalidade de *Apis mellifera* L, causada pela cria ensacada brasileira.** 2002. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

COAPI-RIO. Censo Estadual Apícola de 1994. **Pesquisa Apícola Fluminense**, Niterói, 25 p.

CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas.** Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1926.

DE JONG, D. Africanized honey bees in Brazil, forty years of adaptation and success. **Bee World**, v.77, p.67-70, 1996.

DE JONG, D. Loque americana, o grande perigo para o futuro da apicultura brasileira. **Mensagem Doce**, São Paulo, v.39, p.11-12, 1996.

GONÇALVES, L. S. A influência do comportamento de abelhas africanizadas na produção, capacidade de defesa e resistência às doenças. In: ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 1, 1994, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto, 1994. p.72-77.

GONÇALVES, L. S. A expansão da apicultura brasileira e suas perspectivas em relação ao mercado apícola internacional. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 15, 2004, Natal. **Anais...** Natal, 2004. p.1-7.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Centro de informações e dados do Rio de Janeiro, 1998. Território 2ª ed. CIDE. Rio de Janeiro. 80p.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção de mel nos estados brasileiros. 2002. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> . Acesso em: 10 set. 2006.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Nova Odessa: Plantarum, 2002.

LORENZON, M. C. A. Medidas preventivas contra a mortalidade de cria de *Apis mellifera*. In: FÓRUM DE DESENVOLVIMENTO DA APICULTURA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, 3, 2005, Seropédica, **Anais...** Seropédica: Ed. da UFRRJ, 2006. p.57-60.

MESSAGE, D. Como detectar doenças de abelhas na colônia e enviar amostras para o diagnóstico em laboratório. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 1992, Candelária. **Anais...** Candelária, 1992. p.91-96.

MESSAGE, D., BALL, B. V., SILVA, I. C. 1995. A serious brood disease affecting africanized honeybees (*Apis mellifera*). In: APIMONDIA CONGRESS, 34, 1995, Lausane. **Proceedings...**Lausane: Apimondia, 1995.

MESSAGE, D. **Management and disease problems of africanized bees in Brasil.** Parkstone: The Central Association of Bee-keepers, 1997.

MESSAGE, D. Doenças, pragas e predadores das abelhas no Brasil. **Revista Brasileira de Agropecuária**, v.3, n.15, p.52-59, 2002.

MESSAGE, D. O impacto das doenças de abelhas na produtividade e comercialização dos produtos apícolas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 15, 2002, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande, 2002. p.228-233.

MESSAGE, D. Cria Ensacada. **Revista Brasileira de Agropecuária**, v.15, p.55-56, 2002.

MORIM, M. P. Leguminosae arbustivas e arbóreas da floresta atlântica do parque nacional do Itatiaia, sudeste do Brasil: padrões de distribuição. **Rodriguésia**, v.57, n.1, p.27-45, 2006.

OCCHIONI MARTINS, E. M. *Stryphnodendron* Mart. Leg. Mim. As espécies do Nordeste, Sudeste e Sul do Brasil. **Leandra**, v. 3-4, n.4-5, p53-60, 1974.

OCCHIONI MARTINS, E. M. Distribuição geográfica do gênero *Stryphnodendron* com descrição de nova espécie (Leg., Mim). **Revista Brasileira de Biologia**, v.40, n.4, p.729-732, 1980.

OCCHIONI MARTINS, E. M. *Stryphnodendron* Mart.(Leguminosae:Mimosoideae) com especial referência aos *taxa amazônicos*. 1981. 143 P. Dissertação (mestrado em Botânica) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1981.

OCCHIONI MARTINS, E. M. Considerações Taxonômicas no gênero *Stryphnodendron* Mart. (Leguminosae-Mimosoideae) e distribuição geográfica das espécies. **Actas Botânica Brasileira**, v. 4, n.2, p.153-158, 1990.

SOMMER, P. G. Quarenta anos de apicultura africanizada no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 11,1996, Teresina. **Anais...** Teresina, 1996. p.33-36.

CAPÍTULO II

PRINCIPAIS TIPOS POLÍNICOS PRESENTES EM COLMÉIAS DE *Apis mellifera* Linnaeus (Hymenoptera, Apidae) AFETADAS POR CRIA ENSACADA BRASILEIRA

RESUMO

Os grãos de pólen de algumas árvores *Stryphnodendron*, conhecidas popularmente por “barbatimão”, são responsabilizados pela mortandade de larvas pré-pupas observada na cria ensacada brasileira (CEB). Objetivou-se identificar os tipos polínicos de amostras coletadas em colméias de *Apis mellifera* para elucidar as fontes florais utilizadas por essa espécie em regiões e em períodos sujeitos a CEB, com especial atenção para a presença do pólen de *Stryphnodendron*. Coletaram-se amostras de pólen apícola e pão de abelhas em sete apiários localizados em três municípios do estado do Rio de Janeiro. A amostragem foi tomada um mês antes do período corrente da CEB e durante sua ocorrência. As famílias mais representativas foram: Leguminosae, Euphorbiaceae, Asteraceae, Poaceae e Myrtaceae. O pólen de *Stryphnodendron* não esteve presente nas amostras analisadas sugerindo, portanto, outra causa para a CEB nos apiários pesquisados.

Palavras-chave: Recurso floral. Intoxicação por plantas. Apicultura.

ABSTRACT

The pollen grains of some *Stryphnodendron* spp, commonly known as “barbatimão”, were responsible for the pre-pulps larvae mortality observed in brazilian sac brood (BSB). The pollen samples were collected from hives of *Apis mellifera*, which were identified to elucidate the floral sources of these species in regions and periods of time where BSB usually occurs, with particular attention to the pollen grains of *Stryphnodendron* (“barbatimão”). Samples of pollen and bee bread were collected from seven apiaries located in the state of Rio de Janeiro, Brazil. Sampling procedures were done a month before BSB usual occurrence and also during its occurrence. The samples most representative were Leguminosae, Euphorbiaceae, Asteraceae, Poaceae and Myrtaceae. The *Stryphnodendron* pollen was not presented at the analyzed samples, suggesting another cause to determine BSB.

Key words: Floral source. Plants intoxication. Apiculture.

1 INTRODUÇÃO

A cria ensacada brasileira (CEB) é uma doença que apresenta alta mortalidade de cria constituindo um dos principais problemas da apicultura no estado do Rio de Janeiro, onde tem ocasionado grandes prejuízos (LORENZON, 2006).

CARVALHO (1998) apresentou o pólen de *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. 1837 (Mimosoidea), como o responsável pela ocorrência da cria ensacada brasileira em abelhas melíferas. CASTAGNINO (2002) observou também em colméias de *Apis* sintomas semelhantes aos da CEB durante a floração de *S. adstringens* (Mart.) Coville 1910 (Mimosoidea). Estas duas espécies são conhecidas vulgarmente por “barbatimão”. O tanino foi a substância apontada como tóxica para as larvas de *Apis*, tanto em *S. polyphyllum* (SANTOS, 2000) como em *S. adstringens* (CINTRA et al., 1998).

No estado do Rio de Janeiro, apicultores vêm denunciando perdas por CEB nos apiários que abrangem os seguintes municípios: Teresópolis, Petrópolis, São José do Vale do Rio Preto, Carmo, Sapucaia, Mendes, Rio Bonito, Três Rios, Sambaetiba, Piraí, Magé, Guapimirim e Silva Jardim (PACHECO, 2006).

Apesar da toxicidade comprovada do “barbatimão” sobre as crias de abelhas *Apis*, existem suspeitas de que a doença esteja ocorrendo em regiões onde a presença do “barbatimão” é insignificante para provocar tão alta mortalidade. Os resultados apresentados no capítulo I deste estudo mostram que *S. polyphyllum* não apresentou distribuição geográfica sobreposta aos relatos de CEB e *S. adstringens* não ocorre no estado do Rio de Janeiro (OCCHIONI MARTINS, 1990; LORENZI, 2002).

A análise do pólen, através da palinologia (BARTH, 1989), de colméias doentes é uma etapa importante para o diagnóstico de intoxicações causadas por plantas nas abelhas. Através desse procedimento, é possível verificar se as abelhas estão forrageando alguma planta documentada como tóxica para a espécie, bem como, a representatividade do tipo polínico na dieta. Além disso, é possível verificar se plantas suspeitas de serem tóxicas pela experimentação ou, pelo isolamento de princípios tóxicos, são realmente forrageadas em condições naturais.

Para este estudo propõe-se a hipótese de que o pólen de *Stryphnodendron* não é o agente etiológico das ocorrências de CEB observadas no estado do Rio de Janeiro. Para testar esta hipótese, objetivou-se definir os tipos polínicos em amostras de colméias de abelhas africanizadas sujeitas à cria ensacada brasileira, com especial atenção para a identificação dos grãos de pólen de *Stryphnodendron*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de Estudo

A amostragem foi realizada em municípios do estado do Rio de Janeiro com alta perda de colméias e com sintomas da CEB. Estes municípios foram identificados através de denúncias dos apicultores da região à Federação das Associações de Apicultores do Estado do Rio de Janeiro (FAERJ) ou, diretamente à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Foram selecionados apicultores que efetivamente monitoravam seus apiários durante o surto da doença sendo devidamente instruídos quanto à amostragem.

Sete apiários foram alvo de observações e amostragem em três municípios diferentes: Mendes (22°31'36"S, 43°43'58"W), Sapucaia (21°59'42"S, 42°54'52"W) e Petrópolis (22°30'18"S, 43°10'43"W). Em Sapucaia houve a participação de dois apiários, nomeados de Sapucaia1 e Sapucaia2. Em Petrópolis foram estudados apiários nos distritos de Itaipava e Posse e nas localidades de Secretário e Brejal. Dos sete apiários examinados, cinco foram acompanhados rotineiramente pelo pessoal da pesquisa e apicultores e dois (Secretário e Sapucaia2) em visitas esporádicas.

2.2 Amostragem

Coletaram-se o pólen apícola e o pão de abelhas de duas colméias nas categorias de ninho ou melgueira. Pólen apícola é o pólen que foi coletado nas flores e transportado para a colméia. Pão de abelhas é o pólen estocado no favo que recebeu mel, secreções glandulares das abelhas e sofreu fermentação ácido-lática por ação de bactérias e leveduras (HERBERT & SHIMANUKI, 1978).

O pólen apícola foi coletado a partir de coletores instalados no alvado de duas colméias escolhidas ao acaso. A quantidade de pólen coletado variou ao longo do período, sendo suficiente para a análise palinológica (2g). O equipamento foi instalado nas colméias uma vez por semana pela manhã e permaneceu pelo menos por duas a três horas. Após este período, o pólen foi imediatamente coletado e armazenado em saco plástico esterilizado, identificado e mantido refrigerado a 2°C. A coleta de pólen foi feita ao longo do mês anterior e durante o período corrente da mortalidade nos apiários, de julho de 2005 a fevereiro de 2006.

Diagnosticada a ocorrência da mortalidade de cria nas colméias, coletou-se o pão de abelhas em zonas de 5 x 5cm de favos provenientes de duas colméias onde ocorriam larvas pré-pupas afetadas pela doença. As amostras foram devidamente embaladas, identificadas e mantidas refrigeradas.

Após o período de amostragem, todo o material refrigerado foi enviado ao Laboratório de Palinologia do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) para efetuar as análises palinológicas.

2.3 Metodologia

A preparação das amostras seguiu o método padronizado por LOUVEAUX et al. (1970) e BARTH (1989). As massas de pólen foram retiradas com o auxílio de um estilete

flambado contendo um pedaço de gelatina glicerinada na ponta e foram depositadas sobre lâminas de microscopia. As lâminas foram levemente aquecidas para a dissolução da gelatina e foram colocadas lamínulas sobre o material, vedando-se com parafina. Foram preparadas duas lâminas etiquetadas e identificadas para cada amostra.

Através de microscópio óptico, realizou-se a contagem de 300 a 500 grãos de pólen por amostra, sendo identificados os tipos polínicos por comparação com o laminário de referência da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). Cabe ressaltar que a análise dedicou especial atenção na identificação do pólen de “barbatimão”.

Os tipos polínicos foram analisados por frequência, por apiário e por município.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Ocorrência de Cria Ensacada Brasileira nos Apiários

Os apiários pesquisados comumente apresentam CEB anualmente, em meses peculiares conforme a região. Nos apiários acompanhados o número de colméias oscila entre 15 a 50 por apiário e os apicultores realizam inspeções quinzenais e sofrem perdas de colméias durante a doença, seja devido à morte das larvas pré-pupas, seja pela presença de agentes oportunistas como predadores e microrganismos, que pode culminar no abandono do enxame.

Dos sete apiários investigados, somente o do município de Mendes não apresentou colméias com sintomas aparentes de CEB. Os demais foram acometidos pela doença, atingindo perdas de colméias de até 100%, quando não houve aplicação de qualquer medida profilática. Este dado reforça os prejuízos desta doença junto aos apicultores.

3.2 Tipos Polínicos nas Amostras

Os tipos polínicos apresentados foram: Leguminosae, Euphorbiaceae, Asteraceae, Poaceae, Myrtaceae, Arecaceae, Convolvulaceae, Ulmaceae e Acanthaceae (Anexo D). Essa diversidade trófica reforça a variação da preferência de *Apis mellifera* por alimento e está de acordo com outros estudos (IMPERATRIZ-FONSECA et al., 1989; RAMALHO et al., 1990; entre outros). A tabela 1 apresenta a frequência das famílias de plantas encontradas no pólen apícola e no pão de abelhas de todas as amostras analisadas.

Tabela 1. Frequência de ocorrência de tipos polínicos em pólen apícola e pão de abelhas de colméias Africanizadas coletados um mês antes e durante a ocorrência da CEB em três municípios do estado do Rio de Janeiro: Mendes, Sapucaia e Petrópolis, no período de julho de 2005 até fevereiro de 2006.

| Táxon | Pólen Apícola | | Pão de Abelhas | | Total | |
|----------------|---------------|------------|----------------|------------|--------|------------|
| | Número | Frequência | Número | Frequência | Número | Frequência |
| Leguminosae | 11 | 25% | 6 | 40% | 17 | 29% |
| Euphorbiaceae | 9 | 20% | 2 | 13% | 11 | 18% |
| Asteraceae | 7 | 16% | 2 | 13% | 9 | 15% |
| Poaceae | 6 | 13% | 2 | 13% | 8 | 13% |
| Myrtaceae | 8 | 18% | - | - | 8 | 13% |
| Arecaceae | 2 | 4% | - | - | 2 | 3% |
| Convolvulaceae | 1 | 2% | 1 | 7% | 2 | 3% |
| Ulmaceae | 1 | 2% | - | - | 1 | 2% |
| Acanthaceae | - | - | 1 | 7% | 1 | 2% |
| Miscelânea | - | - | 1 | 7% | 1 | 2% |
| Total | 45 | 100% | 15 | 100% | 60 | 100% |

Verificou-se que os tipos polínicos Leguminosae, Euphorbiaceae, Asteraceae, Poaceae e Myrtaceae representaram boas fontes de pólen para as abelhas no período estudado, haja

vista a quantidade que foi coletada. Em estudos sobre levantamento de flora melitófila (MARTINS, 1994; AGUIAR et al., 1995; VIANA et al., 1997; CARVALHO & MARCHINI, 1999; LORENZON, 2003), estas famílias vegetais foram correntemente apresentadas como componentes de seu nicho trófico. Os tipos Convolvulaceae, Arecaceae e Ulmaceae tiveram baixa coleta, representando uma fonte de pólen ocasional, e o tipo polínico Acanthaceae pode representar um estoque antigo, já que não se apresentou nas amostras de pólen apícola.

A figura 1 apresenta a freqüência das principais famílias vegetais encontradas no pólen apícola durante um mês antes da ocorrência da CEB e a figura 2 apresenta a freqüência dessas mesmas famílias no pólen apícola e no pão de abelhas que foram coletados durante a CEB.

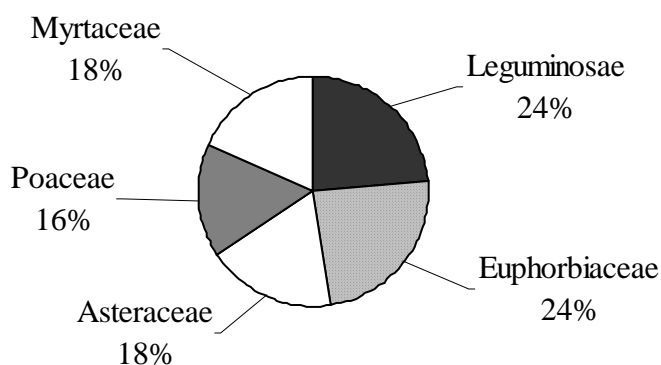


Figura 1. Famílias vegetais de maior representatividade no pólen apícola coletado durante um mês antes da ocorrência de CEB em três municípios do estado do Rio de Janeiro: Mendes, Sapucaia e Petrópolis. 2005- 2006.

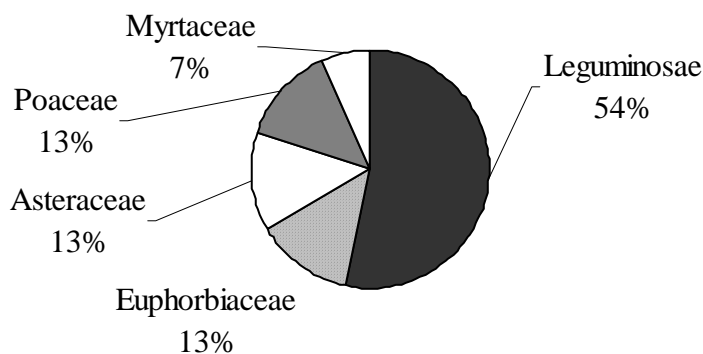


Figura 2. Famílias vegetais de maior representatividade no pólen apícola e no pão de abelhas coletados durante a ocorrência de CEB em dois municípios do estado do Rio de Janeiro: Sapucaia e Petrópolis. 2005- 2006.

Houve um aumento da coleta e do estoque de grãos de pólen de Leguminosae no período que precedeu a CEB. Esta fonte floral esteve presente no pão de abelhas em proporção superior a da coleta provavelmente devido a sua alta disponibilidade no ambiente e atratividade às abelhas, já que foi observado alto estoque de alimento (mel e pólen) nas colméias afetadas pela CEB.

3.3 Tipos Polínicos por Município

Durante a pesquisa, Petrópolis, representada pelos seus distritos Itaipava e Posse, e a localidade de Secretário, foram acometidas pela CEB em fevereiro, coincidindo com o período de safra de mel. Posse também apresentou a doença em julho e a localidade de Brejal em setembro. Em Itaipava, destacaram-se os tipos polínicos *Croton* (Euphorbiaceae), *Eucalyptus* (Myrtaceae) e *Anadenanthera* nas amostras de pólen apícola coletadas em janeiro e durante a ocorrência da CEB, em fevereiro (Tabela 2).

Tabela 2. Tipos polínicos das amostras de pólen apícola coletadas um mês antes e durante a ocorrência da CEB no município de Petrópolis (Itaipava). Estado do Rio de Janeiro. 2006.

| Coleta | Tipo Floral do Pólen |
|----------|--|
| 07/01/06 | <i>Eucalyptus</i> e <i>Croton</i> |
| 17/01/06 | <i>Croton</i> |
| 24/01/06 | <i>Anadenanthera</i> e Poaceae |
| 01/02/06 | <i>Croton</i> e <i>Myrcia</i> |
| 07/02/06 | <i>Eucalyptus</i> e <i>Anadenanthera</i> |

A floração de *Croton*, presente no município de Sapucaia, é melitófila e permite a melhor safra de mel do ano. Nesta região é comum se observar, durante ou após esta florada, surtos de CEB, o que vem ocasionando altas perdas na apicultura local. Poaceae, *Croton*, *Mimosa* (Mimosoidea) e *Anadenanthera* foram os tipos polínicos mais frequentes nas amostras de pólen apícola coletadas em janeiro e durante a ocorrência da CEB, em fevereiro (Tabela 3).

Tabela 3. Tipos polínicos das amostras de pólen apícola coletadas um mês antes e durante a ocorrência da CEB no município de Sapucaia. Estado do Rio de Janeiro. 2006.

| Coleta | Tipo Floral do Pólen |
|----------|--|
| 18/01/06 | <i>Baccharis</i> e Poaceae |
| 18/01/06 | <i>Croton</i> |
| 26/01/06 | <i>Mimosa</i> e <i>Croton</i> |
| 26/01/06 | <i>Mimosa</i> |
| 01/02/06 | <i>Mimosa</i> e <i>Croton</i> |
| 09/02/06 | <i>Croton</i> e Poaceae |
| 09/02/06 | <i>Anadenanthera</i> , <i>Zea mays</i> , <i>Merremia</i> e Poaceae |
| 15/02/06 | <i>Anadenanthera</i> |
| 15/02/06 | <i>Anadenanthera</i> |
| 22/02/06 | <i>Anadenanthera</i> |
| 22/02/06 | Poaceae e <i>Mimosa caesalpiniaefolia</i> |

Em Mendes houve relatos da ocorrência de CEB no período de setembro a outubro, mas durante este estudo as colméias observadas não apresentaram doença. Este período, com ou sem CEB, correspondeu também à safra de mel no local, segundo dados do apicultor. Os

principais tipos polínicos identificados através da coleta de pólen apícola durante os meses sujeitos a CEB foram *Vernonia* (Asteraceae) e *Eucalyptus* (Myrtaceae) (Tabela 4).

Tabela 4. Tipos polínicos das amostras de pólen apícola coletadas durante os meses sujeitos à ocorrência da CEB no município de Mendes. Estado do Rio de Janeiro. 2005.

| Coleta | Tipo Floral do Pólen |
|----------|--|
| 23/09/05 | <i>Eucalyptus</i> e <i>Vernonia</i> |
| 23/09/05 | <i>Vernonia</i> e <i>Eucalyptus</i> |
| 06/10/05 | <i>Vernonia</i> |
| 13/10/05 | <i>Vernonia</i> |
| 13/10/05 | <i>Vernonia</i> e <i>Trema micrantha</i> |

A tabela 5 mostra os tipos polínicos identificados nas amostras de pão de abelhas coletadas durante a doença nas colméias afetadas pela CEB.

Tabela 5. Tipos polínicos das amostras de pão de abelhas coletadas durante a ocorrência da CEB nos municípios de Sapucaia (1, 2) e Petrópolis (Itaipava, Secretário, Posse, Brejal). Estado do Rio de Janeiro. 2005-2006.

| Região | Coleta | Tipo Floral do Pólen |
|------------|----------|--|
| Posse | 05/07/05 | <i>Vernonia</i> , <i>Senecio</i> |
| Brejal | 26/09/05 | Miscelânea de tipos polínicos |
| Itaipava | 10/02/06 | <i>Anadenanthera</i> |
| Sapucaia 1 | 10/02/06 | <i>Anadenanthera</i> |
| Sapucaia 2 | 10/02/06 | <i>Anadenanthera</i> |
| Secretário | 13/02/06 | <i>Schizolobium parahybum</i> |
| Sapucaia 1 | 24/02/06 | <i>Mimosa caesalpiniaefolia</i> , <i>Croton</i> , <i>Poaceae</i> , <i>Bravaisia</i> e <i>Merremia</i> |
| Posse | 25/02/06 | <i>Anadenanthera</i> , <i>Poaceae</i> e <i>Ricinus</i> |

Verificou-se que *Anadenanthera* foi o principal pólen apícola coletado de 15 dias antes até a ocorrência da CEB e também o mais frequentemente encontrado no pão de abelhas dos favos que apresentaram mortalidade com sintomas de cria ensacada (Anexo E). O pólen de *Stryphnodendron* não foi observado em qualquer das amostras realizadas indicando que essa espécie pode não estar presente na alimentação das larvas de abelhas nos apiários estudados (Anexo F).

Nas análises polínicas de pólen apícola e no estoque de pão de abelhas de colméias afetadas pela CEB houve ausência de *Stryphnodendron* spp e de outras espécies florais consideradas como suspeitas ou, comprovadamente tóxicas, para abelhas melíferas no Brasil.

Dos tipos polínicos presentes nesta pesquisa, *Anadenanthera* apresenta ocorrências de intoxicações em bovinos (TOKARNIA et al., 1999); *Zea mays* L. (Poaceae) contém alto teor de nitratos, que podem transformar-se em nitritos e predispor a intoxicações nos animais (CLARKE et al., 1981); *Trema micrantha* L. (Blume) (Ulmaceae) causa intoxicação em bovinos e caprinos (TRAVERSO http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782003000100021-back1#back1 et al. 2003; 2004). *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae) ocorre em todo o Brasil com históricos de intoxicação ocasional em bovinos e humanos

(TOKARNIA et al., 1975; DÖBEREINER et al., 1981). Nenhuma dessas espécies botânicas, no entanto, foram ainda descritas como causadoras de mortalidade em colméias de *Apis mellifera*.

No Brasil, o pólen de *S. polyphyllum* (CARVALHO, 1998) e *S. adstringens* (CASTAGNINO, 2002) foram indicados como causadores de intoxicação em larvas pré-pupas. O pólen de *S. adstringens* também reduz a sobrevivência de abelhas adultas (ALVES et al., 1996; CINTRA et al., 1998). *Dimorphandra mollis* Benth. (Fabaceae), conhecida vulgarmente como “falso barbatimão”, é outra espécie que possui pólen tóxico capaz de matar abelhas adultas (CINTRA et al., 1998; 2002; 2003). Morte de abelhas nas flores de *Caesalpinia peltophoroides* Benth. (Fabaceae) foi observada no estado de São Paulo, presumindo-se néctar tóxico (LAMA & PERUQUETTI, 2006). O néctar de *Ochroma lagopus* Sw. (Bombacaceae) também foi reportado como agente causal da morte de abelhas *Apis* (PAULA et al., 1997). A espécie arbórea africana introduzida no Brasil *Spathodea campanulata* Beauv. (Bignoniaceae) produz néctar que intoxica várias espécies de insetos, inclusive abelhas Apidae (NOGUEIRA NETO, 1997; TRIGO & SANTOS, 2000; CALLIGARIS, 2001).

Devemos atentar para o fato de que encontrar um composto tóxico no néctar ou, no pólen de uma planta, não é necessariamente prova de que causa intoxicação nas abelhas. A intoxicação experimental também é uma prova isolada de que a mortalidade de abelhas está acontecendo devido à espécie floral testada. Para um diagnóstico seguro, faz-se necessário verificar se a planta suspeita existe no local das ocorrências e se foi realmente forrageada.

Geralmente, uma intoxicação ocorre quando a fonte alimentar é escassa e os animais tendem a ingerir plantas que normalmente não consomem (TOKARNIA et al., 2000). Dessa maneira, uma possibilidade para a intoxicação de abelhas por plantas seria o crescente desmatamento estar resultando em diminuição da oferta de recursos alimentares, o que aumentaria a coleta de uma fonte tóxica disponível (CASTAGNINO, 2003). Este não parece ser o caso da cria ensacada brasileira, cujos relatos apontam para ocorrências durante período de florações abundantes e fartura de alimento na colméia.

A análise palinológica permite verificar os tipos polínicos que estão sendo utilizados como recurso floral na colméia e, portanto, orientar se há algum consumo de pólen tóxico em condições naturais. Pelo fato do pólen de *Stryphnodendron* não estar presente na alimentação das larvas afetadas pela CEB nos apiários pesquisados, não é possível indicá-lo como o agente causador desta mortalidade de cria verificada nos locais estudados.

3.4 Recomendações de Pesquisa

Pelas similaridades de família e princípio tóxico com *Stryphnodendron* spp e pela frequência em que apareceu nas amostras à época da cria ensacada brasileira, sugere-se investigar a toxicidade de *Anadenanthera* spp para as abelhas. *A. colubrina* é a espécie melífera encontrada no estado do Rio de Janeiro com florescimento a partir de novembro até janeiro (LORENZI, 2002).

4 CONCLUSÕES

O tipo polínico *Stryphnodendron* spp não está presente nas amostras analisadas e, portanto, a CEB pode não ser causada pelo pólen do “barbatimão” nos apiários pesquisados.

Face à ausência de *Stryphnodendron* nas colméias afetadas, sugere-se que a CEB observada no estado do Rio de Janeiro é distinta e poderia ser chamada de CEB tipo II.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, C. M. L.; MARTINS, C. F.; MOURA, A. C. A.. Recursos florais utilizados por abelhas (Hymenoptera, Apoidea) em área de caatinga (São José do Cariri, PB). **Revista Nordestina de Biologia**, v.10, p101-117, 1995.

ALVES, M. M. B. M.; ALVES JUNIOR, V. V.; LOPES, M. N. T.; CARBONARI, V. Efeito do resíduo de extrato floral de Barbatimão, em soro fisiológico, na longevidade de *Apis mellifera*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 11., 1996, Teresina. **Anais...** Teresina, 1996, p.325.

BARTH, O.M. **O pólen no mel brasileiro**. Rio de Janeiro: Gráfica Luxor, 1989. 151p.

CALLIGARIS, I.B. **Toxicidade do néctar e pólen de *S. campanulata* sobre operárias de *A. mellifera* e *S. postica***. 2001. 57p. Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2001.

CARVALHO, A. C. P. **Pólen de *Stryphnodendron polyphyllum* como agente causador da cria ensacada brasileira em *Apis mellifera* L.** 1998. 60p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1998.

CARVALHO, C. A. L.; MARCHINI, L. C. Plantas visitadas por *Apis mellifera* L. no vale do rio Paraguaçu, município de Castro Alves, Bahia. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 22, p.333-338, 1999.

CASTAGNINO, G. L. B. **Efeito do fornecimento de substituto de pólen na redução da mortalidade de *Apis mellifera* L, causada pela cria ensacada brasileira**. 2002. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

CASTAGNINO, G. L. B. Impacto na apicultura causado pelo pólen do barbatimão na zona da mata mineira. **Mensagem Doce**, São Paulo, n. 73, 2003.

CINTRA, P; MALASPINA, O.; BUENO, O.C. Toxicidade de *Stryphnodendron adstringens* e *Dimorphandra mollis* (barbatimão) em operárias de *Apis mellifera*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 4, 1998, Salvador. **Anais...** Salvador, 1998, p.183.

CINTRA, P; MALASPINA, O.; PETACCI, F.; FERNANDES, J. B.; BUENO, O.C.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F. Toxicity of *Dimorphandra mollis* to workers of *Apis mellifera*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.13, n.1, p.115-118, 2002.

CINTRA, P.; MALASPINA, O.; BUENO, O. C. Toxicity of Barbatimão to *Apis mellifera* and *Scaptotrigona postica*, under laboratory conditions. **Journal of Apicultural Research**, v.42, n.1/2, p.9-12, 2003.

CLARKE, M. L.; HARVEY, D. G.; HUMPHREYS, D. J. **Veterinary Toxicology**. London: Baillière Tindall, 1981.

- DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C. H.; CANELLA, C. F. C. Experimental poisoning of cattle by the pericarp of the fruit of *Ricinus communis*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.1, n.3, p.95-97, 1981.
- HERBERT JR, E. W; SHIMANUKI, H. Chemical composition and nutritive value of bee collected and bee-stored pollen. **Apidologie**, v.9, p.33-40, 1978.
- IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; KLEINERT-GIOVANNINI, A.; RAMALHO, M. Pollen harvest by eusocial bees in a non-natural community in Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, Cambridge, v.5, n.2, p.239-242, 1989.
- LAMA, M. A.; PERUQUETTI, R. C. Mortalidade de abelhas visitantes de flores de *Caesalpinia peltophoroides* Benth. (Leguminosae) no estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.50, n.4, p.547-549, 2006.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 2002.
- LORENZON, M.C.A.; MATRANGOLO, C. A. R.; SCHOEREDER, J. H.. Flora visitada pelas abelhas eussociais (Hymenoptera, Apidae) na serra da Capivara, em caatinga do Sul do Piauí. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.32, n.1, p. 27-36, 2003.
- LORENZON, M. C. A. Medidas preventivas contra a mortalidade de cria de *Apis mellifera*. In: FÓRUM DE DESENVOLVIMENTO DA APICULTURA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, 3, 2005, Seropédica, **Anais...** Seropédica: Ed. da UFRRJ, 2006. p.57-60.
- LOUVEAUX, J.; MAURIZIO, A.; VORWOHL, G. Methods of melissopalynology. **Bee World**, Gerrards Cross, v.51, p.125-138, 1970.
- MARTINS, C.F. Comunidade de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) da caatinga e do cerrado com elementos de campo rupestre do estado da Paraíba. **Revista Nordestina de Biologia**, v.9, p.225-257, 1994.
- NOGUEIRA NETO, P. **Vida e criação das abelhas indígenas sem ferrão**, São Paulo: Editora Nogueirapis, 1997.
- OCCHIONI MARTINS, E. M. Considerações Taxonômicas no gênero *Stryphnodendron* Mart. (Leguminosae-Mimosoideae) e distribuição geográfica das espécies. **Actas Botânica Brasileira**, v. 4, n.2, p.153-158, 1990.
- PACHECO, M. R. Intoxicação natural de abelhas melíferas pelo “barbatimão” no estado do Rio de Janeiro? In: FÓRUM DE DESENVOLVIMENTO DA APICULTURA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, 3, 2005, Seropédica, **Anais...** Seropédica: Ed. UFRRJ, 2006. p.47-48.
- PAULA, V. F., BARBOSA, L. C. A., DEMUNER, A. J. et al. Entomotoxicity of the nectar from *Ochroma lagopus* Swartz (Bombacaceae). **Ciência e Cultura**, v.49, p.274–277,1997.

- RAMALHO, M.; KLEINERT-GIOVANNINI, A. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Important bee plants for stingless bees (*Melipona* and Trigonini) and africanized honeybees (*Apis mellifera*) in neotropical habitats: a review. **Apidologie**, Paris, v.21, p. 469-488, 1990.
- SANTOS, M. I. de A. **Análise dos constituintes químicos do pólen e da inflorescência de *Stryphnodendron polyphyllum* em relação à cria ensacada brasileira em *Apis mellifera*.** 2000. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.
- TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; CANELLA, C. F. C. Intoxicação experimental em bovinos pelas folhas de *Ricinus communis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.10, p.1-7, 1975.
- TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V.; BRITO, M. F.; DUARTE, M. D.; BRUST, L. A. C. Estudos experimentais com plantas cianogênicas em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.19, n.2, 1999.
- TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. **Plantas tóxicas do Brasil.** Rio de Janeiro: Helianthus, 2000.
- TRAVERSO, S. D.; COLODEL, E. M.; LORETTI, A. P.; CORREIA, A. M.; DRIEMEIER, D. Intoxicação natural por *Trema micrantha* em caprinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.33, n.1, 2003.
- TRAVERSO, S. D.; CORRÊA, A. M. R.; SCHMITZ, M.; COLODEL, E. M.; DRIEMEIER, D. Intoxicação experimental por *Trema micrantha* (Ulmaceae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.24, n.4, 2004.
- TRIGO, J.R. & SANTOS, W. Insect mortality in *Spathodea campanulata* Beauv. (Bignoniaceae) flowers. **Revista Brasileira de Biologia**, v.60, n.3, p.537-538, 2000.
- VIANA, F. B.; KLEINERT, A. de M. P.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Abundance and flower visits of bees in a cerrado of Bahia, Tropical Brazil. **Studies of Neotropical Fauna Environmental**, v.32, p.212-219, 1997.

CAPÍTULO III

IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS, FUNGOS E MICOTOXINAS EM COLMÉIAS DE *Apis mellifera* Linnaeus (Hymenoptera, Apidae) AFETADAS POR CRIA ENSACADA BRASILEIRA

RESUMO

Esta pesquisa objetivou investigar a ocorrência de bactérias, fungos potencialmente toxígenos e micotoxinas em colméias de *Apis mellifera* afetadas pela cria ensacada brasileira (CEB). A amostragem, de pólen apícola, pão de abelhas e larvas mortas, foi obtida em colméias de *Apis mellifera* de oito apiários localizados em quatro municípios do estado do Rio de Janeiro. Coletaram-se as amostras durante a ocorrência da CEB e, no caso do pólen apícola, também durante um mês antes do período suposto para a doença. Para a pesquisa bacteriológica, as amostras foram inoculadas primariamente em Agar-Sangue e, posteriormente, em meios específicos segundo o microrganismo suspeito. Para o isolamento fúngico, foram utilizados os Agar Sabouraud-Ampicilina e Agar Dextrose Batata, aqueles potencialmente toxígenos foram cultivados em meios específicos para identificação. As micotoxinas foram extraídas diretamente das amostras com clorofórmio, detectadas em cromatografia de camada fina (CCF) e confirmadas em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Dentre os isolados bacterianos foi possível detectar prevalência de *Bacillus* spp, identificando-se: *B. thuringiensis*, *B. alvei*, *B. apiarius*, *B. megaterium* e *B. polymyxa*. A microbiota isolada foi composta principalmente por *Penicillium* e *Aspergillus*, identificando-se duas espécies potencialmente toxígenas: *A. niger* e *A. parasiticus*. Aflatoxinas B1 e G1 estiveram presentes em amostras de pólen apícola e pão de abelhas de um apiário. Frente à variedade de microrganismos potencialmente patogênicos e potencialmente toxígenos, bem como a detecção de micotoxinas, nas amostras analisadas, faz-se necessário mais estudos para investigar a etiologia da CEB no estado do Rio de Janeiro.

Palavras-chave: Sanidade apícola. Microbiota. Toxinas.

ABSTRACT

This research aimed to investigate the occurrence of bacteria, highly toxic fungi and mycotoxins in *Apis mellifera* hives affected by Brazilian sac brood (BSB). Samples of pollen grains, bee bread and dead larvae were obtained from eight apiaries located at four communities of the state of Rio de Janeiro, Brazil. For the bacteriological survey, samples were inoculated primarily in Blood Agar, followed by inoculation in specific media, according to the suspect microorganism. For fungal isolation, Sabouraud-Ampicillin and Dextrose Potato Agar were utilized, specific media were used for identification of toxigenic fungi. The mycotoxins were extracted from the samples with chloroform and detected by Thin Layer Chromatography (TLC), followed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) to confirm. From bacterial isolates, it was possible to detect the prevalence of *Bacillus* spp and the following species: *B. thuringiensis*, *B. alvei*, *B. apiarius*, *B. megaterium* e *B. polymyxa*. The isolated microbiota was mainly composed of *Penicillium* e *Aspergillus* and two species were potentially toxic: *A. niger* and *A. parasiticus*. Aflatoxins B1 and G1 were present in apiarian grain and bee bread samples. The variety of potential toxigenic and pathogenic microorganisms, as well as the detection of mycotoxins in the evaluated samples points to the requirement of further studies in order to investigate the BSB etiology in the state of Rio de Janeiro

Key-words: Apiarian sanity. Microbiota. Toxins.

1 INTRODUÇÃO

A cria ensacada brasileira (CEB) é um dos principais problemas na apicultura do estado do Rio de Janeiro onde tem gerado prejuízos substanciais (LORENZON, 2006). Essa doença acomete colônias de abelhas melíferas provocando altas perdas. Os sintomas são os mesmos da cria ensacada européia, causada pelo *Sac Brood Virus* (BAILEY & BALL, 1991). Observa-se presença de larvas pré-pupas mortas com acúmulo de líquido ecdisial e escurecimento da região cefálica (MESSAGE, 1997). No Brasil, nenhum vírus foi detectado (MESSAGE et al., 1995) e pesquisas demonstraram que a doença é causada por intoxicação devido ao consumo de pólen de *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. 1837 (Leguminosae-Mimosoidea), vulgo “barbatimão” (CARVALHO, 1998). O pólen de *S. adstringens* (Mart.) Coville 1910 (Leguminosae-Mimosoidea), outra espécie de “barbatimão”, também foi apresentado como causador da cria ensacada (CASTAGNINO, 2002).

A comparação de dados do herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro com relatos de casos da cria ensacada brasileira indicaram que, na maioria dos locais endêmicos da doença, não se observou a ocorrência do “barbatimão” (PACHECO, 2006). Esta evidência sugere que a cria ensacada brasileira pode ter outro agente etiológico e tal consideração indica a necessidade de estudos sobre a causa desta doença.

Na atividade apícola tem sido expressiva a contaminação de colméias por agentes bacterianos que afetam as crias de *Apis mellifera* (PEREIRA et al., 2003). *Paenibacillus larvae larvae* é o agente causador da cria pútrida americana, doença mais difundida em abelhas no mundo. Não há relatos de sua ocorrência no Brasil, embora tenham sido identificados seus esporos em mel e pólen importados e também em mel do favo e abelhas adultas de colméias no Rio Grande do Sul (SCHUCH et al., 2003). *Melissococcus pluton* é o agente da cria pútrida européia (BAILEY, 1983), associado a uma diversidade de bactérias secundárias como: *Bacillus alvei*, *Bacillus thiaminolyticus*, *Bacillus laterosporus*, *Bacterium eurydice*, *Streptococcus apis* e *Enterococcus faecalis*. (BAILEY & BALL, 1991). Essa doença ocorre no Brasil, mas há poucos relatos sobre sua difusão e perdas (MESSAGE, 2002).

Determinados fungos também provocam doenças nas abelhas. *Ascosphaera apis* causa a cria giz levando à mumificação de larvas e pupas. As larvas infectadas morrem geralmente após a operculação das células e podem alterar a coloração para cinza ou preto (BAILEY & BALL, 1991). No Brasil, a cria giz foi relatada em casos isolados em São Paulo (ROCHA et al., 1998) e no Rio Grande do Sul, próximo à fronteira com Argentina e Uruguai (SATTLER et al., 1998). Recentemente, foi também detectada no interior do Rio Grande do Sul, mostrando o avanço desta doença. (CASTAGNINO et al., 2006). Diversas espécies de *Aspergillus* causam a aspergilose, também conhecida como cria pedra, mortalidade ocasional de larvas, pupas e abelhas adultas. As larvas e pupas tornam-se mumificadas assim como o abdome das adultas (GILLIAM & VANDENBERG, 1997). As principais espécies envolvidas com a aspergilose em abelhas são *A. flavus*, *A. fumigatus* e *A. niger*, todas com potencial para produzir micotoxinas. Foi proposto que a ação patogênica do fungo fosse também de natureza química e demonstrou-se que uma substância tóxica produzida por uma cepa de *A. flavus* desencadeava a morte das abelhas (BURNSIDE, 1930).

A apicultura mundial vive às expensas do uso maciço de medicamentos para tentar controlar uma série de doenças que afetam as colméias de abelhas melíferas. Há décadas o mel perdeu seu posto de orgânico e é considerado um sub-produto de baixa qualidade com

alto teor de resíduos químicos. O Brasil está colocado no *ranking* mundial como quinto produtor de mel, com uma apicultura considerada livre dos grandes problemas de sanidade apícola. O país pode alcançar a posição de orgânico comercializando mel de qualidade e reconhecido no mercado como livre de resíduos de medicamentos (MESSAGE, 1999). Para manter esta posição há necessidade que haja uma vigilância constante sobre a ocorrência de doenças e investigar perdas substancias em sua apicultura.

O censo apícola, realizado no estado do Rio de Janeiro em 2006, revelou um dado preocupante: as perdas de colméias atingiram cerca de 60% dos apiários nos últimos cinco anos e as doenças constituíram a principal causa destas perdas. O censo também revelou que 75% das doenças de abelhas foram diagnosticadas pelo próprio apicultor devido à baixa disponibilidade de apoio técnico (dados não publicados).

Em razão destes fatos, objetiva-se investigar a ocorrência de microrganismos e micotoxinas em colméias afetadas pela cria ensacada brasileira, doença que vem gerando prejuízos para a classe apícola de diversas regiões do estado do Rio de Janeiro.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de Estudo

A amostragem foi realizada no estado do Rio de Janeiro durante o ano de 2006. Foram selecionados oito apiários dos seguintes municípios acometidos pela cria ensacada brasileira: Petrópolis (22°30'18"S, 43°10'43"W), Sapucaia (21°59'42"S, 42°54'52"W), Rio de Janeiro (22°54'10"S, 43°12'27"W) e Mendes (22°31'36"S, 43°43'58"W). As amostras de Petrópolis foram obtidas em quatro apiários localizados nos distritos de Itaipava e Posse e nas localidades de Secretário e Brejal. As amostras de Sapucaia foram obtidas em dois apiários. Os municípios do Rio de Janeiro e Mendes participaram com um apiário em cada.

2.2 Amostragem

Coletaram-se amostras de pólen apícola, pão de abelhas e larvas mortas em duas colméias de abelhas *Apis mellifera*, africanizadas, por apiário, nas categorias de ninho ou melgueira. A amostragem de pólen apícola foi tomada a partir de coletor de pólen de alvado um mês antes do período corrente da CEB e durante sua ocorrência. As amostras de pão de abelhas e larvas mortas foram coletadas em zonas de 5 x 5cm de favos afetados pela CEB. Foram obtidas 32 amostras de pólen apícola, 16 de pão de abelhas e 16 de larvas mortas. As amostras foram refrigeradas e encaminhadas aos Laboratórios de Microbiologia do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), onde ficaram armazenadas de 24 a 48 horas para o início das análises.

2.3 Análises Bacteriológicas

Para as análises bacteriológicas, utilizaram-se 16 amostras de pão de abelhas e 16 de larvas mortas.

2.3.1 Isolamento e identificação de bactérias

As amostras foram inoculadas em placas de Petri com Agar Sangue de Carneiro e incubadas a 37°C por 24 a 48 horas, em condições aeróbicas. As colônias isoladas foram submetidas à coloração de Gram e prova da catalase para identificação preliminar, e posteriormente, os isolados obtidos foram repicados em meios seletivos e diferenciais de acordo com a especificidade do microrganismo. A identificação fenotípica definitiva foi realizada através da bateria de identificação bioquímica relativa ao microrganismo pertinente (KONEMAN et al., 2001). A elevada frequência de ocorrência do gênero *Bacillus* spp direcionou a metodologia para a pesquisa de espécies deste gênero.

2.3.1.1 Pesquisa de *Bacillus*

A identificação das espécies de *Bacillus* spp foi realizada com base em HOLT et al. (1984), através dos seguintes testes bioquímicos: produção de catalase, oxidase, redução do nitrato, fermentação do manitol, glicose e arabinose, hidrólise da gelatina, amido, caseína, uréia e esculina, prova de Voges-Proskauer (VP), crescimento em caldo nutriente e em Agar com NaCl 2% e 5%, comportamento em meio de SIM, utilização de TSI, assimilação do citrato, desaminação da fenilalanina, decomposição do hipurato e da tirosina.

Os isolados foram depositados no laboratório de bacteriologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

2.4 Análises Micotoxicológicas

Para o isolamento de fungos, utilizaram-se 32 amostras de pólen apícola, 16 de pão de abelhas e 16 de larvas mortas. Para a detecção de micotoxinas, utilizaram-se 2 amostras de pólen apícola e 16 de pão de abelhas.

2.4.1 Isolamento e identificação de fungos

As amostras foram inoculadas em placas de Petri com Agar Dextrose Batata (BDA) e Agar Sabouraud Ampicilina a 2% e incubadas a 25°C por oito dias em ambiente fotonegativo. A identificação dos fungos foi feita ao nível de gênero através de características macroscópicas e microscópicas (HOOG & GUARRO, 1996). As colônias de *Fusarium* foram isoladas em Agar Tomate e as demais em Agar Extrato de Malte (MEA). Os gêneros com espécies produtoras de micotoxinas foram identificados até espécie. Os isolados foram depositados no laboratório de micologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

2.4.1.1 Pesquisa de *Fusarium*

Para a identificação das espécies de *Fusarium*, realizou-se um cultivo monospórico das cepas isoladas pelo método padrão de diluição em placa (BOTH, 1971). Uma suspensão conidial de cada cepa foi espalhada sobre o Agar Água (AA) a 1,5% em placas de Petri, sendo incubada a temperatura ambiente durante 16 horas. Os conídios germinados foram transferidos aos meios de cultivo: Agar folhas de cravo (CLA) em placas de Petri e Agar Batata Glicosado (ABG) em tubos de ensaio. Os cultivos foram incubados durante duas semanas em temperatura ambiente, com ciclos de luz branca e luz negra de 12/12 horas a 25°C. A identificação das cepas se realizou segundo a metodologia proposta por NELSON et al. (1983).

2.4.1.2 Pesquisa de *Penicillium*

Para a identificação das espécies de *Penicillium*, procedeu-se ao cultivo das cepas isoladas em placas de Petri com Agar Extrato de Malte (MEA), Agar Czapek Extrato de Levedura (CYA) e Agar Nitrato-Glicerol 25% (G25N). As placas contendo CYA foram

incubadas a 5°C, 25°C e 37°C e as demais a 25°C, durante sete dias. A identificação das espécies foi realizada segundo a metodologia proposta por PITT (1988).

2.4.1.3 Pesquisa de *Aspergillus*

Para a identificação das espécies de *Aspergillus*, procedeu-se ao cultivo das cepas isoladas em placas de Petri com Agar Extrato de Malte (MEA) e Agar Czapek Extrato de Levedura (CYA). As placas foram incubadas durante cinco dias a 25°C e a identificação das espécies foi realizada segundo a metodologia proposta por KLICH & PITT (1988) e KLICH (2002).

2.4.2 Perfil toxígeno

Foi realizado o perfil toxígeno das espécies com cepas produtoras de micotoxinas através do cultivo em placas de Petri com Agar Coco. As placas foram incubadas a 25°C durante 7 a 14 dias e as micotoxinas foram detectadas por fluorescência visualizada sob lâmpada ultravioleta 365nm.

2.4.3 Ocorrência de micotoxinas

A extração das micotoxinas foi realizada com clorofórmio diretamente das amostras. Em um *shaker* foram agitados 0,5g de pão de abelhas e 5ml de clorofórmio durante 30 minutos. A mistura foi filtrada e transferida para um tubo de rotavapor. O extrato foi concentrado no rotavapor, redissolvido em 500µl de clorofórmio e estocado em vidro âmbar a -20°C.

As micotoxinas foram separadas por cromatografia de camada fina (CCF) em cromatofolhas de silicagel-60 254F (Merck) utilizando tolueno-clorofórmio-acetatoetila-ácidoformico (solução Gimeno) como fase móvel. A detecção foi baseada na fluorescência das micotoxinas visualizada com iluminação da cromatofolha por lâmpada ultravioleta 365nm. A identificação fez-se por comparação entre as fluorescências apresentadas pelos extratos das amostras e as fluorescências dos padrões de aflatoxinas (B1, B2, G1 e G2), aplicados sobre a mesma cromatofolha de silicagel. As micotoxinas identificadas foram confirmadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Os apiários que apresentaram resultado positivo para o pão de abelhas foram pesquisados quanto à presença de micotoxinas no pólen apícola.

Os extratos foram depositados no laboratório de micotoxicologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Características dos Apiários Pesquisados

À exceção de um apiário em Sapucaia, os outros sete apiários possuem proximidade da mata. Os apicultores realizam revisões quinzenais e a CEB costuma ocorrer anualmente entre dezembro e junho, em período de florada abundante e fartura de alimento na colméia. Os principais sintomas e sinais observados são: larvas pré-pupas mortas com acúmulo de líquido ecdisial e alteração na coloração para cinza-escuro, opérculos perfurados e presença de forídeos nos favos. Além da alta mortalidade na cria, também foi relatado o abandono da colméia pelas abelhas adultas. As perdas desencadeadas durante a CEB variaram entre 50 e 100% dos enxames nos apiários pesquisados.

3.2 Isolamento e Identificação de Bactérias

Foram isolados bactérias dos gêneros *Bacillus* spp, *Micrococcus* spp e *Staphylococcus* spp, com destaque para o gênero *Bacillus* spp, que foi o mais freqüente nas larvas e no pão de abelhas (Figura 1). O resultado está de acordo com outras pesquisas que confirmam a prevalência de *Bacillus* spp no favo com cria e pólen (SNOWDON & CLIVER, 1996; PICCINI et al., 2004; ALIPPI & REYNALDI, 2006).

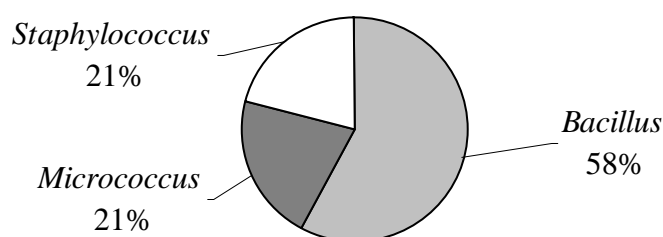


Figura 1. Distribuição (%) de bactérias isoladas de larvas mortas e pão de abelhas coletados em colméias de *Apis mellifera* afetadas pela CEB nos municípios de Petrópolis, Sapucaia, Rio de Janeiro e Mendes. Estado do Rio de Janeiro. 2006.

Staphylococcus spp coagulase negativa e *Micrococcus* spp não têm patogenicidade conhecida sobre as abelhas. Esses dois gêneros foram isolados de amostras de mel de *Apis mellifera* possivelmente por contaminação ambiental e, ou por manipulação (GOMES, 2006).

Neste trabalho, a elevada ocorrência do gênero *Bacillus*, somada ao fato da existência de espécies que são patogênicas para as abelhas, direcionou a metodologia para a identificação das espécies de *Bacillus*, de modo a separar as espécies patogênicas daquelas secundárias oportunistas ou saprófitas a estas associadas (BAILEY & BALL, 1991). Em um estudo recente sobre identificação de agentes infecciosos em colméias com doenças de abelhas, *Bacillus* foi isolado em 18% das adultas mortas e 8% das larvas mortas (AKANBI & OJELEYE, 2005).

Bacillus spp também é bastante estudado como habitante de colméias sadias de abelhas melíferas (GILLIAM, 1978; 1979) sugerindo-se uma associação benéfica dessas bactérias com as provisões e o controle de doenças na colméia (PICCINI et al., 2004). Várias espécies de *Bacillus* podem produzir enzimas que convertem o alimento estocado em

produtos mais digeríveis e substâncias antibióticas que inibem o crescimento de microrganismos deteriorantes ou patogênicos (ALIPPI & REYNALDI, 2006).

Foram identificadas as seguintes espécies de *Bacillus* a partir das amostras de larvas mortas e pão de abelhas: *B. thuringiensis*, *B. alvei*, *B. apiarius*, *B. megaterium* e *B. polymyxa* (Tabela 2).

Tabela 2. Distribuição das espécies de *Bacillus* spp isoladas das amostras de larvas mortas e pão de abelhas coletadas em colméias de *Apis mellifera* afetadas pela CEB nos municípios de Petrópolis, Sapucaia, Rio de Janeiro e Mendes. Estado do Rio de Janeiro. 2006.

| <i>Bacillus</i> spp | Larvas mortas (n°) | Pão de abelhas (n°) | Total (%) |
|-------------------------|--------------------|---------------------|-----------|
| <i>B. thuringiensis</i> | 4 | 6 | 45% |
| <i>B. alvei</i> | 4 | – | 18% |
| <i>B. apiarius</i> | 4 | – | 18% |
| <i>B. megaterium</i> | 2 | – | 9% |
| <i>B. polymyxa</i> | – | 2 | 9% |

B. thuringiensis foi prevalente nos isolados, sendo a única bactéria encontrada tanto nas amostras de larvas mortas quanto nas de pão de abelhas. *B. thuringiensis* tem conhecida patogenicidade contra larvas de Lepidoptera e pode apresentar virulência maior ou menor, dependendo da cepa, contra larvas de diferentes espécies de insetos (KATI et al., 2007). Atualmente, *B. thuringiensis* é o inseticida biológico mais utilizado no mundo para o controle biológico de pragas, principalmente em plantas (PRAÇA et al., 2004). Na apicultura, a formulação comercial de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* mostrou-se eficaz para o controle da traça de cera *Galleria mellonella* Linnaeus 1758 (Lepidoptera, Galleridae), em níveis superiores a 85% nos favos infestados com esta mariposa (BRIGHENTI et al., 2005). Durante o controle da traça nas colméias a bactéria não afetou as larvas de abelhas quando pulverizada (VERMA, 1995). No entanto para abelhas adultas foi comprovada a patogenicidade de *B. thuringiensis* (BRIGHENTI et al., 2007).

B. alvei é uma bactéria isolada de colméias saudáveis (GILLIAM & MORTON, 1978; GILLIAM, 1985) e capaz de se desenvolver em larvas mortas de *Apis*. Por ser frequentemente isolada a partir de larvas com cria pútrida européia (ALIPPI, 1991), sua presença costuma ser um indicador dessa doença (SHIMANUKI & KNOX, 1991).

B. apiarius também pode ser encontrado associado à cria pútrida européia, embora raramente (KNOX & SHIMANUKI, 1997). Desde que foi isolada de larvas de abelhas mortas, não foram encontradas evidências de sua ação patogênica. Colônias de *Apis* foram alimentadas e pulverizadas com esporos dessa bactéria, mas não houve interferência na saúde das larvas (KATZNELSON, 1950).

B. megaterium é frequentemente isolado a partir de amostras de abelhas sadias (GILLIAM, 1978), favo com crias e outras fontes do apiário (PICCINI et al., 2004). Foi demonstrado que *B. megaterium* é um dos principais microrganismos com ação antagônica sobre *Paenibacillus larvae* e, portanto, um agente potencial para o controle biológico dessa bactéria patogênica para abelhas (ALIPPI & REYNALDI, 2006). A ação de *B. megaterium* sobre o controle de doenças na colméia também foi verificada em relação a *Ascosphaera apis* por inibição do crescimento do fungo (REYNALDI et al., 2004).

B. polymyxa foi isolado de duas amostras do pão de abelhas coletadas durante a CEB. A bactéria é comumente encontrada no solo e em vegetais, principalmente em decomposição (EUZÉBY, 2007).

Os resultados indicam uma espécie de *Bacillus* entomopatogênica (*B. thuringiensis*) e outras espécies saprófitas que podem ser comumente isoladas nas colméias sadias de *Apis*.

3.3 Isolamento e Identificação de Fungos

Foram obtidos 40 isolados pertencentes a seis gêneros de fungos filamentosos, conforme disposto na tabela 3.

Tabela 3. Distribuição dos gêneros de fungos isolados das amostras de pólen apícola, pão de abelhas e larvas mortas coletadas em colméias de *Apis mellifera* afetadas pela CEB nos municípios de Petrópolis, Sapucaia, Rio de Janeiro e Mendes. Estado do Rio de Janeiro. 2006.

| Fungos isolados | Número de isolados | | | Total (%) |
|-------------------------|--------------------|----------------|-------|-----------|
| | Pólen apícola | Pão de abelhas | Larva | |
| <i>Penicillium</i> spp | 11 | 4 | 1 | 40,0 |
| <i>Aspergillus</i> spp | 4 | 3 | 3 | 25,0 |
| <i>Trichoderma</i> spp | - | 3 | 3 | 15,0 |
| <i>Beauveria</i> spp | 1 | 1 | 1 | 7,5 |
| <i>Cladosporium</i> spp | 1 | 1 | - | 7,5 |
| <i>Fusarium</i> spp | 1 | 1 | - | 5,0 |

Verificou-se a predominância de *Penicillium* e *Aspergillus* nas amostras, compondo 65% dos isolados. Este resultado está de acordo com outros estudos que mostraram alta frequência de contaminação do pólen por esses gêneros de fungos (GONZÁLEZ et al., 2005). *Penicillium* é o fungo mais isolado dentro de colméias *Apis* e *Aspergillus*, comumente apresenta menor prevalência (BURNSIDE, 1927).

Foram identificadas as seguintes espécies de *Penicillium*, *Fusarium* e *Aspergillus*: *P. chrysogenum*, *F. verticillioides*, *A. niger* e *A. parasiticus*, as duas últimas com cepas produtoras de micotoxinas. *A. niger* foi isolado de amostras de larvas mortas e pólen apícola coletado antes da CEB e *A. parasiticus* foi isolado do pão de abelhas (Tabela 4). O potencial dos isolados de *Aspergillus* em produzir micotoxinas resultou negativo para todas as amostras.

Tabela 4. Distribuição de *Aspergillus* spp identificados em amostras de pólen apícola, pão de abelhas e larvas mortas coletadas em colméias de *Apis mellifera* afetadas pela CEB nos municípios de Petrópolis, Sapucaia, Rio de Janeiro e Mendes. Estado do Rio de Janeiro. 2006.

| Espécies | Número de isolados | | |
|-----------------------|--------------------|----------------|-------|
| | Pólen apícola | Pão de abelhas | Larva |
| <i>A. niger</i> | 4 | - | 3 |
| <i>A. parasiticus</i> | - | 3 | - |

Em um estudo da micoflora de colméias *Apis*, *A. niger* esteve presente na parede e fundo da colméia, no pão de abelhas, nas larvas e nas pupas (SEGUI-CRESPO et al., 1991). Geralmente, os fungos encontrados nestas colméias não possuem habilidade para infectar as abelhas, mas fatores abióticos, tais como altas temperatura e umidade do ambiente, predisõem ao desenvolvimento das micoses (GLINSK & BUCZEK, 2003). Colméias *Apis* mantidas em ambientes úmidos desenvolveram crescimento de fungos filamentosos na superfície e também no estoque de pólen (MORSE & HOOPER, 1985).

Diversas espécies de *Aspergillus* são reconhecidamente patogênicas para as abelhas, inclusive *A. niger* (CORNEJO & ROSSI, 1975) e experimentalmente, *A. parasiticus* (BURNSIDE, 1930). A aspergilose tem ampla distribuição mundial (HEATH, 1985), mas não é uma doença comum, embora estes fungos sejam freqüentemente encontrados nas colméias *Apis*. Em estudo sobre a micoflora associada a aspergilose, registraram-se *A. niger*, *A. flavus* e *A. fumigatus* como espécies prevalentes em colméias afetadas. Estes fungos foram também os mais isolados a partir do pólen, larvas e abelhas adultas em colméias saudáveis (SHOREIT & BAGY, 1995). A ambigüidade na ocorrência destes fungos, de maneira patogênica ou não, sugere a ação de fatores estressantes sobre a colméia, predispondo ao adoecimento e morte de abelhas pela micose, tais como: resistência e alto grau de virulência do fungo, enfraquecimento da colônia, alta umidade do ar, baixa ventilação na colméia (BAILEY, 1963; GIAUFFRET & TALIERCIO, 1967), agro-químicos, poluentes, parasitas e predadores (GLINSK & BUCZEK, 2003). Para BURNSIDE (1930), certas micotoxinas podem provocar mortalidade em abelhas, isto também foi referenciado por FOOTE (1966) em relação as aflatoxinas.

3.4 Ocorrência de Micotoxinas

Foram encontradas aflatoxinas B1 e G1 em amostras de pão de abelhas e pólen apícola provenientes de apenas um apiário no município de Sapucaia. Como as aflatoxinas são sensíveis à luz, sua baixa detecção pode ter sido devida ao armazenamento dos favos e pólen apícola em vidro ou saco plástico transparentes.

A infestação do pólen apícola e do pão de abelhas com fungos potencialmente toxígenos pode resultar em contaminação do alimento da larva com micotoxinas. Foi demonstrado que *A. flavus* e *A. parasiticus* crescem e produzem aflatoxinas em uma variedade de substratos na colméia como pólen, favo de cria, larvas e abelhas adultas (HILLDRUP et al., 1977). Aflatoxinas incorporadas à dieta de abelhas adultas provocou mortalidade das abelhas, mesmo em concentrações inferiores a cinco partes por milhão. A sensibilidade das abelhas foi maior a aflatoxina B1, que causou mortalidade sempre que esteve presente nas colméias *Apis* (HILLDRUP & LLEWELLYN, 1979).

O pólen mostrou-se altamente eficiente para estimular a produção de ochratoxina A em meio de cultura (MEDINA et al., 2004), demonstrando ser um excelente substrato para a produção de micotoxinas por fungos no ambiente ou na colméia. O mesmo não ocorreu com mel (WELLFORD et al., 1978; MARTINS et al., 2003).

Em um estudo preliminar, também foram isolados *Alternaria alternata* e *Claviceps purpurea* a partir do pólen apícola, sendo detectada presença de micotoxinas fluorescentes por cromatografia de camada fina (PACHECO et al., 2006) indicando que as micotoxinas podem estar relacionadas com a mortalidade de larvas no estado do Rio de Janeiro (FREIRE, 2006).

3.5 Sugestões para Pesquisa

Se a CEB não foi causada pelo “barbatimão” nos apiários pesquisados, faz-se necessário averiguar sua verdadeira etiologia. Foram encontrados variados gêneros de bactérias, fungos e inclusive micotoxinas nas amostras analisadas, mas falta realizar a prova biológica para uma conclusão se estes agentes estão realmente envolvidos com a causa da CEB no estado do Rio de Janeiro.

4 CONCLUSÕES

Nas amostras coletadas de colméias com sintomas de cria ensacada brasileira, há ocorrência de:

- *Bacillus thuringiensis*, bactéria entomopatogênica,
- *Aspergillus niger*, fungo patogênico para abelhas,
- *A. niger* e *A. parasiticus*, fungos potencialmente toxígenos,
- Aflatoxinas B1 e G1.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKANBI, O.; OJELEYE, B. Pathogens of honeybees in the humid forest of Nigeria. 2005 In: SCIENTIFIC PROGRAMME APIMONDIA, 30, 2005, Ireland, **Anais...** Ireland, 2005, p.170.
- ALIPPI, A. M. A comparison of laboratory techniques for the detection of significant bacteria of the honey bee, *Apis mellifera*. **Journal of Applied Research**, v.30, p.75-80, 1991.
- ALIPPI, M. A.; REYNALDI, F. J. Inhibition of the growth of *Paenibacillus larvae*, the causal agent of American foulbrood of honeybees, by selected strains of aerobic spore-forming bacteria isolated from apiarian sources. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.91, n.3, p.141-146, 2006.
- BAILEY, L. **Infectious diseases of the honey bee**. London: Land Books Ltd, 1963.
- BAILEY, L. *Melissococcus pluton*, the cause of European foulbrood of honey bees (*Apis* spp.). **Journal of Applied Bacteriology**, v.55, p.65-69, 1983.
- BAILEY, L.; BALL, B. V. **Honey bee pathology**. London: Academic Press, 1991.
- BOTH, C. **The genus *Fusarium***. Kew, Surrey: Commonwealth Mycol. Inst., 1971.
- BRIGHENTI, D. M.; CARVALHO, C. F.; CARVALHO, G. A.; BRIGHENTI, C. R. G. Eficiência do *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Berliner, 1915) no controle da traça da cera *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, n.1, p.60-68, 2005.
- BRIGHENTI, D. M.; CARVALHO, C. F.; CARVALHO, G. A.; BRIGHENTI, C. R. G.; CARVALHO, S. M. Bioatividade do *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* para adultos de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.2, p.279-289, 2007.
- BURNSIDE, C. E. Saprophytic fungi associates with the honey bee. **Michigan Academy of Science, Arts and Letters**, v.8, p.59-86, 1927.
- BURNSIDE, C. E. Fungous disease of the honeybee. **U. S. Department of Agriculture. Technical Bulletin**, v.149, p.1-43, 1930.
- CARVALHO, A. C. P. **Pólen de *Stryphnodendron polyphyllum* como agente causador da cria ensacada brasileira em *Apis mellifera* L.** 1998. 60p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1998.
- CASTAGNINO, G. L. B. **Efeito do fornecimento de substituto de pólen na redução da mortalidade de *Apis mellifera* L, causada pela cria ensacada brasileira.** 2002. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

CASTAGNINO, G. L. B.; FUNARI, S. R. C.; BLUME, E.; ARBOITTE, M. Z.; WEBER, M. N. Doença cria giz *Ascosphaera apis* (Maassen ex Claussen) Olive & Spiltoir em abelhas *Apis mellifera* L. na depressão central do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v.36, n.6, 2006.

CORNEJO, L.G.; ROSSI, C.O. **Enfermedades de las abejas. Su profilaxis e prevención**. Buenos Aires: Editorial Hemisferio Sur, 1975.

EUZÉBY, J. P. **Dictionnaire de bactériologie vétérinaire**. Societé de bactériologie systématique et vétérinaire, 2007. Disponível em: <<http://www.bacdico.net>> Acesso em: 10 abr. 2007.

FOOTE, H. L. The mystery of the disappearing bees. **American Bee Journal**, v.106, p.126-127, 1966.

FREIRE, R. B. Toxinas fúngicas e morte de abelhas melíferas. In: FÓRUM DE DESENVOLVIMENTO DA APICULTURA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, 3, 2005, Seropédica, **Anais...** Seropédica: Ed. UFRRJ, 2006. p.53-56.

GIAUFFRET, A.; TALIERCIO, Y. P. Les mycoses de l'abeille (*Apis mellifera* L.). **Bulletin Apicola**, v.10, n.2, p.163-174, 1967.

GILLIAM, M.; VANDENBERG, J. D. Fungi. In: MORSE, R. A.; FLOTTUM, K. (Ed.). **Honey bee pests, predators, and diseases**. Medina: A. I. Root Company, 1997. p.101-110.

GILLIAM, M. Bacteria belonging to the genus *Bacillus* isolated from selected organs of queen honey bees, *Apis mellifera*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.31, p.389-391, 1978.

GILLIAM, M.; MORTON, H. L. Bacteria belonging to the genus *Bacillus* isolatede from honey bees, *Apis mellifera*, fed 2,4-D and antibiotics. **Apidologie**, v.9, p.213-222, 1978.

GILLIAM, M. Microbiology of pollen and bee bread: the yeasts. **Apidologie**, v.10, n.1, p.43-53, 1979.

GILLIAM, M. Microbiology of pollen and bee bread: the genus *Bacillus*. **Apidologie**, v.10, p.269-274, 1979.

GILLIAM, M. Microbes from apiarian sources: *Bacillus* spp in fras of the greater wax moth. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.45, p.218-224, 1985.

GLINSK, Z.; BUCZEK, K. Response of the Apoidea to fungal infections. **Apiacta**, v.38, p.183-189, 2003.

GOMES, L. P. **Contaminação bacteriana em amostras de méis de *Apis mellifera* L. comercializados no Estado do Rio de Janeiro**. 2006. 46p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Veterinária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2006.

- GONZALEZ, G.; HINOJO, M. J.; MATEO, R.; MEDINA, A.; JIMENEZ, M. Occurrence of mycotoxin producing fungi in bee pollen. **International Journal of Food Microbiology**, v.105, p.1-9, 2005.
- HILLDRUP, J. L.; EADIE, T.; LLEWELLYN, G. C. Fungal growth and aflatoxin production on apiarian substrates. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v.60, p.96-99, 1977.
- HILLDRUP, J. L.; LLEWELLYN, G. C. Acute toxicity of the mycotoxin aflatoxin B1 in *Apis mellifera*. **Journal of Apicultural Research**, v.18, n.3, p.217-221, 1979.
- HEATH, L.A.F. Occurrence and distribution of chalk brood disease of honeybees. **Bee World**, n.66, p.9-15, 1985.
- HOLT, J. G.; SNEATH, P. H. A.; MAIR, N. S.; SHARPE, M. E. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1984.
- HOOG, G. S.; GUARRO, J. **Atlas of clinical fungi**. Baarn and Delft, The Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 1996.
- KATI, H.; SEZEN, K.; DEMIRBAG, Z. Characterization of a highly pathogenic *Bacillus thuringiensis* strain isolated from common cockchafer, *Melolontha melolontha*. **Folia Microbiologica**, v.52, n.2, p.146-152, 2007.
- KATZNELSON, H. *Bacillus pulvifaciens* (n.sp.), an organism associated with powdery scale of honeybee larvae. **Journal of Bacteriology**, 59, 153-155, 1950.
- KLICH, M. A.; PITT, J. I. **A laboratory guide to common *Aspergillus* species and their teleomorphs**. North Ryde-N.S.W: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, division of food processing, 1988.
- KLICH, M. A. **Identification of common *Aspergillus* species**. Utrecht: The Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2002.
- KNOX, D. A.; SHIMANUKI, H. Laboratory diagnosis of honey bee diseases. In: MORSE, R. A.; FLOTTUM, K. (Ed.). **Honey bee pests, predators and diseases**. Medina: A. I. Root Company, 1997.
- KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN JR., W. C. **Diagnóstico Microbiológico**. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica, 2001.
- LORENZON, M. C. A. Medidas preventivas contra a mortalidade de cria de *Apis mellifera*. In: FÓRUM DE DESENVOLVIMENTO DA APICULTURA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, 3, 2005, Seropédica, **Anais...** Seropédica: Ed. da UFRRJ, 2006. p.57-60.
- MARTINS, H. M.; MARTINS, M. L.; BERNARDO, F. M. A. Bacillaceae spores, fungi and aflatoxins determination in honey. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.98, n.546, p.85-88, 2003.

MEDINA, A.; GONZÁLEZ, G; SÁEZ, J. M.; MATEO, R.; JIMÉNEZ, M. Bee pollen, a substrate that stimulates ochratoxin A production by *Aspergillus ochraceus* Wilh. **Systematic and Applied Microbiology**, v.27, n.2, p.261-267, 2004.

MESSAGE, D., BALL, B. V., SILVA, I. C. 1995. A serious brood disease affecting africanized honeybees (*Apis mellifera*). In: APIMONDIA CONGRESS, 34, 1995, Lausane. **Proceedings...Lausane: Apimondia**, 1995.

MESSAGE, D. **Management and disease problems of africanized bees in Brasil**. Parkstone: The Central Association of Bee-keepers, 1997.

MESSAGE, D. Doenças, pragas e predadores das abelhas no Brasil. **Revista Brasileira de Agropecuária**, v.3, n.15, p.52-59, 2002.

MORSE, R. A.; HOOPER, T. **The illustrated encyclopedia of beekeeping**. New York: E. P. Dutton, 1985.

NELSON, P. E.; TOUSSON, T. A.; MARASAS, W. F. O. **Fusarium species: an illustrated manual for identification**. Pennsylvania: Pennsylvania State University Press, 1983.

PACHECO, M. R. Intoxicação natural de abelhas melíferas pelo “barbatimão” no estado do Rio de Janeiro? In: FÓRUM DE DESENVOLVIMENTO DA APICULTURA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, 3, 2005, Seropédica, **Anais...** Seropédica: Ed. UFRRJ, 2006. p.47-48.

PACHECO, M. R.; FREIRE, R.B.; LORENZON, M.C.A. Ocorrência de micotoxinas no pólen e nas larvas de apiários com cria ensacada brasileira. In: FÓRUM DE DESENVOLVIMENTO DA APICULTURA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, 3, 2005, Seropédica, **Anais...** Seropédica: Ed. UFRRJ, 2006. p.78.

PEREIRA, F.M.; LOPES, M.T.R.; CAMARGO, R.C.R.; VILELA, S.L.O. Doenças e inimigos naturais das abelhas. **Embrapa Meio Norte**, julho 2003. Disponível em: <<http://sistemas.de.produção.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mel/Spmel/doenças.htm>>. Acesso em 20 Out. 2004.

PICCINI, C.; ANTÚNEZ, K.; ZUNINO, P. An approach to the characterization of the honey bee hive bacterial flora. **Journal of Apicultural Research**, v.43, n.3, p.101–104, 2004.

PITT, J. I. **A laboratory guide to common *Penicillium* species**. North Ryde-N.S.W: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, division of food processing, 1988.

PRAÇA, L. B.; BATISTA, A. C.; MARTINS, E. S.; SIQUEIRA, C. B.; SOUZA DIAS, D. G.; GOMES, A. C. M. M.; FALCÃO, R.; MONNERAT, R.G. Estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas contra insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.1, 2004.

REYNALDI, F. J.; DE GIUSTI, M. R.; ALIPPI, A. M. Inhibition of the growth of *Ascosphaera apis* by *Bacillus* and *Paenibacillus* strains isolated from honey. **Revista Argentina de Microbiologia**, v.36, n.1, p.52-55, 2004.

ROCHA, H.C.; BAGAGLI, E.; FUNARI, S. R. C. Identificação do fungo *Ascosphaera apis* em colméias de abelhas *Apis mellifera* L. no Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 12., 1998, Salvador, **Anais...** Salvador: CBA, 1998. p.247-248.

SATTLER, A.; DISCONZI, M. S.; DUARTE, V.; SILVEIRA, J. R. P. Ocorrência de cria giz (*Ascosphaera apis*) em apiários no Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 12., 1998, Salvador, **Anais...** Salvador: CBA, 1998. p.257.

SCHUCH, D. M. T.; TOCHETTO, L. G.; SATTLE, A. Isolamento de esporos de *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, n.3, p.441-444, 2003.

SEGUI-CRESPO, D.; PEREZ-LAGUILLO, O.; LOPEZ, C. B.; PESANTE, D.; BERRIOS, A. Catastro de hongos presentes en colmenas de la abeja melifera (*Apis mellifera* L.) en el area oeste de Puerto Rico. **Caribbean Journal of Science**, v.27, n.1-2, p.75-79, 1991.

SHIMANUKI, H.; KNOX, D. A. **Diagnosis of honey bee diseases**. Washington: United States Department of Agriculture, 1991.

SHOREIT, M. N.; BAGY, M. M. K. Mycoflora associated with stonebrood disease in honeybee colonies in Egypt. **Microbiological research**, v.150, n.2, p.207-211, 1995.

SNOWDON, J. A.; CLIVER, D. O. Microorganisms in honey. **International Journal of Food Microbiology**, v. 31, n.1-3, p.1-26, 1996.

VERMA, S. K. Studies on the control of greater wax moth, *Galleria mellonella* L. in *Apis cerana* F. colonies with the biological insecticide, Dipel. **Indian Bee Journal**, Nainital, v.57, n.3, p.121-123, 1995.

WELLFORD, T. E.; EADIE, T.; LLEWELLYN, G. C. Evaluation the inhibitory action of honey on fungal growth sporulation, in aflatoxin production. **Z. Lebensm Unters Forsch.**, v.28, n.166, p.280-283, 1978.

CONCLUSÕES GERAIS

As perdas de colméias atingem 61% dos apiários pesquisados no estado do Rio de Janeiro. As doenças de abelhas são a principal causa para as perdas, seguida pelo ataque de formigas e pela fuga de enxames, que também podem indicar doença. A maioria dos casos de doença em abelhas é diagnosticada pelo próprio apicultor. É grave a situação da sanidade apícola no estado.

A cria ensacada brasileira ocorre em todos os meses do ano durante floração abundante e fartura de alimento na colméia. Os principais sinais observados são larvas mortas com coloração alterada, opérculos perfurados e presença de forídeos nos favos. O manejo mais adotado pelos apicultores é não realizar tratamento e guardar as caixas afetadas no depósito.

Stryphnodendron polyphyllum é a única espécie de “barbatimão” existente no estado do Rio de Janeiro e floresce de dezembro a março. Não há sobreposição de dados entre o zoneamento da cria ensacada brasileira e a distribuição geográfica de *S. polyphyllum* no estado do Rio.

A análise palinológica auxilia o diagnóstico de intoxicação por plantas ao verificar o consumo de pólen em condições naturais. *S. polyphyllum* não está presente na alimentação das larvas com sintomas de cria ensacada brasileira nos apiários estudados e, portanto, não pode ser apontado pela mortalidade observada nos locais pesquisados. Devido à ausência de *Stryphnodendron* nas colméias com CEB, sugere-se a denominação da mesma no estado do Rio de Janeiro de CEB tipo II.

Há ocorrência de bactéria entomopatogênica, fungos potencialmente tóxicos e patogênicos e micotoxinas em amostras provenientes de colméias com CEB necessitando outros estudos para concluir sobre sua etiologia no estado do Rio.

Anexo A. Página do formulário do censo estadual apícola de 2006 que contém a questão pesquisada sobre doenças nos apiários. Estado do Rio de Janeiro. 2005-2006.

db **Databrasil**

BRASIL
UM PAÍS EM CONSTRUÇÃO

03 **CARACTERÍSTICAS DO APIÁRIO**

01 - ONDE O(A) APICULTOR(A) ADQUIRE O MATERIAL APÍCOLA ?
 2 Neste município 4 Em outro município do RJ 5 Em outro estado

02 - O(A) APICULTOR(A) MANTÉM SUA BASE DE OPERAÇÕES (barraca de trabalho para extração de produtos apícolas, guarda e preparação de material de campo, etc.) NO PRÓPRIO APIÁRIO ?
 1 Sim 3 Não (Informar o endereço de onde está localizada a sua base de operações)
 No próprio apiário
 No Instituto de Zootecnia (UFRRJ)

03 - QUANTAS PESSOAS TRABALHAM NESTE APIÁRIO ?
 1 - Membros não remunerados da família do(a) apicultor(a). 3 estudantes (4)
 2 - Pessoas contratadas e membros não remunerados de suas famílias

04 - QUAL É O TIPO DE ABELHA UTILIZADA NO APIÁRIO ?
 2 Africanizada 4 Indígena e solitárias

05 - QUAL É O NÚMERO DE COLMÉIAS OU CAIXAS DO APIÁRIO ?
 Total: 38 (Apis) + 27 (Meliponina) + 400 (solitárias)

06 - QUAL É O TIPO DE APICULTURA UTILIZADA ?
 1 Fixa 3 Migratória

07 - QUAL É A ORIGEM DAS ABELHAS UTILIZADAS NO APIÁRIO ?
 2 Captura 4 Multiplicação 6 Compra → Onde é feita a compra ?
 8 No próprio município
 10 Em outro município do RJ
 12 Em outro estado

08 - É FEITA A TROCA DE RAINHA ?
 1 Não
 3 Sim → Com que frequência ela é feita normalmente ?
 6 Com menos de 1 ano de postura
 7 De 1 ano a menos de 2 anos de postura
 9 De 2 anos e mais de postura

09 - ONDE SÃO ADQUIRIDOS OS IMPLEMENTOS APÍCOLAS UTILIZADOS NO APIÁRIO ?
 2 Fabricação própria 4 No próprio município 6 Em outro município do RJ 8 Outro estado

10 - NORMALMENTE, COM QUE FREQUÊNCIA O(A) APICULTOR(A) VISITA O APIÁRIO ?
 1 Toda semana 3 A cada 15 dias 5 Uma vez por mês 7 A cada 6 meses 9 Em intervalos diferentes dos anteriores

11 - O APIÁRIO RECEBE ASSISTÊNCIA TÉCNICA ?
 2 Não → ~~Passo para o Questionário 14~~ 4 Sim

12 - NO CASO DE RECEBER ASSISTÊNCIA TÉCNICA, QUAL É A ORIGEM DA MESMA ?
 1 Governo(Federal, Estadual ou Municipal) 3 Própria ou do(a) próprio(a) apicultor(a) 5 Técnico de cooperativa
 7 Técnico de empresa privada 9 Técnico de ONG 11 Outra

13 - QUAL É O TIPO DE FLORADA NORMALMENTE EXPLORADA PELO APIÁRIO ?
 2 Silvestre 4 Assa-peixe 6 Morrao-de-candeia 8 Eucalipto 10 Erva-canudo
 12 Candeia 14 Câmbará 16 Vassourinha 18 Alecrim 20 Angico
 22 Manjolo 24 Canela 26 Cultivo agrícola 28 Outro - Qual ?
 graminel forrageiro

14 - HOUVE ALGUM CASO DE DOENÇA NOS ENXAMES NOS ÚLTIMOS 5 ANOS ?
 1 Não 3 Sim → Quem fez o diagnóstico da doença ?
 5 O(A) próprio(a) Apicultor(a)
 7 Técnico do órgão do Governo
 9 Técnico contratado

15 - UTILIZA ALGUM TIPO DE AGROTÓXICO OU PESTICIDA ?
 2 Não 4 Sim → Qual(is)

EMATER-RIO SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA, ABASTECIMENTO, PESCA E DESENVOLVIMENTO DO INTERIOR Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro A. E. R. F. S. J.

Anexo B. Regiões e municípios do estado do Rio de Janeiro. Divisão político-administrativa.



Fonte: (<http://www.codin.rj.gov.br/Regions/Region.htm>)

1. **MÉDIO PARAÍBA** - **Municípios (12)**: Barra do Piraí, Barra Mansa, Itatiaia, Pinheiral, Piraí, Porto Real, Quatis, Resende, Rio Claro, Rio das Flores, Valença, Volta Redonda.
2. **CENTRO SUL FLUMINENSE** - **Municípios (10)**: Areal, Comendador Levy Gasparian, Engenheiro Paulo de Frontin, Mendes, Miguel Pereira, Paraíba do Sul, Paty do Alferes, Sapucaia, Três Rios e Vassouras.
3. **SERRANA** - **Municípios (14)**: Bom Jardim, Cantagalo, Carmo, Cordeiro, Duas Barras, Macuco, Nova Friburgo, Petrópolis, Santa Maria Madalena, São José do Vale do Rio Preto, São Sebastião do Alto, Sumidouro, Teresópolis e Trajano de Morais.
4. **METROPOLITANA** - **Municípios (18)**: Belford Roxo, Duque de Caxias, Guapimirim, Itaboraí, Japeri, Maricá, Magé, Mesquita, Nilópolis, Niterói, Nova Iguaçu, Paracambi, Queimados, Rio de Janeiro, São Gonçalo, São João de Meriti, Seropédica, Tanguá
5. **NORTE** - **Municípios (9)**: Campos dos Goytacazes, Carapebus, Cardoso Moreira, Conceição de Macabu, Macaé, Quissamã, São Fidélis, São Francisco de Itabapoana, São João da Barra.
6. **NOROESTE** - **Municípios (13)**: Aperibé, Bom Jesus de Itabapoana, Cambuci, Italva, Itaocara, Itaperuna, Laje de Muriaé, Miracema, Natividade, Porciúncula, Santo Antonio de Pádua, São José de Ubá, Varre-Sai.
7. **BAIXADA LITORÂNEA** - **Municípios (12)**: Araruama, Armação de Búzios, Arraial do Cabo, Cabo Frio, Cachoeiras de Macacu, Casimiro de Abreu, Iguaba Grande, Rio Bonito, Rio das Ostras, São Pedro da Aldeia, Saquarema e Silva Jardim.
8. **COSTA VERDE** – **Municípios (4)**: Angra dos Reis, Itaguaí, Mangaratiba e Paraty.

Anexo C. Trechos da cartilha de esclarecimento sobre doença em cria de abelhas, especialmente a cria ensacada brasileira e modelo de questionário aplicado ao apicultor com relato de doença em seu apiário. Estado do Rio de Janeiro. 2005-2006.

| | |
|---|---|
| <u>ÍNDICE</u> | |
| CARO AMIGO APICULTOR | 1 |
| RECONHECENDO A DOENÇA | 2 |
| COMO ENVIAR AMOSTRAS PARA O LABORATÓRIO | 3 |
| MEDIDAS PREVENTIVAS | 5 |
| O QUE FAZER | 6 |
| RESPONDA O QUESTIONÁRIO | 7 |

RECONHECENDO A DOENÇA

Uma das principais observações a serem feitas pelo apicultor durante as revisões é verificar como as crias estão distribuídas nos favos:

a) Quando as áreas de crias apresentam poucas falhas, é uma indicação de que a rainha está com um bom padrão de postura e que as larvas estão se desenvolvendo normalmente.

b) Quando se observa quadros com áreas de crias falhadas, é uma indicação de que algum problema pode estar ocorrendo.

O apicultor deve examinar tanto as crias abertas como as operculadas. Deve verificar a cor, a forma e a posição das crias e também a aparência dos opérculos:

- A cria aberta tem coloração branca e posição em forma de “C” no fundo do alvéolo.
- Larvas amareladas, marrons, pretas ou em outra posição são forte indício de doença.
- Opérculos furados e/ou afundados também podem indicar doença.

PREENCHA O QUESTIONÁRIO ABAIXO E O REMETA A SUA ASSOCIAÇÃO COM DESTINO À UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

Nome _____ Endereço _____ Fone _____ Local do Apiário _____ Município _____

Tempo de exercício da Apicultura _____ Certificado de Curso ()sim ()não

Número de colméias atual _____ É perto de mata? ()sim ()não

Período de visita aos apiários ()15-15 dias ()30 -30 dias () _____

Perda anual de colméias estimada _____ Ocorre todo ano? ()sim ()não

Número de colméias atingidas _____ Quantas se recuperam _____

Em que anos observou a doença _____ Em quais meses _____

Houve mudança brusca de clima? () sim _____ () não

A florada era: () escassa () abundante _____

Sintomas da doença: ()favos com falhas ()opérculos perfurados

()cria morta ()não apresenta cheiro pútrido ()apresenta cheiro de estragado

()coloração da cria é cinza, marrom ou negra ()observou forídeos na cria morta

()observou formigas dentro e fora da caixa ()observou teias ou casulos

()presença de abelhas adultas mortas ()presença de esterco nos favos

()outros _____

Que destino deu às caixas com problemas: ()misturou favos com outras sadias

()queimou ()desinfetou ()guardou no depósito ()outros _____

Durante a doença, fez algum tratamento? () sim _____ () não

Anexo D. Principais tipos polínicos encontrados em amostras de pólen apícola (P e P₂) e pão de abelhas (F) provenientes dos seguintes municípios: Mendes, Sapucaia (apiários 1 e 2) e Petrópolis (Itaipava, Secretário, Posse, Brejal), no estado do Rio de Janeiro, no período de julho de 2005 até fevereiro de 2006.

| Origem da Amostra | Período da Coleta | Região do Apiário | Identificação do Pólen | Família Vegetal |
|-------------------|-------------------|-------------------|--|--|
| F | 05/07/05 | Posse | <i>Vernonia</i> , <i>Senecio</i> | Asteraceae, Asteraceae |
| P | 23/09/05 | Mendes | <i>Eucalyptus</i> , <i>Vernonia</i> | Myrtaceae, Asteraceae |
| P ₂ | 23/09/05 | Mendes | <i>Vernonia</i> , <i>Eucalyptus</i> | Asteraceae, Myrtaceae |
| F | 26/09/05 | Brejal | Miscelânea | - |
| P | 06/10/05 | Mendes | <i>Vernonia</i> | Asteraceae |
| P | 13/10/05 | Mendes | <i>Vernonia</i> | Asteraceae |
| P ₂ | 13/10/05 | Mendes | <i>Vernonia</i> , <i>Trema micrantha</i> | Asteraceae, Ulmaceae |
| P | 20/12/05 | Itaipava | <i>Eucalyptus</i> , Arecaceae | Myrtaceae, Arecaceae |
| P | 27/12/05 | Itaipava | <i>Eucalyptus</i> , <i>Baccharis</i> , <i>Ricinus</i> , Poaceae | Myrtaceae, Asteraceae, Euphorbiaceae, Poaceae |
| P | 07/01/06 | Itaipava | <i>Eucalyptus</i> , <i>Croton</i> | Myrtaceae, Euphorbiaceae |
| P | 17/01/06 | Itaipava | <i>Croton</i> | Euphorbiaceae |
| P | 18/01/06 | Sapucaia1 | <i>Baccharis</i> , Poaceae | Asteraceae, Poaceae |
| P ₂ | 18/01/06 | Sapucaia1 | <i>Croton</i> | Euphorbiaceae |
| P | 24/01/06 | Itaipava | <i>Anadenanthera</i> , Poaceae | Leguminosae, Poaceae |
| P | 26/01/06 | Sapucaia1 | <i>Mimosa</i> , <i>Croton</i> | Leguminosae, Euphorbiaceae |
| P ₂ | 26/01/06 | Sapucaia1 | <i>Mimosa</i> | Leguminosae |
| P | 01/02/06 | Sapucaia1 | <i>Mimosa</i> , <i>Croton</i> | Leguminosae, Euphorbiaceae |
| P | 01/02/06 | Itaipava | <i>Croton</i> , <i>Myrcia</i> | Euphorbiaceae, Myrtaceae |
| P | 07/02/06 | Itaipava | <i>Eucalyptus</i> , <i>Anadenanthera</i> | Myrtaceae, Leguminosae |
| P | 09/02/06 | Sapucaia1 | <i>Croton</i> , Poaceae | Euphorbiaceae, Poaceae |
| P ₂ | 09/02/06 | Sapucaia1 | <i>Anadenanthera</i> , <i>Zea mays</i> , <i>Merremia</i> | Leguminosae, Poaceae, Convolvulaceae |
| F | 10/02/06 | Itaipava | <i>Anadenanthera</i> | Leguminosae |
| F | 10/02/06 | Sapucaia1 | <i>Anadenanthera</i> | Leguminosae |
| F | 10/02/06 | Sapucaia2 | <i>Anadenanthera</i> | Leguminosae |

Anexo D. Continuação

| Origem da Amostra | Período da Coleta | Região do Apiário | Identificação do Pólen | Família Vegetal |
|-------------------|-------------------|-------------------|--|--|
| F | 13/02/06 | Secretário | <i>Schizolobium parahybum</i> | Leguminosae |
| P | 14/02/06 | Itaipava | <i>Croton</i> , <i>Eucalyptus</i> | Euphorbiaceae, Myrtaceae |
| P ₂ | 14/02/06 | Itaipava | Arecaceae | Arecaceae |
| P | 15/02/06 | Sapucaia1 | <i>Anadenanthera</i> | Leguminosae |
| P ₂ | 15/02/06 | Sapucaia1 | <i>Anadenanthera</i> | Leguminosae |
| P | 22/02/06 | Sapucaia1 | <i>Anadenanthera</i> | Leguminosae |
| P ₂ | 22/02/06 | Sapucaia1 | Poaceae, <i>Mimosa caesalpiniaefolia</i> | Poaceae, Leguminosae |
| P | 22/02/06 | Itaipava | <i>Anadenanthera</i> | Leguminosae |
| F | 24/02/06 | Sapucaia1 | <i>M.caesalpiniaefolia</i> , <i>Croton</i> , Poaceae, <i>Bravaisia</i> , <i>Merremia</i> | Leguminosae, Euphorbiaceae, Poaceae, Acanthaceae, Convolvulaceae |
| F | 25/02/06 | Posse | <i>Anadenanthera</i> , Poaceae, <i>Ricinus</i> | Leguminosae, Poaceae, Euphorbiaceae |

Anexo E. Distribuição por data, região e família vegetal dos principais tipos polínicos encontrados em amostras de pólen apícola (P e P₂) e pão de abelhas (F) provenientes dos seguintes municípios: Mendes, Sapucaia (apiários 1 e 2) e Petrópolis (Itaipava, Secretário, Posse, Brejal), no estado do Rio de Janeiro, no período de julho de 2005 a fevereiro de 2006.

| Origem Coleta | Região | Asteraceae | Myrtaceae | Poaceae | Euphorbiaceae | Leguminosae |
|--------------------|---------------------|-----------------------------------|-------------------|------------|----------------|----------------------|
| F _(CEB) | 05/07/05 Posse | <i>Vernonia</i> <i>Senecio</i> | | | | |
| P | 23/09/05 Mendes | <i>Vernonia</i> | <i>Eucalyptus</i> | | | |
| P ₂ | 23/09/05 Mendes | <i>Vernonia</i> | <i>Eucalyptus</i> | | | |
| P | 06/10/05 Mendes | <i>Vernonia</i> | | | | |
| P | 13/10/05 Mendes | <i>Vernonia</i> | | | | |
| P ₂ | 13/10/05 Mendes | <i>Vernonia</i> | | | | |
| P | 20/12/05 Itaipava | | <i>Eucalyptus</i> | | | |
| P | 27/12/05 Itaipava | <i>Baccharis</i> | <i>Eucalyptus</i> | Poaceae | <i>Ricinus</i> | |
| P | 07/01/06 Itaipava | | <i>Eucalyptus</i> | | <i>Croton</i> | |
| P | 17/01/06 Itaipava | | | | <i>Croton</i> | |
| P | 18/01/06 Sapucaia1 | <i>Baccharis</i> | | Poaceae | | |
| P ₂ | 18/01/06 Sapucaia1 | | | | <i>Croton</i> | |
| P | 24/01/06 Itaipava | | | Poaceae | | <i>Anadenanthera</i> |
| P | 26/01/06 Sapucaia1 | | | | <i>Croton</i> | <i>Mimosa</i> |
| P ₂ | 26/01/06 Sapucaia1 | | | | | <i>Mimosa</i> |
| P | 01/02/06 Sapucaia1 | | | | <i>Croton</i> | <i>Mimosa</i> |
| P | 01/02/06 Itaipava | | <i>Myrcia</i> | | <i>Croton</i> | |
| P | 07/02/06 Itaipava | | <i>Eucalyptus</i> | | | <i>Anadenanthera</i> |
| P | 09/02/06 Sapucaia1 | | | Poaceae | <i>Croton</i> | |
| P ₂ | 09/02/06 Sapucaia1 | | | <i>Zea</i> | | <i>Anadenanthera</i> |
| F _(CEB) | 10/02/06 Itaipava | | | | | <i>Anadenanthera</i> |
| F _(CEB) | 10/02/06 Sapucaia1 | | | | | <i>Anadenanthera</i> |
| F _(CEB) | 10/02/06 Sapucaia2 | | | | | <i>Anadenanthera</i> |
| F _(CEB) | 13/02/06 Secretário | | | | | <i>Schizolobium</i> |
| P | 14/02/06 Itaipava | | <i>Eucalyptus</i> | | <i>Croton</i> | |
| P | 15/02/06 Sapucaia1 | | | | | <i>Anadenanthera</i> |
| P ₂ | 15/02/06 Sapucaia1 | | | | | <i>Anadenanthera</i> |
| P | 22/02/06 Sapucaia1 | | | | | <i>Anadenanthera</i> |
| P ₂ | 22/02/06 Sapucaia1 | | | Poaceae | | <i>Mimosa</i> |
| P | 22/02/06 Itaipava | | | | | <i>Anadenanthera</i> |
| F _(CEB) | 24/02/06 Sapucaia1 | | | Poaceae | <i>Croton</i> | <i>Mimosa</i> |
| F _(CEB) | 25/02/06 Posse | | | Poaceae | <i>Ricinus</i> | <i>Anadenanthera</i> |

Anexo F. Laudos laboratoriais técnicos referentes a amostras de pólen apícola coletadas ao longo do mês anterior à cria ensacada brasileira em colméias provenientes dos municípios de Petrópolis (Itaipava) e Sapucaia. Estado do Rio de Janeiro. 2005-2006

ANÁLISE DE AMOSTRAS DE PÓLEN

REGISTRADAS SOB O Nº 1403

Oito amostras de bolotas de pólen de abelha procedentes de **Itaipava**, Estado do Rio de Janeiro, recebidas da Dra. Cristina Lorenzón, UFRRJ, através da Sra. Marta Pacheco, em 13.02.2006. Solicita-se análise polínica das amostras visando a ocorrência de mortandade de abelhas, suspeitas de "Cria Ensacada Brasileira".

As bolotas de pólen apresentaram cores variadas e odor característico de pólen. Não estavam bem secas. Passaram a ter o seguinte registro, as respectivas datas de coleta e os resultados das análises polínicas (compreendem o pólen dominante com mais de 45% do total de grãos de pólen e pólen acessório, de 15 a 45%):

Amostra 1403-11 de 20.12.2005: pólen de *Eucalyptus* e *Arecaceae* (palmeira).

Amostra 1403-12 de 27.12.2005: pólen de *Eucalyptus*, *Baccharis*, *Ricinus* e *Poaceae* (gramíneas).

Amostra 1403-13 de 07.01.2006: pólen de *Eucalyptus* e *Corton*.

Amostra 1403-14 de 10.01.2006: pólen desconhecido 3-colporado, reticulado, exina rígida.

Amostra 1403-15 de 17.01.2006: pólen de *Corton* (morrão-de candeia).

Amostra 1403-16 de 24.01.2006: pólen de *Anadenanthera* (angico), *Poaceae* e desconhecido 3-colporado, reticulado, exina delicada (*Bignoniaceae*?).

Amostra 1403-17 de 01.02.2006: pólen de *Corton* e *Myrcia*. (amostra muito úmida, uma massa uniforme).

Amostra 1403-18 de 07.02.2006: pólen de *Eucalyptus* e *Anadenanthera*.

Avaliação Final: Não foi encontrado pólen de *Stryphnodendron*, suspeito poder ser responsável pela manifestação da "cria ensacada brasileira".

Rio de Janeiro, 9 de maio de 2006



O.M. Barth

Laudos laboratorial técnico

ORTUO MONIKA BARTH
Pesquisador-Titular
Conselho Federal de Biologia
N. 350
Rio de Janeiro - Brasil

ANÁLISE DE AMOSTRAS DE PÓLEN

REGISTRADAS SOB O Nº 1405

Sete amostras de bolotas de pólen de abelha procedentes de **Sapucaia**, Estado do Rio de Janeiro, recebidas da Dra. Cristina Lorenzón, UFRRJ, através da Sra. Marta Pacheco, em 13.02.2006. Solicita-se análise polínica das amostras visando a ocorrência de mortandade de abelhas, suspeitas de "Cria Ensacada Brasileira".

As bolotas de pólen apresentaram cores variadas e odor característico de pólen. Não estavam bem secas. Passaram a ter o seguinte registro, as respectivas datas de coleta e os resultados das análises polínicas (compreendem o pólen dominante com mais de 45% do total de grãos de pólen e pólen acessório, de 15 a 45%):

Amostra 1405-4 de 18.01.2006: pólen de *Baccharis* e *Poaceae*.

Amostra 1404-5 de 18.01. 2006: pólen de *Croton*.

Amostra 1405-6 de 26.01. 2006: pólen de tipo polínico *Mimosa scabrella* (maricá) e *Croton*.

Amostra 1405-7 de 26.01. 2006: pólen de polínico *Mimosa scabrella* (maricá).

Amostra 1405-8 de 01.02. 2006: pólen de polínico *Mimosa scabrella* (maricá) e *Croton*.

Amostra 1405-9 de 09.02. 2006: pólen de *Croton* e *Poaceae*.

Amostra 1405-10 de 09.02. 2006: pólen de *Zea mays* (milho), *Merremia* (jitirana), *Anadenanthera* (angico), *Poaceae* e desconhecido (Fabaceae tipo *Crotalaria*, grãos de pólen pequenos cobertos de óleo vermelho)

Avaliação Final: Não foi encontrado pólen de *Stryphnodendron*, suspeito poder ser responsável pela manifestação da "cria ensacada brasileira".

Rio de Janeiro, 9 de maio de 2006



O.M. Barth

Laudo laboratorial técnico

ORTRUD MONIKA BARTH
Pesquisador-Titular
Conselho Federal de Biologia
N. 350
Rio de Janeiro - Brasil