UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM

GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR

INVESTIGAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS MOLECULARES E AMPLITUDE DE HOSPEDEIROS DE VÍRUS QUE INFECTAM ABELHAS E OUTROS INSETOS

JOEL AUGUSTO MOURA PORTO

ILHÉUS – BAHIA – BRASIL
2023

JOEL AUGUSTO MOURA PORTO

INVESTIGAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS MOLECULARES E AMPLITUDE DE HOSPEDEIROS DE VÍRUS QUE INFECTAM ABELHAS E OUTROS INSETOS

Dissertação de mestrado apresentada à Universidade Estadual de Santa Cruz como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Genética e Biologia Molecular.

Área de Concentração: Genética Molecular e de Microrganismos.

Orientador: Prof. Dr. Eric Roberto Guimarães Rocha Aguiar

ILHÉUS – BAHIA – BRASIL
2023

JOEL AUGUSTO MOURA PORTO

INVESTIGAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS MOLECULARES E AMPLITUDE DE HOSPEDEIROS DE VÍRUS QUE INFECTAM ABELHAS E OUTROS INSETOS

Dissertação de mestrado apresentada à Universidade Estadual de Santa Cruz como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Genética e Biologia Molecular.

Aprovada em 28 de fevereiro de 2023.

Banca Examinadora

Orientador Dr. Eric Roberto Guimarães Rocha Aguiar
Doutor, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil
Universidade Estadual de Santa Cruz

Álvaro Gil Araújo Ferreira
Doutor, University of Cambridge
Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) – Minas Gerais

Bergmann Morais Ribeiro
Doutor, Imperial College da Universidade de Londres, Reino Unido
Universidade de Brasília

Marco Antonio Costa
Doutor, Universidade Federal de São Carlos, Brasil
Universidade Estadual de Santa Cruz

P583 Porto, Joel Augusto Moura.
Investigação das características moleculares e amplitude de hospedeiros de vírus que infectam abelhas e outros insetos / Joel Augusto Moura Porto. – Ilhéus, BA: UESC, 2023.
96f. : il.

Orientador: Eric Roberto Guimarães R. Aguiar.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Santa Cruz. Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular.
Inclui referências.

1. Abelhas. 2. Vírus. 3. Insetos. 4. Vírus de insetos. I. Título.

CDD 595.977

A quem possa interessar.

“A abelha fazendo mel
vale o tempo que não voou.”

Beto Guedes e Ronaldo Bastos,
em “Amor de Índio”

AGRADECIMENTOS

A Deus, Inteligência Suprema do Universo.

Aos meus pais, por serem o farol da minha vida.

Ao Programa de Pós-graduação de Genética e Biologia Molecular da UESC.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Eric Aguiar, pela orientação desde antes do mestrado, referência para todos nós seus orientandos.

A todas e todos os integrantes do BioVir Lab, Laboratório de Bioinformática de Vírus, do qual eu faço parte.

À banca examinadora desta dissertação que gentilmente aceitou ao convite para a defesa.

A Fabrícia e a Mara, da secretaria da pós-graduação, pelo apoio sempre que necessário.

A todas e todos os meus colegas do Mestrado em Genética e Biologia Molecular pelo companheirismo e apoio nos estudos nas disciplinas.

A Dalliane Soares e Gabriel Carvalho pela colaboração nesta pesquisa.

Ao meu noivo, por estar sempre ao meu lado.

À minha família e amigos pelo apoio em todos os meus projetos, especialmente neste mestrado.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO11

2 OBJETIVOS15

2.1 GERAIS15

2.1 ESPECÍFICOS15

3 REVISÃO DE LITERATURA15

3.1 AS ABELHAS15

3.2 DIVERSIDADE DAS ABELHAS PELO MUNDO17

3.3 IMPORTÂNCIA ECOLÓGICA DAS ABELHAS18

3.4 O DISTÚRBIO DO COLAPSO DA COLÔNIA19

3.5 VÍRUS23

3.6 PRINCIPAIS VÍRUS DE ABELHAS23

3.6.1 CBPV23

3.6.2 DWV25

3.6.3 ABPV26

3.6.4 BQCV26

3.6.5 SBV27

3.7 VETORES E POSSÍVEIS VETORES DE VÍRUS DE ABELHAS27

3.7.1 Ácaros do Gênero *Varroa*28

3.7.2 O Ácaro *Acarapis woodi*29

3.7.3 Microsporídeos do Gênero *Nosema* (*ceranae* e *apis*)31

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS89

6 REFERÊNCIAS90

PORTO, Joel A. M. Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus – Bahia, fevereiro de 2023. **Investigação das Características Moleculares e Amplitude de Hospedeiros de Vírus que Infectam Abelhas e Outros Insetos.** Orientador: Dr. Eric Roberto Guimarães Rocha Aguiar.

RESUMO

A polinização é essencial para a preservação do equilíbrio ecológico e é a base da produção agrícola. Neste contexto, as abelhas desempenham um papel relevante na polinização das angiospermas e são a forma de polinizador mais comum em muitos habitats. Infelizmente, as abelhas e outros polinizadores têm sido afetados atualmente por muitas espécies virais que desempenham um papel importante no Distúrbio do Colapso das Colônias, causando infecções introduzidas principalmente por vetores do gênero Varroa. Portanto, este estudo fez uma análise da literatura em busca de trabalhos relacionados a infecções virais em abelhas e outros insetos, características moleculares e gama de hospedeiros. Observamos um crescimento significativo no número de artigos referentes aos vírus das abelhas nos últimos 20 anos, especificamente DWV (*Deformed wing virus*), BQCV (*Black queen cell virus*), ABPV (*Acute bee paralysis virus*) e IAPV (*Isreaeli Acute Paralysis Virus*), associado ao vetor *V. destructor* nas espécies *Apis mellifera*, *A. cerana* e *Bombus terrestris*. Entre os países que mais publicam nessa área, destacam-se Estados Unidos, China, Reino Unido, Suíça, França e Alemanha. Vale ressaltar que o Brasil representa menos de 2,47% das publicações, apesar de sua reconhecida biodiversidade. Em relação à diversidade de vírus de abelhas, pelo menos 50% das espécies estão classificadas dentro da ordem *Picornavirales*, com maior abundância para as famílias *Dicistroviridae* e *Iflaviridae*, com 23,9% e 18,3%, respectivamente. Cerca de 82% das espécies virais têm um genoma de RNA de fita simples de sentido positivo, seguido por RNA de fita simples de sentido negativo, 8% e apenas 2% representam vírus de RNA de fita dupla. Os vírus de DNA totalizam 6,8%, sendo 2,7% de fita simples e 4,1% de fita dupla. Cerca de 29% dos vírus descritos também infectam outros insetos. Esses vírus de interface (abelhas e de outros insetos) também são os mais citados na literatura. No geral, apesar da quantidade considerável de dados disponíveis, notamos uma clara sub-representação dos dados da América do Sul, o que destaca a necessidade de mais estudos para revelar a real diversidade de vírus, possíveis vetores e seus hospedeiros.

Palavras-chave: vírus, abelhas, insetos.

PORTO, Joel A. M. Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus – Bahia, fevereiro de 2023. **Investigation of Molecular Characteristics and Amplitude of Hosts of Viruses Infecting Bees and Other Insects**. Advisor: Dr. Eric Roberto Guimarães Rocha Aguiar.

ABSTRACT

Pollination is essential for preserving the ecological balance and is the basis of agricultural production. In this context, bees play a relevant role in the pollination of angiosperms and are the most common form of pollinator in many habitats. Unfortunately, bees and other pollinators have been currently affected by many viral species that play an important role in the Colony Collapse Disorder, causing infections introduced mainly by vectors of the genus Varroa. Therefore, this study analyzed the literature in seeking works related to viral infections in bees and other insects, molecular characteristics and host range. We observed a significant growth in the number of articles referring to bee viruses in the last 20 years, specifically DWV (*Deformed wing virus*), BQCV (*Black queen cell virus*), ABPV (*Acute bee paralysis virus*) and IAPV (*Isreaeli acute paralysis virus*), associated with the vector *V. destructor* in the species *Apis mellifera*, *A. cerana* and *Bombus terrestris*. Among the countries that publish the most in this area, United States, China, United Kingdom, Switzerland, France and Germany are highlighted. It is worth mentioning that Brazil represents less than 2.47% of publications, despite its well-known biodiversity. Regarding diversity of bee-infecting viruses, at least 50% of the species are classified within the order *Picornavirales*, with greater abundance for the families *Dicistroviridae* and *Iflaviridae*, with 23.9% and 18.3%, respectively. About 82% of viral species have a positive-sense single-stranded RNA genome, followed by negative-sense single-stranded RNA, 8%, and only 2% represent double-stranded RNA viruses. DNA viruses totalize 6.8%, of which 2.7% are single-stranded and 4.1% are double-stranded. About 29% of the described viruses also infect other insects. These interface viruses (bees and other insects) are also the most cited in the literature. Overall, although considerable amount of data available, we noticed a clear underrepresentation of data from South America, which highlights the need for further studies to reveal the real diversity of viruses, possible vectors and their hosts.

Keywords: viruses, bees, insects.

1 INTRODUÇÃO

"(...)
Existem três Moiras, irmãs nascidas,
Três virgens, glorificadas pelas asas[1] rápidas.
Salpicadas de branca farinha[2] desde a cabeça,
Habitam as colmeias sob a fenda do Parnaso;
São mestres sem as profecias, a que, além de meus bois,
Me dedico desde criança. E meu pai não se opunha.
É dali que elas, voando outra vez para outro lugar,
alimentam-se de cera e fazem se cumprir cada uma das coisas.
Quando se lançam alimentadas de fresco mel,
De boa vontade querem declarar a verdade.
Mas quando são privadas do suave alimento dos deuses,
Tentam guiar para fora do caminho.[3]
(...)[4]"

Autor desconhecido

A mitologia grega, em toda a sua tentativa de explicar a Natureza, nos banqueteia com o Hino de Homero a Hermes[5]. Nele, são descritas três donzelas-abelhas que possuem o poder de adivinhação. De acordo com um mito grego, o

---

[1] Essas três *Moîrai* são as chamadas mulheres-abelhas. Encontrada em Kamiros (Ilha de Rodes), uma placa de ouro representa uma mulher alada com um abdômen de abelha.

[2] Farinha branca aqui representa o pólen.

[3] Isto é, as abelhas não fazem outra coisa senão mentir.

[4] Excerto retirado do Hino Homérico a Hermes, apresentado na tese de doutorado de Massi (2006). Autoria incerta, mas atribuída a Homero por alguns historiadores (WEST, 2003).

[5] Hermes é um deus da mitologia grega. Ele é considerado o arauto dos deuses, assim como o protetor dos arautos humanos, viajantes, ladrões, comerciantes e oradores.

mel foi descoberto por uma ninfa de nome Melissa ("Abelha"); e este mel foi oferecido aos deuses gregos desde os tempos micênicos. As abelhas, por sua vez, também foram associadas ao oráculo de Delfos, e a profetisa, às vezes, era também chamada de abelha (SCHEINBERG et al., 1979). De acordo com a mitologia, oferecia-se mel a essas três ninfas quando alguém precisasse se consultar com elas (ROSEN et al., 2009).

Desde os tempos antigos até os tempos atuais, em Platão e Aristóteles, por exemplo, é utilizada a imagem de comunidades de abelhas. Ela também se faz presente em Shakespeare e Erasmus. Alguns teóricos políticos e sociais, como Bernard Mandeville e Karl Marx, usaram as abelhas como modelo para a sociedade humana (BEE et al., 2004).

No folclore britânico, conta-se que as abelhas eram informadas de eventos importantes na casa de seus “proprietários” (como nascimentos, casamentos, chegadas e partidas de membros da casa), em um costume que se chamava de "Contando às abelhas". Caso o costume de se contar às abelhas fosse omitido ou esquecido, e as abelhas não fossem "colocadas em luto" no caso de morte na casa, por exemplo, acreditava-se que seria aplicada uma penalidade. Neste caso, as abelhas sairiam de sua colmeia e interromperiam a sua produção de mel, podendo, até mesmo, chegar à morte por conta da notícia dada a elas (DRAKE et al., 1901).

As abelhas estão entre os polinizadores mais importantes das angiospermas, desempenhando um papel crucial na manutenção da biodiversidade dos ecossistemas e na prestação de serviços ecossistêmicos essenciais. No entanto, o declínio global das populações de abelhas nos últimos anos levantou preocupações sobre os impactos na segurança alimentar, agricultura e biodiversidade. Além de fatores ambientais, como perda de habitat, uso de pesticidas e mudanças climáticas, a saúde das abelhas também é ameaçada por várias doenças infecciosas, incluindo vírus (SÁNCHEZ-BAYO et al., 2019).

As abelhas são suscetíveis a uma ampla gama de vírus, alguns dos quais estão associados a sintomas graves e altas taxas de mortalidade. As infecções por vírus podem afetar vários aspectos da biologia das abelhas, incluindo comportamento, reprodução e resposta imune. Além disso, os vírus podem interagir com outros estressores, como deficiências nutricionais e infestações

parasitárias, para exacerbar seus efeitos negativos na saúde das abelhas (FORSGREN et al., 2010).

Apesar da crescente conscientização sobre a importância das infecções por vírus na saúde das abelhas, a diversidade, distribuição e impacto dos vírus das abelhas ainda são pouco compreendidos. Em particular, os mecanismos moleculares subjacentes às interações vírus-hospedeiro e patogênese em abelhas permanecem amplamente desconhecidos, limitando o desenvolvimento de estratégias eficazes para o manejo e controle de doenças (PENG et al., 2019).

O problema conhecido como Distúrbio do Colapso das Colônias (DCC) tem prejudicado as colônias de abelhas em todo o mundo recentemente. As abelhas operárias desaparecem repentina e misteriosamente da colmeia, o que leva ao eventual colapso de toda a colônia, como marca registrada da condição. A pesquisa indicou uma interação complicada de fatores, incluindo infecções por vírus, exposição a pesticidas e outros estressores ambientais, nutrição inadequada e fatores genéticos, mesmo que as causas precisas do DCC sejam desconhecidas. O vírus da paralisia aguda israelense (IAPV), o vírus da asa deformada (DWV) e o vírus Black Queen Cell (BQCV) são apenas alguns dos vírus que foram associados ao DCC. As espécies Nosema e os ácaros *Varroa destructor* são outros parasitas que foram relacionadas ao DCC (CHEN et al., 2014; GOULSON et al., 2015; VANENGELSDORP et al., 2016).

Não é difícil vislumbrar que um cenário sem abelhas é, sem dúvidas, um caos apocalíptico, não somente a nível de equilíbrio ecossistêmico, mas, sobretudo, na agricultura. As abelhas são responsáveis pela polinização de 42% das 57 espécies vegetais mais cultivadas no mundo. No Brasil, a família *Apidae* abriga um grande número de espécies que é responsável por mais de 60% da polinização, pelo menos, em se tratando de agricultura.

Onde as populações de abelhas diminuem, há também um declínio nas populações de plantas (POTTS et al., 2010). Na agricultura, algumas plantas dependem completamente das abelhas para polinizá-las e produzir frutas, enquanto outras plantas dependem apenas das abelhas para aumentar sua capacidade de produzir frutas melhores e mais saudáveis.

As abelhas também ajudam as plantas a reduzir o tempo entre a floração e a frutificação, o que reduz o risco de fatores prejudiciais, como pragas, doenças, produtos químicos, clima, etc. Plantas especializadas que requerem

abelhas estarão em maior risco se as abelhas diminuírem, enquanto plantas generalistas que usam outros animais como polinizadores (ou polinização pelo vento ou autopolinização) sofrerão menos porque têm outras fontes de polinização (KLUSER et al., 2010).

As abelhas realizam algum nível de polinização de quase 75% de todas as espécies de plantas diretamente usadas para alimentação humana em todo o mundo. A perda catastrófica de abelhas pode ter um impacto significativo. Fazendas que possuem sistemas intensivos – sobretudo no Brasil – serão as mais impactadas em comparação com sistemas não intensivos (pequenas hortas locais que dependem de abelhas selvagens) por causa da dependência de abelhas (POTTS et al., 2010).

Atravessando essa realidade, os vírus têm-se mostrado como grandes desequilibradores de colônias, seja a nível de infecção de operárias, seja a nível de rainhas, com ou sem vetores aparentes. O espalhamento viral em ecossistemas, consequência imediata da facilidade de propagação quase que inata aos vírus, respinga não somente em colmeias, mas também em populações de outros polinizadores. A celeridade com a qual essa pulverização viral ocorre é uma consequência direta da eficácia dos vetores que carregam tais vírus. O ácaro *Varroa destructor*, anteriormente citado, é capaz de vetorizar vários vírus de abelhas, como ABPV, KBV, IAPV, BQCV, além de, sobretudo, o DWV[6], um dos maiores causadores de Distúrbio de Colapso de Colônias de abelhas. A lista de siglas encontra-se na **Tabela 1**, parte integrante do manuscrito deste trabalho.

Nesse sentido, conhecer as possíveis diferenças genético-estruturais entre os vírus que infectam somente abelhas e outros vírus que infectam mais de um tipo de polinizador é imprescindível para o início de uma mitigação significativa do atual cenário de acelerado crescimento de infecções virais de abelhas e demais polinizadores.

---

[6] Optamos manter a definição das siglas desses vírus *a posteriori*, em uma seção apropriada deste estudo.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Este estudo tem como objetivo geral apresentar o perfil das publicações na literatura sobre infecções virais em abelhas e em outros insetos para caracterizar o perfil dos vírus que os infectam (taxonomia, tamanho da partícula viral, tamanho e tipo do genoma) e elencar quais vírus são exclusivos de abelhas e os que infectam abelhas e outros insetos.

2.1 ESPECÍFICOS

Este estudo tem como objetivos específicos:

- Realizar um levantamento bibliográfico de vírus que infectam abelhas e vírus que infectam abelhas e outros insetos;
- Classificar os vírus taxonomicamente, pelo tamanho da partícula viral e pelo tamanho e tipo do genoma dos vírus pesquisados;
- Esboçar um perfil de publicações na literatura de vírus de abelhas e de outros insetos nos últimos anos;
- Listar quais características apresentam os vírus que infectam somente abelhas e os que infectam abelhas e também outros insetos.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 AS ABELHAS

As abelhas são insetos alados e voadores pertencentes à ordem Hymenoptera e à superfamília Apoidea. Existem mais de 20.000 espécies de abelhas encontradas em todas as partes do mundo, exceto na Antártida (MICHENER, 2000). Atualmente, elas são consideradas como pertencentes ao clado Anthophila. São classificadas em sete famílias biológicas reconhecidas e apresentam mais de 16.000 espécies diferentes (DANFORTH, 2006).

A maioria das espécies (>90%) são solitárias, incluindo abelhas do gênero Osmia, do gênero Xylocopa, do gênero Megachile e algumas espécies do gênero Halictidae de coloração azul ou esverdeada. As abelhas desempenham um papel crucial na polinização das plantas, tornando-as essenciais para a sobrevivência de muitos ecossistemas e da indústria agrícola (OLLERTON et al., 2011). Algumas espécies, como abelhas melíferas, mamangabas e as Halictidae, vivem socialmente em colônias (MICHENER, 2000).

Dentro de sua colônia, as abelhas têm uma hierarquia de papéis que contribui para sua complexa estrutura social. Única fêmea reprodutiva da colônia, a abelha rainha é a responsável pela produção de ovos. As abelhas operárias, exclusivamente femininas, cuidam dos filhotes, coletam alimentos e protegem a colônia. A finalidade das abelhas machos, conhecidas como zangões, é somente acasalar com a abelha rainha (WINSTON, 1991).

As abelhas coletam néctar e pólen das flores com a ajuda de suas línguas longas e peludas e estruturas únicas em suas pernas para se alimentar de tais substâncias. O pólen é transferido à medida que se movem de flor em flor, permitindo a fertilização e o desenvolvimento de sementes e frutos (OLLERTON et al., 2011).

As abelhas podem detectar a presença de flores desejadas por meio de receptores florais UV (ultravioleta), odores florais, campos eletromagnéticos e até padrões de flores nas folhas. Uma abelha utiliza a qualidade do néctar e o sabor do pólen após o pouso para decidir se continua ou não visitando as mesmas flores (DAFNI et al., 2012; SUTTONA et al., 2016; MUTH et al., 2016).

A maioria das abelhas são polilécticas (generalistas), o que significa que recolhem pólen de uma variedade de plantas com flores. No entanto, alguns são oligolécticas (especialistas), o que significa que eles coletam apenas pólen de uma ou de um pequeno número de espécies ou gêneros de plantas intimamente relacionadas (WASER, 2006).

Espécies de abelhas que coletam óleos de flores em vez de pólen e abelhas de orquídeas machos que coletam produtos químicos perfumados de orquídeas são outros exemplos de polinizadores especializados (um dos poucos casos em que as abelhas machos são polinizadores eficazes). As abelhas podem detectar a presença de flores desejadas por padrões de flores UV, odores florais, campos eletromagnéticos e até padrões de flores nas folhas. Uma abelha

utiliza a qualidade do néctar e o sabor do pólen após o pouso para decidir se continua ou não visitando as mesmas flores (DAFNI et al., 2012; SUTTONA et al., 2016; MUTH et al., 2016).

Muitos ecossistemas e o setor agrícola dependem da saúde das populações de abelhas. De fato, de acordo com Klein et al. (2007), a polinização das abelhas é responsável pela produção de um terço dos alimentos que consumimos. Isso inclui culturas usadas para alimentar o gado, bem como frutas, vegetais, nozes e sementes. As abelhas também são necessárias para a fabricação de itens como mel, cera e outros produtos (MICHENER, 2000).

3.2 DIVERSIDADE DAS ABELHAS PELO MUNDO

A variedade de abelhas é especialmente grande em áreas tropicais como o sudeste da Ásia e a floresta amazônica. Existem muitas espécies diferentes de abelhas nessas áreas porque as abelhas se adaptaram para se especializar na polinização de variedades específicas de flores. Existem mais de 1.000 tipos diferentes de abelhas sem ferrão na floresta amazônica (ROUBIK, 2012). Da mesma maneira, uma grande variedade de espécies de abelhas pode ser encontrada em todo o Sudeste Asiático, incluindo a grande abelha *Apis dorsata*, que nidificam suas colmeias em galhos de árvores (RADLOFF et al., 2010).

Embora um pouco menos diversificada em locais temperados como Europa e América do Norte, a diversidade de abelhas é relativamente significativa. As espécies de abelhas mais conhecidas nestas áreas são as abelhas melíferas *Apis mellifera* e os zangões *Bombus* spp. No entanto, mesmo nessas áreas, existem inúmeras outras espécies de abelhas menos conhecidas. Por exemplo, no oeste da América do Norte, a abelha *Nomia melanderi* é crucial para a polinização das plantações de alfafa (CANE & TEPEDINO, 2017).

Devido às difíceis circunstâncias ambientais, a diversidade de abelhas é tipicamente menor em locais áridos, como os desertos da África e da Austrália. No entanto, existem espécies de abelhas especializadas que se desenvolveram para viver nesses ambientes mesmo nessas áreas. Para sobreviver nos ambientes áridos da África e da América do Sul, a abelha africanizada *Apis*

mellifera scutellata evoluiu para ser extremamente agressiva e resistente (SCHNEIDER & MCNALLY, 1993).

3.3 IMPORTÂNCIA ECOLÓGICA DAS ABELHAS

Sendo o polinizador mais conhecido e compreendido, as abelhas têm sido usadas como o principal exemplo do declínio dos polinizadores. Elas são essenciais na polinização de culturas agrícolas e plantas silvestres e são um dos principais insetos que realizam essa tarefa. Há estimativas de que um terço do suprimento da alimentação humana dependa diretamente do trabalho de polinização realizado por insetos, pássaros e morcegos, a maioria dos quais é realizada por abelhas, sejam selvagens, sejam domesticadas (CONNOR et al., 2015). Dentre as espécies de abelhas, a *Apis mellifera* foi a que mais foi estudada e, nos Estados Unidos, houve uma perda de 59% das colônias de 1947 a 2005 (POTTS et al., 2010).

Durante a metade do século XX, houve um declínio geral na biodiversidade de espécies de abelhas selvagens e outros polinizadores, fenômeno possivelmente associado ao uso de pesticidas, a uma diminuição geral no número de flores silvestres e também ao estresse causado pelo aumento de parasitas e doenças. A mudança climática provavelmente exacerba o problema (GOULSON et al., 2015).

A diminuição nas populações de abelhas foi atribuída a pesticidas, plantações geneticamente modificadas, parasitas e doenças que foram introduzidas. Houve um foco nos efeitos dos neonicotinoides nas populações de abelhas. Os inseticidas neonicotinoides têm sido usados devido à sua baixa toxicidade em mamíferos, especificidade do alvo, baixas taxas de aplicação e amplo espectro de atividade. No entanto, os inseticidas são capazes de se espalhar por toda a planta, que inclui o pólen e o néctar. Devido a isso, foi demonstrado que afeta o sistema nervoso e as relações de colônia nas populações de abelhas (FAIRBROTHER et al., 2014).

A razão para a diferença de densidade é o fato de que em terras abertas as borboletas estariam expostas à dessecação e predação. Essas regiões abertas são causadas pela destruição de habitat, como extração de madeira,

pastagem para gado e coleta de lenha. Devido a esta destruição, a diversidade de espécies de borboletas pode diminuir e sabe-se que existe uma correlação entre a diversidade de borboletas e a diversidade de plantas (HUMPDEN et al., 2010).

3.4 O DISTÚRBIO DO COLAPSO DA COLÔNIA

As populações de abelhas têm diminuído em todo o mundo como resultado da perda de hábitat, uso de pesticidas, mudanças climáticas e doenças (IPBES, 2016). O Distúrbio do Colapso das Colônias (DCC) é uma condição que causou o colapso de colônias inteiras em alguns casos. Embora as origens exatas do DCC sejam desconhecidas, acredita-se que condições como exposição a pesticidas, doenças e estresse possam ser fatores contribuintes (VANENGELSDORP et al., 2009).

O Distúrbio do Colapso da Colônia (DCC) é um fenômeno anormal que ocorre quando a maioria das abelhas operárias em uma colônia de abelhas melíferas desaparece, deixando para trás uma rainha, bastante comida e algumas abelhas enfermeiras para cuidar das abelhas imaturas restantes. Embora tais desaparecimentos tenham ocorrido esporadicamente ao longo da história da apicultura e tenham sido conhecidos por vários nomes (incluindo doença do desaparecimento, diminuição da primavera, doença de maio, colapso do outono e doença do declínio do outono), a síndrome foi renomeada como Distúrbio do Colapso das Colônias no final de 2006 em conjunto com um aumento drástico nos relatos de desaparecimentos de colônias de abelhas melíferas (*Apis mellifera*), sobretudo na América do Norte (ENGELSDORP et al., 2006).

Os apicultores na maioria dos países europeus observaram um fenômeno semelhante desde 1998, especialmente no Sul e na Europa Ocidental; a Assembleia da Irlanda do Norte recebeu relatórios de um declínio superior a 50%. O fenômeno se tornou mais global quando afetou alguns países asiáticos e africanos também (McCARTHY et al., 2011).

A Desordem do Colapso da Colônia causa perdas econômicas significativas porque muitas safras agrícolas em todo o mundo dependem da

polinização pelas abelhas ocidentais. De acordo com o Departamento de Agricultura e Proteção ao Consumidor da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), o valor total das safras globais polinizadas por abelhas foi estimado em quase US$ 200 bilhões em 2005 (WINES et al., 2013).

Várias causas possíveis para o DCC foram propostas, mas nenhuma proposta única obteve ampla aceitação entre a comunidade científica. As causas sugeridas incluem (CEPERO et al., 2014):

- pesticidas;
- infecções por vários patógenos, especialmente aqueles transmitidos pelos ácaros *Varroa* e *Acarapis*;
- desnutrição;
- fatores genéticos;
- imunodeficiências;
- perda de hábitat;
- mudança nas práticas de apicultura;
- possível combinação de fatores.

Uma grande quantidade de especulações recaiu sobre as contribuições da família de pesticidas neonicotinoides[7] para o DCC. Entretanto, muitos apiários em colapso não mostraram nenhum traço de neonicotinoides (CEPERO et al., 2014).

Para se evitarem eventuais confusões, é importante destacar que DCC não é o mesmo que declínio de colônias, o qual pode ser causado por vários problemas, como a saúde da rainha, infestação do ácaro *Varroa*, nutrição e várias doenças. Em colônias colapsadas, suspeita-se de DCC quando se observa que poucas abelhas adultas estão fisicamente presentes na colônia. Ao contrário de outras causas agudas de morte, como exposição a pesticidas, poucas abelhas mortas ou mesmo nenhuma são encontradas dentro ou perto da

---

[7] Os neonicotinoides são uma classe de inseticidas neuroativos quimicamente semelhantes à nicotina. A família dos neonicotinóides inclui acetamiprida, clotianidina, imidacloprida, nitenpirame, nitiazina, tiacloprida e tiametoxame. O imidacloprida é o inseticida mais usado no mundo. Comparados aos inseticidas organofosforados e carbamatos, os neonicotinóides causam menos toxicidade em pássaros e mamíferos do que os insetos. Alguns produtos de degradação também são tóxicos para os insetos (TOMIZAWA, 2005).

colmeia, como se a colmeia tivesse simplesmente sido abandonada (TARVER et al., 2005).

Uma colônia que entra em colapso devido ao DCC é geralmente caracterizada por todas estas condições ocorrendo simultaneamente:

- Presença de progênies cobertas em colônias abandonadas. As abelhas normalmente não abandonam uma colmeia até que todas as progênies cobertas tenham eclodido;
- Presença de reservas de alimentos, mel e pólen de abelha:
    - que outras abelhas não roubam imediatamente;
    - com ataques significativamente retardados por pragas da colmeia, como traças da cera e pequenos besouros da colmeia.
- Presença da abelha rainha. Se a rainha não estiver presente, a colmeia provavelmente morreu porque não tinha rainha, o que, na verdade, não é considerado DCC.

Os sintomas precursores que podem surgir antes do colapso final da colônia incluem:

- Incapacidade de manter a ninhada atual devido à baixa força de trabalho;
- A colônia inclui principalmente abelhas adultas jovens.

3.4.1 Pesticidas e o Distúrbio do Colapso das Colônias

Além do Distúrbio do Colapso das Colônias, as perdas fora dos Estados Unidos foram atribuídas a causas, incluindo produtos à base de pesticidas, cuja formulação apresenta majoritariamente neonicotinoides, como Thiamethoxam, Clothianidin e Imidacloprid. (STORKSTAD et al., 2012).

A partir de 2013, a União Europeia restringiu alguns pesticidas para impedir que as populações de abelhas diminuíssem ainda mais. Em 2014, o relatório do Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas alertou que as abelhas enfrentavam maior risco de extinção por causa do aquecimento global. Em 2018, a União Europeia decidiu proibir o uso em campo dos três principais neonicotinoides; eles permanecem permitidos no uso veterinário, de estufa e de transporte de veículos (CARRINGTON et al., 2018).

Os agricultores, por consequência, se concentraram em soluções alternativas para mitigar esses problemas. Ao cultivar plantas nativas, eles

fornecem alimento para abelha polinizadoras também nativas como *Lasioglossum vierecki* e *L. leucozonium*, o que ocasiona uma menor dependência das populações de abelhas melíferas (KUEHN et al., 2015; ADAMSON et al., 2011).

3.4.2 *Varroa destructor* e o Distúrbio de Colapso de Colônias

No início do século 20, os ácaros Varroa foram descobertos em colônias de abelhas do Sudeste Asiático (Rosenkranz et al., 2010). Até as décadas de 1960 e 1970, não foi notificada a presença desses ácaros fora de seu hábitat natural. Tal espalhamento possivelmente ocorreu como resultado do comércio de colônias de abelhas e equipamentos em escala global (ROSENKRANZ et al., 2010; GUZMÁN-NOVOA et al., 2010).

Em 1983, a Holanda relatou o primeiro caso conhecido de ácaros Varroa na Europa (ROSENKRANZ et al., 2010). Os ácaros se espalharam rapidamente de lá para toda a Europa e depois para outros continentes, incluindo a América do Norte.

O cenário das abelhas mudou significativamente para pior após a introdução dos ácaros Varroa. Em colônias manejadas de abelhas, os ácaros Varroa têm sido associados a maiores perdas de colônias. Colônias infestadas podem ter vidas mais curtas, ter menos descendentes e são mais vulneráveis a doenças bacterianas e virais (VANENGELSDORP et al., 2010).

As infestações de ácaros Varroa também têm um impacto negativo nas populações de abelhas selvagens, especialmente abelhas e outras espécies de abelhas nativas. Colônias selvagens podem receber menos cuidados e administração do que colônias manejadas, tornando-as mais propensas a doenças relacionadas a ácaros (GRIXTI et al., 2009). Nesse sentido, se observou nos anos 1990-2010 que as abelhas selvagens tiveram uma diminuição drástica em suas populações, muito embora seus números tenham se recuperado desde então. Por conta da urbanização, além do uso sistemático de pesticidas, a presença de ácaros traqueais, ácaros do gênero *Varroa* e o fechamento de empresas de apicultura, o número de colônias mantidas pelos apicultores diminuiu ligeiramente (RANGEL et al., 2016).

3.5 VÍRUS

Os vírus são pequenos agentes infecciosos que podem se replicar apenas dentro das células vivas de um organismo. Eles são considerados nem entidades vivas nem não vivas, mas sim algo intermediário devido à sua estrutura e comportamento únicos. Apesar de seu tamanho majoritariamente pequeno e estrutura simples, os vírus podem causar danos significativos a uma ampla gama de organismos, incluindo humanos, animais, plantas e até bactérias (MURPHY et al., 2013).

Os vírus são compostos de material genético, DNA ou RNA, envoltos por uma capa de proteína chamada capsídeo. Alguns vírus também possuem um envelope externo composto de lipídios, o que lhes permite infectar as células hospedeiras. O material genético de um vírus contém as instruções para se replicar e, uma vez dentro da célula hospedeira, o vírus usa o maquinário da célula para fazer cópias do seu genoma e produzir suas proteínas. Esse processo pode levar à destruição da célula hospedeira, o que pode trazer sérias consequências para o organismo como um todo (KNIPE et al., 2013).

Assim como outros organismos celulares, as abelhas são suscetíveis a infecções por vários patógenos, incluindo vírus. Os vírus das abelhas tornaram-se uma grande preocupação para os apicultores e pesquisadores em todo o mundo devido ao seu impacto negativo na saúde das abelhas e na produtividade das colônias.

Neste tópico, apresentamos alguns dos principais vírus de abelhas conhecidos na literatura.

3.6 PRINCIPAIS VÍRUS DE ABELHAS

3.6.1 CBPV

O CBPV, *Chronic Bee Paralysis Virus* (Vírus da Paralisia Crônica das Abelhas, em português), afeta, na grande maioria dos casos, as abelhas da espécie *Apis mellifera* na fase adulta, causando uma paralisia crônica que facilmente se espalha para outros membros de uma colônia. O quadro de infecção das abelhas que são infectadas com o CBPV mostra-se após 5 dias do

contágio. Somente alguns dias depois, as abelhas infectadas morrem (BAILEY et al., 1983).

É fato que a infecção crônica pelo vírus da paralisia das abelhas é um elemento que pode contribuir significativamente ou simplesmente ser a causa raiz do colapso repentino das colônias de abelhas (OLIVIER et al., 2008).

Muito embora o CBPV infecte principalmente abelhas adultas, o vírus também pode infectar abelhas em estágios iniciais de desenvolvimento, apesar de as abelhas em desenvolvimento normalmente também apresentarem cargas virais significativamente mais baixas em comparação com as adultas. Tendo isso em vista, a morte de abelhas em desenvolvimento ou mesmo prematuras parece ter muito pouca ou nenhuma relação com infecção pelo CBPV (RIBIÈRE et al., 2010).

A quantidade de partículas virais que as abelhas infectadas abrigam tem ordem de grandeza por volta de milhões. Metade dessa quantidade concentra-se na região da cabeça, motivo pelo qual existem danos no sistema nervoso das abelhas (atividade neurotrópica) (RIBIÈRE et al., 2010).

A literatura de vírus de abelhas tem mostrado que as partículas virais de CBPV se concentram principalmente em dois centros do cérebro para se replicarem após infectar o hospedeiro. O primeiro centro de replicação são os corpos dos cogumelos[8], que desempenham um papel no processamento sensorial, memória, aprendizado e controle motor, e a segunda replicação centraliza o corpo central, o centro do cérebro do inseto que controla principalmente a locomoção, o comportamento, a orientação corporal, e excitação (RIBIÈRE et al., 2010).

O vírus da paralisia crônica das abelhas é transmitido às abelhas através de um parasita onipresente comum nas colmeias, os ácaros do gênero *Varroa* (*Varroa jacobsoni* sobretudo). Sabe-se que os ácaros *Varroa* abrigam muitos vírus para os quais as abelhas são suscetíveis e permissivas. Os ácaros parasitas se ligam externamente às abelhas e se alimentam da hemolinfa de seus hospedeiros. Essa troca de fluidos entre os ácaros parasitas e os hospedeiros permite que partículas de CBPV entrem nos sistemas de

---

[8] Os corpos dos cogumelos ou *corpora pedunculata* são um par de estruturas no cérebro de insetos, outros artrópodes e alguns anelídeos, como o *Platynereis dumerilii* (TOMER et al., 2010).

transferência de fluidos no corpo das abelhas. Atualmente, os mecanismos pelos quais o vírus da paralisia crônica das abelhas entra nas células das abelhas são desconhecidos (RIBIÈRE et al., 2010).

3.6.2 DWV

O Vírus da Asa Deformada (DWV, sigla para *Deformed Wing Virus*) é um vírus de RNA, um dos 22 vírus conhecidos que afetam as abelhas. Embora infectando mais comumente a abelha *Apis mellifera*, ela também foi documentada em outras espécies de abelhas, como *Bombus terrestris*, indicando que pode ter uma especificidade maior do que o previsto anteriormente (GENERSCH et al., 2006).

O vírus foi isolado pela primeira vez a partir de uma amostra de abelhas sintomáticas do Japão no início dos anos 80 e atualmente é distribuído em todo o mundo. É encontrado também em cestas de pólen e abelhas criadas comercialmente. Seu principal vetor em *A. mellifera* é o ácaro *Varroa*. Seu nome é devido ao que geralmente é a deformidade mais óbvia que induz no desenvolvimento de uma pupa de abelha: as asas encolhidas e deformadas. Entretanto, outras deformidades de desenvolvimento estão frequentemente presentes. (GRAYSTOCK et al., 2013).

Suspeita-se que o vírus da asa deformada (DWV) cause as deformidades abdominais e da asa frequentemente encontradas em abelhas adultas em colônias infestadas por ácaros *Varroa*. Esses sintomas incluem apêndices danificados, particularmente asas grossas e inúteis, abdômen encurtado e arredondado, descoloração e paralisia das pernas e asas. As abelhas sintomáticas reduzem drasticamente a sua vida útil (em geral, menos de 48 horas) e geralmente são expulsas da colmeia (GUNN et al., 1999).

Os sintomas estão fortemente correlacionados com números elevados de DWV e com quantidades reduzidas de abelhas assintomáticas das mesmas colônias. Na ausência de ácaros, acredita-se que o vírus persista nas populações de abelhas como uma infecção oculta, transmitida oralmente entre adultos (abelhas enfermeiras[9]), uma vez que o vírus pode ser detectado nas

---

[9] Abelhas enfermeiras são aquelas que alimentam as larvas operárias com geleia de operária, que é secretada pelas glândulas que produzem geleia real.

secreções hipofaríngeas (geleia real) e alimentos de criação e verticalmente nos ovários da rainha e através do esperma zangão. O vírus pode se replicar no ácaro, mas isso não é certo (BRETTELL et al., 2017).

3.6.3 ABPV

O Vírus da Paralisia Aguda das Abelhas (*Acute Bee Paralysis Virus*) é considerado um agente infeccioso comum das abelhas. Pertence à família Dicistroviridae, assim como o vírus da paralisia aguda de Israel, o vírus da abelha da Caxemira e o vírus da célula negra da rainha. É frequentemente detectado em colônias aparentemente saudáveis. Este vírus aparentemente desempenha um papel nos casos de colapso repentino de colônias de abelhas infestadas com o ácaro parasita *V. destructor* (BAKONYI, 2002).

3.6.4 BQCV

O Vírus da Célula da Rainha Negra (BQCV, sigla para *Black Queen Cell Virus*, em inglês) é um vírus que infecta as abelhas, especificamente *Apis mellifera*, *Apis florea* e *Apis dorsata*. A infecção das duas últimas espécies é mais recente e pode ser atribuída à semelhança genética e proximidade geográfica. Trata-se de um dos vírus de abelha mais comuns (ZHANG et al., 2012).

O BQCV faz parte da ordem Picornavirales, que também são conhecidos como vírus do tipo picorna (*picorna-like*, em inglês) (BAKER et al., 2008). Famílias dentro da ordem Picornavirales incluem *Picornaviridae*, *Comoviridae*, *Dicistroviridae*, *Marnaviridae* e *Sequiviridae* (GALL et al., 2008). Destes, o BQCV pertence à família *Dicistroviridae*, o que significa que é um vírus que infecta artrópodes (GALL et al., 2008). Esta família contém doze vírus dentro do gênero *Cripavirus*, e outros nos gêneros *Aparavirus* e *Triatovirus* (BONNING et al., 2009).

O BQCV foi originalmente descrito em 1977, mas seu genoma não foi sequenciado até 2000. O BQCV pode ser encontrado atualmente mais

comumente na Austrália e em partes da África do Sul. O BQCV afeta visivelmente as pupas das abelhas rainhas, fazendo com que primeiro fiquem amarelas e depois pretas, e eventualmente morram. Essas pupas vêm de abelhas rainhas que parecem saudáveis e não apresentam sintomas de infecção por esse vírus, pois ele só se manifesta com sintomas visíveis nas larvas (LEAT et al., 2000).

Embora apenas as larvas sejam visivelmente afetadas por essa doença, os adultos também podem ser infectados, mas de forma assintomática. A transmissão ocorre por um parasita chamado *Nosema apis*, que vive nos intestinos das abelhas. O BQCV também pode ser transmitido de abelhas nutrizes para as larvas quando se alimentam e de colmeia para colmeia quando as abelhas viajam entre elas e quando abelhas rainhas infectadas são distribuídas para outras colmeias (LEAT et al., 2000).

Não há formas de tratamento disponíveis para tratar as abelhas infectadas com este vírus. Portanto, o saneamento é a melhor maneira de prevenir a propagação. As práticas de saneamento incluem a substituição do favo da colmeia e o reafiamento. *Requeening* significa simplesmente que a rainha da colmeia é substituída por uma nova e, no caso de colmeias infectadas, por uma rainha saudável (SZABO et al., 1982).

3.6.5 SBV

O vírus da cria ensacada (SBV, sigla para *Sacbrood Bee Virus*) causa uma infecção que afeta as larvas das abelhas. A transmissão ocorre por abelhas cuidando das larvas, outras abelhas entrando na colônia para roubar, abelhas entrando no ninho errado por uma fonte de flores, ou por meio de atividades dos apicultores (troca de pontes, importação de rebanhos etc.). Uma larva doente pode infectar até 3.000 larvas saudáveis. Bailey (1981) afirmou que o líquido em uma larva morta contendo 1 mg de vírus pode infectar todas as larvas de trabalhadoras de 1.000 abelhas saudáveis.

3.7 VETORES E POSSÍVEIS VETORES DE VÍRUS DE ABELHAS

3.7.1 Ácaros do Gênero *Varroa*

Varroa destructor e *V. jacobsoni* são ácaros parasitas que se alimentam dos fluidos corporais de abelhas adultas, pupais e larvais. Os ácaros do gênero *Varroa* podem ser vistos a olho nu como uma pequena mancha vermelha ou marrom no tórax da abelha. Os ácaros *Varroa* são portadores de muitos vírus que infectam as abelhas (GOULSON et al., 2015).

Esses ácaros foram descobertos no sudeste da Ásia por volta de 1904, mas agora estão presentes em todos os continentes, exceto na Austrália. Eles foram descobertos nos Estados Unidos em 1987, na Nova Zelândia em 2000 e em Devon, Reino Unido, em 1992 (GOULSON et al., 2015).

Para os olhos destreinados, esses ácaros geralmente não são um problema muito perceptível para uma colmeia em forte crescimento – já que as abelhas podem parecer fortes em número e podem até ser muito eficazes na forragem. No entanto, o ciclo de reprodução do ácaro ocorre dentro das pupas cobertas e a população de ácaros pode aumentar como resultado do crescimento de colônias. A observação cuidadosa de uma colônia pode ajudar a identificar sinais de doença geralmente transmitidos por ácaros (GOULSON et al., 2015).

Em países de clima mais frio, quando o crescimento da população de colmeias é reduzido em preparação para o inverno ou devido à fraca forragem no final do verão, o crescimento da população de ácaros pode ultrapassar o das abelhas e, em seguida, destruir a colmeia. Já se foi observado também que colônias doentes podem morrer lentamente e não conseguem sobreviver durante o inverno, mesmo quando há estoques suficientes de alimentos. Frequentemente, uma colônia simplesmente foge (sai como um enxame, mas não abandona a população) sob tais condições (DAMIANI et al., 2009).

O *Varroa* tem-se mostrado associado com o Distúrbio do Colapso das Colônias. Sabe-se que o timol, um composto produzido pelo tomilho, que ocorre naturalmente no mel, é um tratamento para *Varroa*, embora possa causar mortalidade de abelhas em altas concentrações. O provisionamento de colônias ativas com culturas de tomilho pode fornecer à colônia uma defesa química não intervencionista contra *Varroa* (DAMIANI et al., 2009).

De acordo com a Agência de Proteção Ambiental dos EUA, quando usados em colmeias conforme as instruções, tratamentos químicos matam uma grande proporção dos ácaros, muito embora não interrompam substancialmente o comportamento ou a expectativa de vida das abelhas. O uso de tais controles químicos é geralmente regulamentado e varia de país para país. Com poucas exceções, eles não se destinam ao uso durante a produção de mel comercializável.

Os controles mecânicos comuns geralmente dependem da interrupção de algum aspecto do ciclo de vida dos ácaros. Esses controles geralmente não têm como objetivo eliminar todos os ácaros, mas apenas manter a infestação em um nível que a colônia possa tolerar. Exemplos de controles mecânicos incluem:

- o sacrifício da progênie do zangão (os ácaros *Varroa* são preferencialmente atraídos pela ninhada do zangão);
- pó de açúcar (que incentiva o comportamento de limpeza e desaloja alguns ácaros);
- tábuas de fundo com tela (para que os ácaros desalojados caiam pelo fundo e longe colônia);
- interrupção da criação;
- redução do tamanho da célula de criação.

3.7.2 O Ácaro *Acarapis woodi*

Acarapis woodi é um parasita interno que afeta as abelhas. Foi originalmente observado na Ilha de Wight, na Inglaterra, em 1904, mas não foi descrito até 1921. Esses ácaros vivem e se reproduzem na traqueia das abelhas e apresenta-se como um potencial vetor de vírus de abelhas (MILANI et al., 1975).

Todos os ácaros são aracnídeos como aranhas. O ácaro fêmea anexa 5 a 7 ovos às paredes traqueais, onde as larvas eclodem e se desenvolvem em 11 a 15 dias para os ácaros adultos. Os ácaros fêmeas maduros deixam as vias respiratórias da abelha e sobem em um pelo da abelha, onde esperam até que possam ser transferidos para uma abelha jovem. Uma vez na nova abelha, elas se movem para as vias aéreas e começam a pôr ovos (GOODMAN, 2014).

Os ácaros parasitam abelhas jovens com até duas semanas de idade através das aberturas do tubo traqueal. Lá, eles perfuram as paredes do tubo traqueal com seus aparelhos bucais e se alimentam da hemolinfa das abelhas. Estimativas apontam que mais de cem ácaros podem povoar as traqueias e enfraquecer as abelhas.

Os sintomas da infestação por *Acarapis woodi* eram originalmente chamados pelos apicultores de Doença da Ilha de Wight (*Isle of Wight Desease*, IoWD)[10], mas agora é chamada de acariose, em homenagem à subclasse à qual os ácaros pertencem (DENMARK et al., 2000).

O apicultor britânico William Herrod-Hempsall originalmente encontrou o ácaro em 1904 na Ilha de Wight. Pesquisas adicionais verificaram a existência do ácaro em várias outras colônias afetadas e sua conexão com a doença da Ilha de Wight. A exportação de abelhas doentes da Europa continental, nas quais o ácaro esteve presente por algum tempo, foi uma das maiores causas de disseminação da doença (BAILEY, 1960).

Estudos mostram que a IoWD não foi causada apenas pelos ácaros *Acarapis woodi*, mas principalmente pelo vírus da paralisia de abelha crônica (CBPV), muito embora o *Acarapis woodi* sempre estivesse presente na colmeia sempre que os sintomas de CBPV eram observados (BAILEY et al., 1991).

Numerosas técnicas de manejo foram sugeridas para interromper a proliferação do ácaro e diminuir seus efeitos prejudiciais à saúde das abelhas desde a descoberta do ácaro e sua conexão com a doença da Ilha de Wight. Isso inclui o desenvolvimento de programas de criação de abelhas resistentes ao ácaro, bem como o uso de acaricidas e outros tratamentos químicos (BOWEN-WALKER et al., 2010).

Os ácaros *Acarapis woodi* são comumente controlados com rissóis de gordura (normalmente feitos de uma parte de gordura vegetal misturada com três a quatro partes de açúcar em pó) colocados nas barras superiores da

---

[10] Relativamente à sintomatologia, a Doença da Ilha de Wight não é evidente nos primeiros 2 a 4 anos após a infecção. Após esse período, quando 50% das abelhas da colmeia podem estar infectadas, os sintomas da doença estão bem desenvolvidos, principalmente no primeiro dia dos voos da primavera. As abelhas doentes saem rapidamente da colmeia, mas não conseguem voar (POLTEV, 1964).

colmeia. As abelhas vêm comer o açúcar e pegar vestígios de gordura, o que atrapalha a capacidade do ácaro de identificar uma abelha jovem.

Alguns dos ácaros que aguardam transferência para um novo hospedeiro permanecem no hospedeiro original. Outros se transferem para uma abelha aleatória – uma proporção da qual morrerá de outras causas antes que o ácaro possa se reproduzir. O mentol, que pode evaporar da forma de cristal ou misturado aos pastéis de gordura, também é frequentemente usado para se evitar a presença de ácaros nas colônias de abelhas (DENMARK et al., 2000).

Existem vários métodos de aplicação de mentol em colônias de abelhas, incluindo o uso de xarope de açúcar com infusão de mentol, tiras de papel e cristais. A técnica mais popular envolve a inserção de tiras de papel com mentol dentro da colmeia (SAMMATARO et al., 2011).

3.7.3 Microsporídeos do Gênero *Nosema* (*ceranae* e *apis*)

Nosema apis é um microsporídeo, um pequeno parasita unicelular recentemente reclassificado como fungo que afeta principalmente as abelhas. Ele causa a nosemose, também chamada de nosema, que é a doença mais comum e disseminada das abelhas adultas. O estágio dormente de *N. apis* é um esporo de vida longa que é resistente a temperaturas extremas e desidratação, e não pode ser morto congelando o favo contaminado (ECKERT, 2008). Os microsporídeos do gênero Nosema são candidatos a vetores de vírus de abelhas.

A espécie é do filo Microsporidia, que anteriormente se pensava serem protozoários, mas agora são classificados como fungos ou relacionados a fungos. Os microsporídios são parasitas intracelulares e infectam as células epiteliais do intestino médio. *N. apis* tem um esporo resistente que resiste a temperaturas extremas e desidratação. Em 1996, um parasita microsporídeo semelhante da abelha melífera oriental (*Apis cerana*) foi descoberto na Ásia, que foi denominado *Nosema ceranae*. Pouco se sabe sobre os sintomas e o curso da doença (LIU et al., 2006; FRIES et al., 2010).

Nosema ceranae é um microsporídeo, um pequeno parasita unicelular que afeta principalmente *Apis cerana*, a abelha asiática. Junto com *Nosema apis*,

causa a doença nosemose, a mais comum das doenças das abelhas adultas. *N. ceranae* pode permanecer dormente como um esporo de longa duração que é resistente a temperaturas extremas e desidratação (AUFAUVRE et al., 2012).

Este fungo tem demonstrado atuar de forma sinérgica com diversos inseticidas como fipronil ou neonicotinoides, aumentando a toxicidade dos agrotóxicos para as abelhas, levando a uma maior mortalidade das abelhas. Portanto, pode desempenhar um papel indireto no distúrbio do colapso da colônia. Além disso, a interação entre fipronil e *N. ceranae* induz mudanças na fisiologia masculina levando à esterilidade (KAIRO et al., 2017).

4 MANUSCRITO

INVESTIGATION OF MOLECULAR CHARACTERISTICS AND AMPLITUDE OF HOSTS OF VIRUSES INFECTING BEES AND OTHER INSECTS

- Joel Augusto Moura Porto[1] – ORCiD: 0000-0002-0121-1403 – joelaugustomp@gmail.com;
- Ronaldo Santos Guedes[2] – ORCiD: 0009-0004-5447-7266 – ronaldosantos.guedes@gmail.com;
- Gabriel Carvalho dos Santos[1] – ORCiD: 0009-0005-6122-175X - gcsantos.cic@uesc.br;
- Diogo Pereira Silva de Novais[1,3] – ORCiD: 0000-0001-9301-509X - diogopereira@ifba.edu.br;
- Dalliane Oliveira Soares[1] – ORCiD: 0000-0002-1732-0727 - dalli.biotec@gmail.com;
- Marco Antonio Costa[1] – ORCiD: 0000-0003-4093-9402 - costama@uesc.br;
- Eric Roberto Guimarães Rocha Aguiar[1] – ORCiD: 0000-0002-8143-5756 - ergraguiar@uesc.br.

[1]Department of Biological Sciences (DCB), State University of Santa Cruz (UESC), Ilhéus, Bahia, Brazil

[2]Center for Agricultural, Environmental and Biological Sciences (CCAAB), Federal University of Recôncavo of Bahia (UFRB), Cruz das Almas, Bahia, Brazil

[3]Federal Institute of Bahia (IFBA), Porto Seguro, Bahia, Brazil

Correspondence: Eric Roberto Guimarães Rocha Aguiar. Department of Biological Sciences (DCB), State University of Santa Cruz (UESC), Rodovia Jorge Amado, km 16, Ilhéus, Bahia, Brazil, 45662-900. E-mail: ergraguiar@uesc.br

Abstract

Pollination, vital for ecological balance and agriculture, relies heavily on bees as common pollinators. However, bees and other pollinators face threats from pathogenic microorganisms, notably viral species contributing to Colony Collapse Disorder, primarily transmitted by Varroa mites. This study analyzed literature on viral infections in bees and insects, focusing on molecular characteristics and host range. Over the past two decades, there has been a substantial increase in research on bee viruses, including DWV (*Deformed wing virus*), BQCV (*Black queen cell virus*), ABPV (*Acute bee paralysis virus*) and IAPV (*Israeli acute paralysis virus*) in *Apis mellifera*, *A. cerana*, and *Bombus terrestris*. Leading countries in this research are the United States, China, United Kingdom, Switzerland, France, and Germany, while Brazil's contribution is limited at 2.47%. Among bee-infecting viruses, approximately 50% belong to the order *Picornavirales*, with the families *Dicistroviridae* and *Iflaviridae* being the most prevalent at 23.9% and 18.3%, respectively. About 82% of these viruses have a positive-sense single-stranded RNA genome, with 29% of them also infecting other insects. Notably, the viruses shared between bees and other insects receive the most attention in the literature. Overall, the research reveals a significant data gap in South America, underscoring the need for further investigations to uncover virus diversity, potential vectors, and host relationships.

Keywords: *viruses, bees, insects, literature review, molecular characteristics*

1 INTRODUCTION

Human's actions have resulted in an unprecedented destabilization of nature, provoking a wide range of short- and long-term damages. The loss of biodiversity and biomass, whether as a result of climate change or the direct influence of human activity on ecosystems, is one of the repercussions of these impacts (Kuldna et al., 2009). Invertebrates, primarily insects, are the most afflicted animal group (Brettell LE et al., 2021; Kuldna et al., 2009). There was a widespread decline in the biodiversity of wild bee species and other pollinators throughout the mid-twentieth century, a phenomenon possibly linked to pesticide usage, a general decrease in the quantity of wildflowers, and the stress caused by parasites and diseases. And climate change is most certainly exacerbating this issue (Goulson, 2019).

In this scenario, pollination is essential for preserving ecological balance and is the foundation of crop production. As a result of the increased quality and quantity, pollination plays an important role in the economic sector (Breeze et al., 2011; Hristov et al., 2020). Because most of the angiosperms fully rely on vectors to transport their pollen in cross-pollination, pollinators are critical players in the crop production process. Incorporating both wild and managed bee species in a farm, for example, could improve cross-pollination. Of note, water and wind are also potential additional vectors while animal pollinators include bats, birds, butterflies, hoverflies, wasps, thrips and other animals (García-Breijo et al., 2020; Sukumaran et al., 2020).

It is important to point out that, among the insects, bees alone are responsible for around 75% of pollination in commercial agriculture (Khalifa et al.,

2021; Rader et al., 2016). They play a critical role not only in human nutrition but also in angiosperm pollination and are the most common form of pollinator in many habitats. A third of human food is thought to be dependent on pollination activity done by insects, birds, and bats, the majority of which is done by bees, whether wild or farmed (Khalifa et al., 2021). However, since the early 2000s, there has been a significant decline in the number of bees all over the world, mostly attributed to the Colony Collapse Disorder (CCD) (Johnson et al., 2009). CCD is a phenomenon caused by a number of reasons, including indiscriminate pesticide usage, climate change, low food availability, inadequate beekeeping methods, and an increase in the incidence of diseases in colonies (Oldroyd, 2007; Staveley et al., 2014).

CCD has been linked to a combination of factors. Pathogenic agents such as Varroa mites, Acarapis, Tropilaelaps mites, bacteria, fungi, and viruses, along with predatory insects, are known contributors to this disorder (Steinhauer et al., 2018). Co-infections involving viruses and mites have also been associated with CCD symptoms (Tantillo et al., 2015). And Varroa mites, notably *Varroa destructor*, were considered the most serious bee pest in the world (Ruttner and Hänel, 1992; Sammataro D et al., 2000). This mite not only feeds on bees but also transmits harmful viruses. Despite concerns about resistance and honey contamination, acaricide use remains a crucial practice in beekeeping worldwide (Beaurepaire A et al., 2020; Delaplane and Hood, 1999). In 2006 and 2007, CCD rates increased, with the *Invertebrate iridescent virus* and *Nosema ceranae*, a microsporidian that mainly affects *Apis cerana*, found to be fatal when combined (Bromenshenk et al., 2010).

It is known that viruses are the most abundant, pervasive, and diversified taxon of creatures (Breitbart and Rohwer, 2005; Yang et al., 2019), with only a small fraction of the total number of species known today. As a result, viruses are the pathogens that pose the most serious threat to bees and other insects (Holmes and Johnston, 2022). The majority of these viruses were first detected in *Apis mellifera*, either as a result of symptoms or diseases caused by infection (Yañez et al., 2020). It is also known that some honey bee viruses can replicate in honey bee pupae, allowing their identification, purification and isolation (Chagas et al., 2019). This allowed for the first characterization of the viruses as well as the conception of diagnostic assays. Although no systematic host-range investigation has ever been undertaken, early diagnostic assays revealed that these "honey bee viruses" could also be discovered in other bee species and wasps (Tapia-González et al., 2019).

Vectors associated with viral infections, like *Varroa destructor*, transport the virus into the bee colonies, spreading them and reaching from the larvae to the queen of the hive (Allen and Ball, 1996; Nascimento et al., 2022). Recent research has discovered that those viruses are far more frequent and ubiquitous than previously thought, with infections reported in a wide range of hymenopteran and non-hymenopteran arthropods. Spillover from and between hymenopteran taxa and non-hymenopteran arthropods has also been reported (Nanetti A et al., 2021). Awareness prevalence, epidemiology, and virulence in different bee species requires an understanding of the various virus transmission mechanisms and their probable host range.

Infections caused by these viruses have already been associated with severe symptoms in bees, such as DWV (*Deformed wing virus*), a member of the

family *Iflaviridae* that is capable of deforming the wings of these insects, in addition to causing a shortening of their abdomen and decreasing of life expectancy in adult bees (Beaurepaire A et al., 2020).

However, DWV is not the sole viral threat to bees. Other viruses like *black queen cell virus* (BQCV) (Bailey and Woods, 1977), *israeli acute paralysis virus* (IAPV) (Maori et al., 2007), *Sacbrood bee virus* (SBV) (Bailey et al., 1964), *Lake sinai virus* (LSV) (Daughenbaugh et al., 2015) and *Chronic bee paralysis virus* (CBPV) (Bailey et al., 1963) have been identified as significant infectious agents. These viruses can lead to various symptoms and have also been associated with colony losses and declines in bee health.

Overall, considering the impact of the CCD as well as the importance of understanding the profile of viral infection in bees and pollinators, this study aims to present an overview of the knowledge in the literature regarding insects-infecting viruses, especially focusing on pollinators. Using literature and data mining in public sequence databases, we explored the diversity of insects-infecting viruses, investigated their molecular characteristics with focus on host range amplitude to map the co-occurrence relationships of viruses and pollinating hosts.

2 METHODOLOGY

2.1 Protocol and Literature Search

This review study followed the predicted protocols in Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analysis (PRISMA), a set of evidence-based reporting elements for systematic reviews and meta-analyses. It is

generally designed for reporting reviews that evaluate the effects of interventions, although it can also be used to describe systematic reviews with goals other than evaluating interventions (Page et al., 2021). The central platform for managing and filtering publications was the Rayyan, which is a free web-tool that greatly speeds up the process of screening and selecting papers for academics working on systematic reviews, scoping reviews, and other knowledge synthesis projects (Ouzzani et al., 2016).

For the searches, the central question was: “What are the viruses that infect bees and other insects?” As a first filter of the research, it was considered whether the viruses are exclusively described infecting bees or whether they were also described infecting other pollinators. The following strategies were used: “Bee/Other insect species” + “Virus”; “Bee/Other insect species” + “Virus species”. The whole list of viruses and all the hosts are in **Table S1**.

The search for articles was performed in the scientific databases PubMed, Science Direct, and CAPES Journals Portal. Filters were used to select the 4,612 articles published from the 1950s to June 2022, as well as the countries where the papers were published. The PRISMA flowchart, shown in **Figure S1**, provides an overview of the publications sorting procedure. The acronyms used in this study for the viruses are shown in **Table 1**.

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Profile of Publications Over Time

3.1.1 Bees Literature

To understand the temporal evolution in the production of articles in this area, **Figure 1A** presents the number of publications over time referring only to bees, not necessarily being related to viruses, showing the genera that had the highest number of publications: Apis, Bombus, Melipona, Osmia, Megachile and other genera. Within “Others”, there are the genera Andrena, Anthophora, Augochlora, Ceratina, Colletes, Halictus, Heriades, Melecta, Nannotrigona, Plebeia, Scaptotrigona, Tetragona, Tetragonisca, Trigona and Xylocopa, all of them representing less than 3.9% of the publications. Observing the pattern of article publications, we noticed that the literature on bees has grown significantly from the year 2000 onwards, presenting ever-increasing annual amounts.

Among the research carried out in the literature sources of this study, the genus Apis, without *Apis mellifera*, represents 61.5% of the articles, 25.2% are only for *Apis mellifera*, totaling 86.7% only for this genus. Next come the genera Bombus, Melipona, Osmia and Megachile, with 6.3%, 1.3%, 0.9% and 0.8%, respectively (**Figure 1B**).

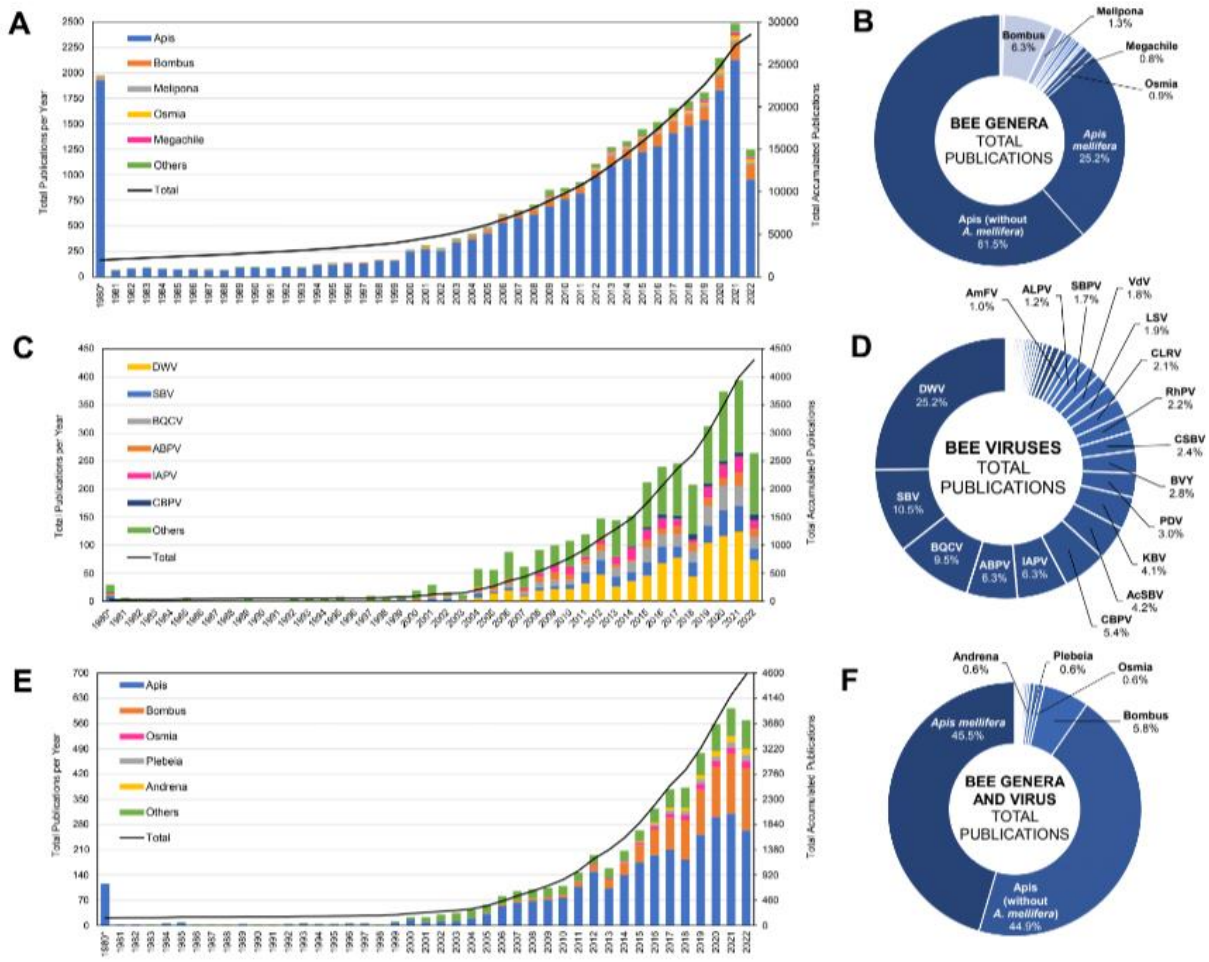

Figure 1. Profile of publications over time. A) Number of articles on the main genera of bees. B) Percentage of articles on the main bee genera. C) Number of articles on the main bee viruses . D) Percentage of articles on the main bee viruses. E) Number of articles on the main genera of bees that present viral infection. F) Percentage of articles on the main genera of bees that present viral infection. *All publications accumulated up to 1980.

3.1.2 Bee Viruses Literature

When observing the profile of publications referring to bee viruses over time (**Figure 1C**), it is noted that DWV is presented as the virus with the highest number of publications among all the viruses described infecting bees and other insects. In addition to DWV, studies related to viruses, such as BQCV, SBV, BQCV, ABPV, IAPV and CBPV, also have been noticed to be increasing in number over the years. This also points to the fact that there is an urgent need to understand the mechanisms of action of these viruses, as well as ways to mitigate

infectious conditions caused by the most varied types of circulating pollinator viruses, especially DWV.

Some of these viruses are not primarily from bees or insects in general. Our literature mining revealed some viruses that originally infected plants and that started to infect bees (Flenniken, 2014; Li et al., 2014a). Among the examples of spillover are CLRV, PDV, CAV, which infect several plants of the genus Prunus, ArMV, which infects, among other plants, strawberries, and TRSV, a well-known virus that infects tobacco. The most explored among them is TRSV, a virus that can infect a variety of hosts such as weeds, ornamental plants and field grown crops (Tolin, 2008). Direct evidence of the TRSV replicating in honey bee tissues was shown, and it was demonstrated that TRSV sequence detection rates associated with season and hive strength in a similar way to other viruses known to infect bees (Li et al., 2014a). These observations continue to provide a possible evidence that honey bees could be infected by TRSV (Li et al., 2014b; Miller et al., 2014).

Still in **Figure 1C**, we observe the increase in the number of publications regarding DWV from the 2000s onwards. Viruses such as IAPV only began to appear in the literature around 2007, supposedly due to the boost of works associated to the next-generation sequencing, exploring pollinator viruses. Among all the articles selected in the searches in the databases, the DWV presented 25.2% of all articles, followed by the SBV, with 10.5%, BQCV, with 9.5%, ABPV and IAPV with 6.3%, CBPV, with 5.4%, and the other viruses with 37.0% (**Figure 1D**).

Advancements in molecular techniques for virus detection since the early 2000s have transformed virus research, enhancing diagnostics, epidemiological

surveillance, and pathogenesis understanding (Cassedy et al., 2021; Lauring and Andino, 2010). **Figure 2A** shows the number of articles classified by technique used and insect/plant genus. The total percentage for each methodology is shown in **Figure 2B**. PCR and its variants, including real-time PCR (RT-PCR) and multiplex PCR, have become pivotal for their sensitivity and multiplexing capabilities (Mackay, 2004; Watzinger et al., 2006). Our results show that around 13.8% of publications on bee viruses used PCR and its variants as the main methodology for discovering new viruses. However, recently, metagenomics and next-generation sequencing (NGS) have further accelerated virus research, offering rapid, precise genome sequencing, thereby advancing the understanding of viral evolution, host interactions, and pathogenic mechanisms (Lin et al., 2014). Our searches in the literature on bee viruses point to approximately 67.4% of articles in this area that used NGS. The exponential growth in publications from 2010 onwards underscores how these technologies have revolutionized virus research, making NGS an indispensable tool in modern virology studies (Briese et al., 2015; Wang et al., 2017). Other methodologies mostly found in the articles were microscopy (8.4%), mass spectrometry (7.4%), metagenomics (0.8%), and microarray (0.7%).

Additionally, **Figures S2-S9** show the most cited keywords in bee literature by decade. From the 2000s onwards, it is possible to see the emergence of words related to the bee virus literature, such as “RNA, messenger”, “Picornaviridae”, in addition to the emphasis on words such as “Phylogeny”, which has already appeared in the literature since the 1990s, but appears more frequently from the 2000s on. **Figure S9** shows publications between 2020 and 2022, elucidating words such as “Deformed Wing Virus”, “RNA viruses”, “Nosema”, “Insect

viruses”, which shows the relevance of studies on bee viruses within the general literature on bees.

3.1.3 Bee Viruses Literature by Bee Genus

An overview of publications referring to bee viruses within each of the bee genera reveals a small change among the prominent genera in the literature, as we can compare in **Figures 1A** and **1E**. The genus Apis presented the highest abundance among all the other genera, with a very fast growth, as seen previously, from the 2000s onwards.

Another point worth mentioning is the beginning of articles on bee viruses for the genus Bombus in the 2000s. Osmia, Plebeia and Andrena appear from the 2010s onwards. In percentage terms, *Apis mellifera* (45.5%) represents a larger portion than the number of articles on other species of the genus Apis, without *Apis mellifera* (44.9%). Next, Bombus is the subject of study in 5.8% of the total literature, while Osmia, Plebeia and Andrena each represent about 0.6% of the articles (**Figure 1F**).

As already seen in **Figure 2A**, the number of publications appears to be disproportionately skewed in favor of certain genera, notably Apis, Bombus, and Melipona. Species of these genera are of significant ecological and economic importance and have strong ties to agriculture and crop pollination. The economic implications of research on these species, especially Apis, are substantial. The honey industry drives significant research interest and funding, leading to a higher number of publications. And the availability of research resources and funding for

these species can make it easier for scientists to work on them, leading to a higher number of publications.

Table S1 shows the complete literature survey of all viruses and host species discussed in this study.

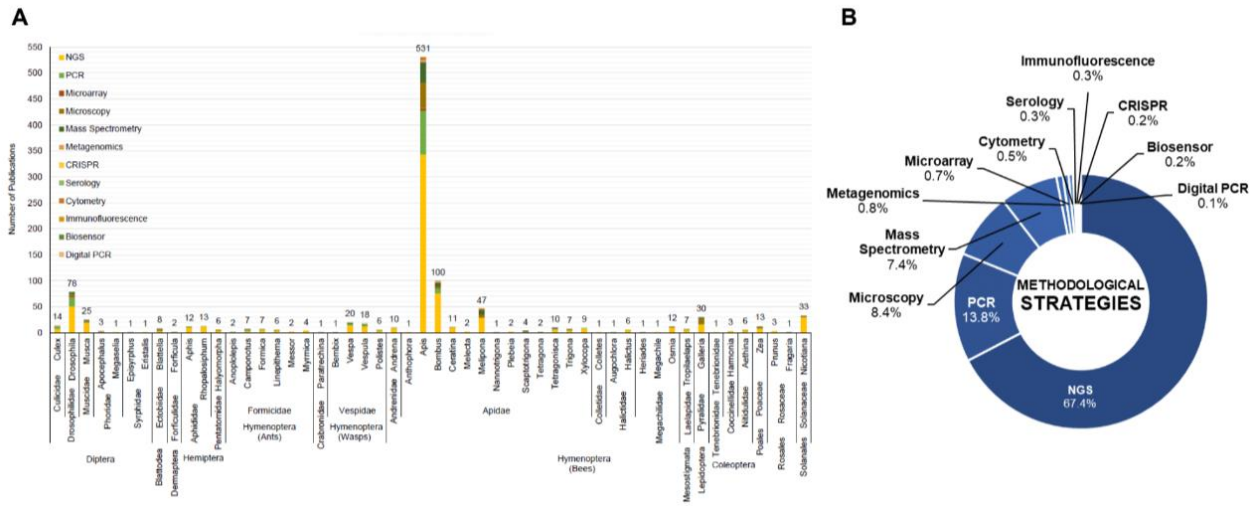

Figure 2. Publications according to the methodology used to discover new viruses. A) Number of articles by methodologies used and by insect/plant genus. B) Percentage of articles by methodology used.

3.1.4 Pollinator Viruses Literature Around the World

The literature on bee viruses is currently increasing, helping to better understand the diversity of pollinators-infecting viral species and its relationship with the CCD. Therefore, we also evaluated the contribution and representativeness of each country to this literature. **Figure 3** shows the accumulated number of articles published until the year 2022 distributed by country.

It is possible to notice that the United States and China are the largest producers of knowledge in this area. The USA represents almost 21% of the articles while China almost 10%, i.e., the two countries alone account for almost 31% of all the bee literature in the world. After China come the United Kingdom,

Switzerland, Germany, the Netherlands, Australia, Canada, Italy and Israel. Brazil, as well as Japan, Belgium, Spain, Argentina, India, and Sweden, are in the range of 1.24% to 2.47%. This shows how underrepresented countries in South America are.

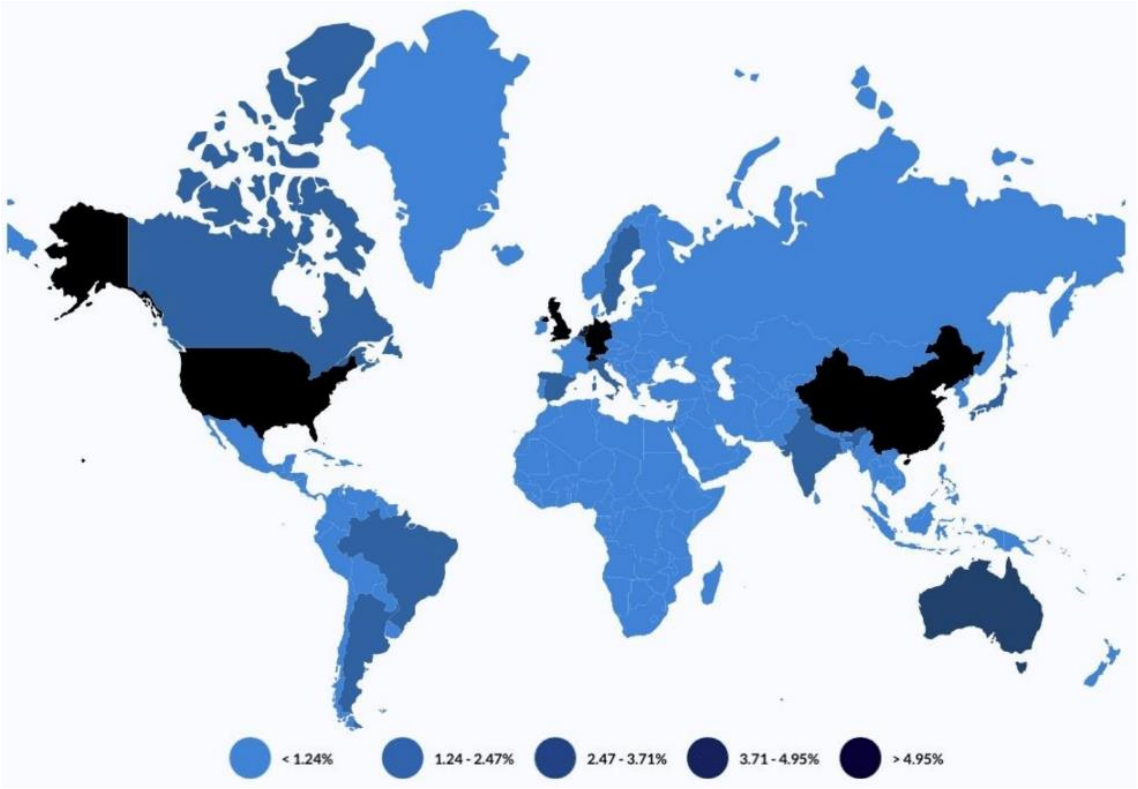

Figure 3. Accumulated number of publications in the literature on bee viruses around the world.

The fact that some viruses were found in bee populations on all five evaluated continents shows that these infections are widely dispersed and possibly quite common (Galbraith DA et al., 2018). It is challenging to generalize from metagenomics research the prevalence and distribution of these viruses on an ecologically relevant scale, though, because these studies frequently only look at a small number of samples. But the literature has pointed to an expansion of bee viruses across all continents, which correlates with the spread of invasive bee species and virus vectors (Piot et al., 2022).

3.2 Viral Diversity of Bee Viruses

The advances in genome sequencing technologies have unveiled several processes responsible for generating genetic variability within viral populations, exemplified by the variants of Deformed Wing Virus (DWV-A, DWV-B and DWV-C, for example) and Lake Sinai Virus (LSV-1 and LSV-2). These processes include recombination, mutations, possible genetic rearrangements during coinfections, and other mechanisms (Routh et al., 2012). DWV and LSV, both honeybee viruses, exhibit diverse variants resulting from these processes, contributing to their adaptability and evolution in response to changing environments and host factors (Di Prisco et al., 2016; Genersch and Aubert, 2010; Runckel et al., 2011). The fidelity and frequency of replication processes, the rates of occurrence of co-infections, the mode of transmission, the size and structure of populations (viral and host) are factors that influence the generation of viral genetic variability (Pérez-Losada et al., 2015; Sanjuán and Domingo-Calap, 2021).

Figure 4 shows the viral diversity of the bee viruses found in our literature mining. There are, in total, 86 main viruses that are highlighted in the literature, of which 86.1% belong to the clade *Riboviria*, while 2.8% are related to *Monodnaviria* and 1.4% to *Varidnaviria*. The remaining 9.7% refer to viruses not yet classified (**Figure 4A**).

Regarding kingdom (**Figure 4B**), the highlight was *Orthornavirae*, with approximately 76.4% of the viruses listed. In second place, viruses not yet classified in kingdom appear with 19.4%. *Shotokuvirae* and *Bamfordvirae* appear in a smaller share, with 2.8% and 1.4%, respectively.

The most prominent phylum is *Pisuviricota*, representing more than half (51.4%) of the main bee viruses listed in this study (**Figure 4C**). *Kitrinoviricota* represents 16.7% of the viruses. *Negarnaviricota* has approximately 8.3% of the bee viruses while the phyla *Cossaviricota*, *Cressdnaviricota* and *Nucleocytoviricota* each represent 1.4% of the total of the bee viruses.

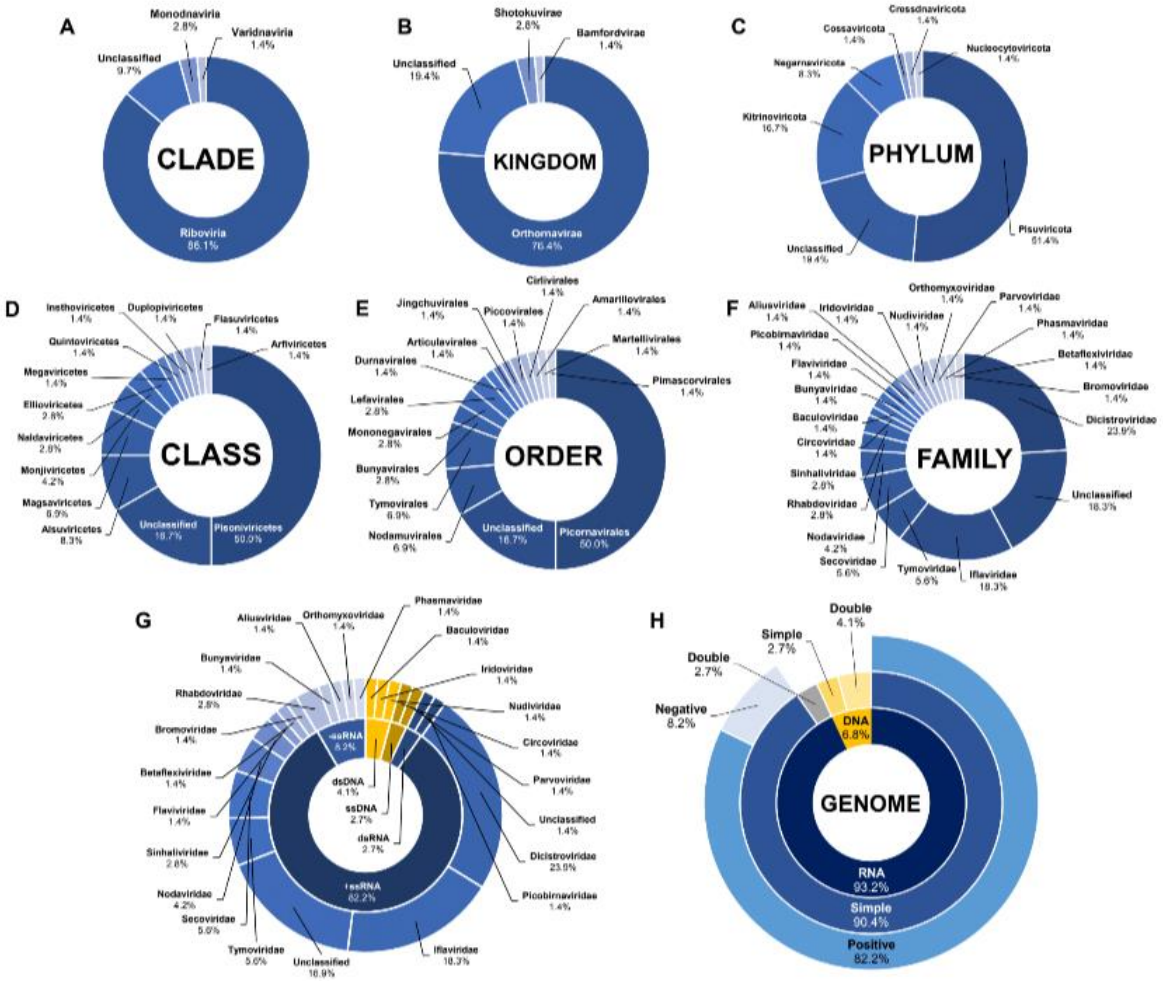

Figure 4. Taxonomy of the main bee viruses. A) Clades of the main bee viruses. B) Kingdoms of the main bee viruses. C) Phyla of the main bee viruses. D) Classes of the main bee viruses. E) Orders of the main bee viruses. F) Families of the main bee viruses. G) Genome and family of the main bee viruses. H) Genome of the main bee viruses.

The constant evolution of data-producing sequencers has led to a rapid increase in the discovery of new viruses with the impact of generating a large amount of data for the literature. The taxonomic classification of these new

findings, however, does not follow the same pace, which adds viruses to the literature that still do not have a taxonomic classification. Almost 20% of bee viruses so far have no phylum classification.

Within the phylum *Pisuviricota*, the class *Pisoniviricetes* stands out, with about 50.0%, representing the most prominent class among the others, and the class *Duplopiviricetes* represents 1.4% of the total number of viruses. Next, within the phylum *Kitrinoviricota* are *Alsuviricetes*, *Magsaviricetes* and *Flasuviricetes* representing 8.3%, 6.9% and 1.4%, respectively. Within *Negarnaviricota*, *Monjiviricetes, Ellioviricetes* and *Insthoviricetes* represent 4.2%, 2.8% and 1.4%, respectively. For the phyla *Cossaviricota*, *Cressdnaviricota* and *Nucleocytoviricota*, there are *Quintoviricetes*, *Arfiviricetes* and *Megaviricetes*, with 1.4% each, respectively. *Naldaviricetes* (still no complete taxonomy) represents 2.8% (**Figure 4D**).

The order *Picornavirales* represents half of the viruses identified among the main ones in the context of viral infection in bees (**Figure 4E**). This order encompasses 50.0% of the viruses, followed by viruses without a defined order, with 16.7%, and the orders *Nodamuvirales* and *Tymovirales*, with 6.9% each. The orders *Bunyavirales, Mononegavirales* and *Lefavirales* each represent 2.8% of all viruses. Eight of the virus orders (*Amarillovirales, Articulavirales, Cirlivirales*, *Durnavirales*, *Jingchuvirales*, *Martellivirales*, *Piccovirales* and *Pimascorvirales*) each account for 1.4% of all elements.

Figure 4F shows the taxonomic classification of the bee-infecting viruses by family, with emphasis on *Dicistroviridae* and *Iflaviridae*, both belonging to the order *Picornavirales*. The family *Dicistroviridae*, representing 23.9% of all viruses cataloged in this study, contains the genera of the main viruses related to

pollinator infections, namely: Cripavirus (ALPV), *Aparavirus* (IAPV, ABPV, KBV), *Triatovirus* (BQCV) and some viruses without defined genus (AD, DLV, BSRV, BBV, EV, HBV, PBV, RBV, RhPV, RoBV, MqV).

The family *Iflaviridae*, which comprises 18.3%, also harbors some of the main genera of bee viruses. One of them, the genus *Iflavirus*, encompasses the DWV virus, the most prominent virus among the searches in the literature found in this work. In addition to DWV, *Iflavirus* is also the genus of SBPV, SBV, CSBV, KV, MoV, VdV, EBV, TSBV, and DBV.

Also, within the order *Picornavirales* is the family *Secoviridae*, with the genus *Nepovirus* (ArMV, CLRV and TRSV) and a virus without genus classification, SLV. Viruses of the family *Secoviridae* and the genus *Nepovirus* are viruses that usually infect plants, with great emphasis on TRSV in the literature. Like other nepoviruses, it is transmitted between plants by nematodes, mites, grasshoppers and beetles (Stace-Smith et al., 1965). The literature also demonstrates that the transmission of TRSV through seeds and sap inoculation is not rare (European and Mediterranean Plant Protection Organization, 2001). More recent articles have noted that bees can also contract TRSV. However, it is not yet known if there is any kind of transmission from bees to plants. But it is known that the virus also replicates in honeybees. It systemically invades their bodies and spreads to many organs (Li et al., 2014a).

About 18.3% of the viruses listed in this study are still not classified according to family. The families *Tymoviridae* and *Secoviridae* each represent 5.6%. *Nodaviridae* comprises 4.2% of the viruses, while the families *Rhabdoviridae* and *Sinhaliviridae* represent 2.8%. The other families *Circoviridae*, *Bunyaviridae*, *Flaviviridae*, *Picobirnaviridae*, *Soliniviridae*,

Aliusviridae, *Iridoviridae*, *Nudiviridae*, *Orthomyxoviridae*, *Parvoviridae*, *Phasmaviridae*, *Betaflexiviridae*, and *Bromoviridae*, each representing 1.4% of all viruses surveyed in this study.

Figure 4G allows a better observation of the relationship between the virus genome (DNA, RNA, single or double-stranded etc.) and the family to which it belongs. Most of the families are single-stranded and positive-sense RNA viruses, as previously mentioned. Some families have single-stranded but negative-sense RNA. They are *Rhabdoviridae*, *Bunyaviridae*, *Aliusviridae*, *Orthomyxoviridae,* and *Phasmaviridae*. The only double-stranded RNA family is the *Picobirnaviridae*. There are still viruses already identified in bees, also dsRNA, but still have no family classification. The double-stranded DNA families are *Flaviviridae*, *Iridoviridae* and *Nudiviridae* while the single-stranded DNA viruses belong to the families *Circoviridae* and *Parvoviridae*.

This type of observation allows us to highlight the families that harbor the largest number of bee viruses, namely *Dicistroviridae*, *Iflaviridae*, *Tymoviridae* and *Secoviridae*. In addition, there is still a significant portion of single-stranded and positive-sense RNA viruses that do not yet have a family classification in the bee virus literature. Having an idea of the viral diversity and, consequently, the current abundance of the viruses discovered in bees and in other insects allows inferring the expected genome type, as well as the families that may comprise these new viruses. This points, in a way, to the need to look more closely at the viruses that belong to the aforementioned families and that have not yet been identified in bees. They are the most appropriate candidates to use bees as a new reservoir, whether transmission occurs via a vector.

Figure 4H shows the abundance of different types of viral genomes in percentage. The notorious prominence of RNA viruses, especially the single-stranded and positive ones (Group IV), representing 82.2% of the viruses found in this study, points to a certain evolutionary advantage of this type of genome in organisms with basal cellular metabolism such as those of bee cells and other insects of general way. Supposedly, due to the ease of mastering the host's cellular machinery, +ssRNA viruses, as soon as they enter the cell, are already able to have their genes expressed in a supposedly shorter time window when compared to ssRNA viruses, which, by means of reverse transcriptase, they still need their genetic material to be transformed into DNA to later have their genes transcribed in the host cell (Kempf et al., 2019).

The second largest share of bee virus genomes is single-stranded and negative RNA type (Group V), 8.2% and only 2.7% represent double-stranded RNA viruses (Group III). The few DNA viruses are roughly divided into double-stranded (Group I), representing 4.1% and single-stranded (Group II), 2.7% of the viruses identified in the literature searches in this study.

In this study, viruses that present double-stranded DNA have not yet been classified according to clade, kingdom, phylum, or subphylum. They are AmFV and OcNV. The latter belongs to the class *Naldaviricetes*, order *Lefavirales*, while AmFV remains taxonomically unclassified.

The research of this study found some viruses whose genome is single-stranded DNA, namely: CLV, AIV, MqC and MqD. CLV does not yet have a defined taxonomic classification. AIV, in contrast, belongs to the clade *Varidnaviria* and kingdom *Bamfordvirae*. Both MqC and MqD belong to the clade *Monodnaviria* and kingdom *Shotokuvirae*, differing already in the phylum. The

first one belongs to the phylum *Cressdnaviricota*, while the second one belongs to the phylum *Cossaviricota*. A graphical representation with the genome type (Baltimore Classification) and taxonomy of the viruses brought in this study is shown in **Figure 5**.

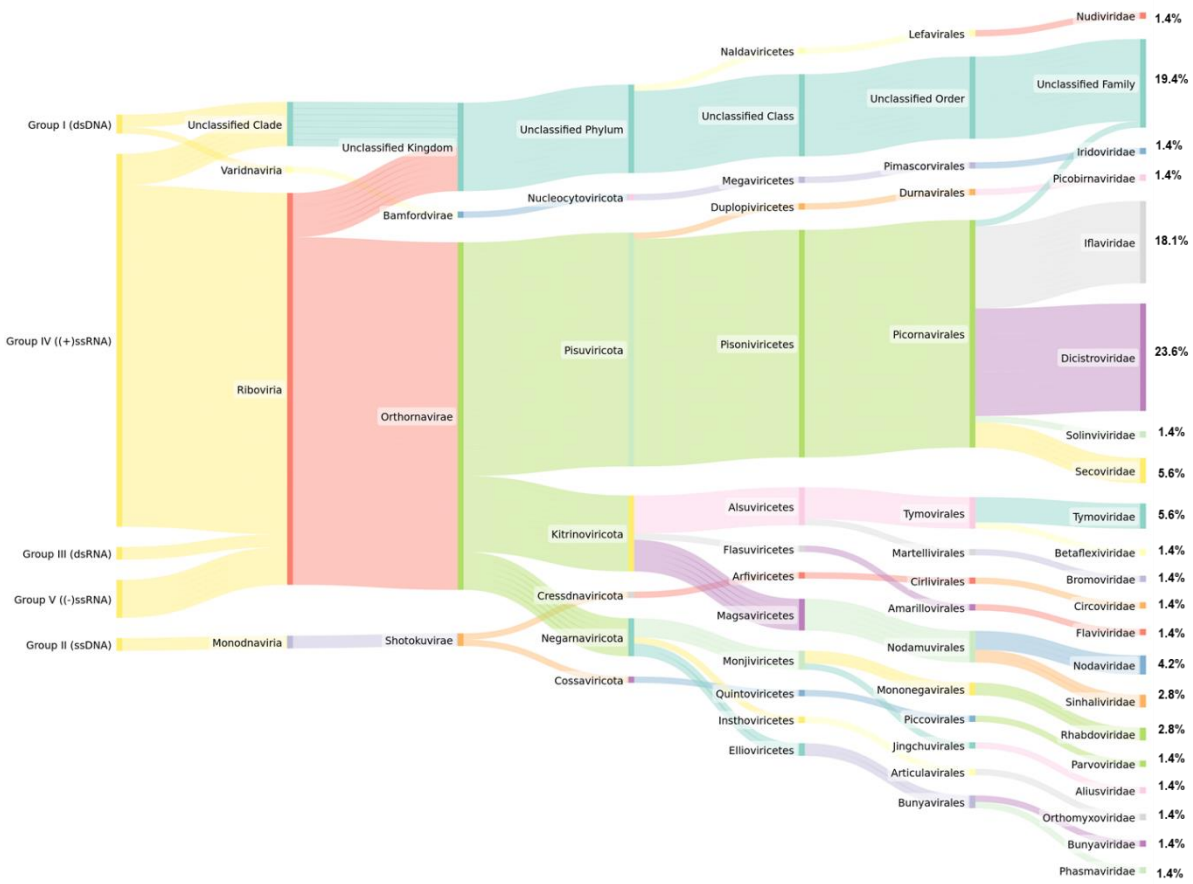

Figure 5. Virus taxonomy overview with the Baltimore classification.

3.3 Virus Particle and Viral Genome Sizes

Analyzing the viral diversity of the most important bee viruses in the literature, it can be observed that the genome sizes range from around 1100 to 498,500 nucleotides. This result shows that the virome profile of bees is quite heterogeneous, with a difference of more than 10 orders of magnitude. However,

over half of the size of major viral genomes revolves around the range between 8000 and 10,000 nucleotides. AmFV was the largest outlier, with 498,500 nucleotides. In order not to distort the representation of other data, this virus is not shown in **Figure 6**. The lowest values found are 1046 bp, 1400 bp and 1413 bp for GABV (*Phasmaviridae*), CWV (Unclassified) and SRBV (*Aliusviridae*), respectively. CBPSV, in turn, is actually a satellite virus. The highest values, above 13,000 bp, were observed for ARV-2 (*Rhabdoviridae*), CLRV (*Secoviridae*) and ARV-1 (*Rhabdoviridae*), with 13,985 bp, 14,278 bp and 14,580 bp, respectively, as shown in **Figure 7A**.

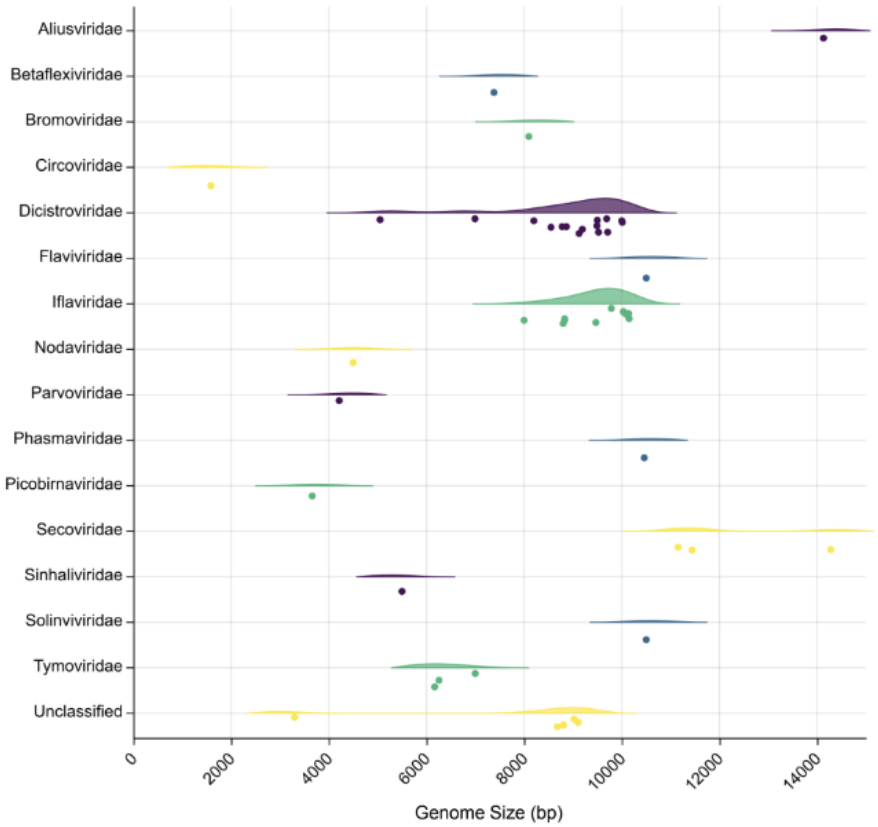

Figure 6. **Genome size categorized by virus family.**

Subviral particles called satellites consist of a nucleic acid molecule and a few proteins (Hu et al., 2009; Simon et al., 2004). Examples of such viruses include Satellite Tobacco Necrosis Virus (STNV) (Reichmann, 1964), Satellite Tobacco Ringspot Virus (STRSV) (Passmore et al., 1995) and Hepatitis Delta Virus (HDV) (Rizzetto et al., 1977). Satellites are dependent viruses, unable to multiply in host cells on their own, requiring one or more helper viruses to co-infect the host cell and assist in replication (Ryu, 2017).The helper virus carries out the necessary tasks for the satellite's reproduction, primarily relying on the host cell for production ("The Subviral Agents," 2005).

In contrast, virusoids, like satellite RNAs and satellite viruses, also depend on a helper virus for replication and genetic expression but lack the ability to encode a capsid (Kovalskaya and Hammond, 2014). And viroids, discovered in 1971, are small, circular, single-stranded RNA molecules without a protein coat, causing plant diseases, exemplified by the *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) (Diener, 1971). Despite their differences, virusoids and viroids lack protein-coding capacity and rely on host cellular machinery for replication (Ding, 2009). This research found no virusoids related to viral infections in bees.

Regarding the average size of the viral particle, **Figure 7B** shows the approximate average size of the main viruses gathered in the surveys. Just over half of them have around 30 nm in capsid diameter. Some viruses, such as CBPV and AFV, have a capsid diameter of around 60 nm. AmBV variants both have 100 nm, but the highlight is AIV, with 150 nm in capsid diameter, the largest diameter among the viruses observed in this study, after AmFV (150 x 450 nm). There are studies in the literature that point to the difficulty of differentiating

between the CWV virus and the CBPSV satellite because both are only 17 nm in diameter (de Miranda et al., 2013).

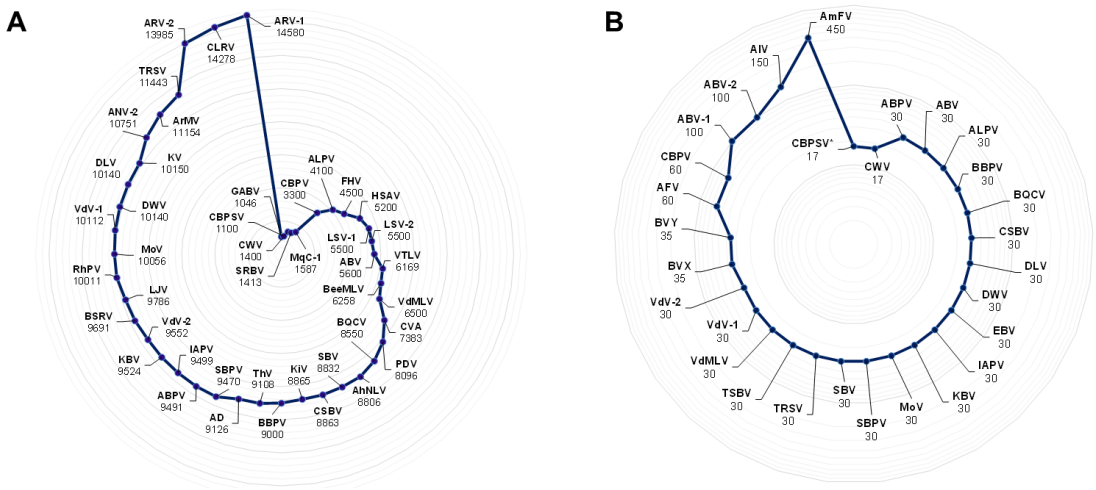

Figure 7. **Virus and Viral Genome Sizes.** A) Amplitude of genome size values of major bee viruses in base pairs (bp). B) Mean sizes of bee virus viral particles in nanometers (nm) in logarithmic scale (base 10).

The literature reports the discovery of this satellite as a 17 nm-diameter isometric particle that was serologically unrelated to CBPV but only multiplied in the presence of CBPV (Bailey et al., 1980). As the first satellite virus in insects, this particle was first known as *Chronic bee paralysis virus associate* (CBPVA). The only member of the subgroup *Chronic bee paralysis virus related satellite*, it was recently given the new name *Chronic bee paralysis satellite virus* (CBPSV) (Olivier et al., 2008).

The largest viral particle within the virus search carried out in this study was AmFV. Although it is not shown in **Figure 7B**, it has a rod-shaped shape, with 150 x 450 nm. Large honey bee double stranded DNA virus AmFV is little understood in terms of its prevalence and relationships with other parasites.

In general, the viral size profile shows that more than half of the viruses have a 30 nm viral particle diameter. This points to a possible evolutionary trend

of bee viruses. One of the viruses that has this size is DWV, one of the main viruses that affects bees and other pollinating insects. In addition, the following viruses have the same diameter: ABPV, ABV, ALPV, BBPV, BQCV, CSBV, DLV, EBV, IAPV, KBV, MoV, SBPV, SBV, TRSV, TSBV, VdMLV, VdV-1 and VdV-2. The complete taxonomy of the viruses is shown in table format in **Table S2**.

3.4 Global Spread of Bee Viruses

Bee viruses can spread throughout the globe in a number of ways, including the movement of infected bees itself (Bailey et al., 1983). For instance, the movement of honeybees for commercial purposes has the potential to transmit bee viruses from one place to another. A potential way of bee viruses spread is also through Varroa mites (Shen et al., 2005), parasites that prey on honeybees and can act as a vector for the transmission of bee viruses from one bee to another. Another way is vertically, in which the queen pass the infecting viruses to the prole (James and Li, 2012). The pollen and nectar that diseased bees bring back to the hive can also spread some bee viruses (Chen, 2011). It is crucial to highlight that, with the decreasing of bee populations, not only honey production but also pollination may be significantly impacted by the transmission of bee viruses.

Most of the viruses that afflict honey bees are distributed globally, which can be attributed to human-mediated migrations. For instance, the expansion of the ectoparasitic mite *V. destructor*, which can act not only as a biological but also as a mechanical vector of honey bee viruses like SBPV, ABPV, and DWV (Wilfert et al., 2016), was made possible by international trade. DWV reemerged

to epidemic levels (Martin et al., 2012; Mondet et al., 2014) thanks to the direct transmission via the mite and a competitive edge over other Varroa-transmitted viruses (Ball and Allen, 1988).

Analyzing the spread of pollinating viruses around the world, we observed that DWV, BQCV, SBV, KBV, CBPV and ABPV are the viruses most widespread across the planet, according to data collected from the literature in this study, as shown in **Figure 8**. The worldwide spread data of other viruses is shown in a table and in figures in **Table S3**. This research was based on the year in which articles on the discovery of such viruses in each country were published. **Table S4** shows the first article found in the literature describing the virus for the first time, as well as the country and host in which the virus was discovered.

DWV, for example, is already present on all continents. From the year 2000 onwards, many studies reported the appearance of DWV in countries such as the USA, China, Russia and some Western European countries. Brazil, Turkey, and Israel are examples of countries that identified DWV between 2005 and 2010. The last countries to report the appearance of this virus were Colombia, Argentina, Iran, Bulgaria, and Australia, between 2015 and 2020.

Similar dispersal profiles are seen in other viruses such as BQCV, SBV and KBV. And, in that sense, it is important to highlight that parasitic mites like *Varroa destructor* and other insects like the wax moth and tiny hive beetles are frequently used as carriers for bee viruses (Kwadha et al., 2017). Because they not only feed on adult bees but also multiply in brood cells and feed on growing bee larvae, Varroa mites are particularly harmful (Ramsey et al., 2019; Yañez O et al., 2020). The growing larvae may catch viruses from the mites during this phase, which might have a long-term negative impact on the adult bee's health

(Posada-Florez et al., 2020). When the mites feed on one infected bee, they move on to another, spreading viruses from bee to bee. (Cournoyer et al., 2022; Posada-Florez et al., 2020). Increasing propolis in bee colonies may significantly affect DWV levels (Drescher et al., 2017), i. e., bees may get the virus also if they ingest the contaminated food (Yañez O et al., 2020).

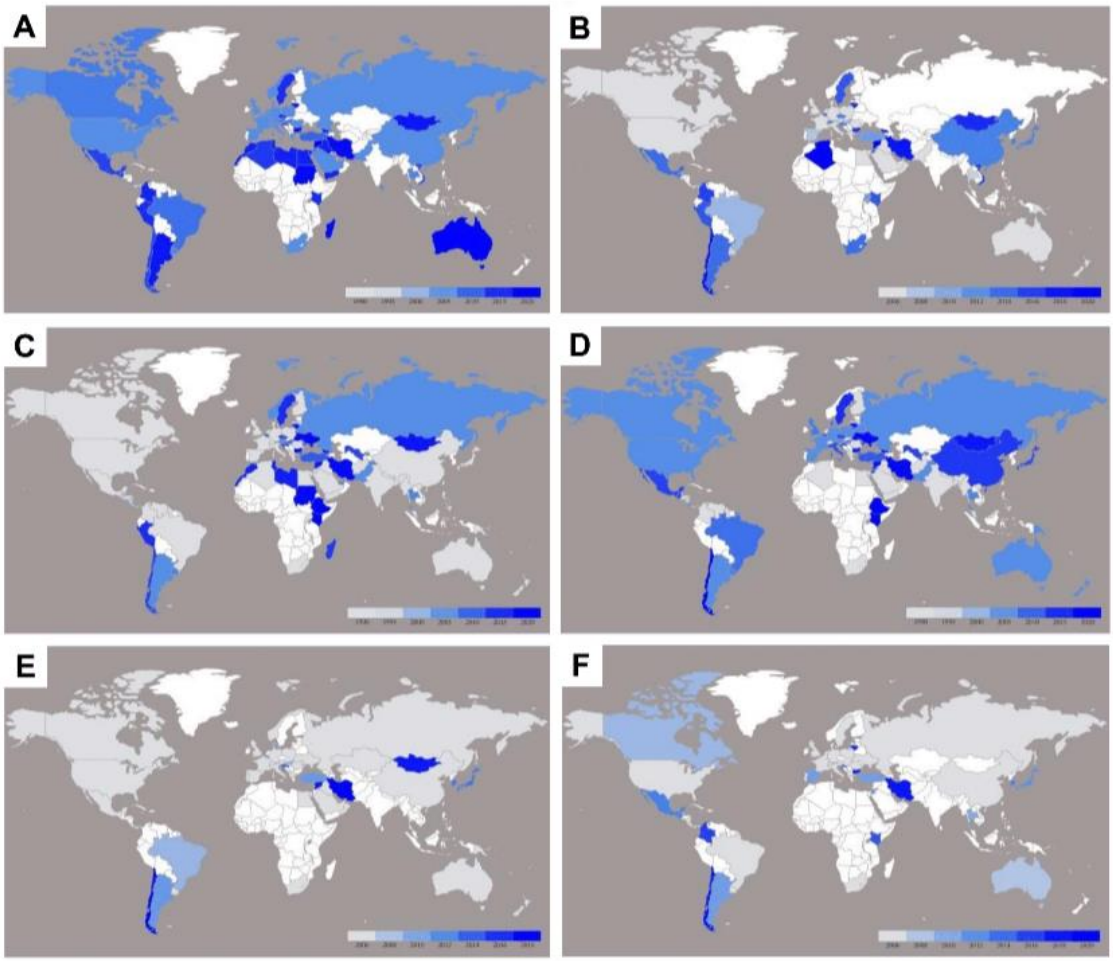

Figure 8. Worldwide spread of the main bee viruses. A) DWV. B) BQCV. C) SBV. D) KBV. E) CBPV. F) ABPV.

Among the viruses found, according to the literature, in a greater number of countries are SBV (120 countries), KBV (101 countries), DWV (80 countries), BQCV (63 countries), CBPV (51 countries), ABPV (50 countries), SBPV (37

countries). Although these are, in fact, the most studied viruses in the literature, the most prominent virus among all publications, DWV, is not the virus present in the largest number of countries. This shows that, although the literature tends towards DWV, the virus SBV, which is the most widespread virus based on the number of publications, is the second most reported virus in the literature, as shown in **Figure 1D**.

The worldwide spread of pathogenic bee viruses to all continents shows how important epidemiological studies in this area are. It is necessary to deeply understand about the dissemination of these viruses, whether at the molecular or macro level, in order to avoid proliferation to other reservoirs, as well as geographic expansion.

3.5 Comparison between bee-specific and non-specific viruses

According to the bee viruses literature (**Figure 9**), the genus Apis has 44 viruses that have been exclusively described in species of this genus. There are six viruses that infect only elements from the genus Melipona, and the genus Bombus, five. The genera Andrena and Osmia present a single exclusive virus for each of the genera. DWV and BQCV infect all major bee and insect genera shown in **Figure 9**. The virus SBV was not found only in the genus Melipona, while IAPV is absent in Osmia or Melipona.

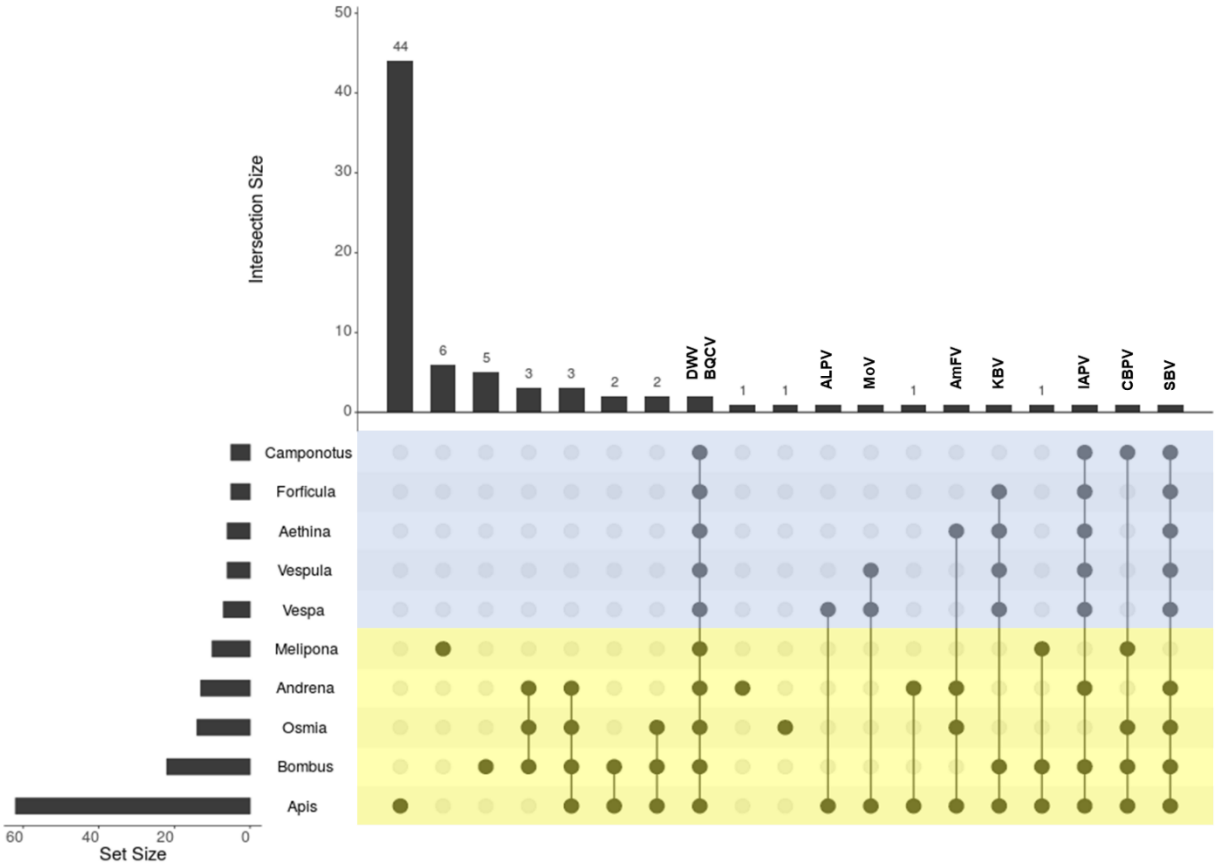

Figure 9. Intersection plot for viruses that infect bees and other insects. The yellow band represents the bee genera. The blue band represents the other insect genera.

Among the other insects, the genus that most appears with viral infection in intersection with bees is Vespa, with a total of six viruses, followed by the genus Vespula, with five. The genus Aethina also has five viruses. Within this genus is the beetle of the hive, species *Aethina tumida*, which is a beekeeping pest. Although it is native to sub-Saharan Africa, it has spread to a great number of other places, including North America, Australia, and the Philippines (Hood, 2004).

Among the other viruses that infect bees and other insects are ALPV, AmFV, CBPV, IAPV, KBV, MoV, and SBV. More detailed graphical representations showing viruses that infect bees and other insects are shown in **Figures S10-S13**.

Analyzing the molecular characteristics of the viruses that infect only bees, which represent 71.4% of the viruses studied here, it is possible to observe that the vast majority belongs to *Dicistroviriae*, the family that encompasses most bee viruses, representing almost 17% (**Figure 10A**). More than 15% of viruses are still unclassified. *Iflaviridae* also stands out, with almost 10% of viruses that infect only bees. The families *Tymoviridae* and *Rhabdoviridae* each represent 4.8%.

On the other hand, the viruses that infect bees and other insects, totaling 28.6% of the identified in this study, have as most represented families *Dicistroviridae* (9.5%), *Iflaviridae* (7.1%) and *Secoviridae* (3.6%). The unclassified viruses represent 2.4%. Except for *Secoviridae*, the families *Dicistroviridae* and *Iflaviridae* were highlighted containing elements that infect only bees and elements that infect bees and other insects. Of note, this is likely product from the abundance of viral species in this family. **Figure 10B** shows the distribution between viruses that infect bees and those that also infect other insects by family.

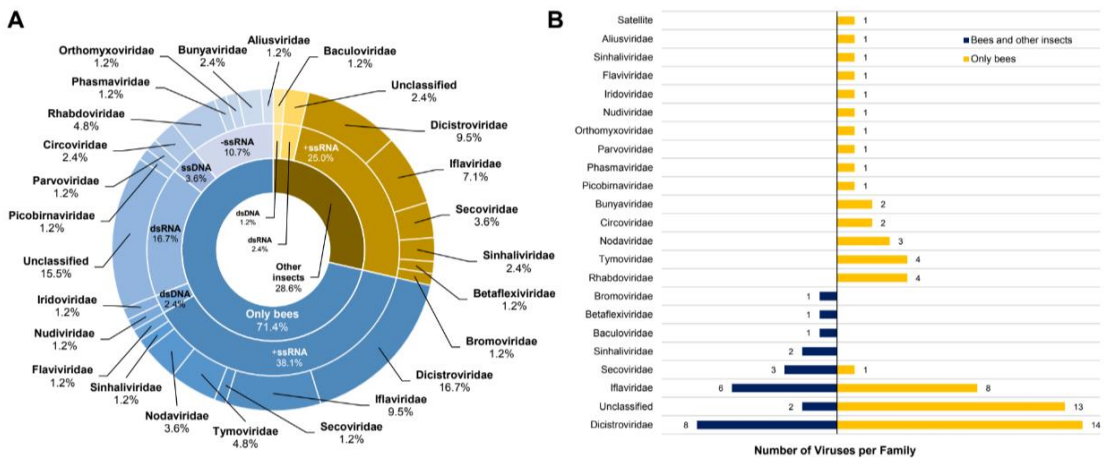

Figure 10. Families of viruses that infect only bees and those that infect other insects. A) Proportion of the total number of viruses, considering their genome. B) Number of viruses in each family that infect only bees and those that infect other insects.

Another point worth mentioning for these families is that they also contain the first viruses detected in bees. ABPV and CBPV, identified in the early 1960s (Bailey et al., 1963), also belong to the family *Iflaviridae*, along with DWV and other viruses that infect bees. **Table S4** in the Supplementary Material shows the first article published in the bee literature regarding each virus.

Among all the RNA viruses found in the literature, one of the simplest types of viruses, in terms of the metabolism of the host's cellular machinery, are the viruses of the order *Picornavirales*. In addition to having an exceedingly small genome, they encode only a few non-structural proteins involved in replication and a single structural protein that makes up the viral capsid. They can efficiently replicate in host cells with minimal disruption of cellular metabolism as they have a relatively simple metabolic process (that is, it requires less of the cellular machinery for replication) compared to other RNA viruses such as retroviruses or flaviviruses which have more complex replication cycles and require more complex interactions with the host cells. This makes them efficient parasites that can cause disease, especially in bees ("Dicistroviridae", 2012; Holmes and Semler, 2019).

Within the order *Picornavirales*, the literature shows some families that present many of the most important species that affect bees. *Iflaviridae*, for example, includes viruses such as DWV, SBV, CSBV, SBPV, KV, among others. In contrast, *Dicistroviridae* includes BQCV, KBV, IAPV, ABPV, ALPV, in addition to other viruses, whose discoveries date back to the last 10 years. Another family of the order *Picornavirales* is the *Secoviridae*, which harbors some viruses originally from plants and which have also been reported in the literature infecting bees.

Not only the type of genome or a lower degree of metabolic complexity influences the change of host. Some bee viruses can infect different species of bees because they can attach to receptors that are comparable on the cells of their host. This enables the virus to enter and spread to a wide range of hosts (Maginnis, 2018). Typically, unique viral attachment proteins produced on the virion surface mediate interactions with viral receptors (Marsh and Helenius, 2006), which facilitates the spread of the virus to more reservoirs.

Concerning the type of genetic material, we can observe that the viruses that infect other insects present single-stranded RNA viruses and positive sense – representing the majority –, double-stranded RNA and double-stranded DNA. No negative-sense, single-stranded RNA or single-stranded DNA virus was seen that originally infects bees and then infects other insects as well.

As for the size of the genome, we can see that most of the viruses that infect bees and other insects have around 9000 nucleotides. The viruses present in the largest number of hosts in non-bee insects, as well as in bees, the DWV and BQCV viruses, have 10,140 bp and 8550 bp, respectively. The average viral particle size is 30 nm, as observed in the general survey of viruses that are unique to bees and those that infect other insects. In addition, most of the viruses that infect bees and also other insects are known in the bee literature to be transmitted by *Varroa destructor*, such as DWV, BQCV, KBV, IAPV, SBV and CBPV (Chen and Siede, 2007; Di Prisco et al., 2016; Mondet et al., 2014; Piou et al., 2022).

Figure 11 presents a general scheme showing all the viruses studied in this research (center), the genera of bees (right) and the genera of insects (left) infected by these viruses. It can be observed, with this general representation, that, in fact, the DWV virus is the most reported element in the literature of bee

viruses with the highest host number. Among bees, the genus Apis stands out as the most prominent virus reservoir. As for the other insects, the genus Vespa has the highest number of viruses shared with bees, which shows a natural migration tendency in the flow of viruses originally from bees.

As already shown in **Figure 1C**, since before the 1980s (1960s), bee viruses have been the subject of numerous scientific publications, with varying degrees of focus on different bee genera. Among the well-researched genera, Apis, Bombus, Osmia, Plebeia, and Andrena stand out, with Apis being the most extensively studied, followed by Bombus, Osmia, Plebeia, and Andrena, in that order. It is noteworthy that the abundance of virus discoveries in these genera may be attributed to their economic significance, global distribution, and ecological importance. These genera comprise species of considerable economic interest, being widely distributed across the planet, and displaying robust ecological activities, which likely leads to a higher likelihood of virus detection within their populations.

The in-depth examination of bee viruses within specific genera has provided valuable insights into the diversity and impact of viral infections in different bee species. The concentration of research efforts on economically important genera such as Apis and Bombus is understandable, given their role as essential pollinators for numerous crops and their economic relevance to agriculture, as already seen in **Figure 2A**. Additionally, Osmia, Plebeia, and Andrena, being widely distributed and ecologically significant, have also garnered research attention due to their potential influence on ecosystem dynamics and pollination services.

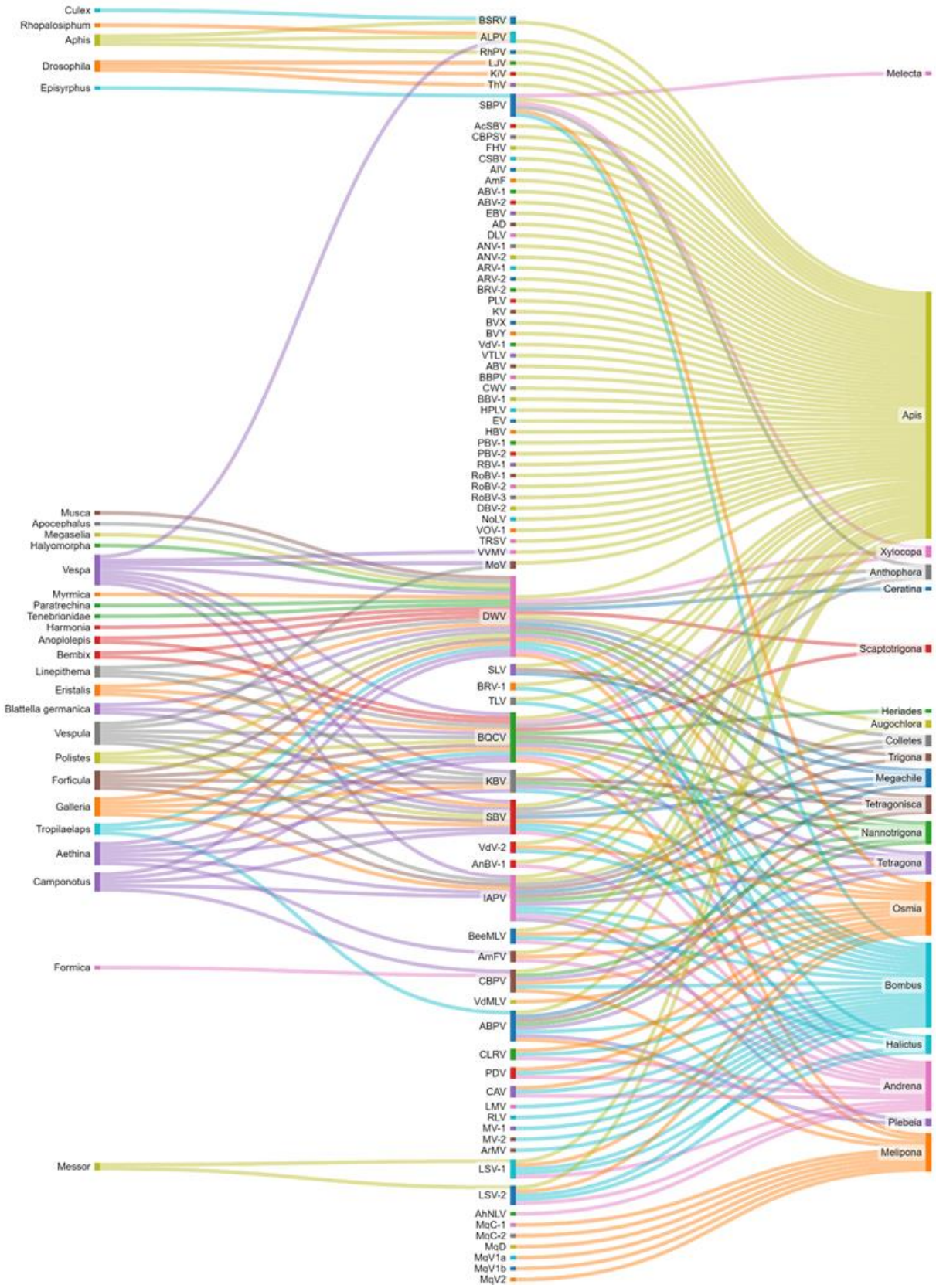

Figure 11. All viruses from this study that infect bees (right) and other insects (left).

4 CONCLUSIONS

Based on the data collected by this study, it was possible to observe that the most studied bee genera in the literature are Apis, Bombus, Melipona, Osmia and Megachile. Among the 86 bee viruses cataloged in this study, DWV, SBV, BQCV, ABPV, IAPV and CBPV are the most abundant in terms of publications. The bee genera that presented more studies involving viral infections are Apis, Bombus, Osmia, Plebeia and Andrena. Although some countries, such as the United States, China and the United Kingdom, are at the forefront among the greatest producers of knowledge in the literature on bees, some other countries, which have endemic species of bees, such as Brazil and Argentina, are underrepresented in the world scenario of publications.

The viral diversity profile found in this study highlighted single-stranded and positive-sense RNA viruses, covering the main families in the virus literature: *Dicistroviridae*, *Iflaviridae*, *Tymoviridae*, *Secoviridae*, *Nodaviridae*, *Rhabdoviridae*, and *Sinhaliviridae*. The average genome size of the main viruses in the literature is between 8000 and 10,000 bp, with an average diameter of viral particles around 30 nm.

It was also possible to observe which viruses have presented infection in other insects. The most prominent are DWV and BQCV, infecting almost all bee genera studied in this research, in addition to the genera Vespa, Vespula, Aethina, Forficula and Camponotus, some of the main genera observed in our searches. Other viruses that worth mentioning for infecting both bees and other insects are SBV, IAPV, CBPV, KBV, MoV, ALPV and AmFV. Bee viruses that also infect other insects predominantly belong to the families *Dicistroviridae*,

Iflaviridae and *Rhabdoviridae*. The first two families are the most prominent families among all virus families (exclusive or not in bees). Therefore, it is acceptable to research possible spillover of elements within these families.

In terms of genome, the viruses that infect only bees are mostly single-stranded RNA and have positive sense. Only a small portion, totaling almost 6.0% of all viruses found in this study, are DNA viruses that only infect bees. +ssRNA viruses are also the majority of viruses that infect bees and other insects. Among the viruses that infect bees and other insects, which represent 28.6% of all viruses in this study, 25.0% are RNA and single-stranded and positive-sense viruses. This shows a possible trend in the profile of viruses that may spillover to reservoirs other than bees, likely due to the fast evolution of single stranded RNA viruses that could favor its host shift.

For future studies, we foresee a more in-depth study regarding the viruses that infect bees and also other insects. A detailed study analyzing dinucleotides and, specifically, codons of these viruses can elucidate molecular trends for the migration of bees to other insects, as well as a possible prediction of the infection profile in new reservoirs.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank the Postgraduate Program in Genetics and Molecular Biology at the State University of Santa Cruz.

CONFLICTS OF INTEREST STATEMENT

The authors declare no conflict of interest.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The data that support the findings of this study are available in the main manuscript and in the supporting information.

ETHICS STATEMENT

This study involved no animal or human experiments requiring ethics approval.

ORCID

- Joel Augusto Moura Porto – ORCiD: 0000-0002-0121-1403
- Ronaldo Santos Guedes – ORCiD: 0009-0004-5447-7266
- Diogo Pereira Silva de Novais – ORCiD: 0000-0001-9301-509X
- Gabriel Carvalho dos Santos – ORCiD: 0009-0005-6122-175X
- Dalliane Oliveira Soares – ORCiD: 0000-0002-1732-0727
- Marco Antonio Costa – ORCiD: 0000-0003-4093-9402
- Eric Roberto Guimarães Rocha Aguiar – ORCiD: 0000-0002-8143-5756

REFERENCES

Allen, M., Ball, B., 1996. The incidence and world distribution of honey bee viruses. Bee World 77, 141–162. https://doi.org/10.1080/0005772X.1996.11099306

Bailey, L., Ball, B.V., Carpenter, J.M., Woods, R.D., 1980. Small Virus-like Particles in Honey Bees associated with Chronic Paralysis Virus and with a Previously Undescribed Disease. Journal of General Virology 46, 149–155. https://doi.org/10.1099/0022-1317-46-1-149

Bailey, L., Ball, B.V., Perry, J.N., 1983. Honeybee Paralysis: Its Natural Spread and its Diminished Incidence in England and Wales. Journal of Apicultural Research 22, 191–195. https://doi.org/10.1080/00218839.1983.11100586

Bailey, L., Gibbs, A.J., Woods, R.D., 1964. Sacbrood virus of the larval honey bee (Apis mellifera linnaeus). Virology 23, 425–429. https://doi.org/10.1016/0042-6822(64)90266-1

Bailey, L., Gibbs, A.J., Woods, R.D., 1963. Two viruses from adult honey bees (Apis mellifera Linnaeus). Virology 21, 390–395. https://doi.org/10.1016/0042-6822(63)90200-9

Bailey, L., Woods, R.D., 1977. Two More Small RNA Viruses from Honey Bees and Further Observations on Sacbrood and Acute Bee-Paralysis Viruses. Journal of General Virology 37, 175–182. https://doi.org/10.1099/0022-1317-37-1-175

Ball, B.V., Allen, M.F., 1988. The prevalence of pathogens in honey bee (Apis mellifera) colonies infested with the parasitic mite Varroa jacobsoni. Ann Applied Biology 113, 237–244. https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1988.tb03300.x

Beaurepaire A, Piot N, Doublet V, Antunez K, Campbell E, Chantawannakul P, Chejanovsky N, Gajda A, Heerman M, Panziera D, Smagghe G, Yañez O, de Miranda JR, Dalmon A, 2020. Diversity and Global Distribution of Viruses of the Western Honey Bee, Apis mellifera. Insects 11.

Breeze, T.D., Bailey, A.P., Balcombe, K.G., Potts, S.G., 2011. Pollination services in the UK: How important are honeybees? Agriculture, Ecosystems & Environment 142, 137–143. https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.03.020

Breitbart, M., Rohwer, F., 2005. Here a virus, there a virus, everywhere the same virus? Trends in Microbiology 13, 278–284. https://doi.org/10.1016/j.tim.2005.04.003

Brettell LE, Martin SJ, Riegler M, Cook JM, 2021. Vulnerability of island insect pollinator communities to pathogens. J Invertebr Pathol 186, 107670.

Briese, T., Kapoor, A., Mishra, N., Jain, K., Kumar, A., Jabado, O.J., Lipkin, W.I., 2015. Virome Capture Sequencing Enables Sensitive Viral Diagnosis and Comprehensive Virome Analysis. mBio 6, e01491-15. https://doi.org/10.1128/mBio.01491-15

Bromenshenk, J.J., Henderson, C.B., Wick, C.H., Stanford, M.F., Zulich, A.W., Jabbour, R.E., Deshpande, S.V., McCubbin, P.E., Seccomb, R.A., Welch, P.M.,

Williams, T., Firth, D.R., Skowronski, E., Lehmann, M.M., Bilimoria, S.L., Gress, J., Wanner, K.W., Cramer, J., Robert A., 2010. Iridovirus and microsporidian linked to honey bee colony decline. PLoS One 5, e13181.

Cassedy, A., Parle-McDermott, A., O'Kennedy, R., 2021. Virus Detection: A Review of the Current and Emerging Molecular and Immunological Methods. Front. Mol. Biosci. 8, 637559. https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.637559

Chagas, D.B., Monteiro, F.L., H►►bner, S. de O., Lima, M. de, Fischer, G., 2019. Viruses that affect Apis mellifera and their occurrence in Brazil. Cienc. Rural 49.

Chen, Y., 2011. Viruses and Viral Diseases of the Honey Bee, Apis mellifera, in: Liu, T., Kang, L. (Eds.), Recent Advances in Entomological Research. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 105–120. https://doi.org/10.1007/978-3-642-17815-3_6

Chen, Y.P., Siede, R., 2007. Honey Bee Viruses, in: Advances in Virus Research. Elsevier, pp. 33–80. https://doi.org/10.1016/S0065-3527(07)70002-7

Cournoyer, A., Plamondon, L., Bau-Gaudreault, L., Deschamps, A., Dubreuil, P., Benoit-Biancamano, M.-O., 2022. Effects of Varroa destructor on Hemolymph Sugars and Secondary Infections in Honeybees (Apis mellifera). Applied Sciences 12, 11630. https://doi.org/10.3390/app122211630

Daughenbaugh, K., Martin, M., Brutscher, L., Cavigli, I., Garcia, E., Lavin, M., Flenniken, M., 2015. Honey Bee Infecting Lake Sinai Viruses. Viruses 7, 3285–3309. https://doi.org/10.3390/v7062772

de Miranda, J.R., Bailey, L., Ball, B.V., Blanchard, P., Budge, G.E., Chejanovsky, N., Chen, Y.-P., Gauthier, L., Genersch, E., de Graaf, D.C., Ribière, M., Ryabov, E., De Smet, L., van der Steen, J.J.M., 2013. Standard methods for virus research in *Apis mellifera*. Journal of Apicultural Research 52, 1–56. https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.4.22

Delaplane, K.S., Hood, W.M., 1999. Economic threshold for Varroa jacobsoni Oud. in the southeastern USA. Apidologie 30, 383–395. https://doi.org/10.1051/apido:19990504

Di Prisco, G., Annoscia, D., Margiotta, M., Ferrara, R., Varricchio, P., Zanni, V., Caprio, E., Nazzi, F., Pennacchio, F., 2016. A mutualistic symbiosis between a parasitic mite and a pathogenic virus undermines honey bee immunity and health. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 113, 3203–3208. https://doi.org/10.1073/pnas.1523515113

Dicistroviridae, 2012. , in: Virus Taxonomy. Elsevier, pp. 840–845. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384684-6.00071-9

Diener, T.O., 1971. Potato spindle tuber "virus." Virology 45, 411–428. https://doi.org/10.1016/0042-6822(71)90342-4

Ding, B., 2009. The Biology of Viroid-Host Interactions. Annu. Rev. Phytopathol. 47, 105–131. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081927

Drescher, N., Klein, A.-M., Neumann, P., Yañez, O., Leonhardt, S., 2017. Inside Honeybee Hives: Impact of Natural Propolis on the Ectoparasitic Mite Varroa destructor and Viruses. Insects 8, 15. https://doi.org/10.3390/insects8010015

European and Mediterranean Plant Protection Organization, 2001. Tobacco ringspot nepovirus. EPPO Bulletin 31, 45–51. https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2001.tb00967.x

Flenniken, M.L., 2014. Honey Bee-Infecting Plant Virus with Implications on Honey Bee Colony Health. mBio 5, e00877-14. https://doi.org/10.1128/mBio.00877-14

Galbraith DA, Fuller ZL, Ray AM, Brockmann A, Frazier M, Gikungu MW, Martinez JFI, Kapheim KM, Kerby JT, Kocher SD, Losyev O, Muli E, Patch HM, Rosa C, Sakamoto JM, Stanley S, Vaudo AD, Grozinger CM, 2018. Investigating the viral ecology of global bee communities with high-throughput metagenomics. Sci Rep 8, 8879.

García-Breijo, F., Armiñana, J.R., Garmendia, A., Cebrián, N., Beltrán, R., Merle, H., 2020. In Vivo Pollen Tube Growth and Evidence of Self-Pollination and Prefloral Anthesis in cv. Macabeo (Vitis vinifera L.). Agriculture 10, 647. https://doi.org/10.3390/agriculture10120647

Genersch, E., Aubert, M., 2010. Emerging and re-emerging viruses of the honey bee (*Apis mellifera* L.). Vet. Res. 41, 54. https://doi.org/10.1051/vetres/2010027

Goulson, D., 2019. The insect apocalypse, and why it matters. Current Biology 29, R967–R971. https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.06.069

Holmes, A.C., Semler, B.L., 2019. Picornaviruses and RNA Metabolism: Local and Global Effects of Infection. J Virol 93, e02088-17. https://doi.org/10.1128/JVI.02088-17

Holmes, V.R., Johnston, J.S., 2022. The Innate Immune Response of Eusocial Hymenopterans to Viral Pathogen Challenge. Annals of the Entomological Society of America 115, 141–147. https://doi.org/10.1093/aesa/saab047

Hood, W.M., 2004. The small hive beetle, *Aethina tumida* : a review. Bee World 85, 51–59. https://doi.org/10.1080/0005772X.2004.11099624

Hristov, P., Neov, B., Shumkova, R., Palova, N., 2020. Significance of Apoidea as Main Pollinators. Ecological and Economic Impact and Implications for Human Nutrition. Diversity (Basel) 12, 280.

Hu, C.-C., Hsu, Y.-H., Lin, N.-S., 2009. Satellite RNAs and Satellite Viruses of Plants. Viruses 1, 1325–1350. https://doi.org/10.3390/v1031325

James, R.R., Li, Z., 2012. From Silkworms to Bees, in: Insect Pathology. Elsevier, pp. 425–459. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384984-7.00012-9

Johnson, R.M., Evans, J.D., Robinson, G.E., Berenbaum, M.R., 2009. Changes in transcript abundance relating to colony collapse disorder in honey bees (*Apis*

mellifera). Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 106, 14790–14795. https://doi.org/10.1073/pnas.0906970106

Kempf, B.J., Watkins, C.L., Peersen, O.B., Barton, D.J., 2019. Picornavirus RNA Recombination Counteracts Error Catastrophe. J Virol 93, e00652-19. https://doi.org/10.1128/JVI.00652-19

Khalifa, S.A.M., Elshafiey, E.H., Shetaia, A.A., El-Wahed, A.A.A., Algethami, A.F., Musharraf, S.G., AlAjmi, M.F., Zhao, C., Masry, S.H.D., Abdel-Daim, M.M., Halabi, M.F., Kai, G., Al Naggar, Y., Bishr, M., Diab, M.A.M., El-Seedi, H.R., 2021. Overview of Bee Pollination and Its Economic Value for Crop Production. Insects (Basel, Switzerland) 12, 688.

Kovalskaya, N., Hammond, R.W., 2014. Molecular biology of viroid–host interactions and disease control strategies. Plant Science 228, 48–60. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.05.006

Kuldna, P., Peterson, K., Poltimäe, H., Luig, J., 2009. An application of DPSIR framework to identify issues of pollinator loss. Ecological Economics 69, 32–42.

Kwadha, C.A., Ong'amo, G.O., Ndegwa, P.N., Raina, S.K., Fombong, A.T., 2017. The Biology and Control of the Greater Wax Moth, Galleria mellonella. Insects 8, 61. https://doi.org/10.3390/insects8020061

Lauring, A.S., Andino, R., 2010. Quasispecies Theory and the Behavior of RNA Viruses. PLoS Pathog 6, e1001005. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001005

Li, J.L., Cornman, R.S., Evans, J.D., Pettis, J.S., Zhao, Y., Murphy, C., Peng, W.J., Wu, J., Hamilton, M., Boncristiani, H.F., Zhou, L., Hammond, J., Chen, Y.P., 2014a. Systemic Spread and Propagation of a Plant-Pathogenic Virus in European Honeybees, Apis mellifera. mBio 5, e00898-13. https://doi.org/10.1128/mBio.00898-13

Li, J.L., Cornman, R.S., Evans, J.D., Pettis, J.S., Zhao, Y., Murphy, C., Peng, W.J., Wu, J., Hamilton, M., Boncristiani, H.F., Zhou, L., Hammond, J., Chen, Y.P., 2014b. Reply to "Conclusive Evidence of Replication of a Plant Virus in Honeybees Is Lacking." mBio 5, e01250-14. https://doi.org/10.1128/mBio.01250-14

Lin, Z., Farooqui, A., Li, G., Wong, G.K., Mason, A.L., Banner, D., Kelvin, A.A., Kelvin, D.J., Leon, A.J., 2014. Next-generation sequencing and bioinformatic approaches to detect and analyze influenza virus in ferrets. J Infect Dev Ctries 8, 498–509. https://doi.org/10.3855/jidc.3749

Mackay, I.M., 2004. Real-time PCR in the microbiology laboratory. Clinical Microbiology and Infection 10, 190–212. https://doi.org/10.1111/j.1198-743X.2004.00722.x

Maginnis, M.S., 2018. Virus–Receptor Interactions: The Key to Cellular Invasion. Journal of Molecular Biology 430, 2590–2611. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2018.06.024

Maori, E., Lavi, S., Mozes-Koch, R., Gantman, Y., Peretz, Y., Edelbaum, O., Tanne, E., Sela, I., 2007. Isolation and characterization of Israeli acute paralysis virus, a dicistrovirus affecting honeybees in Israel: evidence for diversity due to intra- and inter-species recombination. Journal of General Virology 88, 3428–3438. https://doi.org/10.1099/vir.0.83284-0

Marsh, M., Helenius, A., 2006. Virus Entry: Open Sesame. Cell 124, 729–740. https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.02.007

Martin, S.J., Highfield, A.C., Brettell, L., Villalobos, E.M., Budge, G.E., Powell, M., Nikaido, S., Schroeder, D.C., 2012. Global Honey Bee Viral Landscape Altered by a Parasitic Mite. Science 336, 1304–1306. https://doi.org/10.1126/science.1220941

Miller, W.A., Carrillo-Tripp, J., Bonning, B.C., Dolezal, A.G., Toth, A.L., 2014. Conclusive Evidence of Replication of a Plant Virus in Honeybees Is Lacking. mBio 5, e00985-14. https://doi.org/10.1128/mBio.00985-14

Mondet, F., de Miranda, J.R., Kretzschmar, A., Le Conte, Y., Mercer, A.R., 2014. On the Front Line: Quantitative Virus Dynamics in Honeybee (Apis mellifera L.) Colonies along a New Expansion Front of the Parasite Varroa destructor. PLoS Pathog 10, e1004323. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004323

Nanetti A, Bortolotti L, Cilia G, 2021. Pathogens Spillover from Honey Bees to Other Arthropods. Pathogens 10.

Nascimento, J. de J.S. do, Ferreira, M.B.S., Melquíades, C. da C.V., Bendini, J. do N., 2022. Infestation levels of Varroa destructor and Nosema spp. in africanized bee (Apis mellifera) colonies during the dry season in the semiarid region of Piauí state. AVB 16, 78–83. https://doi.org/10.21708/avb.2022.16.1.10428

Oldroyd, B.P., 2007. What’s killing American honey bees? PLoS Biol 5, e168.

Olivier, V., Blanchard, P., Chaouch, S., Lallem, Perrine, Schurr, F., Celle, O., Dubois, E., Tordo, N., Thiéry, R., Houlgatte, R., Ribière, M., 2008. Molecular characterisation and phylogenetic analysis of Chronic bee paralysis virus, a honey bee virus. Virus Research 132, 59–68.

Ouzzani, M., Hammady, H., Fedorowicz, Z., Elmagarmid, A., 2016. Rayyan—a web and mobile app for systematic reviews. Syst Rev 5, 210. https://doi.org/10.1186/s13643-016-0384-4

Page, M.J., McKenzie, J.E., Bossuyt, P.M., Boutron, I., Hoffmann, T.C., Mulrow, C.D., Shamseer, L., Tetzlaff, J.M., Akl, E.A., Brennan, S.E., Chou, R., Glanville, J., Grimshaw, J.M., Hróbjartsson, A., Lalu, M.M., Li, T., Loder, E.W., Mayo-Wilson, E., McDonald, S., McGuinness, L.A., Stewart, L.A., Thomas, J., Tricco, A.C., Welch, V.A., Whiting, P., Moher, D., 2021. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. BMJ n71. https://doi.org/10.1136/bmj.n71

Passmore, B.K., Van Tol, H., Buzayan, J.M., Stabinsky, D., Bruening, G., 1995. Trace Amount of Satellite RNA Associated with Tobacco Ringspot Virus: Increase Stimulated by Nonaccumulating Satellite RNA Mutants. Virology 209, 470–479. https://doi.org/10.1006/viro.1995.1279

Pérez-Losada, M., Arenas, M., Galán, J.C., Palero, F., González-Candelas, F., 2015. Recombination in viruses: Mechanisms, methods of study, and evolutionary consequences. Infection, Genetics and Evolution 30, 296–307. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.12.022

Piot, N., Schweiger, O., Meeus, I., Ya►►ez, O., Straub, L., Villamar-Bouza, L., De la R►►a, P., Jara, L., Ruiz, C., Malmstr►►m, M., Mustafa, S., Nielsen, A., M►►nd, M., Karise, R., Tlak-Gajger, I., ►►zg►►r, E., Keskin, N., Di►►vart, V., Dalmon, A., Gajda, A., Neumann, P., Smagghe, G., Graystock, P., Radzevi►►i►►t►►, R., Paxton, R.J., de Miranda, J.R., 2022. Honey bees and climate explain viral prevalence in wild bee communities on a continental scale. Sci Rep 12, 1904–1904.

Piou, V., Schurr, F., Dubois, E., Vétillard, A., 2022. Transmission of deformed wing virus between Varroa destructor foundresses, mite offspring and infested honey bees. Parasites Vectors 15, 333. https://doi.org/10.1186/s13071-022-05463-9

Posada-Florez, F., Ryabov, E.V., Heerman, M.C., Chen, Y., Evans, J.D., Sonenshine, D.E., Cook, S.C., 2020. Varroa destructor mites vector and transmit pathogenic honey bee viruses acquired from an artificial diet. PLoS ONE 15, e0242688. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242688

Rader, R., Bartomeus, I., Garibaldi, L.A., Garratt, M.P.D., Howlett, B.G., Winfree, R., Cunningham, S.A., Mayfield, M.M., Arthur, A.D., Andersson, G.K.S., Bommarco, R., Brittain, C., Carvalheiro, L.G., Chacoff, N.P., Entling, M.H., Foully, B., Freitas, B.M., Gemmill-Herren, B., Ghazoul, J., Griffin, S.R., Gross, C.L., Herbertsson, L., Herzog, F., Hipólito, J., Jaggar, S., Jauker, F., Klein, A.-M., Kleijn, D., Krishnan, S., Lemos, C.Q., Lindström, S.A.M., Mandelik, Y., Monteiro, V.M., Nelson, W., Nilsson, L., Pattemore, D.E., de O. Pereira, N., Pisanty, G., Potts, S.G., Reemer, M., Rundlöf, M., Sheffield, C.S., Scheper, J., Schüepp, C., Smith, H.G., Stanley, D.A., Stout, J.C., Szentgyörgyi, H., Taki, H., Vergara, C.H., Viana, B.F., Woyciechowski, M., 2016. Non-bee insects are important contributors to global crop pollination. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 113, 146–151. https://doi.org/10.1073/pnas.1517092112

Ramsey, S.D., Ochoa, R., Bauchan, G., Gulbronson, C., Mowery, J.D., Cohen, A., Lim, D., Joklik, J., Cicero, J.M., Ellis, J.D., Hawthorne, D., vanEngelsdorp, D., 2019. *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 116, 1792–1801. https://doi.org/10.1073/pnas.1818371116

Reichmann, M.E., 1964. THE SATELLITE TOBACCO NECROSIS VIRUS: A SINGLE PROTEIN AND ITS GENETIC CODE. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 52, 1009–1017. https://doi.org/10.1073/pnas.52.4.1009

Rizzetto, M., Canese, M.G., Arico, S., Crivelli, O., Trepo, C., Bonino, F., Verme, G., 1977. Immunofluorescence detection of new antigen-antibody system (delta/anti-delta) associated to hepatitis B virus in liver and in serum of HBsAg carriers. Gut 18, 997–1003. https://doi.org/10.1136/gut.18.12.997

Routh, A., Ordoukhanian, P., Johnson, J.E., 2012. Nucleotide-Resolution Profiling of RNA Recombination in the Encapsidated Genome of a Eukaryotic RNA Virus by

Next-Generation Sequencing. Journal of Molecular Biology 424, 257–269. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2012.10.005

Runckel, C., Flenniken, M.L., Engel, J.C., Ruby, J.G., Ganem, D., Andino, R., DeRisi, J.L., 2011. Temporal Analysis of the Honey Bee Microbiome Reveals Four Novel Viruses and Seasonal Prevalence of Known Viruses, Nosema, and Crithidia. PLoS ONE 6, e20656. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020656

Ruttner, F., Hänel, H., 1992. Active defense against Varroa mites in a Carniolan strain of honeybee (Apis mellifera carnica Pollmann). Apidologie 23, 173–187. https://doi.org/10.1051/apido:19920210

Ryu, W.-S., 2017. Subviral Agents and Prions, in: Molecular Virology of Human Pathogenic Viruses. Elsevier, pp. 277–288. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800838-6.00020-5

Sammataro D, Gerson U, Needham G, 2000. Parasitic mites of honey bees: life history, implications, and impact. Annu Rev Entomol 45, 519–48.

Sanjuán, R., Domingo-Calap, P., 2021. Genetic Diversity and Evolution of Viral Populations, in: Encyclopedia of Virology. Elsevier, pp. 53–61. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.20958-8

Shen, M., Yang, X., Cox-Foster, D., Cui, L., 2005. The role of varroa mites in infections of Kashmir bee virus (KBV) and deformed wing virus (DWV) in honey bees. Virology 342, 141–149. https://doi.org/10.1016/j.virol.2005.07.012

Simon, A.E., Roossinck, M.J., Havelda, Z., 2004. PLANT VIRUS SATELLITE AND DEFECTIVE INTERFERING RNAS: New Paradigms for a New Century. Annu. Rev. Phytopathol. 42, 415–437. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.040803.140402

Stace-Smith, R., Reichmann, M.E., Wright, N.S., 1965. Purification and properties of tobacco ringspot virus and two RNA-deficient components. Virology 25, 487–494.

Staveley, J.P., Law, S.A., Fairbrother, A., Menzie, C.A., 2014. A Causal Analysis of Observed Declines in Managed Honey Bees (*Apis mellifera*). Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal 20, 566–591. https://doi.org/10.1080/10807039.2013.831263

Steinhauer, N., Kulhanek, K., Antúnez, K., Human, H., Chantawannakul, P., Chauzat, M.-P., vanEngelsdorp, D., 2018. Drivers of colony losses. Current Opinion in Insect Science 26, 142–148.

Sukumaran, A., Khanduri, V.P., Sharma, C.M., 2020. Pollinator-mediated self-pollination and reproductive assurance in an isolated tree of Magnolia grandiflora L. Ecol Process 9, 45. https://doi.org/10.1186/s13717-020-00254-5

Tantillo, G., Bottaro, M., Di Pinto, A., Martella, V., Di Pinto, P., Terio, V., 2015. Virus infections of honeybees Apis Mellifera. Ital J Food Safety 4. https://doi.org/10.4081/ijfs.2015.5364

Tapia-González, J.M., Morfin, N., Macías-Macías, J.O., De La Mora, A., Tapia-Rivera, J.C., Ayala, R., Contreras-Escareño, F., Gashout, H.A., Guzman-Novoa, E., 2019. Evidence of presence and replication of honey bee viruses among wild bee pollinators in subtropical environments. Journal of Invertebrate Pathology 168, 107256. https://doi.org/10.1016/j.jip.2019.107256

The Subviral Agents, 2005. , in: Virus Taxonomy. Elsevier, pp. 1145–1190. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-249951-7.50017-1

Tolin, S.A., 2008. Tobacco Viruses, in: Encyclopedia of Virology. Elsevier, pp. 60–67. https://doi.org/10.1016/B978-012374410-4.00575-6

Wang, W., Lin, X.-D., Liao, Y., Guan, X.-Q., Guo, W.-P., Xing, J.-G., Holmes, E.C., Zhang, Y.-Z., 2017. Discovery of a Highly Divergent Coronavirus in the Asian House Shrew from China Illuminates the Origin of the Alphacoronaviruses. J Virol 91, e00764-17. https://doi.org/10.1128/JVI.00764-17

Watzinger, F., Ebner, K., Lion, T., 2006. Detection and monitoring of virus infections by real-time PCR. Molecular Aspects of Medicine 27, 254–298. https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.12.001

Wilfert, L., Long, G., Leggett, H.C., Schmid-Hempel, P., Butlin, R., Martin, S.J.M., Boots, M., 2016. Deformed wing virus is a recent global epidemic in honeybees driven by *Varroa* mites. Science 351, 594–597. https://doi.org/10.1126/science.aac9976

Yañez, O., Piot, N., Dalmon, A., de Miranda, J.R., Chantawannakul, P., Panziera, D., Amiri, E., Smagghe, G., Schroeder, D., Chejanovsky, N., 2020. Bee Viruses: Routes of Infection in Hymenoptera. Front. Microbiol. 11, 943. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00943

Yañez O, Piot N, Dalmon A, de Miranda JR, Chantawannakul P, Panziera D, Amiri E, Smagghe G, Schroeder D, Chejanovsky N, 2020. Bee Viruses: Routes of Infection in Hymenoptera. Front Microbiol 11, 943.

Yang, Q., Gao, C., Jiang, Y., Wang, M., Zhou, X., Shao, H., Gong, Z., McMinn, A., 2019. Metagenomic Characterization of the Viral Community of the South Scotia Ridge. Viruses 11, 95. https://doi.org/10.3390/v11020095

TABLE

Table 01. Acronyms of the names of the viruses studied in this research.

ACRONYM	NAME
ABPV	*Acute bee paralysis virus*
ABV	*Arkansas bee virus*
ABV-1	*Apis mellifera bunyavirus 1*
ABV-2	*Apis mellifera bunyavirus 2*
AcSBV	*Apis cerana sacbrood virus*
AD	*Apis dicistrovirus*
AhNLV	*Andrena haemorrhoa nege-like virus*
AIV	*Apis iridescent virus*
ALPV	*Aphid lethal paralysis virus*
AmF	*Apis mellifera flavivirus*
AmFV	*Apis mellifera filamentous virus*
AnBV-1	*Andrena-associated bee virus*
ANV-1	*Apis mellifera nora virus 1*
ANV-2	*Apis mellifera nora virus 2*
ArMV	*Arabis mosaic virus*
ARV-1	*Apis mellifera rhabdovirus-1*
ARV-2	*Apis mellifera rhabdovirus-2*
BBPV	*Berkeley bee paralysis virus*
BBV-1	*Bundaberg bee virus 1*
BeeMLV	*Bee macula-like virus*
BQCV	*Black queen cell virus*
BRV-1	*Bee rhabdovirus 1*
BRV-2	*Bee rhabdovirus 2*
BSRV	*Big sioux river virus*
BVX	*Bee virus X*
BVY	*Bee virus Y*
CVA	*Cherry virus A*
CBPSV	*Chronic bee paralysis satellite virus*
CBPV	*Chronic bee paralysis virus*
CLRV	*Cherry leaf roll virus*
CSBV	*Chinese sacbrood virus*

CWV	*Cloudy wing virus*
DBV-2	*Darwin bee virus 2*
DLV	*Dicistro-like virus*
DWV	*Deformed wing virus*
EBV	*Egypt bee virus*
EV	*Empeyrat virus*
FHV	*Flock house virus*
GABV	*Ganda bee virus*
HBV	*Hobart bee virus*
HPLV	*Hubei picorna-like virus*
HSAV	*Halictus scabiosae adlikon virus*
IAPV	*Israeli acute paralysis virus*
KBV	*Kashmir bee virus*
KiV	*Kilifi virus*
KV	*Kakugo virus*
LJV	*La jolla virus*
LMV	*Loch morlich virus*
LSV-1	*Lake sinai virus 1*
LSV-2	*Lake sinai virus 2*
MoV	*Moku virus*
MqC-1	*Melipona quadrifasciata cyclovirus 1*
MqC-2	*Melipona quadrifasciata cyclovirus 2*
MqD	*Melipona quadrifasciata densovirus*
MqV1a	*Melipona quadrifasciata virus 1a*
MqV1b	*Melipona quadrifasciata virus 1b*
MqV2	*Melipona quadrifasciata virus 2*
MV-1	*Mayfield virus 1*
MV-2	*Mayfield virus 2*
NoLV	*Noda-like virus*
OcNV	*Osmia cornuta nudivirus*
PBV-1	*Perth bee virus 1*
PBV-2	*Perth bee virus 2*
PDV	*Prune dwarf virus*
PLV	*Partiti-like virus*

SUPPLEMENTARY FIGURES

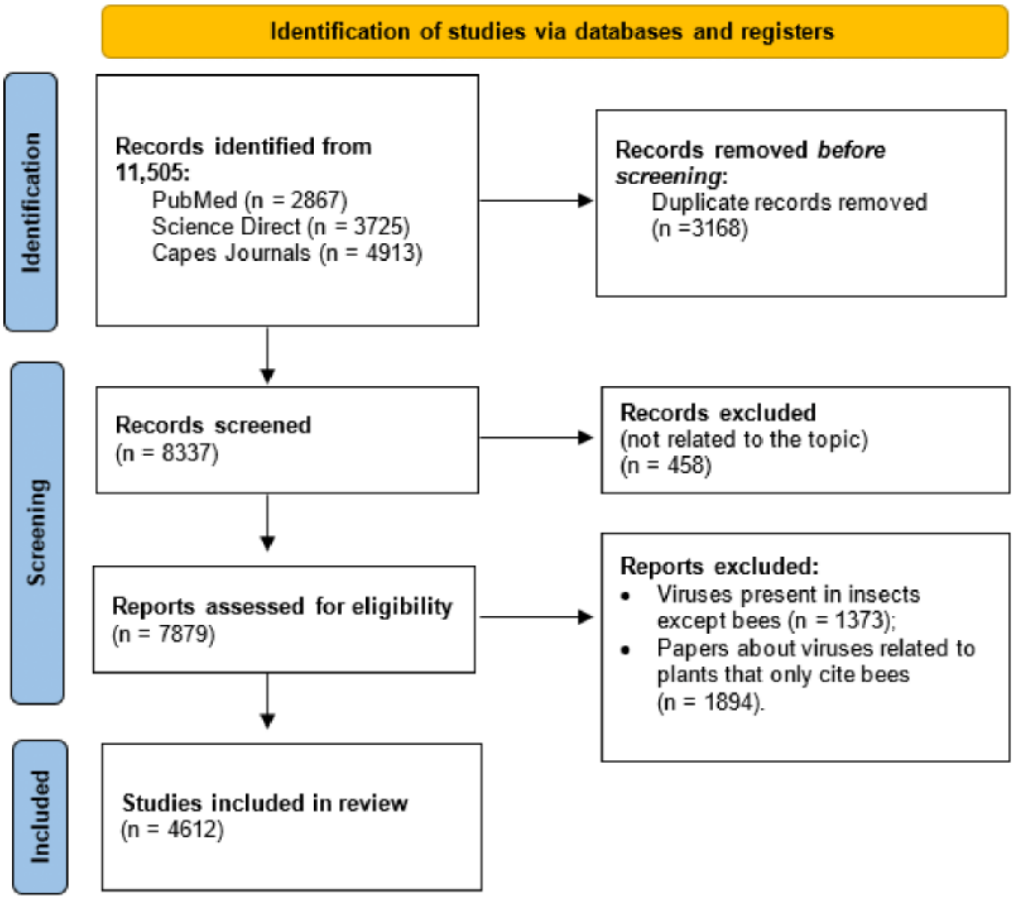

Figure S1. PRISMA Flow Diagram. This scheme shows the systematic process followed to include publications captured by this research related to viruses that infect bees and other insects.

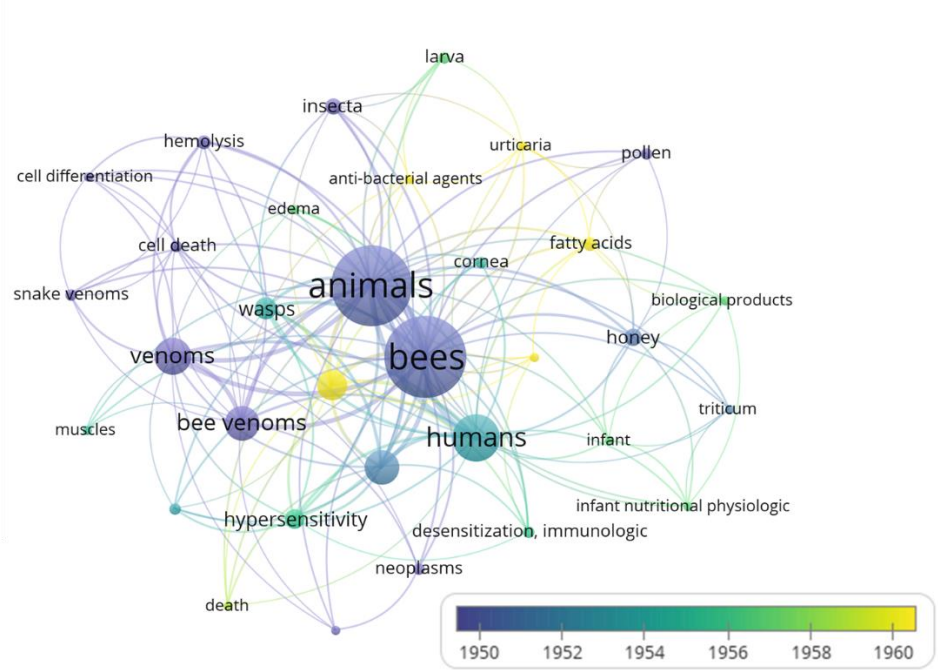

Figure S2. Publications of the bee literature in the 1950s.

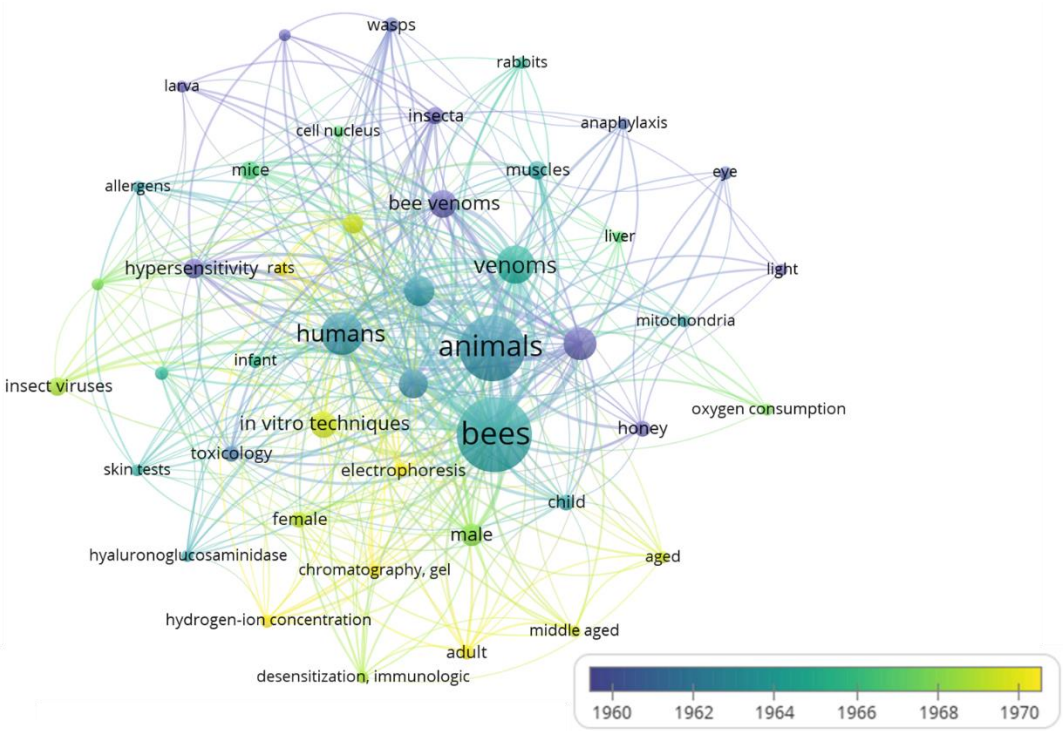

Figure S3. Publications of the bee literature in the 1960s.

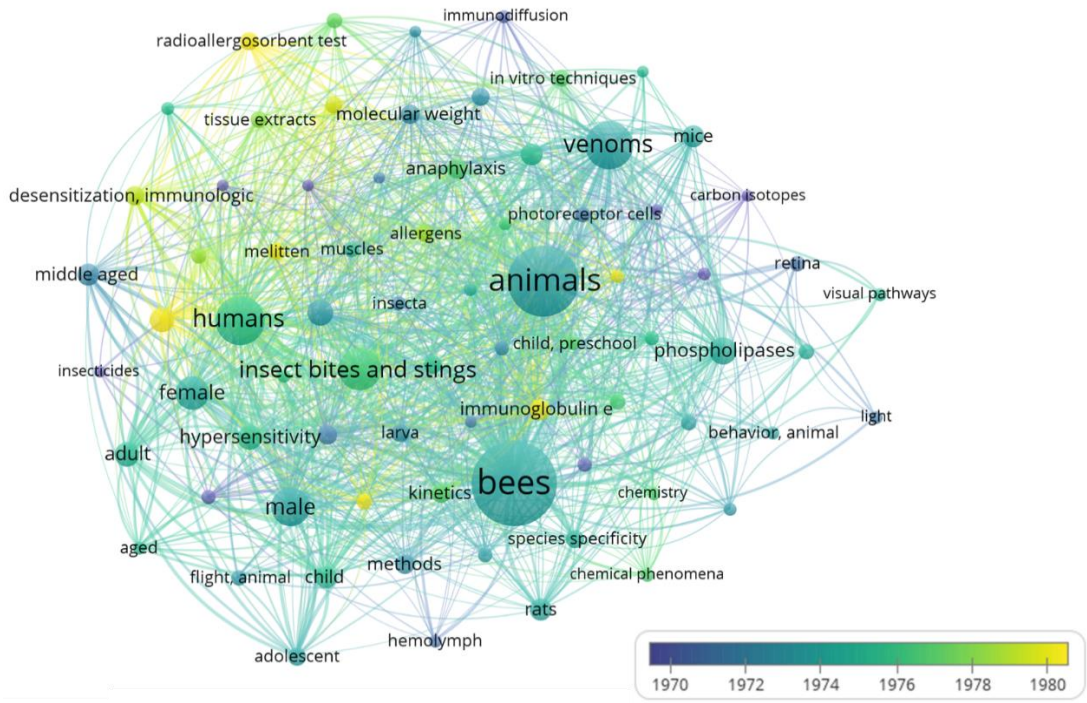

Figure S4. Publications of the bee literature in the 1970s.

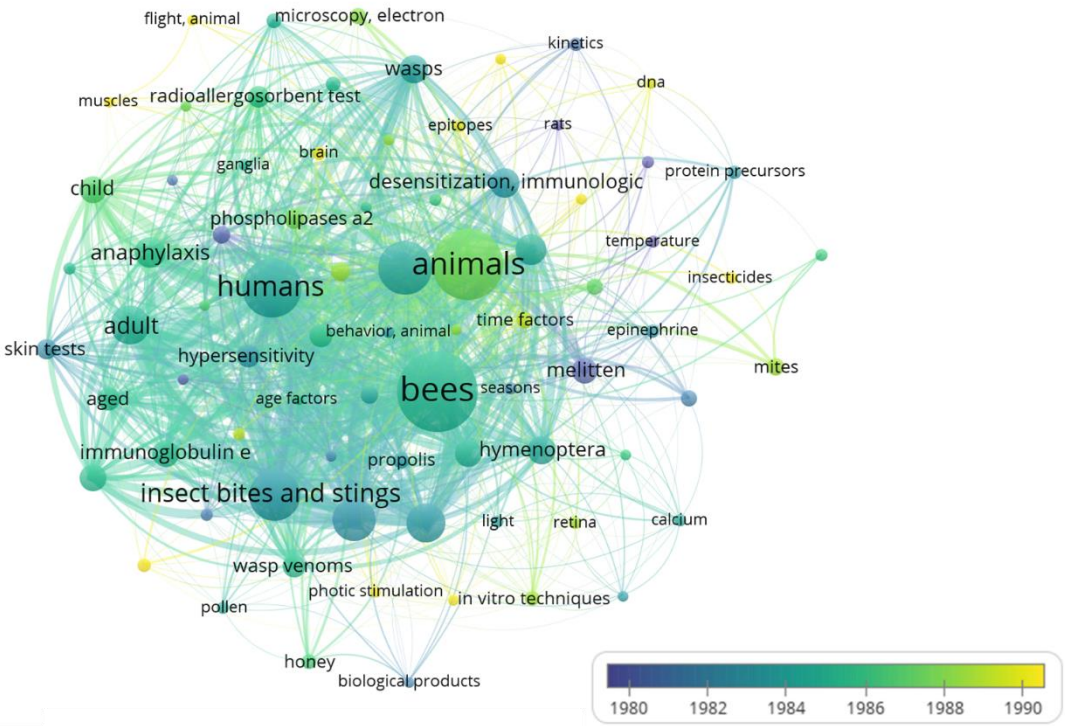

Figure S5. Publications of the bee literature in the 1980s.

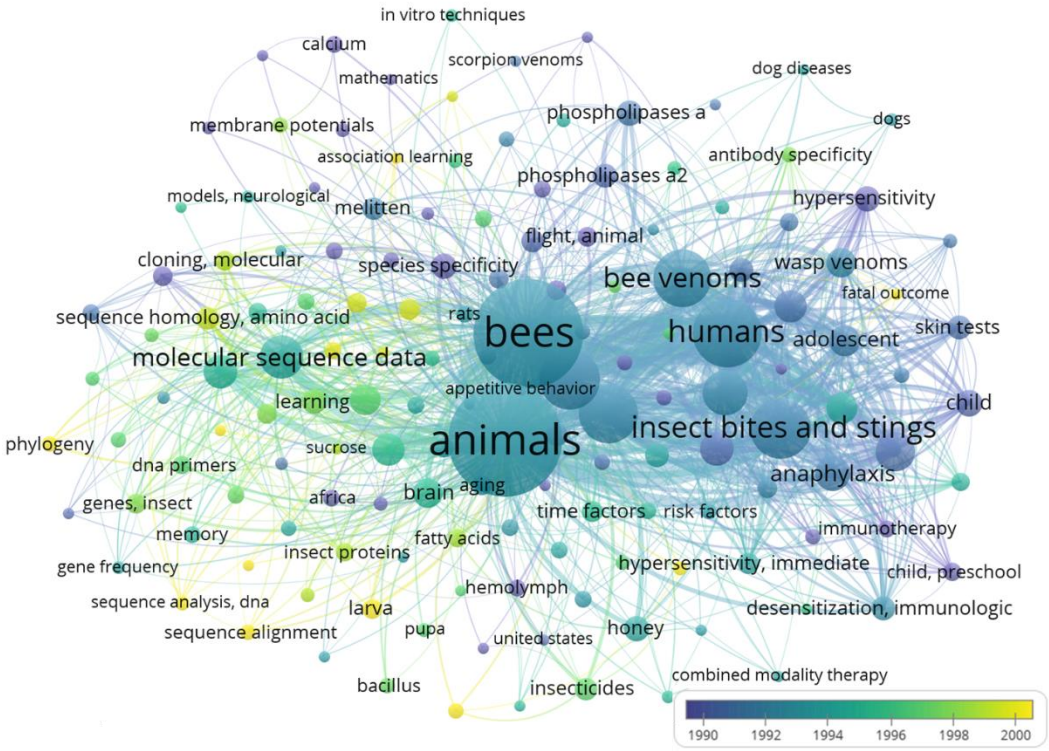

Figure S6. Publications of the bee literature in the 1990s.

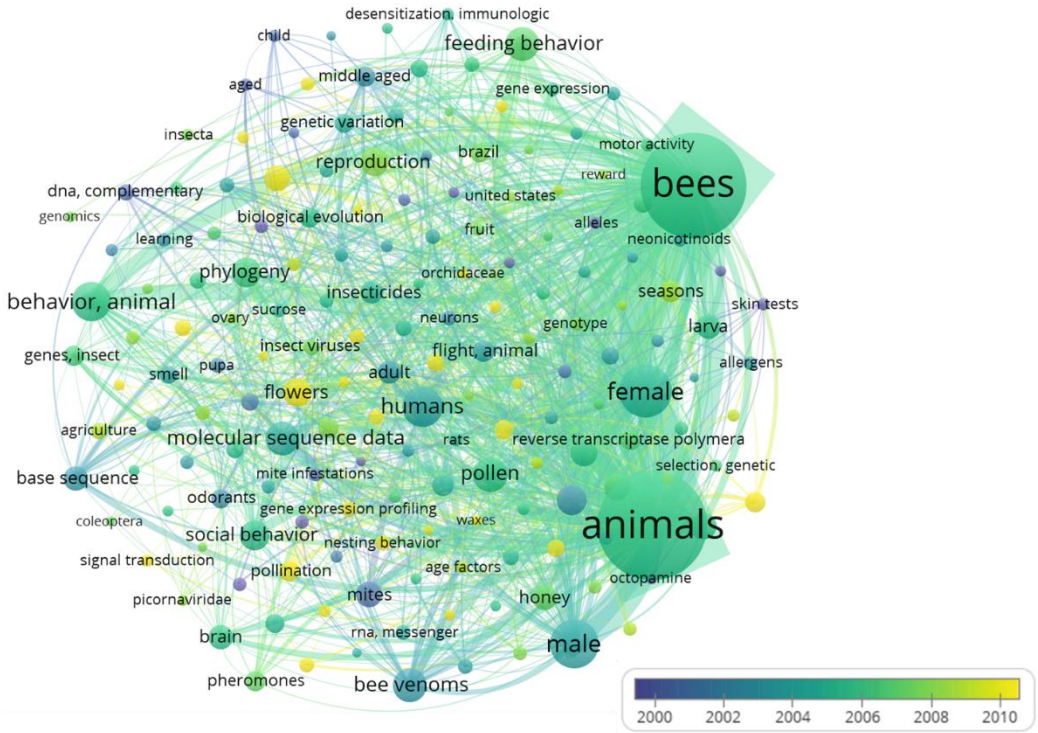

Figure S7. Publications of the bee literature in the 2000s.

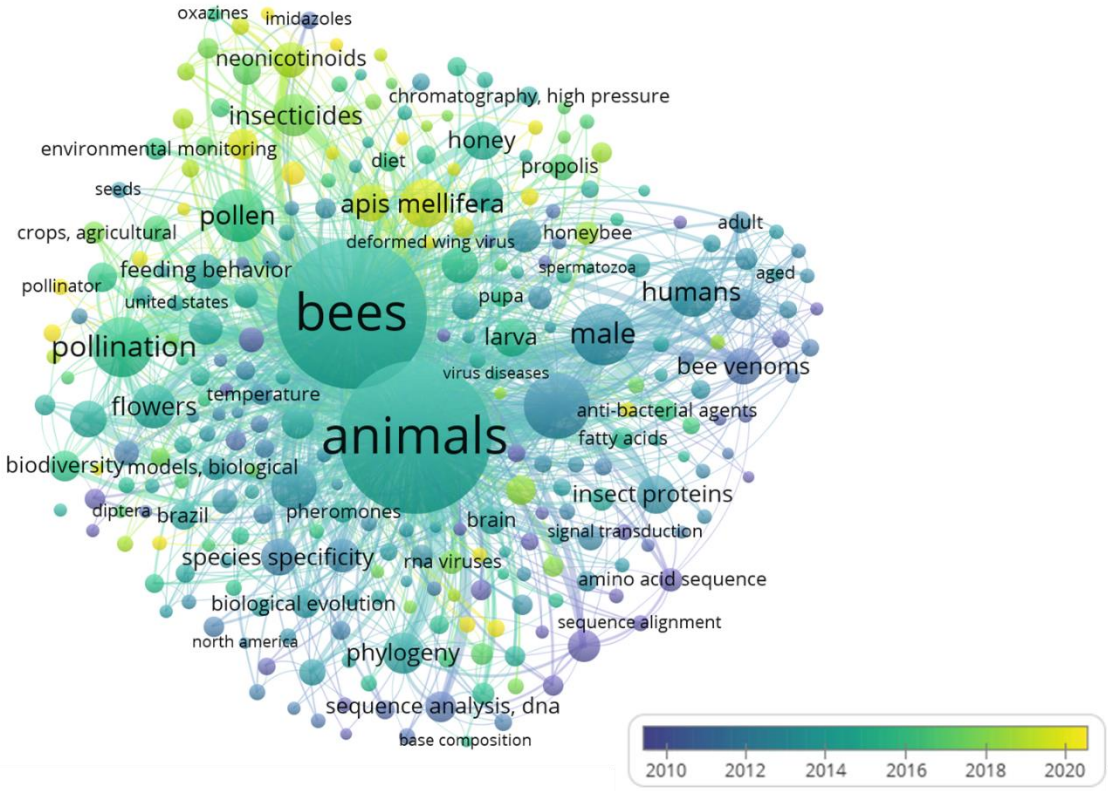

Figure S8. Publications of the bee literature in the 2010s.

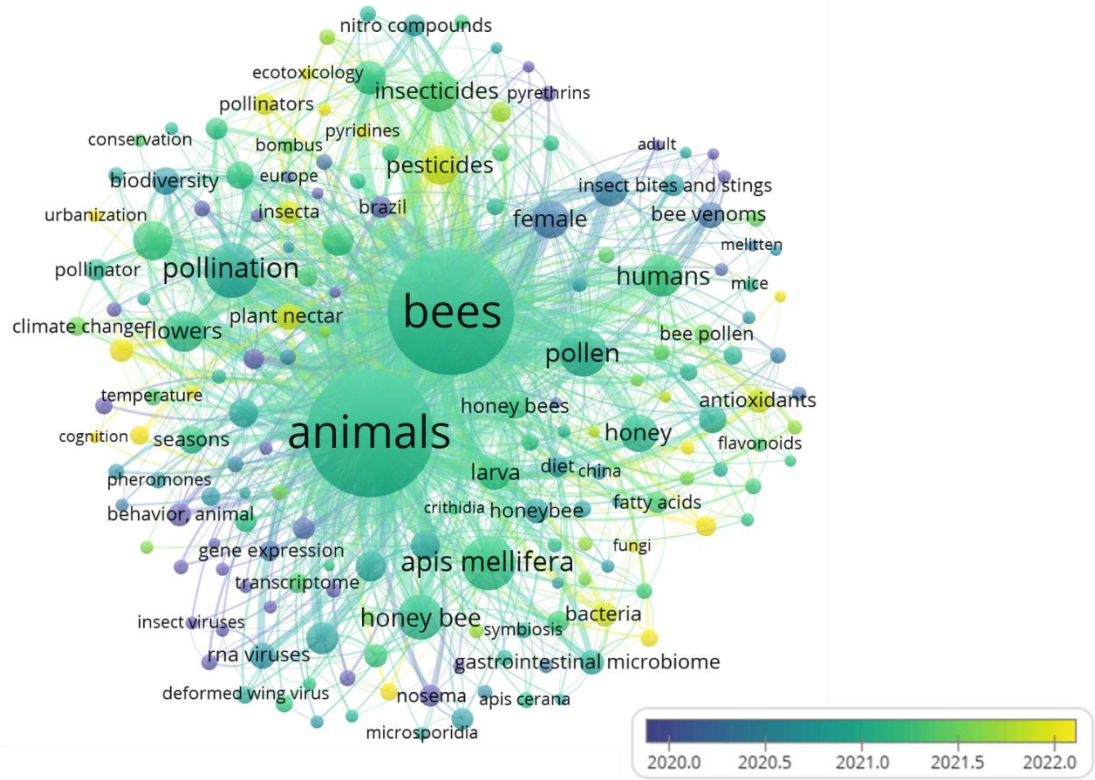

Figure S9. Publications of the bee literature from 2020 to 2022.

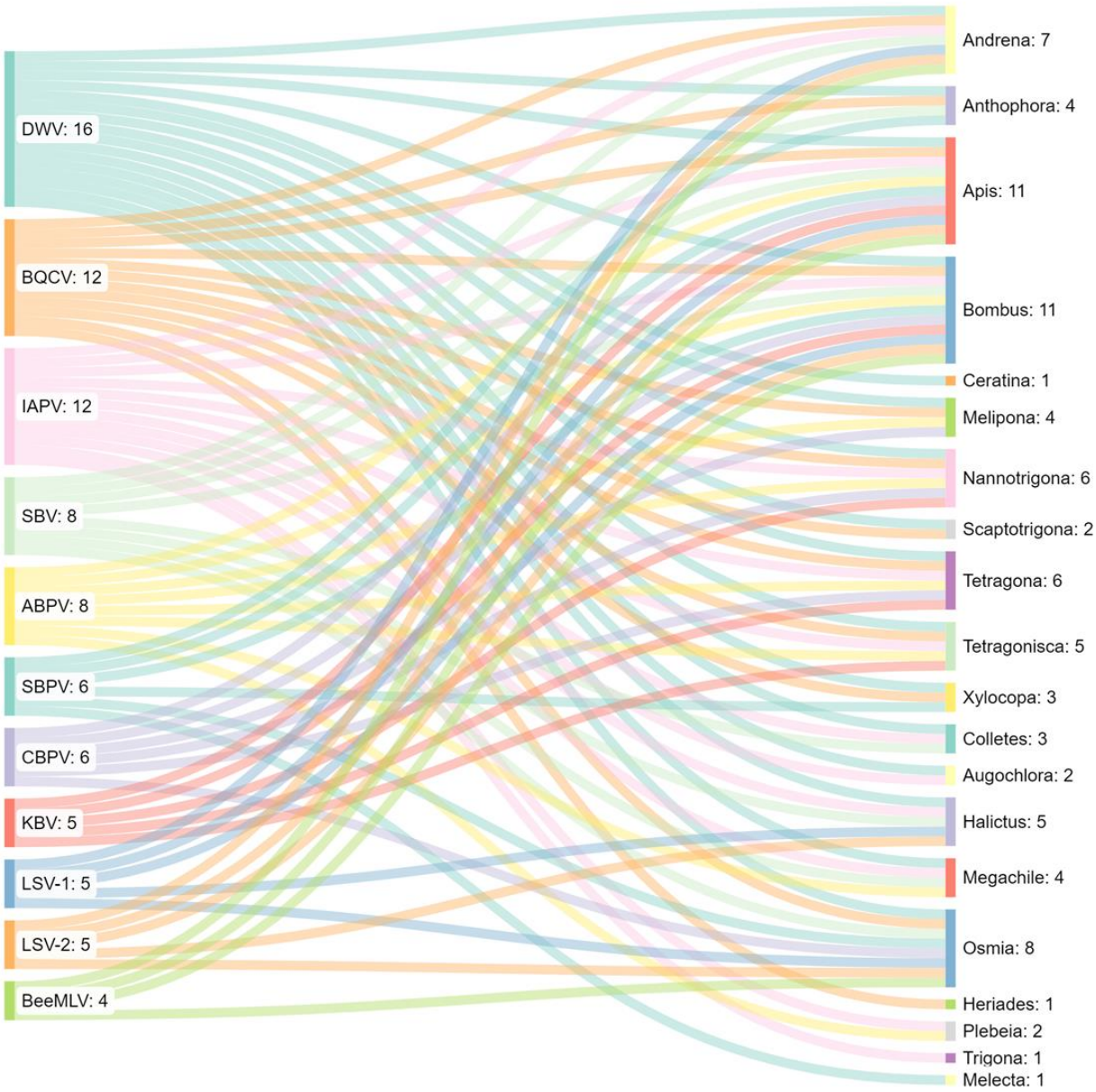

Figure S10. Viruses (left) that infect genera of bees (right).

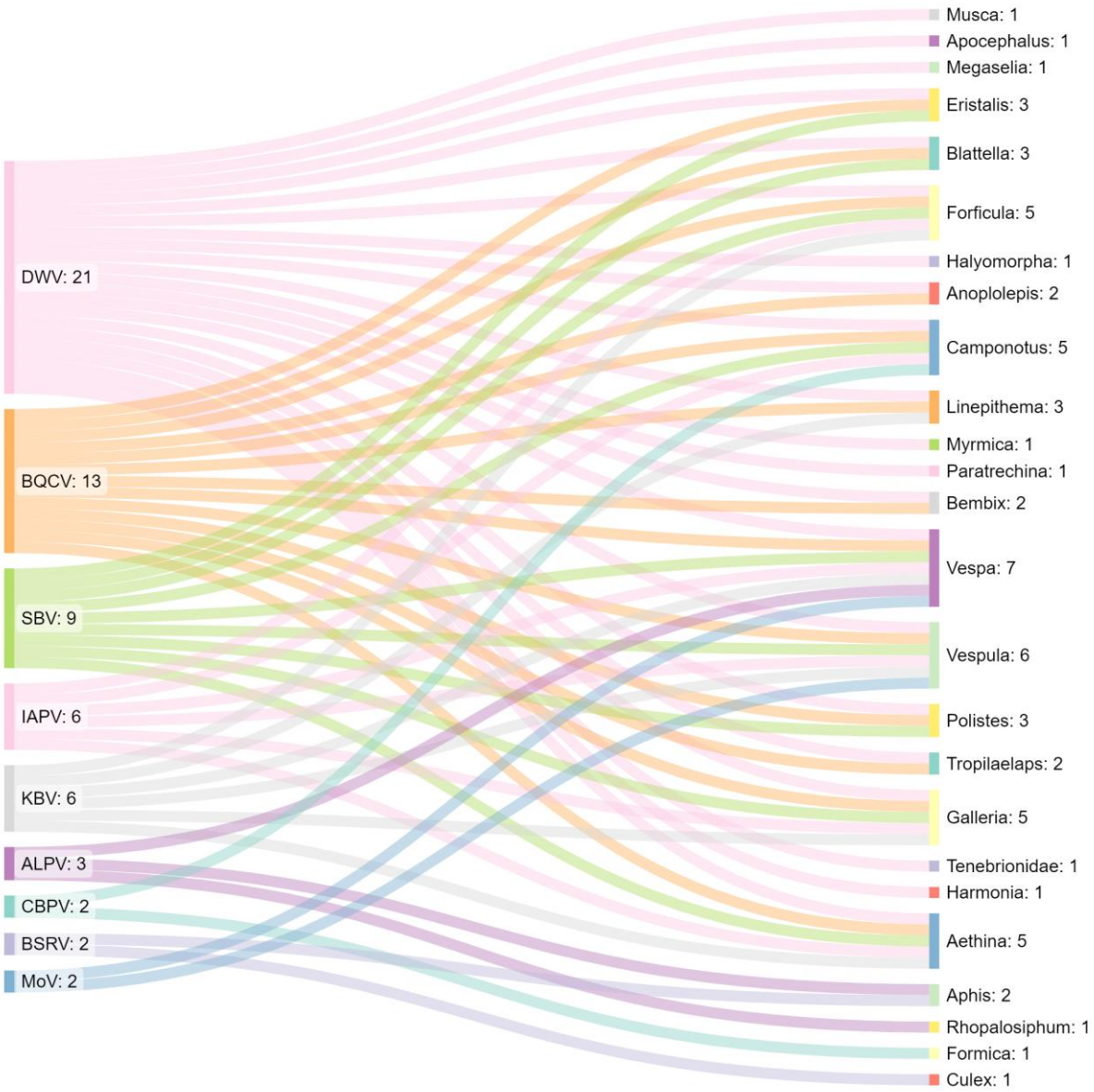

Figure S11. Viruses (left) that infect genera of insects (right).

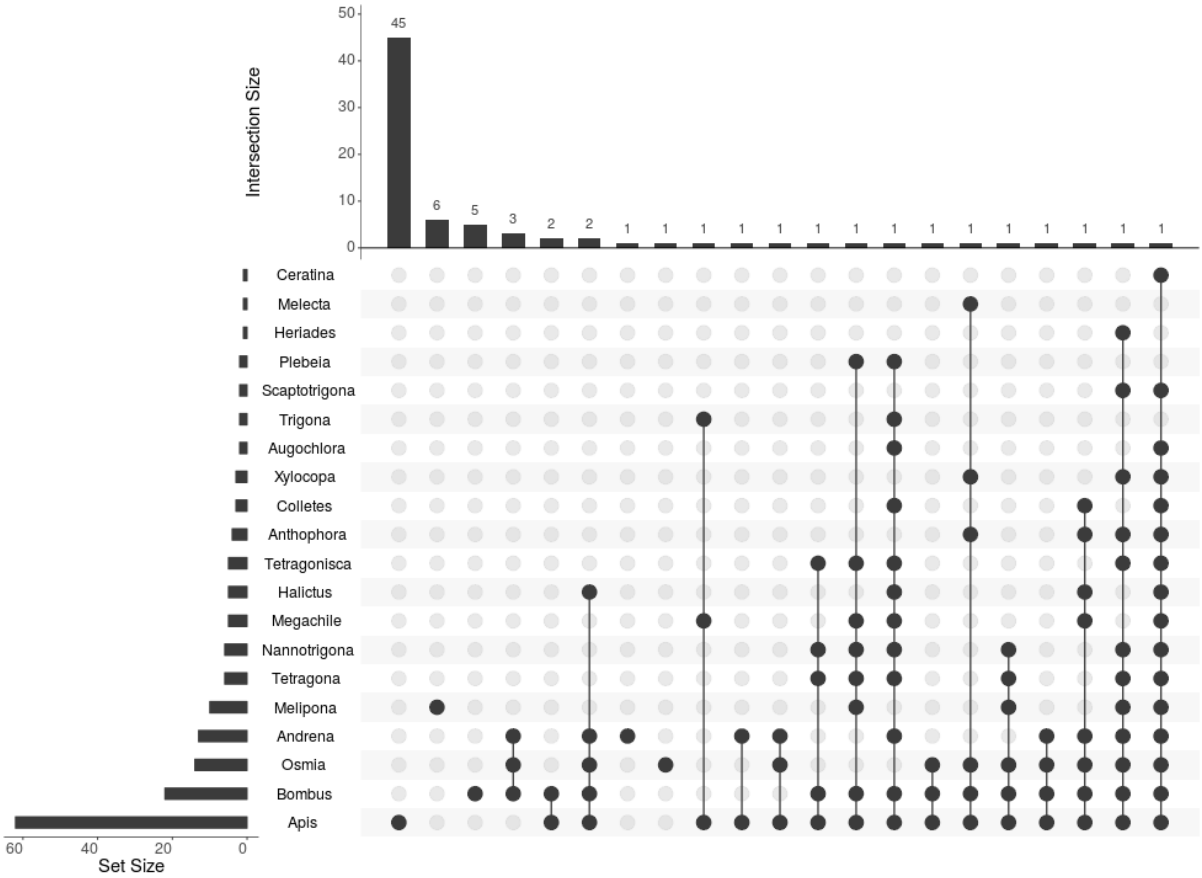

Figure S12. Intersection plot for viruses that infect bees.

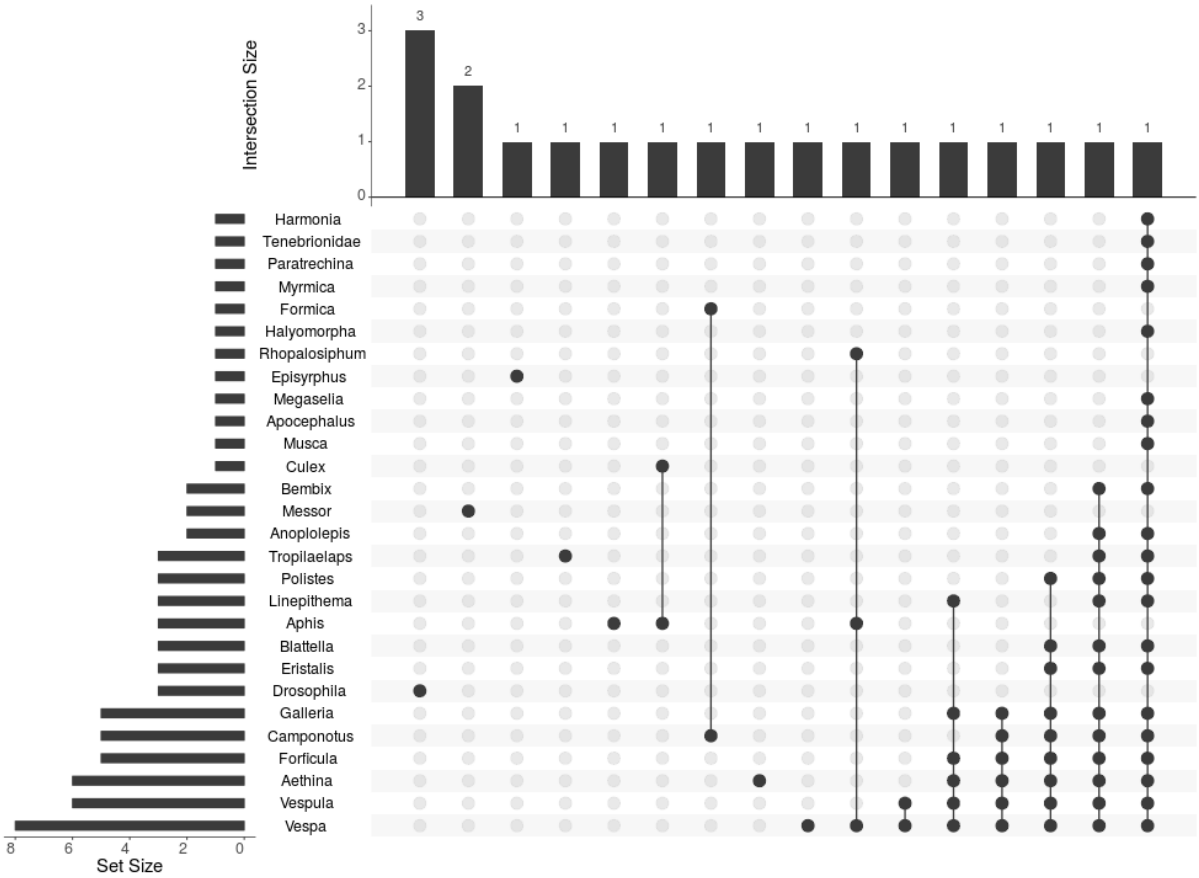

Figure S13. Intersection plot for viruses that infect insects.

SUPPLEMENTARY FILES

Table S1 - Viruses and Hosts

Table S2 - Taxonomy of Bee Viruses

Table S3 - Widespread Occurrence of Bee Viruses

Table S4 - Bee Viruses Discovery

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos dados coletados por este estudo, pudemos observar que os gêneros de abelhas mais estudados na literatura são Apis, Bombus, Melipona, Osmia e Megachile. Dentre os 86 vírus de abelhas catalogados neste estudo, DWV, SBV, BQCV, ABPV, IAPV e CBPV são os mais abundantes em termos de publicações. Os gêneros de abelhas que apresentaram mais estudos envolvendo infecções virais são Apis, Bombus, Osmia, Plebeia e Andrena. Embora alguns países, como Estados Unidos, China e Reino Unido, estejam na vanguarda entre os maiores produtores de conhecimento na literatura sobre abelhas, alguns outros países, que possuem espécies endêmicas de abelhas, como Brasil e Argentina, estão sub-representado no cenário mundial de publicações.

O perfil de diversidade viral encontrado neste estudo destacou vírus de RNA de fita simples e sentido positivo, abrangendo as principais famílias de vírus na literatura: *Dicistroviridae*, *Iflaviridae*, *Tymoviridae*, *Secoviridae*, *Nodaviridae*, *Rhabdoviridae* e *Sinhaliviridae*. O tamanho médio do genoma dos principais vírus na literatura está entre 8.000 e 10.000 pb, com diâmetro médio das partículas virais em torno de 30 nm.

Também foi possível observar quais vírus apresentaram infecção em outros insetos. Os mais proeminentes são DWV e BQCV, infectando quase todos os gêneros de abelhas estudados nesta pesquisa, além dos gêneros Vespa, Vespula, Aethina, Forficula e Camponotus, alguns dos principais gêneros observados em nossas buscas. Outros vírus que merecem destaque por infectar tanto abelhas quanto outros insetos são SBV, IAPV, CBPV, KBV, MoV, ALPV e AmFV. Os vírus de abelhas que também infectam outros insetos são predominantemente das famílias *Dicistroviridae*, *Iflaviridae* e *Rhabdoviridae*. As duas primeiras famílias são as famílias mais proeminentes entre todas as famílias de vírus (exclusivas ou não em abelhas). Portanto, é aceitável pesquisar possíveis repercussões nessas famílias.

Em se tratando de genoma, os vírus que infectam somente abelhas sao, em sua maioria, de RNA de cadeia simples e senso positivo. Apenas uma pequena parcela, totalizando quase 6.0% de todos os vírus encontrados neste estudo, sao vírus de DNA que infectam somente abelhas. Os vírus de +ssRNA são também os majoritários dentre os vírus que infectam abelhas e outros insetos. Dentre os vírus que

infectam abelhas e outros insetos, os quais representam 28.6% da totalidade de vírus desse estudo, 25.0% são vírus de RNA e de cadeia simples e senso positivo. Isso mostra uma possível tendência no perfil de vírus que possam vir a apresentar *spillover* para outros hospedeiros além das abelhas, provavelmente devido a alta taxa de mutação dos vírus de fita simples de RNA que podem favorecer essa mudança de hospedeiro.

Para trabalhos futuros, prevemos um estudo mais aprofundado sobre os vírus que infectam as abelhas e outros insetos. Um estudo detalhado analisando dinucleotídeos e, especificamente, códons desses vírus pode elucidar tendências moleculares para a migração de abelhas para outros insetos, bem como uma possível previsão do perfil de infecção em novos reservatórios.

6 REFERÊNCIAS

ADAMSON, N. L. An Assessment of Non-Apis Bees as Fruit and Vegetable Crop Pollinators in Southwest Virginia. **Wayback Machine**. Diss. 2011.

AUFAUVRE J., BIRON D. G., VIDAU C., FONTBONNE R., ROUDEL M., DIOGON M., VIGUÈS B., BELZUNCES L. P., DELBAC F., BLOT N. Parasite - insecticide interactions: a case study of Nosema ceranae and fipronil synergy on honeybee. **Scientific Reports** 2:326. 2012.

BAKER, A. C.; SCHROEDER, D. C. The use of RNA-dependent RNA polymerase for the taxonomic assignment of Picorna-like viruses (order Picornavirales) infecting *Apis mellifera* L. populations. **Virology Journal**. 5: 10. 2008.

BAILEY, L. The biology of Acarapis woodi (Rennie) and its effect on the honey bee. Bee World, 41(10), 248-257. 1960

BAILEY, L.; BALL, B. V.; PERRY, J. N. Honeybee Paralysis: Its Natural Spread and its Diminished Incidence in England and Wales. **Journal of Apicultural Research**. 22 (3). 1983.

BAILEY, L.; BALL, B. V. Honey Bee Pathology. **Academic Press**. p. 119. 1991.

BAKONYI, T.; GRABENSTEINER, E.; KOLODZIEJEK, J. et al. Phylogenetic analysis of acute bee paralysis virus strains. **Appl. Environ. Microbiol**. 68 (12): 6446–50. 2002.

BONNING, BRYONY C. "The Dicistroviridae: An emerging family of invertebrate viruses". Virologica Sinica. 24 (5): 415–427. 2009.

BOWEN-WALKER, P. L., & GUNN, A. The Isle of Wight Disease: historical and ecological perspectives. Journal of Apicultural Research, 40(1-2), 38-52. 2001.

BEE, W. **The Hive: the Story of the Honeybee**. London: John Murray. 2004.

BRETTELL, L. E.; MORDECAI, G. J.; SCHROEDER, D. C.; JONES, I. M.; DA SILVA, J. R.; VICENTE-RUBIANO, M.; MARTIN, S. J. A Comparison of Deformed Wing Virus in Deformed & Asymptomatic Honey Bees. **Insects**. 8 (1): 28. 2017.

BROMENSHENK, J. J.; HENDERSON, C. B.; WICK, C. H.; STANFORD, M. F.; ZULICH, A. W.; JABBOUR, R. E.; DESHPANDE, S. V.; MCCUBBIN, P. E.; SECCOMB, R. A.; WELCH, P. M.; WILLIAMS, T.; FIRTH, D. R.; SKOWRONSKI, E.; LEHMANN, M. M.; BILIMORIA, S. L.; GRESS, J.; WANNER, K. W.; CRAMER JR., R. A. Iridovirus and Microsporidian Linked to Honey Bee Colony Decline. **PLOS ONE**. 5 (10): e13181. 2010.

CANE, J. H., & TEPEDINO, V. J. Causes and extent of declines among native North American invertebrate pollinators: detection, evidence, and consequences. **Conservation Ecology**, 21(1), 1-19. 2017.

CARRINGTON, D. EU agrees total ban on bee-harming pesticides. **The Guardian**. 2018.

CEPERO, A; RAVOET, Jorgen; Gómez-Moracho, Tamara; Bernal, José Luis; Del Nozal, Maria J.; Bartolomé, Carolina; Maside, Xulio; Meana, Aránzazu; González-Porto, Amelia V.; de Graaf, Dirk C.; Martín-Hernández, Raquel; Higes, Mariano. Holistic screening of collapsing honey bee colonies in Spain: a case study. **BMC Research Notes**. 7: 649. 2014.

CHEN, Y. P., SIEDE, R. Honeybee viruses. **Advances in Virus Research.** 90:33-80. 2014.

CONNOR, S. Wild bees just as important as domesticated bees for pollinating food crops. **The Independent**. 2015. Disponível em: <https://www.independent.co.uk/news/science/wild-bees-found-to-be-just-as-important-as-honeybees-for-pollinating-food-crops-10324450.html> Acesso em 12 de julho de 2020.

DAFNI, AMOTS; HESSE, MICHAEL; PACINI, ETTORE. **Pollen and Pollination**. Springer Science & Business Media. p. 80. ISBN 978-3-7091-6306-1. 2012.

DAMIANI, N; GENDE, L. B.; BAILAC, P.; MARCANGELI, J. A. EGUARAS, M. J. Acaricidal and insecticidal activity of essential oils on *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) and Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae). **Parasitology Research**. 106 (1): 145–152. 2009.

DANFORTH, B. N.; SIPES, S.; FANG, J.; BRADY, S. G. (October 2006). The history of early bee diversification based on five genes plus morphology. **PNAS - Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. 103 (41): 15118–15123. Bibcode:2006PNAS..10315118D. doi:10.1073/pnas.0604033103

DENMARK, H. A.; CROMROY, H. L.; MALCOLM T. SANFORD, M. T. Honey bee tracheal mite, Acarapis woodi. **Featured Creatures**. University of Florida. 2011.

DRAKE, S. A. New England Legends and Folk Lore. Boston: Little Brown and Co. 1901.

JOHANNES ECKERT, KARL THEODOR FRIEDHOFF, HORST ZAHNER, PETER DEPLAZES: **Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin**. 2nd Ed., Georg Thieme 2008, ISBN 978-3-8304-1072-0, p. 140.

FAIRBROTHER, A.; PURDY, J.; ANDERSON, T.; FELL, R. Risks of neonicotinoid insecticides to honeybees. **Environmental Toxicology and Chemistry**. 33 (4): 719–31. 2014.

FORSGREN, E., & DE MIRANDA, J. R. Is Acute Bee Paralysis Virus a single disease-inducing agent or a coevolved set of viruses and their vectors?. **PLoS pathogens**, 6(6), e1000769. 2010.

FRIES, I. Nosema ceranae in European honey bees (Apis mellifera). **Journal of Invertebrate Pathology**. 103: S73–S79. 2010.

GALL, OLIVIER LE; CHRISTIAN, PETER; FAUQUET, CLAUDE M.; KING, ANDREW M. Q.; KNOWLES, NICK J.; NAKASHIMA, NOBUHIKO; STANWAY, GLYN; GORBALENYA, ALEXANDER E. (2008-04-01). Picornavirales, a proposed order of positive-sense single-stranded RNA viruses with a pseudo-T = 3 virion architecture. **Archives of Virology**. 153 (4): 715.

GENERSCH, E.; YUE, C.; FRIES, I.; DE MIRANDA, J. R. Detection of Deformed wing virus, a honey bee viral pathogen, in bumble bees (Bombus terrestris and Bombus pascuorum) with wing deformities. **Journal of Insect Pathology**. 91 (1): 61–63. 2006. GOODMAN, L; BALL, R. A. **Honey Bee Pathology**. San Diego: Academic Press. p. 14. 2014.

GOULSON, D.; NICHOLLS, E.; BOTÍAS, C.; ROTHERAY, E. L. Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. **Science**. 347 (6229): 1255957. 2015.

GRAYSTOCK, P.; YATES, K.; EVISON, S. E. F.; DARVILL, B.; GOULSON, D.; HUGHES, W. O. H.; OSBORNE, J. The Trojan hives: pollinator pathogens, imported and distributed in bumblebee colonies. **Journal of Applied Ecology**: n/a. 2013.

GRIXTI, J. C., WONG, L. T., CAMERON, S. A., & FAVRET, C. Decline of bumble bees (Bombus) in the North American Midwest. **Biological Conservation**, 142(1), 75-84. 2009.

GUNN, ALAN; BOWEN WALKER, P. L.; MARTIN, S. J. The transmission of deformed wing virus between honeybees (Apis mellifera L.) by the ectoparasitic mite Varroa jacobsoni Oud. **Journal of Invertebrate Pathology**. 73 (1): 101–106. 1999.

HOOD, Michael. The small hive beetle, Aethina tumida: a review. **Bee World**. 85 (3): 51–59. 2004.

HUMPDEN, N. N.; NATHAN, G. N. Effects of plant structure on butterfly diversity in Mt. Marsabit Forest – northern Kenya. **African Journal of Ecology**. 48 (2): 304–312. 2010.

KAIRO G, BIRON D.G, BEN A.F, BONNET M, TCHAMITCHIAN S, COUSIN M & BRUNET J.L (2017) Nosema ceranae, Fipronil and their combination compromise honey bee reproduction via changes in male physiology. Scientific reports, 7(1), 8556.

KLEIN, A. M., VAISSIÈRE, B. E., CANE, J. H., STEFFAN-DEWENTER, I., CUNNINGHAM, S. A., KREMEN, C., & TSCHARNTKE, T. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 274(1608), 303-313. 2007.

KLUSER, S.; NEUMANN, P.; CHAUZAT, M.; PETTIS, J. S.; PEDUZZI, P.; WITT, R.; FERNANDEZ, N.; THEURI, M. Global honey bee colony disorders and other threats to insect pollinators. **Report**. University of Geneva. 2010.

KNIPE, D. M., & HOWLEY, P. M. (Eds.). **Fields virology**. Lippincott Williams & Wilkins. 2013.

KUEHN, F. C. Farming for native bees. **World Wide Web electronic publication**. 2015.

LEAT, NEIL; BALL, BRENDA; GOVAN, VANDANA; DAVISON, SEAN (2000). "Analysis of the complete genome sequence of black queen-cell virus, a picorna-like virus of honey bees". Journal of General Virology. 81 (8): 2111–2119.

LIU, YAJUAN J.; HODSON, MATTHEW C.; HALL, BENJAMIN D. (2006). "Loss of the flagellum happened only once in the fungal lineage: Phylogenetic structure of kingdom Fungi inferred from RNA polymerase II subunit genes". BMC Evolutionary Biology. 6: 74.

MICHENER, CHARLES D. **The Bees of the World**. Johns Hopkins University Press. pp. 19–25. ISBN 0-8018--6133-0. 2000.

McCARTHY, M. Decline of honey bees now a global phenomenon, says United Nations. **Independent**. 2011. Disponível em: <https://www.independent.co.uk/environment/nature/decline-of-honey-bees-now-a-global-phenomenon-says-united-nations-2237541.html>. Acesso em 13 de julho de 2020.

MILANI, N.; ACCORTI, M. **Acarapis woodi:** a review. Bee World, 56(3), 105-113. 1975.

MURPHY, F. A., GIBBS, E. P. J., HORZINEK, M. C., & STUDDERT, M. J. **Veterinary virology**. Academic press. 2013.

MUTH, FELICITY; FRANCIS, JACOB S.; LEONARD, ANNE S. Bees use the taste of pollen to determine which flowers to visit. **Biology Letters**. 12 (7): 20160356. 2016.

OLIVIER, V.; BLANCHARD, PHILIPPE; CHAOUCH, SORAYA; LALLEMAND, PERRINE; SCHURR, FRANK; CELLE, OLIVIER; DUBOIS, ERIC; TORDO, NOËL; THIÉRY, RICHARD; HOULGATTE, RÉMI; RIBIÈRE, MAGALI. Molecular characterisation and phylogenetic analysis of chronic bee paralysis virus, a honey bee virus. **Virus Research**. 132 (1–2): 59–68. 2008.

OLLERTON, J.; WINFREE, R.; TARRANT, S. How many flowering plants are pollinated by animals? **Oikos,** 119(2), 321-327. 2011.

PENG, Y., LIANG, X., LI, J., CHEN, C., & ZHANG, X. Bee Virus Research in the Big Data Era: Current Progress and Future Directions. **Insects**, 10(11), 389. 2019.

POLTEV, V. I. **Bolezni Pchel**, 4th ed. Leningrad, 1964.

POSADA-FLOREZ, F., CHILDERS, A.K., HEERMAN, M.C. et al. Deformed wing virus type A, a major honey bee pathogen, is vectored by the mite Varroa destructor in a non-propagative manner. **Sci Rep 9**, 12445. 2019.

POTTS, S.; BIESMEIJER, J. C. KREMEN, C.; NEUMANN, P.; SCHWEIGER, O.; KUNIN, W. E. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. **Trends in Ecology & Evolution**. 25 (6): 345–53. 2010.

POWELL, B. B. **Classical Myth**. Boston: Pearson. 8ª Ed. 2015.

RADLOFF, S. E., HEPBURN, H. R., & ENGEL, M. S. Honeybees of Asia. **Springer Science & Business Media**. 2010.

RANGEL, J.; GIRESI, M.; PINTO, M. A.; BAUM, K. A.; RUBINK, W. L.; COULSON, R. N.; JOHNSTON, J. S. Africanization of a feral honey bee (Apis mellifera) population in South Texas: does a decade make a difference?. **Ecology and Evolution**. 6 (7): 2158–2169. 2016.

RIBIÈRE, M.; OLIVIER, V.; BLANCHARD, P. Chronic bee paralysis: A disease and a virus like no other? **Journal of Invertebrate Pathology**. 103: S120–S131. 2010.

ROSEN, B. **The Mythical Creatures Bible**: The Definitive Guide to Legendary Beings. Nova Iorque: Sterling Publishing Company, Inc. 2009.

ROUBIK, D. W. The value of bees in non-agricultural ecosystems. **In Bee Pollination in Agricultural Ecosystems** (pp. 219-238). Springer Netherlands. 2012.

RYABOV, E. V. et al. A Virulent strain of Deformed wing virus (DWV) of honey bees (Apis mellifera) prevails after Varroa destructor-mediated, or in vitro, transmission. **PLoS Path**. 10. 2014.

SAMMATARO, D., & AVITABILE, A. The Beekeeper's Handbook. Cornell University Press. 2011.

SÁNCHEZ-BAYO, F., & WYCKHUYS, K. A. G. Worldwide decline of the entomofauna: A review of its drivers. **Biological Conservation**, 232, 8-27. 2019.

SCHNEIDER, S. S., & MCNALLY, L. C. Africanized honey bees in the Americas. **American Scientist**, 81(1), 50-57. 1993.

SCHEINBERG, S. The Bee Maidens of the Homeric Hymn to Hermes. **Harvard Studies in Classical Philology**. 83: 1–28. 1979.

ŠKUBNÍK, K.; NOVÁČEK, J.; FÜZIK, T.; PŘIDAL, A.; PAXTON, R. J.; PLEVKA, P. Structure of deformed wing virus, a major honey bee pathogen. **PNAS**. March 21, 2017 114 (12) 3210-3215; first published March 7, 2017.

STORKSTAD, E. Field Research on Bees Raises Concern About Low-Dose Pesticides. **Science**. 335 (6076): 1555. 2012.

SUTTONA, GREGORY P.; CLARKEA, DOMINIC; MORLEYA, ERICA L.; ROBERT, DANIEL. Mechanosensory hairs in bumblebees (Bombus terrestris) detect weak electric fields. **PNAS**. 113 (26): 7261–7265. 2016.

SZABO, TIBOR I. (1982-01-01). Requeening Honeybee Colonies with Queen Cells. **Journal of Apicultural Research**. 21 (4): 208–211.

TARVER, Discussion of phenomenon of Colony disorder collapse. **Canadian Honey Council**. 2007. Disponível em: <https://web.archive.org/web/20070729004717/>. Acesso em 18 de julho de 2020.

TOMER, R.; DENES, A. S.; TESSMAR-RAIBLE, K.; ARENDT, D. Profiling by image registration reveals common origin of annelid mushroom bodies and vertebrate pallium. **Cell**. 142 (5): 800–809. 2010.

TOMIZAWA, M.; CASIDA, J. E. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**. 45: 247–68. 2005.

VANENGELSDORP, D.; COX-FOSTER, D.; FRAZIER, M.; OSTIGUY, N.; Jerry Hayes. Colony Collapse Disorder Preliminary Report. **Mid-Atlantic Apiculture Research and Extension Consortium (MAAREC) – CCD Working Group**. p. 22. 2006.

VANENGELSDORP, D., MEIXNER, M. D., & NEUMANN, P. The Colossal Conundrum of Collapse. **American Scientist**, 98(4), 276-283. 2010.

VANENGELSDORP D, TRAYNOR KS, ANDREE M, LICHTENBERG EM, CHEN YP, SAEGERMAN C, et al. Colony collapse disorder: a descriptive study. **PLoS One**.10(8):e0130191. 2016.

WASER, Nickolas M. **Plant-Pollinator Interactions**: From Specialization to Generalization. University of Chicago Press. pp. 110–. ISBN 978-0-226-87400-5. 2006.

WEST, M. L. The Homeric Hymns. Oxford University Press. 2003.

WIJNHOVEN, H; BERG, M. P. Some notes on the distribution and ecology of Iridovirus (Iridovirus, Iridoviridae) in terrestrial isopods (Isopoda, Oniscidae). **Crustaceana**. 72: 145–156. 1999.

WILFERT, L. et al. Deformed wing virus is a recent global epidemic in honeybees driven by Varroa mites. **Science** 351, 594–597. 2016.

WINES, M. Mystery Malady Kills More Bees, Heightening Worry on Farms. **New York Times**. 2013.

YAÑEZ O, PIOT N, DALMON A, DE MIRANDA JR, CHANTAWANNAKUL P, PANZIERA D, AMIRI E, SMAGGHE G, SCHROEDER D AND CHEJANOVSKY N. Bee Viruses: Routes of Infection in Hymenoptera. **Front. Microbiol**. 11:943. doi: 10.3389/fmicb.2020.00943. 2020.
.
ZHANG, X.; HE, S. Y.; EVANS, J. D.; PETTIS, J. S.; YIN, G. F.; CHEN, Y. P. (2012-01-01). "New evidence that deformed wing virus and black queen cell virus are multi-host pathogens". **Journal of Invertebrate Pathology**. 109 (1): 156–159. 2012.