

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Dissertação

**Detecção e identificação molecular de vírus e *Nosema* spp. que acometem
*Apis mellifera***

Domitila Brzoskowski Chagas

Pelotas, 2020

Domitila Brzoskowski Chagas

**Detecção e identificação molecular de vírus e *Nosema* spp. que acometem
*Apis mellifera***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal).

Orientador: Prof. Dr. Geferson Fischer
Coorientadora: Dr^a. Francielle Liz Monteiro

Pelotas, 2020

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

C426d Chagas, Domitila Brzoskowski

Detecção e identificação molecular de vírus e *Nosema* spp. que acometem *Apis mellifera* / Domitila Brzoskowski Chagas ; Geferson Fischer, orientador ; Francielle Liz Monteiro, coorientadora. — Pelotas, 2020.

65 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2020.

1. Abelha africanizada. 2. RT-PCR multiplex . 3. Vírus da realeira negra. 4. Vírus da paralisia aguda. 5. *Nosema* spp.. I. Fischer, Geferson, orient. II. Monteiro, Francielle Liz, coorient. III. Título.

CDD : 638.1

Domitila Brzoskowski Chagas

**Detecção e identificação molecular de vírus e *Nosema* spp. que acometem
*Apis mellifera***

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 06/01/2020

Banca examinadora:

Prof. Dr. Geferson Fischer (Orientador)
Doutor em Biotecnologia Agrícola pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Jerri Teixeira Zanusso
Doutor em *Sciences Agronomiques* pelo *Institut National Polytechnique de Toulouse*

Prof. Dr. Rodrigo de Almeida Vaucher
Doutor em Microbiologia Agrícola e do Ambiente pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dr^a. Paula Fonseca Finger
Doutora em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas

Agradecimentos

Agradeço, primeiramente, à Deus, por tudo. À minha família por me apoiar e incentivar a seguir meus sonhos.

Ao Talisson, que sempre me dá a mão quando me sinto perdida e me incentiva. Além disso, obrigada pelos conselhos, que à primeira vista são os mais duros, mas foram os mais sensatos e verdadeiros. Obrigada por estar em minha vida.

Ao meu orientador prof. Geferson Fischer pela oportunidade e acolhimento no Laboratório de Virologia da UFPel, assim como, aos colegas e professores pelo aprendizado. À minha coorientadora Francielle Liz Monteiro, por todo conhecimento adquirido. Obrigada por toda ajuda e dedicação.

À Mônica Peters, pela orientação e pelo incentivo a ingressar na pós-graduação. Foste essencial na minha vida; sinto tua falta e do pessoal do grupo de estudos em produção vegetal aplicada aos sistemas produtivos do CaVG/IFSul - o pessoal do laboratório de solos; obrigada por me acolherem de braços abertos.

À amizade, motivação e “puxões de orelhas” das minhas amigas, Alexia Almeida e Fernanda Carvalho, que mesmo com à distância - não nos vemos sempre pela correria do dia-a-dia, mas sei que torcem por mim.

A todos que me ajudaram e que estão ou passaram em minha vida, pela oportunidade de crescimento e aprendizado com cada um.

Muito obrigada!

***“São nesses fins que encontramos
nossos meios para recomeçar.”***

Pedro Gabriel

Resumo

CHAGAS, Domitila Brzoskowski. **Detecção e identificação molecular de vírus e *Nosema* spp. que acometem *Apis mellifera***. 2020. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2020.

As abelhas são insetos de grande importância na agricultura, cumprindo um papel muito importante na polinização e renovação do ecossistema. No entanto, em diversos países têm sido relatadas perdas significativas de colônias e declínio da população de abelhas melíferas. No Brasil, poucos dados estão disponíveis sobre as causas destas perdas, principalmente na região sul do país, onde a maior mortalidade de abelhas foi relatada. A diminuição no número de abelhas é relacionado à multifatores, sendo os patógenos, como vírus, ácaro *Varroa* e microsporídeo *Nosema* spp., uma das possíveis causas. Os principais vírus de abelhas pertencem à ordem *Picornavirales*, e são classificados na família *Iflaviridae* e *Dicistroviridae*. O vírus da paralisia crônica (CBPV) não foi classificado em família. O presente estudo teve como objetivo apresentar uma revisão bibliográfica sobre os vírus que afetam abelhas e determinar a ocorrência dos principais vírus no sul do Brasil. Com o primeiro estudo foi possível concluir que os vírus afetam a saúde das abelhas e contribuem para a perda de colônias e que a compreensão do papel do patógeno nos hospedeiros levará à descoberta de novos vírus, além de esclarecer as rotas de transmissão, a associação com outros parasitas, os sintomas da doença e o desenvolvimento de estratégias de prevenção. Em um segundo estudo, foi determinada a ocorrência do BQCV em apiários do sul do Brasil. O vírus da realeira negra (BQCV) foi identificado em 37,9% (25/66) de colônias de *Apis mellifera* coletadas de 13 apiários nas cidades de Canguçu, Piratini e Arroio do Padre. A presença do RNA viral foi identificada apenas em amostras de abelhas adultas. Em um terceiro estudo, foi determinada a ocorrência do ABPV, BQCV, CBPV, DWV, IAPV e SBV com RT-PCR *multiplex* e do *Nosema cerenae* e *Nosema apis* com PCR *multiplex* em municípios do Rio Grande do Sul (RS) e Santa Catarina (SC). O BQCV foi detectado em 36% (38/105) dos apiários no estado do RS, o ABPV em 3% (3/105) e o DWV em 1% (1/105). No estado de SC, foi identificado o BQCV em 8,5% (5/59) das amostras e o DWV em 1,7% (1/59). O DNA de *Nosema cerenae* foi identificado em 59% (59/100), sendo em 23% (23/100) associado ao BQCV. Assim, os resultados obtidos demonstram a alta ocorrência do BQCV e de *Nosema cerenae* em apiários do sul do Brasil, e a presença do ABPV e DWV. Espera-se com este estudo contribuir para a epidemiologia das doenças virais de abelhas, auxiliando no diagnóstico e na busca por medidas de prevenção e controle.

Palavras-chave: *abelha africanizada*; RT-PCR *multiplex*; *vírus da realeira negra*; *vírus da paralisia aguda*; *Nosema spp.*

Abstract

CHAGAS, Domitila Brzoskowski Chagas. **Detection and molecular identification of viruses and *Nosema* spp. affecting *Apis mellifera***. 2020. 65f. Dissertation (Master degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2020.

Bees are very important insects in agriculture, playing a very important role in pollination and renewal of the ecosystem. However, in several countries' significant colony losses and declining honey bee populations have been reported. In Brazil, few data are available on the causes of these losses, especially in the southern region of the country, where the highest bee mortality has been reported. The decrease in the number of bees is related to multifactor, being the pathogens, such as viruses, Varroa mite and microsporidium *Nosema* spp., one of the possible causes. The main bee viruses belong to the order *Picornavirales* and are classified in the family *Iflaviridae* and *Dicistroviridae*. The *chronic paralysis virus* (CBPV) was not classified as family. The present study aimed to present a bibliographic review about the viruses that affect bees and to determine the occurrence of the main viruses in southern Brazil. With the first study it was concluded that viruses affect bee health and contribute to the loss of colonies and that understanding the role of the pathogen in the hosts will lead to the discovery of new viruses, as well as clarifying the routes of transmission, the association with other parasites, disease symptoms and the development of prevention strategies. In a second study, the occurrence of black queen virus (BQCV) in apiaries in southern Brazil was determined. BQCV was identified in 37.9% (25/66) of *Apis mellifera* colonies collected from 13 apiaries in the cities of Canguçu, Piratini and Arroio do Padre. The presence of viral RNA was identified only in adult bee samples. In a third study, the occurrence of ABPV, BQCV, CBPV, DWV, IAPV and SBV with multiplex RT-PCR and *Nosema ceranae* and *Nosema apis* with multiplex PCR were determined in municipalities of Rio Grande do Sul (RS) and Santa Catarina (SC). BQCV was detected in 36% (38/105) of apiaries in the state of RS, ABPV in 3% (3/105) and DWV in 1% (1/105). In the state of SC, BQCV was identified in 8.5% (5/59) of the samples and DWV in 1.7% (1/59). *Nosema ceranae* DNA was identified in 59% (59/100) and 23% (23/100) associated with BQCV. Thus, the results show the high occurrence of BQCV and *Nosema ceranae* in apiaries in southern Brazil, and the presence of ABPV and DWV. This study is expected to contribute to the epidemiology of bee viral diseases, assisting in the diagnosis and the search for prevention and control measures.

Keywords: *africanized bee*; multiplex RT-PCR; *black queen cell virus*; *acute bee paralysis virus*; *Nosema* spp.